



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES  
ANTIFÚNGICA E TRIPANOCIDA DA PIPERINA E DERIVADOS DO  
NÚCLEO 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA**

**WELISSON DA SILVA FERREIRA**

*Sob a orientação do Professor*

**Dr. Marco Edilson Freire de Lima**

Tese submetida como requisito parcial  
para obtenção do grau de **Doutor em**  
**Ciências** em Química, na área de  
concentração de Química Orgânica.

**Seropédica, RJ**

**Novembro de 2014**

547

F383p

T

Ferreira, Welisson da Silva, 1980-  
Planejamento, síntese e avaliação  
das atividades antifúngica e  
triptanocida da piperina e derivados  
do núcleo 1,3,4-Oxadiazol-2-Tiona /  
Welisson da Silva Ferreira. - 2014.  
251 f.: il.

Orientador: Marco Edilson Freire  
de Lima.

Tese (doutorado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro,  
Curso de Pós-Graduação em Química,  
2014.

Bibliografia: f. 229-246.

1. Química orgânica - Teses. 2.  
Síntese orgânica - Teses. 3.  
Piperaceae - Teses. 4. Fungicida -  
Teses. 5. Trypanosoma cruzi -  
Teses. 6. Cryptococcus neoformans -  
Teses. I. Lima, Marco Edilson  
Freire de, 1965- II. Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Curso de Pós-Graduação em Química.  
III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

WELISSON DA SILVA FERREIRA

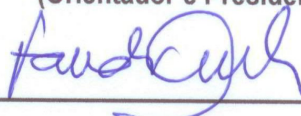
Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências em Química, na área de concentração de Química Orgânica.

TESE APROVADA EM 14/11/2014



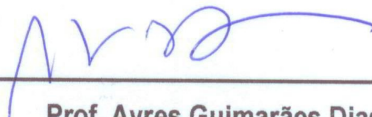
---

Prof. Marco Edilson F. Lima (DEQUIM-UFRRJ)  
(Orientador e Presidente)



---

Prof. Fernando Antônio Santos Coelho  
(IQ-UNICAMP)



---

Prof. Ayres Guimarães Dias  
(IQ-UERJ)



---

Prof. Leonardo Nimrichter  
(Inst. Microbiologia Paulo de Góes - UFRJ)



---

Prof. Cedric Stephan Graebin  
(DEQUIM-UFRRJ)

## AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Marco Edilson Freire de Lima pela orientação científica, amizade e paciência.

A todos os membros componentes, e aos que já passaram, pelo Laboratório 48, pela amizade e apoio científico.

Ao aluno de doutorado Vitor Sueth Santiago e a professora Rosane Nora de Castro (UFRRJ), pela execução do ensaio de extração e identificação de lipídeos de membrana de epimastigotas do *T. cruzi* por HPLC.

Aos professores José Osvaldo Previato, Lúcia Mendonça Previato e o Dr. Leonardo Freire de Lima (IBCCF-UFRJ), pela colaboração na execução do ensaio biológico antiparasitário.

Aos Drs. Daniel Zamith, Patrícia M. Tavares e Marcio Rodrigues (IMPG-UFRJ), pela colaboração na execução dos ensaios biológicos antifúngicos.

Aos Professores Wanda Pereira Almeida (Dep. Farmacologia – UNICAMP) e Marcos Eberlin (IQ – UNICAMP) pelos espectros de massas, por inserção direta, de alguns dos derivados sintetizados neste trabalho.

Aos Professores Ayres Guimarães Dias (IQ – UERJ), Leonardo Nimrichter (IMPG – UFRJ), Fernando A. S. Coelho (IQ – UNICAMP), Herbert L. Mattos Guedes (IBCCF – UFRJ), Cedric S. Graebin e Rosane Nora Castro (DEQUIM – UFRRJ), membros da banca examinadora, pela leitura crítica da tese e pelas sugestões dadas ao trabalho.

Ao CNPQ, pela bolsa concedida.

E a UFRRJ pela oportunidade.

## SUMÁRIO

ÍNDICE.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	vii
LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE ESQUEMAS.....	xii
LISTA DE ESPECTROS.....	xiv
LISTA DE ANEXOS.....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xviii
RESUMO.....	xxi
ABSTRACT.....	xxii

## INDICE

1- INTRODUÇÃO .....	1
1.1- DOENÇA DE CHAGAS .....	1
1.1.1- TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS .....	5
1.2- CRIPTOCOCOSE.....	7
1.2.1- TRATAMENTO DA CRIPTOCOCOSE .....	9
1.3- ALVO BIOLÓGICO: CYP51 .....	10
1.4- ANTIFÚNGICOS .....	12
1.5- OXADIAZÓIS .....	14
1.5.1- 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL .....	16
1.5.2- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL.....	18
1.5.2.1- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL-5- SUBSTITUIDOS.....	18
1.5.2.2- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIO-SUBSTITUIDOS (S-SUBSTITUÍDOS).....	19
1.5.2.3- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA-3-N- SUBSTITUÍDOS.....	20
1.6- PROTÓTIPO NATURAL: PIPERINA.....	22
2- OBJETIVOS .....	31
3- JUSTIFICATIVAS .....	31
4- PLANEJAMENTO .....	33
4.1- DISCUSSÕES DOS RESULTADOS.....	36
4.1.1- ISOLAMENTO DA PIPERINA DOS FRUTOS SECOS DE <i>Piper nigrum</i> .....	36
4.1.2- PREPARAÇÕES DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS: INTERMEDIÁRIOS NA SÍNTESE DAS ACILIDRAZINAS CORRESPONDENTES .....	38
4.1.2.1- HIDRÓLISE ALCALINA DA PIPERINA.....	40
4.1.2.2- SÍNTESE DO ÁCIDO PIPERONÍLICO 95 .....	41
4.1.2.3- SÍNTESE DO ÁCIDO CINÂMICO 96 .....	43

4.1.2.4- SÍNTESE DOS ÁCIDOS SATURADOS 92 E 97.....	45
4.1.3- SÍNTESE DOS CLORETOS DE ÁCIDO .....	47
4.1.4- SÍNTESES DAS ACILIDRAZINAS.....	49
4.1.5- SÍNTESE DOS HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL .....	56
4.1.6- SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL S-SUBSTITUÍDOS .....	65
4.1.7- SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONAS N(3)- SUBSTITUÍDOS (108).....	78
4.2- AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS .....	84
4.2.1- ATIVIDADE TRIPANOCIDA.....	84
4.2.2- ATIVIDADE ANTIFÚNGICA .....	86
5- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....	89
6- MATERIAIS E MÉTODOS .....	91
6.1- INSTRUMENTOS UTILIZADOS NAS CARACTERIZAÇÕES ESPECTROMÉTRICAS .....	91
6.2- NAS ANÁLISES, SÍNTESE E PURIFICAÇÕES.....	92
6.3- OUTROS EQUIPAMENTOS.....	92
6.4- ISOLAMENTO DA AMIDA PIPERIDINIL DO ÁCIDO 5-(3,4- METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)-PENTADIENÓICO (PIPERINA 69).....	93
6.5- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)- PENTADIENÓICO (ÁCIDO PIPERÍNICO 86).....	97
6.5.1- MÉTODO CONVENCIONAL.....	97
6.5.2- MÉTODO ALTERNATIVO: REATOR DE MICROONDAS .....	98
6.6- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3,4-METILENODIOXIBENZÓICO (ÁCIDO PIPERONÍLICO 95) .....	102
6.7- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E)- PROPENÓICO (ÁCIDO CINÂMICO 96) .....	106
6.8- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A REDUÇÃO CATALÍTICA DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS 86 E 96 .....	110

6.8.1- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PENTANÓICO (ÁCIDO TETRAIDROPIPERÍNICO 92) .....	110
6.8.2- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PROPANÓICO (ÁCIDO DIIDROCINÂMICO 97).....	114
6.9- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DOS CLORETOS DE ACILA DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS 86, 92, 95, 96 E 97 .....	118
6.10- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DAS ACILIDRAZINAS 88, 94, 101, 102 E 103 .....	118
6.10.1- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)-PENTADIENÓICO (88).....	119
6.10.2- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PENTANÓICO (94) .....	123
6.10.3- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3,4-METILENODIOXIBENZÓICO (101).....	127
6.10.4- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL) CINÂMICO (102).....	131
6.10.5- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL) DIIDROCINÂMICO (103).....	135
6.11- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DOS HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-TIONA 89, 90, 104, 105 E 106.....	139
6.11.1- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO PIPERÍNICO 89).....	139
6.11.2- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-BUTANÓICO-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO TETRAIDROPIPERÍNICO 90) .....	143
6.11.3- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO PIPERONÍLICO 104).....	147
6.11.4- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[2-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-(E)ETENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO CINÂMICO 105)....	151



6.11.5- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[2-(3,4-METILENODIÓXIFENIL)- ETANÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO DIIDROCINÂMICO 106) .....	155
6.12- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, DE PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS <i>S</i> -ALQUILADOS (107a-j) .....	159
6.12.1- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOMETILA (107a).....	159
6.12.2- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOETILA (107b).....	163
6.12.3- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOISOPROPILA (107c).....	167
6.12.4- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOVINILA (107d).....	171
6.12.5- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOBUTILA (107e).....	175
6.12.6- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOEXILA (107f) .....	179
6.12.7- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOCICLOEXILA (107g) .....	183
6.12.8- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIODODECILA (107h) .....	187
6.12.9- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOBENZILA (107i) .....	191
6.12.10- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIO( <i>O</i> -CLORO-BENZILA) (107j) .....	195
6.13- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, DE PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS <i>N</i> -SUBSTITUIDOS (108a-d) (REAÇÃO DE <i>MANNICH</i> ) .....	199
6.13.1- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1( <i>E</i> ),3( <i>E</i> )- BUTADIENÓICO]-3-(METILENOPIPERIDINIL)- 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (108a).....	199

6.13.2- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)- BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-4-ETIL-PIPERAZINIL)- 1,3,4-OXADIAZOL-2- TIONA (108b).....	203
6.13.3- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)- BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-4-CARBOXIETIL-PIPERIDINIL)-1,3,4- OXADIAZOL-2-TIONA (108c).....	207
6.13.4- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)- BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-N-MORFOLIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (108d).....	211
6.14- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	215
6.14.1- ATIVIDADE TRIPANOCIDA.....	215
6.14.1.1- PARASITOS.....	215
6.14.1.2- FORMAS EPIMASTIGOTAS.....	215
6.14.1.3 - ATIVIDADE ANTI-EPIMASTIGOTA.....	215
6.14.1.4 – METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA NOS LIPÍDEOS DE MEMBRANA DE <i>T. cruzi</i> .....	216
6.14.2- ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	217
6.14.2.1- DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM) .....	217
6.14.2.2.- AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE.....	222
6.14.2.3- ISOLAMENTO DE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) HUMANO.....	222
6.14.2.4 - ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR POR MTT.....	223
6.14.2.5 - EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS NEUTROS DE FUNGOS.....	224
6.14.2.6- DETERMINAÇÃO DA ESPESSURA DA CAPSULA POLISSACARÍDICA .....	226
7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	229

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do <i>Trypanosoma cruzi</i> em microscopia eletrônica .....	1
Figura 2. Representação esquemática do ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> .....	2
Figura 3. Imagens de barbeiros: a) <i>Triatoma infestans</i> ; b) <i>Rhodnius amazonicus</i> e c) <i>Panstrongylus geniculatus</i> .....	3
Figura 4. As rotas de migração da América Latina e estimativa do número total de pessoas infectadas com <i>T. cruzi</i> em países não endêmicos .....	4
Figura 5. Gráfico referente às formas de transmissão da doença de Chagas no Brasil entre 2000 a 2009 .....	4
Figura 6. Fármacos de utilidade clínica reconhecida: nifurtimox (20) e benzonidazol (2) .....	5
Figura 7. Diferentes classes de compostos extraídos de produtos naturais que apresentam atividade tóxica as diferentes formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> .....	6
Figura 8. Células em diferentes tamanhos de <i>C. neoformans</i> revelados em tinta nanquim .....	8
Figura 9. Antifúngicos usados no tratamento da criptococose: Anfotericina B (9), 5-Flucitosina (10).....	9
Figura 10. Estrutura simplificada do cofator heme: complexo porfirínico contendo Fe <sup>2+</sup> . .....	10
Figura 11. Biossíntese simplificada do ergosterol (15) a partir do lanosterol (12) de tripanosomatídeos.....	11
Figura 12. Artigos publicados no período de 2003 a 2013, contendo os termos “CYP51” e “ <i>T. cruzi</i> ” .....	12
Figura 13. Triazóis antifúngicos: Fluconazol (16), Itraconazol (17), Voriconazol (18), Posaconazol (19) e Ravuconazol (20) .....	13
Figura 14. Análogos do Fluconazol (16) contendo 1,3,4-oxadiazol com potencial antifúngico .....	14
Figura 15. Isômeros dos oxadiazóis .....	14
Figura 16. Fármacos da classe dos oxadiazóis: Oxolamina (35), Liberxina (36), Irrigor (37), Furamizol (38), Tiodazosin (39), Nesapidil (40), Raltegravir (41) e Zibotentan (42) .....	15
Figura 17. Tautomerismo Tiol-Tiona em 1,3,4-oxadiazol .....	16

Figura 18. Estruturas contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol com diferentes substituintes na posição 5 e suas respectivas atividades biológicas .....	17
Figura 19. Síntese de derivados S-substituídos em 1,3,4-oxadiazol-2-tiol .....	19
Figura 20. Derivados S-substituídos de 1,3,4-oxadiazol-2-tiol e suas respectivas aplicações biológicas .....	20
Figura 21. Estruturas sintetizadas pela reação de <i>Mannich</i> derivadas de 1,3,4-oxadiazol-2-tiol .....	14
Figura 22. Piperina, principal constituinte bioativo de <i>Piper nigrum</i> .....	15
Figura 23. Estruturas químicas dos derivados da piperina que demonstraram maior efeito inibitório nas oxigenases hepáticas estudadas.....	16
Figura 24. Exemplos de análogos sintéticos da piperina que apresentaram potencial para o tratamento do vitiligo .....	17
Figura 25. Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica ao <i>T. cruzi</i>	27
Figura 26. Compostos mesoiônicos com atividade antiparasitária: 11 (Leshmanicida) e 12-15 (Tripanocidas) .....	28
Figura 27. O protioconazol (16) antifúngico e os derivados triazólicos (17-19) com atividade tripanocida.....	21
Figura 28. <sup>1</sup> Condensador, <sup>2</sup> Extrator de Soxhlet, <sup>3</sup> Balão de fundo redondo e <sup>4</sup> Manta de aquecimento: Aparelhagem para extração da piperina (69) .....	36
Figura 29. Estruturas da acilidrazina 88 e os possíveis subprodutos gerados (88a e 88b); e o espectro de RMN <sup>13</sup> C da mistura. ....	49
Figura 30. Estruturas das substâncias avaliadas contra epimastigotas do <i>T. cruzi</i> . .....	84
Figura 31. Cromatogramas realizados em HPLC, referentes aos lipídeos extraídos de epimastigotas de <i>T. cruzi</i> , tratados em diferentes condições e a área relativa dos esteróis ergosterol (15), lanosterol (12), determinados por comparação com padrões comerciais, além dos lipídeos desconhecidos (x e y). ....	217
Figura 32. Exemplo fotográfico dos poços contendo fungos tratados após incubação de 48 horas com os analitos 89 e 90 em diferentes concentrações (µg/mL). .....	218
Figura 33. Gráficos referentes a inibição do crescimento de fungos em diferentes concentrações (µg/mL) dos analitos. ....	221
Figura 34. Representação ilustrativa da separação por densidade de células sanguíneas auxiliadas pela solução de Ficoll-Hypaque. ....	222
Figura 35. Gráfico da viabilidade de células mononucleares (PBMC) realizada pela técnica do MTT: A (Controle negativo, CN); B (Controle do solvente, CS); C (Controle	

positivo, CP); D (90µM, 69); E (45µM, 69); F (90µM, 89); G (45µM, 89); H (90µM, 90); I (200µM, 105); J (100µM, 106); K (100µM, 108a); L (50µM, 108a); M (70µM, 108b); N (35µM, 108b); O (80µM, 108c); P (40µM, 108c). .....	224
Figura 36. Fotografia da placa de sílica HPTLC resultante da extração de lipídeos dos fungos tratados em algumas condições: A (solvente DMSO 1%); B (Meio de cultura); C (16, Fluconazol 3µM); D (105, 25µM); E (105, 50µM); F (106, 25µM); G (106, 50µM); H (90, 25µM); I (90, 50µM); J (15, Padrão ergosterol); K (12, Padrão lanosterol – escurecido artificialmente). .....	226
Figura 37. Fotografia de células de fungo <i>C. neoformans</i> contra-coradas com tinta nanquim e a expressão matemática usada para calcular a espessura da cápsula (E)....	227
Figura 38. Gráfico com a média das espessuras das cápsulas polissacarídicas das células de <i>C. neoformans</i> em diferentes tratamentos: A (solvente DMSO 1%); B (Sabouraud); C (Meio mínimo); D (16, Fluconazol 3µM); E (105, 25µM); F (105, 50µM); G (106, 25µM); H (106, 50µM); I (90, 25µM); J (90, 50µM). .....	227
Figura 39. Relação entre a média das espessuras das cápsulas polissacarídicas e o raio das células de <i>C. neoformans</i> em diferentes tratamentos: A (solvente DMSO 1%); B (Sabouraud); C (Meio mínimo); D (16, Fluconazol 3µM); E (105, 25µM); F (105, 90µM); G (106, 25µM); H (106, 50µM); I (90, 25µM); J (90, 50µM).....	228

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Algumas atividades biológicas exibidas pela piperina .....	23
Tabela 2. Concentrações inibitórias em diferentes formas evolutivas do <i>T. cruzi</i> para os derivados mais ativos, a piperina 69 e o benzonidazol 2 .....	29
Tabela 3. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H da amida natural 69 e os ácidos carboxílicos 86, 92, 95, 96 e 97. ....	39
Tabela 4. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H da amida natural 69 e os ácidos carboxílicos 86, 92, 95, 96 e 97. ....	39
Tabela 5. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H das acilidrazinas 88, 94, 101, 102 e 103.....	51
Tabela 6. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>13</sup> C das acilidrazinas 88, 94, 101, 102 e 103.....	51
Tabela 7. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H dos derivados heterocíclicos 89, 90, 104, 105 e 106. ....	58
Tabela 8. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>13</sup> C dos derivados heterocíclicos 89, 90, 104, 105 e 106. ....	59
Tabela 9. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H dos derivados heterocíclicos 89, e 107a-j.....	66
Tabela 10. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>13</sup> C dos derivados heterocíclicos 89, e 107a-j.....	67
Tabela 11. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>1</sup> H dos derivados heterocíclicos 89, e 108a-d.....	79
Tabela 12. Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>13</sup> C dos derivados heterocíclicos 89, e 108a-d.....	80
Tabela 13. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para a piperina 69. ....	96
Tabela 14. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ácido piperínico 86. ....	101
Tabela 15. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ácido piperonóico 95. ....	105
Tabela 16. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ácido cinâmico 96.....	109
Tabela 17. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ácido tetrahidropiperínico 92. ....	113
Tabela 18. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para o ácido cinâmico reduzido 97. ....	117
Tabela 19. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para acilidrazina 88.....	122
Tabela 20. Deslocamentos químicos de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C para acilidrazina 94.....	126

Tabela 21. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a acilidrazina 101.....	130
Tabela 22. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para acilidrazina 102.....	134
Tabela 23. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para acilidrazina 103.....	138
Tabela 24. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o heterociclo 89. ....	142
Tabela 25. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o heterociclo 90. ....	146
Tabela 26. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o heterociclo 104. ....	150
Tabela 27. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o heterociclo 105. ....	154
Tabela 28. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o heterociclo 106. ....	158
Tabela 29. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107a. ....	162
Tabela 30. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107b. ....	166
Tabela 31. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107c. ....	170
Tabela 32. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107d. ....	174
Tabela 33. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107e. ....	178
Tabela 34. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107f.....	182
Tabela 35. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107g. ....	186
Tabela 36. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107h. ....	190
Tabela 37. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107i. ....	194
Tabela 38. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 107j.....	198
Tabela 39. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 108a. ....	202
Tabela 40. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 108b. ....	206
Tabela 41. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 108c. ....	210
Tabela 42. Deslocamentos químicos de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para o derivado 108d. ....	214
Tabela 43: Valores das concentrações inibitórias ( $\text{CI}_{50\%}$ ) da amida natural 1 e dos derivados 89, 90, 104, 105 e 106 frente as formas epimastigotas do <i>T. cruzi</i> .....	216
Tabela 44. Valores de $\text{CIM}_{50}$ ( $\mu\text{M}$ ) para a amida natural 69, os derivados 89, 90, 104-108 e os fármacos de referência Anfotericina B (9) e Fluconazol (16) em duas cepas (B35 e H99) do fungo <i>C. neoformans</i> . ....	221

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. A) Síntese do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol a partir de acilhidrazinas (50) e B) Reação do intermediário 51 durante a ciclização intramolecular .....	18
Esquema 2. Mecanismo da reação de <i>Mannich</i> adaptada para 1,3,4-oxadiazol-2-tionas	21
Esquema 3. Obtenção do 1,3,4-oxadiazol (89) derivado híbrido da piperina (69).....	33
Esquema 4. Obtenção do 1,3,4-oxadiazol derivado saturado (90) do híbrido piperínico. ....	34
Esquema 5. Obtenção do 1,3,4-oxadiazol-2-tiol derivado do piperonal 91. ....	34
Esquema 6. Obtenção dos derivados 1,3,4-oxadiazol <i>S</i> (107) e <i>N</i> -substituídos (108)...	35
Esquema 7. Proposta de fragmentação para a piperina 69. ....	37
Esquema 8: Esquema sintético para obtenção da série dos ácidos carboxílicos (86, 92 e 95-97) a partir dos precursores: piperina 69 e piperonal 91, com seus respectivos rendimentos. ....	38
Esquema 9. Hidrólise da amida natural (69). ....	40
Esquema 10. Proposta de fragmentação para o ácido piperínico 86. ....	41
Esquema 11. Oxidação do piperonal 91. ....	41
Esquema 12. Proposta de fragmentação para o ácido piperonílico 95. ....	42
Esquema 13. Mecanismo da reação de Knoevenagel.....	43
Esquema 14. Proposta de fragmentação para o ácido cinâmico 96. ....	44
Esquema 15. Reação de redução catalítica dos ácidos 86 e 96. ....	45
Esquema 16. Proposta de fragmentação para o ácido tetraidropiperínico 92.....	45
Esquema 17. Proposta de fragmentação para o ácido diidrocinâmico 97. ....	46
Esquema 18. Síntese dos cloretos de acila. ....	48
Esquema 19. Mecanismo de formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila .....	48
Esquema 20. Síntese das acilidrazinas 88, 94, 101, 102 e 103.....	50
Esquema 21. Proposta de fragmentação para acilidrazina 88. ....	52
Esquema 22. Proposta de fragmentação para a acilidrazina 94.....	53
Esquema 23. Proposta de fragmentação para a acilidrazina 101.....	54
Esquema 24. Proposta de fragmentação para a acilidrazina 102.....	55
Esquema 25. Proposta de fragmentação para a acilidrazina 103.....	56
Esquema 26. Preparação dos derivados heterocíclicos 1,3,4-oxadiazol-2-tiol 89, 90, 104, 105 e 106. ....	57



Esquema 27. Proposta de Mecanismo para a formação do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona) 89 a partir da acilidrazina 88. ....	57
Esquema 28. Proposta de fragmentação para o heterociclo 89. ....	60
Esquema 29. Proposta de fragmentação para o heterociclo 90. ....	61
Esquema 30. Proposta de fragmentação para o heterociclo 104. ....	62
Esquema 31. Proposta de fragmentação para o heterociclo 105. ....	63
Esquema 32. Proposta de fragmentação para o heterociclo 106. ....	64
Esquema 33. Síntese da série de derivados 1,3,4-oxadiazólicos <i>S</i> -substituídos (107)...	65
Esquema 34. Proposta de fragmentação para o derivado 107a. ....	68
Esquema 35. Proposta de fragmentação para o derivado 107b. ....	69
Esquema 36. Proposta de fragmentação para o derivado 107c. ....	70
Esquema 37. Proposta de fragmentação para o derivado 107d. ....	71
Esquema 38. Proposta de fragmentação para o derivado 107e. ....	72
Esquema 39. Proposta de fragmentação para o derivado 107f. ....	73
Esquema 40. Proposta de fragmentação para o derivado 107g. ....	74
Esquema 41. Proposta de fragmentação para o derivado 107h. ....	75
Esquema 42. Proposta de fragmentação para o derivado 107i. ....	76
Esquema 43. Proposta de fragmentação para o derivado 107j. ....	77
Esquema 44. Síntese da série de derivados 1,3,4-oxadiazólicos <i>N</i> (3)- substituídos. ....	78
Esquema 45. Metodologia sintética simplificada para obtenção dos derivados e análogos da piperina com seus respectivos rendimentos globais. ....	83

## LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de IV da piperina 69. ....	94
Espectro 2. Espectro de massas da piperina 69. ....	94
Espectro 3. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da piperina 69.....	95
Espectro 4. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da piperina 69.....	95
Espectro 5. Espectro de IV do ácido piperínico 86. ....	99
Espectro 6. Espectro de massas do ácido piperínico 86. ....	99
Espectro 7. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> e CD <sub>3</sub> OD) do ácido piperínico 86. .....	100
Espectro 8. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (200 MHz, CDCl <sub>3</sub> e CD <sub>3</sub> OD) do ácido piperínico 86. .....	100
Espectro 9. Espectro de IV do ácido piperonílico 95. ....	103
Espectro 10. Espectro de massas do ácido piperonílico 95. ....	103
Espectro 11. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido piperonílico 95. ....	104
Espectro 12. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido piperonílico 95. ....	104
Espectro 13. Espectro de IV do ácido cinâmico 96. ....	107
Espectro 14. Espectro de massas do ácido cinâmico 96. ....	107
Espectro 15. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido cinâmico 96. ....	108
Espectro 16. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido cinâmico 96. ....	108
Espectro 17. Espectro de IV do ácido tetrahidropiperínico 92. ....	111
Espectro 18. Espectro de massas do ácido tetrahidropiperínico 92. ....	111
Espectro 19. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido tetrahidropiperínico 92. ....	112
Espectro 20. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido tetrahidropiperínico 92. ....	112
Espectro 21. Espectro de IV do ácido diidrocinâmico 97. ....	115
Espectro 22. Espectro de massas do ácido diidrocinâmico 97. ....	115
Espectro 23. Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido diidrocinâmico 97. .....	116
Espectro 24. Espectro de RMN <sup>13</sup> C (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) do ácido diidrocinâmico 97. .....	116
Espectro 25. Espectro de IV da acilidrazina 88. ....	120
Espectro 26. Espectro de massas da acilidrazina 88. ....	120

Espectro 27. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 88.....	121
Espectro 28. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 88.....	121
Espectro 29. Espectro de IV da acilidrazina 94.....	124
Espectro 30. Espectro de massas da acilidrazina 94.....	124
Espectro 31. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) acilidrazina 94.....	125
Espectro 32. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 94.....	125
Espectro 33. Espectro de IV da acilidrazina 101.....	128
Espectro 34. Espectro de massas da acilidrazida 101.....	128
Espectro 35. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazida 101.....	129
Espectro 36. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 101.....	129
Espectro 37. Espectro de IV da acilidrazina 102.....	132
Espectro 38. Espectro de massas da acilidrazina 102.....	132
Espectro 39. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 102.....	133
Espectro 40. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 102.....	133
Espectro 41. Espectro de IV da acilidrazina 103.....	136
Espectro 42. Espectro de massas da acilidrazina 103.....	136
Espectro 43. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 103.....	137
Espectro 44. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) da acilidrazina 103.....	137
Espectro 45. Espectro de IV do heterociclo 89.....	140
Espectro 46. Espectro de massas do heterociclo 89.....	140
Espectro 47. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 89.....	141
Espectro 48. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 89.....	141
Espectro 49. Espectro de IV do heterociclo 90.....	144
Espectro 50. Espectro de massas do heterociclo 90.....	144
Espectro 51. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 90.....	145
Espectro 52. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 90.....	145
Espectro 53. Espectro de IV do heterociclo 104.....	148
Espectro 54. Espectro de massas do heterociclo 104.....	148
Espectro 55. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 104.....	149
Espectro 56. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 104.....	149
Espectro 57. Espectro de IV do heterociclo 105.....	152
Espectro 58. Espectro de massas do heterociclo 105.....	152
Espectro 59. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 105.....	153
Espectro 60. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 105.....	153

Espectro 61. Espectro de IV do heterociclo 106. ....	156
Espectro 62. Espectro de massas do heterociclo 106. ....	156
Espectro 63. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 106.....	157
Espectro 64. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6) do heterociclo 106.....	157
Espectro 65. Espectro de IV do derivado 107a. ....	160
Espectro 66. Espectro de massas do derivado 107a. ....	160
Espectro 67. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107a.....	161
Espectro 68. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107a.....	161
Espectro 69. Espectro de IV do derivado 107b. ....	164
Espectro 70. Espectro de massas do derivado 107b. ....	164
Espectro 71. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107b.....	165
Espectro 72. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107b. ....	165
Espectro 73. Espectro de IV do derivado 107c. ....	168
Espectro 74. Espectro de massas do derivado 107c. ....	168
Espectro 75. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107c.....	169
Espectro 76. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107c.....	169
Espectro 77. Espectro de IV do derivado 107d. ....	172
Espectro 78. Espectro de massas do derivado 107d. ....	172
Espectro 79. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107d.....	173
Espectro 80. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107d. ....	173
Espectro 81. Espectro de IV do derivado 107e. ....	176
Espectro 82. Espectro de massas do derivado 107e. ....	176
Espectro 83. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107e.....	177
Espectro 84. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107e.....	177
Espectro 85. Espectro de IV do derivado 107f.....	180
Espectro 86. Espectro de massas do derivado 107f.....	180
Espectro 87. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107f. ....	181
Espectro 88. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107f.....	181
Espectro 89. Espectro de IV do derivado 107g. ....	184
Espectro 90. Espectro de massas do derivado 107g. ....	184
Espectro 91. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107g.....	185
Espectro 92. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107g. ....	185
Espectro 93. Espectro de IV do derivado 107h. ....	188
Espectro 94. Espectro de massas do derivado 107h. ....	188

Espectro 95. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107h.....	189
Espectro 96. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107h. ....	189
Espectro 97. Espectro de IV do derivado 107i. ....	192
Espectro 98. Espectro de massas do derivado 107i. ....	192
Espectro 99. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107i. ....	193
Espectro 100. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107i. ....	193
Espectro 101. Espectro de IV do derivado 107j. ....	196
Espectro 102. Espectro de massas do derivado 107j. ....	196
Espectro 103. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107j. ....	197
Espectro 104. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 107j. ....	197
Espectro 105. Espectro de IV do derivado 108a. ....	200
Espectro 106. Espectro de massas do derivado 108a. ....	200
Espectro 107. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108a.....	201
Espectro 108. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108a.....	201
Espectro 109. Espectro de IV do derivado 108b. ....	204
Espectro 110. Espectro de massas do derivado 108b. ....	204
Espectro 111. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108b.....	205
Espectro 112. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108b.....	205
Espectro 113. Espectro de IV do derivado 108c. ....	208
Espectro 114. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108c.....	209
Espectro 115. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108c.....	209
Espectro 116. Espectro de IV do derivado 108d. ....	212
Espectro 117. Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108d.....	213
Espectro 118. Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) do derivado 108d. ....	213

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: FÓRMULAS ESTRUTURAIS .....	247
ANEXO 2: PRODUÇÃO CIENTÍFICA.....	248

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

arom. = aromático	PBMC = <b>P</b> eripheral <b>B</b> lood <b>M</b> ononuclear
BHI = Infusão de Cérebro e Coração	<b>C</b> ells (Células Mononucleares do Sangue
CCF = Cromatografia de Camada Fina	<b>P</b> eriférico <b>H</b> umano)
CIM = Concentração Inibitória Mínima	PBS = Solução Tampão Fosfato
CI <sub>50</sub> = Concentração Inibitória de 50%	PF = Ponto de Fusão
CN = Controle Negativo	ppm = parte por milhão
CP = Controle Positivo	q = quarteto
CYP = Citocromo da família P450	REA = <b>R</b> elação <b>E</b> strutura- <b>A</b> tividade
CS = Controle do Solvente	RMN <sup>13</sup> C = <b>R</b> essonância <b>M</b> agnética <b>N</b> uclear
d = duplo	de <b>C</b> arbono <b>13</b>
DC = Doença de Chagas	RMN <sup>1</sup> H = <b>R</b> essonância <b>M</b> agnética <b>N</b> uclear
dd = duplo duplo	de <b>H</b> idrogênio
ddd = duplo duplo duplo	RPMI 1640= <b>R</b> oswell <b>P</b> ark <b>M</b> emorial
DL <sub>50</sub> = Dose Letal para 50%	<b>I</b> nstitute (meio de cultura para células
EDTA = Ácido EtilenoDiamino Tetra	humanas)
Acético	s = simpleto
g = força centrífuga relativa	SDS = Solução de Dodecil-Sulfato
GalXM = GalactoXiloManana	SFB = Soro Fetal Bovino
GXM = GlicuronoXiloManana	sl = simpleto largo
HPTLC = High Performance Thin-Layer	SNC = Sistema Nervoso Central
Chromatography (cromatografia em camada	t = tripleto
fina de alta performance)	t.a. = temperatura ambiente
ERO = Espécies Reativas de Oxigênio	TMS = TetraMetilSilano
IGF – Interconversão de Grupo Funcional	TOF/MS-ES = Time-Of-Flight / Mass
IV = InfraVermelho	<b>S</b> pectrometry <b>E</b> lectro <b>S</b> pray
J = constante de acoplamento	u.m.a. = unidade de massa atômica
m = multiplo	UV = Ultra Violeta
M <sup>+</sup> = Íon Molecular	YNB = meio de cultura para levedura base de
MHz = MegaHertz	nitrogênio
MP = ManoProteína	v = deformação axial
m/z = razão massa-carga	σ = deformação angular
	δ = deslocamento químico

## RESUMO

O desenvolvimento deste trabalho faz parte de uma linha de pesquisa que visa utilizar produtos naturais abundantes e acessíveis, que já possuam atividades biológicas relevantes descritas, como matéria-prima e fonte inspiradora de estruturas na síntese de novos derivados e análogos com potencial antifúngico e antichagásico. A piperina, extraída da pimenta do reino, bem como alguns derivados e análogos, preparados pelo nosso grupo de pesquisa, demonstraram efeito tóxico sobre o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da Doença de Chagas. Além da atividade tóxica frente a protozoários, também é descrita para este produto natural a atividade antifúngica, entre outras.

Descrevemos aqui o planejamento, a síntese e a caracterização de 19 novos derivados e análogos da piperina, bem como a avaliação da atividade destes contra epimastigotas do *T. cruzi*, contra cepas do fungo *Cryptococcus neoformans* e a avaliação da citotoxicidade frente a células humanas. Para todos os compostos preparados foi homologado o heterociclo da classe 1,3,4-oxadiazol-2-tiona, descrito como unidade farmacofórica para a atividade antifúngica.

Os resultados obtidos nas avaliações biológicas realizadas indicam que os derivados **89** e **90** apresentam as melhores atividades contra o *T. cruzi*. O derivado **90** apresenta o melhor perfil antifúngico, apresentando atividade comparável ao fármaco fluconazol nos ensaios realizados. Estudos sobre a interferência destes compostos no perfil lipídico da membrana do *T. cruzi* e do *C. neoformans*, sugerem que este possa ser um dos mecanismos de ação destes derivados. O conjunto de resultados descritos, indicam que os derivados **89** (insaturado) e **90** (saturado), ambos com 4 carbonos na cadeia espaçadora e com estruturas mais semelhantes à amida natural, apresentam as melhores atividades antiparasitária e antifúngica, respectivamente, validando o planejamento realizado neste trabalho.

## ABSTRACT

This work is part of a research program that aims to use abundant and accessible natural products that show relevant biological activities as starting material and source of inspiration in the synthesis of new derivatives and analogues with antifungal and/or antichagasic potential. Piperine, extracted from black pepper as well as some derivatives and analogues prepared by our research group, showed toxic effect against *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas disease. Apart its toxic activity against protozoa, it is also described antifungal activity for this natural product, among others.

We describe herein the design, synthesis and the characterization of 19 new derivatives and analogues of piperine as well as the evaluation of their activities against epimastigotes of *T. cruzi* and as well as strains of the fungus *Cryptococcus neoformans*. The cytotoxicity of all the synthesized compounds were evaluated against human cells. In the structure of all the prepared compounds has been inserted the 1,3,4-oxadiazole-2-thione portion, described as pharmacophoric unit for antifungal activity.

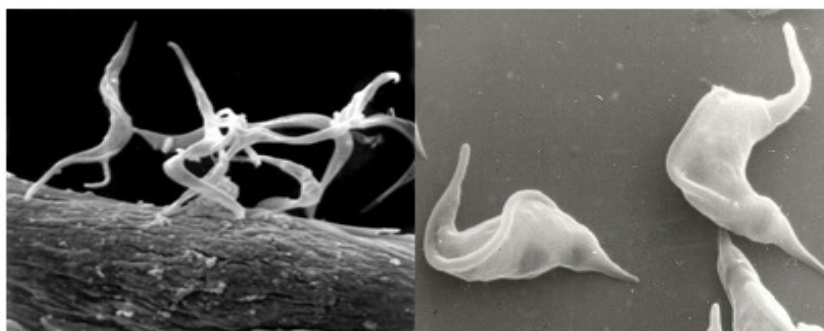
The biological results obtained indicate that the oxadiazolic derivatives **89** and **90** show the best activity against *T. cruzi* epimastigotes. The derivative **90** showed the best antifungal profile, comparable to fluconazole. Studies on the interference of these compounds on lipid profile of the *T. cruzi* membrane and *C. neoformans*, suggest that this may be one of the mechanisms of action of these derivatives. The assembly of results described herein indicate that the derivatives **89** (unsaturated) and **90** (saturated), both with 4 carbons in the spacer chain and most similar structures to the natural amide, featuring the best antiparasitic and antifungal activities, respectively, validating the molecular planning done in this study.



## 1- INTRODUÇÃO

### 1.1- DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas (DC), ou tripanossomíase americana foi originalmente descrita pelo médico sanitariano Carlos Chagas, em 1909 (CHAGAS, 1909). Esta é uma parasitose com manifestações clínicas extremamente complexas, causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* - Kinetoplastida, Trypanosomatidae (**Figura 1**). Este microorganismo, que é capaz de infectar um grande número de vertebrados, possui um ciclo de vida complexo, com vários estágios, sendo que no hospedeiro vertebrado o parasito encontra-se sob duas formas, a forma tripomastigota, flagelada e infectante; e a forma amastigota, que não possui flagelo livre e se replica no interior das células (BRENER, 1979).

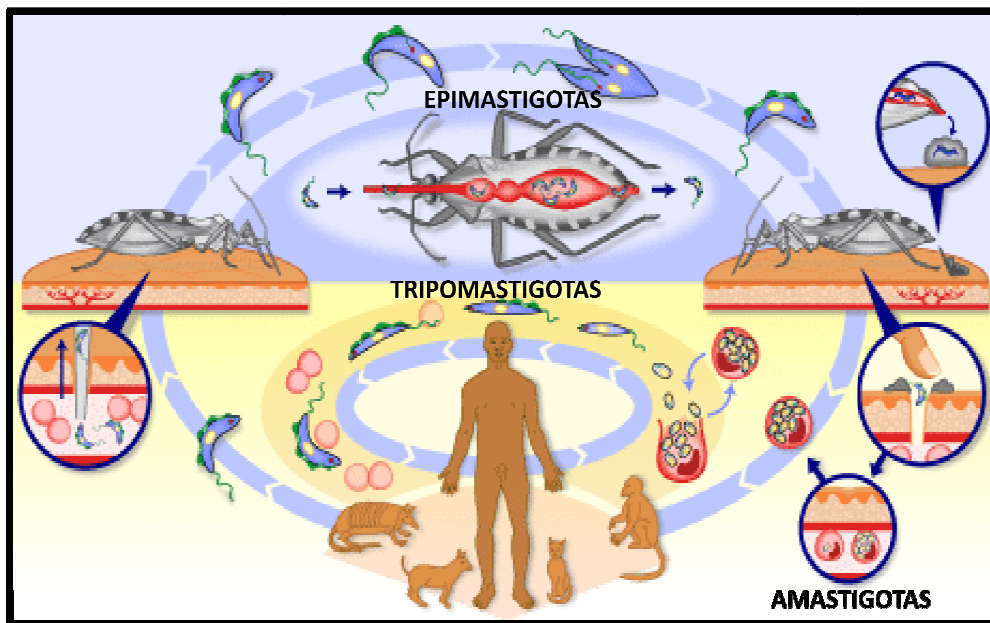


**Figura 1.** Imagem do *Trypanosoma cruzi* em microscopia eletrônica

(<http://www.fiocruz.br/ccs/estetica/chagas.htm>)

O ciclo de vida do parasito (**Figura 2**) envolve obrigatoriamente a passagem por hospedeiros vertebrados (mamíferos, incluindo o homem) e muitos invertebrados (insetos da família *Rudaviidae*), em uma série de estágios. A forma tripomastigota, presente no sangue do hospedeiro infectado, é ingerida pelo inseto e diferencia-se em epimastigota, forma não infectiva e replicativa, que no trato digestivo do inseto diferencia-se em tripomastigotas metacíclicos. As formas metacíclicas são liberadas junto às fezes e urina do inseto durante seu repasto sanguíneo e ao penetrar no hospedeiro vertebrado diferencia-se na forma amastigota intracelular. Após vários ciclos

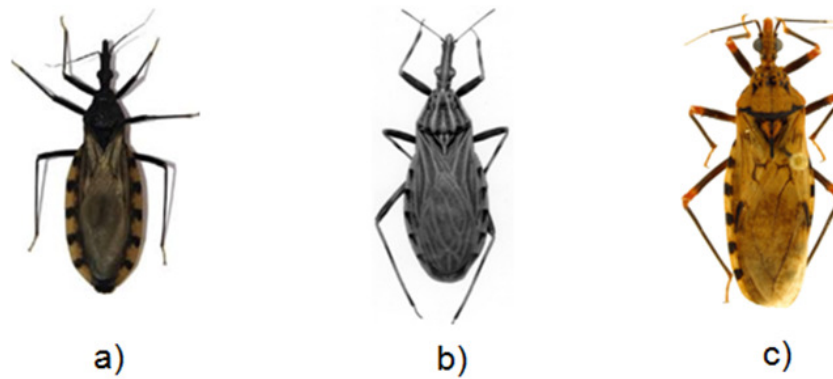
de replicação os parasitos diferenciam-se nas formas tripomastigotas, havendo liberação dos mesmos na corrente sanguínea do hospedeiro, reiniciando o ciclo.



**Figura 2.** Representação esquemática do ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*

(<http://www.who.int/tdr/diseases/chagas/lifecycle.htm>).

A transmissão vetorial desta parasitose se dá pelo contato da pele e mucosas do hospedeiro vertebrado com fezes ou urina de diferentes insetos hematófagos contaminados, da família *Ruduviidae*. Para esta família são conhecidos 142 espécies de triatomíneos, sendo que destas, 62 são encontradas no Brasil (incluindo 39 espécies que ocorrem apenas no Brasil). Os Estados da Bahia e Mato Grosso são as regiões que mais apresentam estes insetos, com 25 e 18 espécies, respectivamente. O Rio de Janeiro é reportado apresentando 8 espécies (GURGEL-GONÇALVES, 2012). A **Figura 3** mostra três gêneros de barbeiros encontrados no Brasil: *Triatoma*, *Rhodnius* e *Panstrongylus* – vetores da DC.



**Figura 3.** Imagens de barbeiros: a) *Triatoma infestans*; b) *Rhodnius amazonicus* e c) *Panstrongylus geniculatus*

(<http://ryoko.biosci.ohio-state.edu/~parasite/rhodinius.html>).

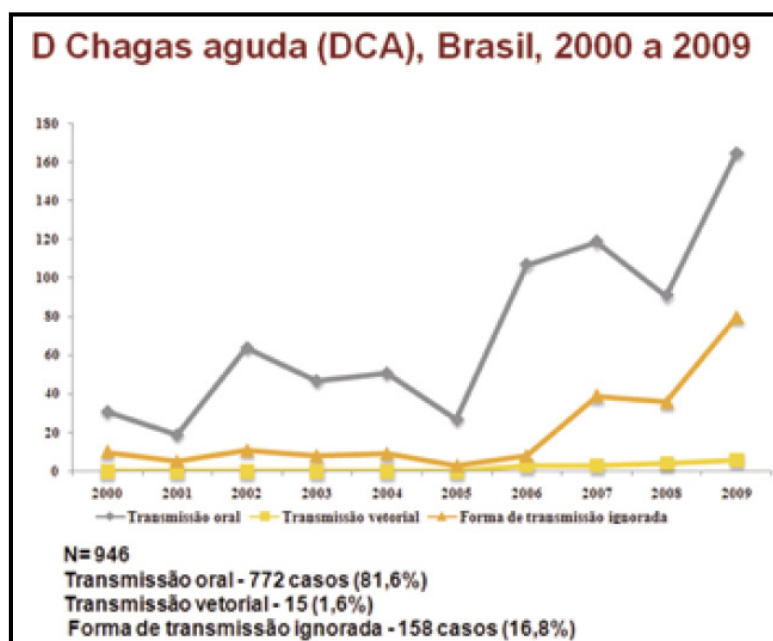
Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, entre 7-8 milhões de pessoas no mundo encontram-se infectadas pelo *T. cruzi*, e destas, aproximadamente 50 mil morrem anualmente (WHO, 2014). Embora seja uma doença endêmica tradicionalmente para o México, América do Sul e Central, a migração humana (**Figura 4**) resultou em casos de infecção pelo *T. cruzi* em várias outras regiões do mundo (COURA, 2010; TANOWITZ, 2011). Somando-se o fato de não haver um tratamento eficaz para erradicação do parasito intracelular, esta doença se coloca como um dos maiores desafios na área de Saúde Pública nestas regiões do planeta (COURA, 2010).

Outra questão de impacto atualmente para a disseminação desta infecção é o fato do grande aumento de casos de contaminação por *T. cruzi* por via oral, através do consumo de alimentos *in natura*, contaminados com fezes e urina de Triatomíneos infectados (**Figura 5**). Como estes alimentos são distribuídos em larga escala, e muitas vezes sem um controle rigoroso, esta forma de transmissão tem crescido em relação às demais vias (vetorial, transfusional, transplacentárias e por acidentes em laboratórios) (NOBREGA, 2009; SOUZA, 2010; PASSOS, 2012).



**Figura 4.** As rotas de migração da América Latina e estimativa do número total de pessoas infectadas com *T. cruzi* em países não endêmicos

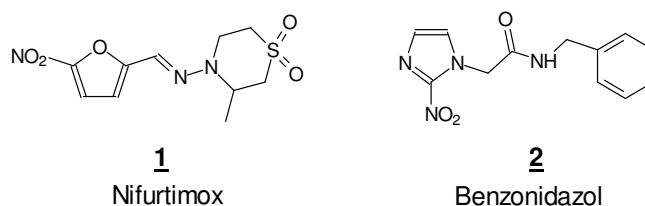
(COURA, 2010)



**Figura 5.** Gráfico referente às formas de transmissão da doença de Chagas no Brasil entre 2000 a 2009 (SOUZA, 2010).

### 1.1.1- TRATAMENTO DA DOENÇA DE CHAGAS

Uma quimioterapia específica para esta parasitose ainda não está disponível. Os fármacos disponíveis e utilizados para o tratamento desta doença são nifurtimox (**1**, Lampit®, da BAYER), um nitrofurano e o benzonidazol (**2**, Rochagan®, da ROCHE), um nitroimidazol (**Figura 6**). Estes foram introduzidos, empiricamente, há cerca de três décadas. O mecanismo de ação desses fármacos começou a ser desvendado há duas décadas. No caso do nifurtimox (**1**), o mesmo age via mecanismo de redução do grupo nitro em radicais nitroânions instáveis, os quais reagem produzindo espécies reativas de oxigênio (*ERO*) altamente tóxicas (peróxidos e superóxidos), enquanto que o benzonidazol (**2**) parece agir por uma via diferente (estresse redutivo), que envolve modificações nas ligações covalentes de macromoléculas, via intermediários nitroreduzidos (URBINA, 2003).



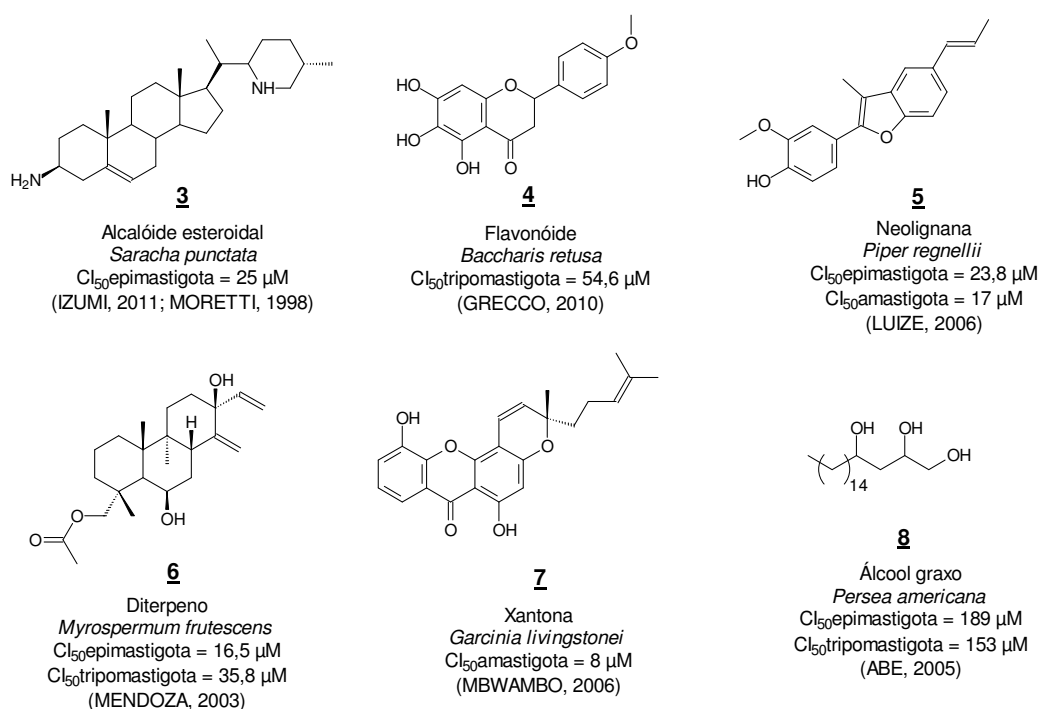
**Figura 6.** Fármacos de utilidade clínica reconhecida para o tratamento da DC.

O inconveniente desses fármacos são seus graves efeitos colaterais, sendo os principais: anorexia, vômitos, polineuropatia periférica e dermatopatia alérgica, provavelmente provocada pelos danos oxidativos e redutivos nas células hospedeiras, além de efeitos genotóxicos, no caso do nifurtimox. O grande problema na quimioterapia com esses dois fármacos ocorre pelo fato dos mesmos não curarem o paciente, e sim amenizarem os efeitos decorrentes da infecção (URBINA, 1999).

Atualmente, apenas o benzonidazol (**2**) é legalmente utilizado no Brasil para o tratamento da DC, sendo produzido por um único laboratório oficial (LAFEPE – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco). O nifurtimox (**1**), após ser usado em vários países da América do Sul, inclusive no Brasil, deixou de ser comercializado devido ao seu alto grau de genotoxicidade (COURA, 2010), mas não deixa de ser usado indiscriminadamente no país.

Desde o descobrimento da DC em 1909, pelo médico brasileiro Carlos Chagas (CHAGAS, 1909), nenhum fármaco totalmente eficaz foi disponibilizado para a cura da doença, ou seja, completou-se um século da descrição de todo o ciclo evolutivo do parasita causador desta grave enfermidade, e ainda não foi desenvolvida uma terapia efetiva para o seu tratamento. Fica clara a dimensão do desafio colocado aos pesquisadores envolvidos no desenvolvimento de fármacos aplicáveis na quimioterapia da DC, qual seja a busca constante por novas substâncias com elevada atividade tripanocida, reduzidos efeitos colaterais, aliados à compreensão do mecanismo da ação antiparasitário destas substâncias, o que facilita o desenvolvimento racional de novos compostos protótipo (RIBEIRO, 2004).

O uso de produtos naturais no tratamento de infecções causadas por parasitas vem sendo documentado na literatura por conta de vários trabalhos, reportando a investigação de atividade tripanocida de uma grande variedade produtos naturais, sejam estes extratos brutos, compostos isolados, ou ainda análogos semissintéticos destes (DUSCHAK, 2007; NEWMAN, 2012).



**Figura 7.** Diferentes classes de compostos extraídos de produtos naturais que apresentam atividade tóxica as diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*.

Atualmente a síntese de novas moléculas para o tratamento da DC vem sendo beneficiada pelo sequenciamento de genomas. A partir deste conhecimento alvos mais específicos ao parasito são selecionados de forma a não afetar o hospedeiro. Entre os

alvos mais explorados podemos citar a inibição de enzimas: da via glicolítica, de poliamidas, do metabolismo do folato, óxido nítrico sintase, cisteína protease, da biossíntese de esteróides entre outras (MELO, 2012). A inibição da biossíntese do ergosterol, esteróide de membrana responsável pela fluidez e permeabilidade da mesma, mediada pela metaloproteína CYP51, é uma estratégia bastante explorada como antifúngico, que funciona de forma semelhante em tripanossomatídeos (**secção 1.4**, página 12).

As únicas moléculas que conseguiram chegar à etapa de triagens clínicas avançadas para o tratamento da DC foram derivados da classe dos azóis. Esta classe de moléculas é conhecida pelo seu potencial antifúngico, agindo como inibidores da CYP51(ou 14 $\alpha$ -desmetilase), sendo este um alvo promissor para o controle tanto, de fungos como de tripanossomatídeos.

## **1.2- CRIPTOCOCOSE**

O *Cryptococcus neoformans* é, atualmente, a causa mais comum de meningite fúngica (FRASER, 2005). O processo de disseminação não é totalmente entendido. A forma de contágio é, provavelmente, a inalação de esporos produzidos por frutificação haplóide ou conjugação. Os esporos possuem tamanho de 1-2 $\mu$ m, que permitem a deposição nos alvéolos pulmonares e, segundo alguns pesquisadores, são mais infecciosos do que a forma vegetativa da levedura, que possui tamanho de 2-4 $\mu$ m e podem possuir cápsula (HULL, 2002). Acredita-se que a rota de infecção inicia-se nos pulmões, podendo em seguida migrar para outras partes do corpo, apresentando tropismo pelo sistema nervoso central (SNC), onde causa meningite, meningoencefalite e encefalite. A doença pulmonar progressiva e disseminativa ocorre mais frequentemente no cenário de imunodeficiência (VILCHEZ, 2003).

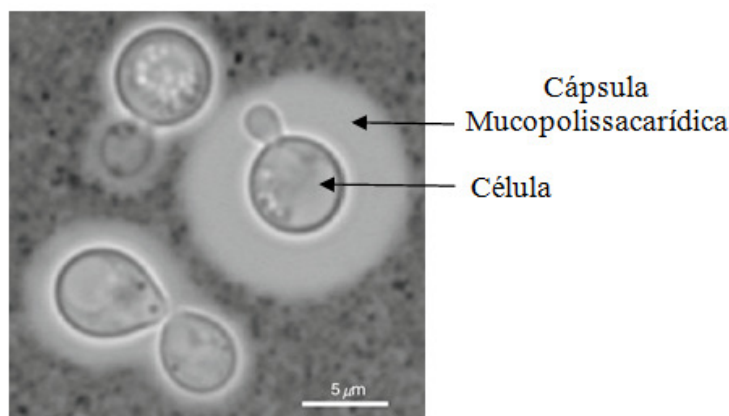
O *Cryptococcus* pertence ao Reino Fungi, Filo Basidiomycota e pertence à Família Sporidiobolaceae, fungo responsável pela criptococose. Neste gênero já foram descritas aproximadamente 39 espécies. Destas, duas são definidas como patogênicas: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gattii*. (CASADEVALL, 1998). O primeiro relato sobre o *C. neoformans*, como patógeno humano, foi publicado em 1894 (BUSSE, 1894; MA, 2009).

O conhecimento do nicho ecológico deste fungo é importante, por que até o momento não há relatos da transmissão de pessoa para pessoa (MA, 2009). O reservatório

ambiental para *C. neoformans* é essencialmente o solo contaminado por excretas de pombos (CASADEVALL, 1998).

O *C. neoformans* é uma espécie de fungo oportunista, associado a condições de imunossupressão como, por exemplo, pacientes submetidos a transplantes de órgãos e/ou em terapias imunossupressoras, portadores de doenças linfoproliferativas (MITCHELL, 1995; BUCHANAN, 1998) e principalmente em indivíduos HIV positivos. Em pessoas imunocompetentes o fungo pode ficar alojado nos pulmões sem manifestações clínicas, podendo em alguns casos, se deslocar para outras regiões do corpo (SNC, por exemplo) (GARCIA-HERMOSO, 1999). Na maioria dos países a prevalência em pacientes aidéticos tem se mantido na faixa de 5 a 10% (CASADEVALL e PERFECT, 1998; STEENBERGEN, 2003). Somente após a morte de pacientes aidéticos por esta micose letal é que seu agente etiológico gerou interesse considerável pela comunidade médica. Antes de 1981, este tipo de infecção era raro e, já no início dos anos 90, tornou-se epidêmica em algumas regiões (STEENBERGEN, 2003).

O *C. neoformans* é o único fungo encapsulado patogênico descrito até o momento, pois as capsulas são geralmente encontradas em bactérias. Este fungo apresenta forma de levedura (esférica ou globulosa), com diâmetro aproximado de 2-8 $\mu$ m com uma cápsula mucopolissacarídica (**Figura 8**), cujo tamanho varia de 5 $\mu$ m até 30 $\mu$ m (ZARAGOZA, 2004; MA, 2009).



**Figura 8.** Células em diferentes tamanhos de *C. neoformans* revelados em tinta nanquim (MA, 2009).

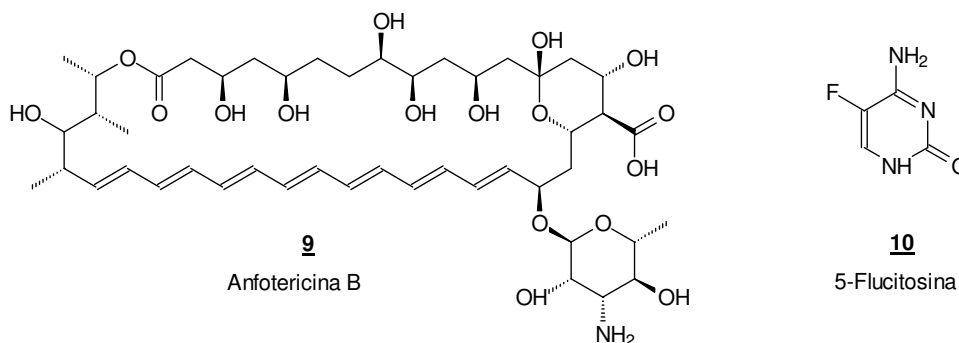
A cápsula apresenta três componentes principais, a glicuronoxilomanana (GXM), a galactoxilomanana (GalXM) e a manoproteína (MP) (FRIES, 1999). A GXM consiste de ácido glicurônico, xilose e manose; a GalXM é composta de galactose, xilose e manose; e,



a MP contém manose como carboidrato predominante, e, em menor quantidade, galactose e xilose (MCFADDEN, 2001).

### 1.2.1- TRATAMENTO DA CRIPTOCOCOSE

No tratamento são empregadas cirurgias na criptococose localizada. A administração da Anfotericina B (**9**) isolada ou associada a 5-Flucitosina (**10**) (**Figura 9**), são considerados protocolos de primeira escolha para terapia desta infecção (ZUGER, 1986). A Anfotericina B (**9**) atua formando agregados lipídicos, extraídos via interações de Van der Waals, na parte externa a membrana da célula do fungo, comprometendo a integridade, fluidez e funcionamento normal da membrana celular (ANDERSON, 2014). A toxicidade da Anfotericina B está relacionada à formação de agregados lipídicos também com o colesterol – esteróide do hospedeiro animal (ANDERSON, 2014). Segundo ZARAGOZA e colaboradores o tratamento com Anfotericina B é capaz de reduzir a espessura da capsula e a presença dos polissacarídeos capsulares no soro, sugerindo um mecanismo adicional da eficácia desse fármaco na criptococose, podendo ser usado de forma associada a outros fármacos (ZARAGOZA, 2005).

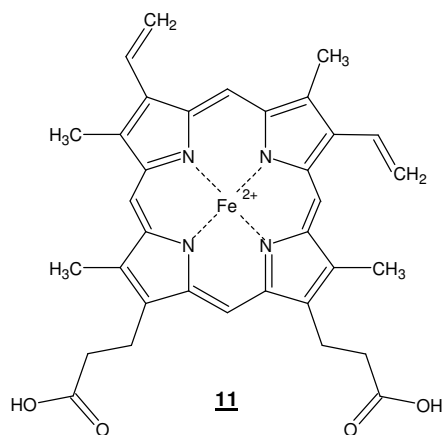


**Figura 9.** Antifúngicos usados no tratamento da criptococose.

O Fluconazol, Itraconazol e Posaconazol, além de outros antifúngicos triazólicos (melhor discutido na **secção 1.5**, página 14), são também fármacos de escolha no tratamento dessa micose (BARCHIESI, 2001). Estes derivados agem pela inibição da enzima CYP51, responsável pela síntese específica de ergosterol da membrana de fungos (**secção 1.4**, página 12).

### 1.3- ALVO BIOLÓGICO: CYP51

Citocromo P450 (CYP) é o nome dado a uma família de enzimas que apresentam o cofator heme (**11**, protoporfirina IX, **Figura 10**), com função monooxigenase, sendo encontrado em todos os reinos biológicos. Apresentam duas funções específicas: inativação de xenobióticos e a biossíntese de compostos endógenos (LEPESHEVA, 2011).



**Figura 10.** Estrutura simplificada do cofator heme: complexo porfirínico contendo Fe<sup>2+</sup>

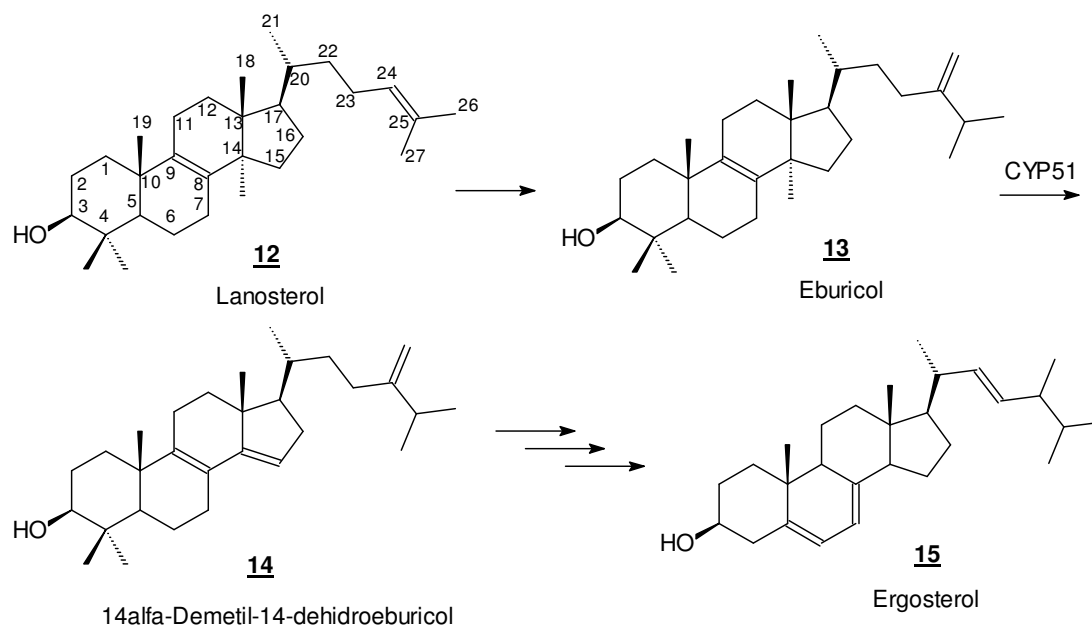
Nesta família de enzimas, a CYP51 é a mais conhecida (YOSHIDA, 2000). Esta metaloproteína desempenha a função de catalisar a síntese de esteróides contidos na estrutura da membrana. Os esteróides de membrana são essenciais na composição estrutural da membrana dos eucariontes. São responsáveis principalmente por regular a fluidez e a permeabilidade da membrana celular (HAINES, 2001). Entre estes esteróides podemos citar: o sitosterol, em plantas; o colesterol, em animais; e o ergosterol, em fungos e Tripanosomatídeos.

Em organismos que dependem da biossíntese de esteróides de membrana, a inibição da CYP51 pode ser letal. Inúmeros estudos sobre a inibição da CYP51 são encontrados na literatura, entre estes, para o tratamento de infecções fúngicas de pele e a infecções em pacientes imunossuprimidos – durante a quimioterapia de câncer, transplantados ou com HIV (LEPESHEVA e WATERMAN, 2007). O efeito da inibição da CYP51 é bastante específica aos patógenos infecciosos, mas não para humanos. Outro dado interessante é a especificidade da inibição da CYP51 em tripanosomatídeos, principalmente em *T. cruzi*. Apesar de apresentar entre 22 a 26% da identidade da

sequência de aminoácidos da constituição da CYP51 de fungos, os azóis apresentam efeitos bastante semelhantes em tripanosomatídeos (LEPESHEVA, 2011).

A maioria dos eucariontes realizam a biossíntese de esteróides no reticulo endoplasmático, assim os esteróides são concentrados na membrana plasmática. Já nos tripanosomatídeos as enzimas, responsáveis pela biossíntese de esteróides são encontradas na membrana dos glicosomos e mitocôndrias, sugerindo maior dependência destes esteróides endógenos (PENA-DIAZ, 2004; LEPESHEVA, 2011).

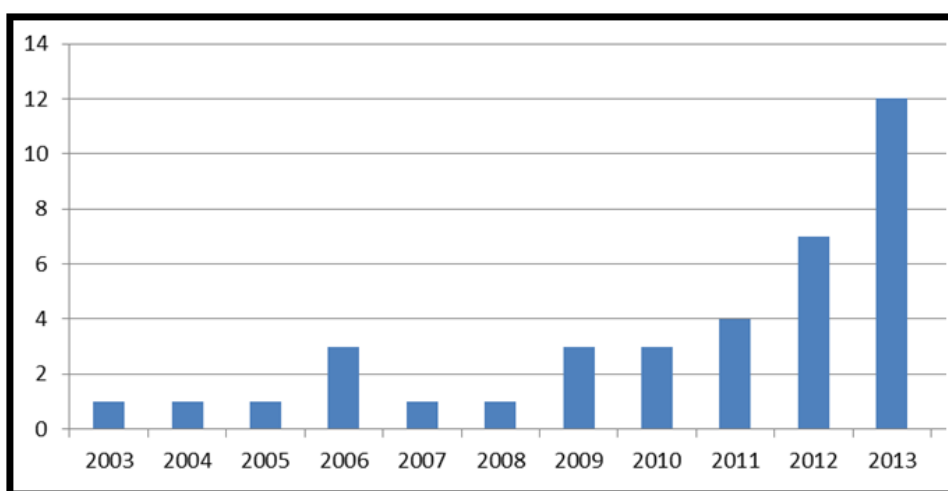
Em fungos e tripanosomatídeos o lanosterol (**12**) é o esteróide intermediário principal para a síntese dos esteróides de membrana. Em *T. cruzi* o lanosterol (**12**) é convertido em eburicol (**13**), que é o substrato de preferência do CYP51, onde realiza a reação de desmetilação do carbono C-14 (**Figura 11**) (LEPESHEVA, 2011). Nesta reação podemos perceber a denominação do outro nome do CYP51 – esteróide 14 $\alpha$ -desmetilase (LEPESHEVA, 2006). Após várias outras modificações, o ergosterol (**15**) é produzido para desempenhar suas funções na membrana celular.



**Figura 11.** Biossíntese simplificada do ergosterol (**15**) a partir do lanosterol (**12**) de tripanosomatídeos (adaptado de LEPESHEVA, 2011).

Os inibidores da esteróide 14 $\alpha$ -desmetilase (CYP51) mais comuns, com comprovadas atividades antifúngicas na medicina e agricultura são da classe dos azóis (PETRIKKOS, 2007). Estes promovem o acúmulo de esteróides metilados tóxicos que comprometem a permeabilidade da membrana (COURNIA, 2007).

O efeito antiparasitário de azóis fungicidas em *T. cruzi* é bastante investigado por pesquisadores, tendo seu primeiro relato publicado por DOCAMPO, no início da década de 80 (DOCAMPO, 1981). A partir da elucidação da estrutura cristalina da CYP51 de alguns organismos, em 2010, o número de trabalhos publicados envolvendo esta enzima e o parasito *T. cruzi* mostra-se crescente (**Figura 12**), sugerindo que seja uma estratégia promissora ao tratamento desta parasitose. Na **Figura 13** podemos observar alguns antifúngicos triazólicos e entre estes, o posaconazol (**19**) e o ravuconazol (**20**) que se encontram na fase II da triagem clínica para o tratamento da Doença de Chagas (PINAZO, 2010; LEPESHEVA, 2011).

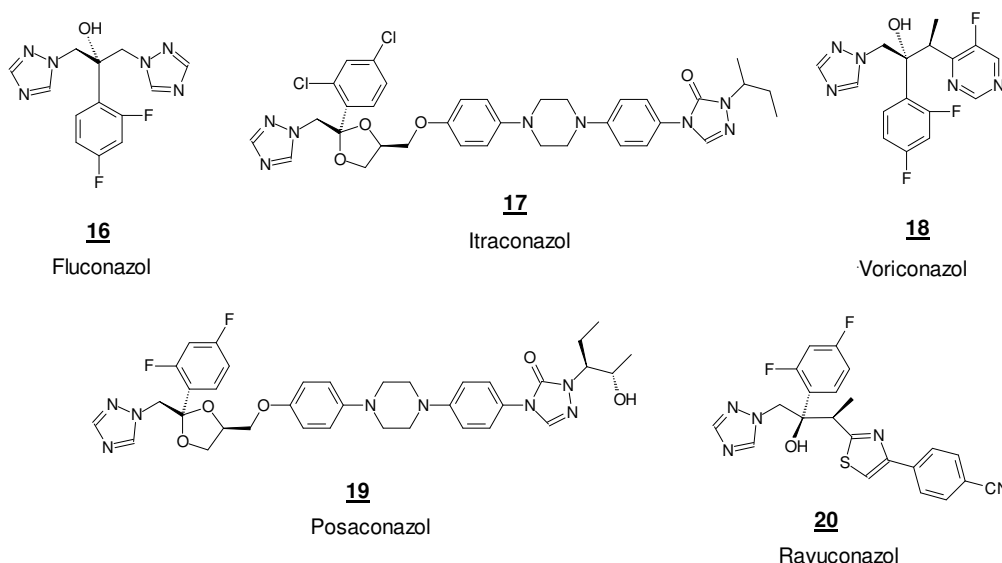


**Figura 12.** Artigos publicados no período de 2003 a 2013, contendo os termos “CYP51” e “*T. cruzi*” (SUETH-SANTIAGO, 2014; CHOI, 2014).

#### 1.4- ANTIFÚNGICOS

O Fluconazol (**16**, **Figura 13**) foi o primeiro fármaco da família dos azóis, utilizado para o tratamento de infecções fúngicas (BRAMMER, 1990; DONNICI, 2014). Sua frequente utilização acarretou no surgimento de resistência por parte de alguns fungos patogênicos, levando a necessidade do desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos (VANDEPUTTE, 2012).

O Itraconazol (**17**) é também bastante utilizado, especialmente no tratamento de infecções causadas por espécies do gênero *Aspergillus* e *Sporotrix*, sendo mais tóxico, embora menos susceptível ao desenvolvimento de resistência, quando comparado ao Fluconazol (**16**) (CASALINUOVO, 2004; DONNICI, 2014).



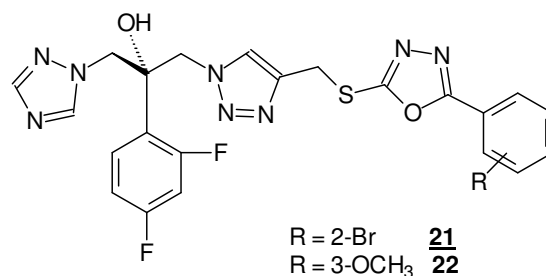
**Figura 13.** Triazóis antifúngicos

A nova geração de triazóis aprovados, menos susceptíveis ao desenvolvimento de resistência por parte dos fungos que o Fluconazol (**16**) e itraconazol (**17**) são: o Voriconazol (**18**), o Posaconazol (**19**) e o Ravuconazol (**20**). Estes são indicados a várias espécies fúngicas: *Candida*, *Aspegillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Scedosporium*, *Acremonium*, *Trichosporon* e *Cryptococcus neoformans* (CHIOU, 2000; SABO, 2000; DE-SARRO, 2008).

Além dos triazóis, há outra classe de heterociclos azólicos bastante promissora como alternativa estrutural ao combate às infecções fúngicas, que são os 1,3,4-oxadiazóis. Além da atividade antifúngica podemos encontrar na literatura diversas outras propriedades biológicas avaliadas *in vitro* e *in vivo*. Entre estas podemos citar: antiparasitária, antialérgica, antiviral, anticâncer, anti-inflamatória, antibacteriana, anti-HIV, anticonvulsivante, analgésica e hipoglicêmica (RAMAPRASAD, 2010; NAVEENA, 2010; LIAO, 2014).

Visando potencializar a atividade antifúngica do Fluconazol (**16**), LIAO (2014) e colaboradores sintetizaram uma série de análogos do Fluconazol com a incorporação do núcleo 1,3,4-oxadiazol. Os fungos avaliados frente a estes novos derivados foram: *Candida albican* (SC5314 e Y0109), *Cryptococcus neoformans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Trichophyton rubrum* e *Microsporium gypseum*. Apesar de todos os análogos sintetizados apresentarem efeito inibitório, os compostos **21** e **22** (Figura 14) foram os mais ativos, apresentando concentração mínima inibitória (CMI<sub>50</sub>) entre 16 a

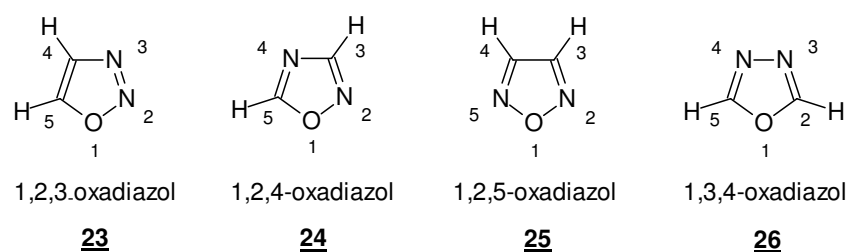
48 vezes mais ativos ( $CM_{50} \leq 0,125\mu\text{g/mL}$ , **21** e **22**) que os fármacos de referência – Fluconazol ( $CM_{50} \sim 2 \mu\text{g/mL}$ ) e Itraconazol ( $CM_{50} \sim 6 \mu\text{g/mL}$ ). A explicação deste efeito foi demonstrada pela melhor acomodação do fármaco no sítio ativo da CYP51 proposta por resultados de cálculos teóricos de *docking*. (LIAO, 2014).



**Figura 14.** Análogos do Fluconazol (**16**) contendo 1,3,4-oxadiazol com potencial antifúngico (LIAO, 2014).

## 1.5- OXADIAZÓIS

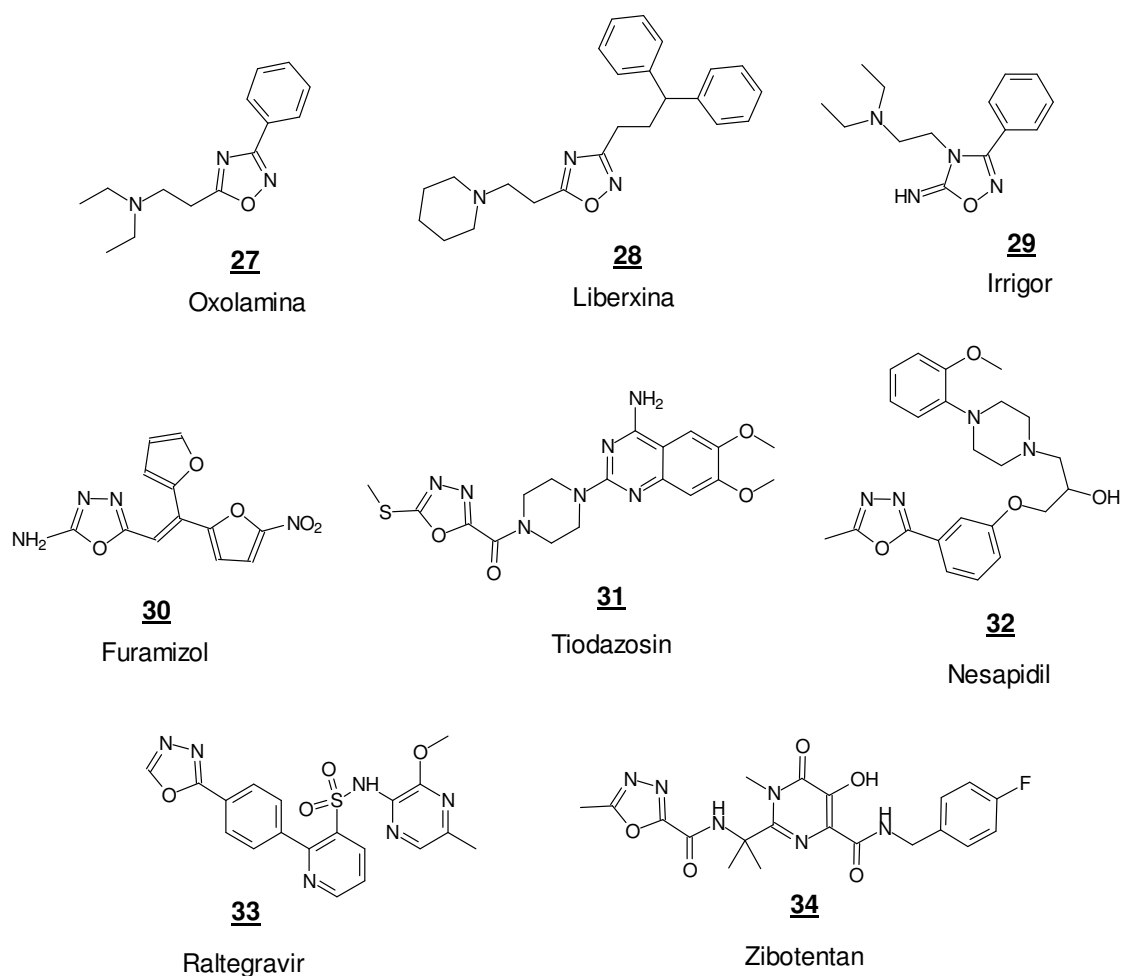
Os oxadiazóis são compostos orgânicos heterocíclicos contendo cinco membros, destes um é o átomo de oxigênio (“oxa”) e dois são átomos de nitrogênio (“diazol”). São conhecidos quatro isômeros desta classe (**Figura 15**). Apresentam baixo grau de aromaticidade, quando comparado ao heterociclo furano, logo são mais bem representados como sistemas conjugados (FREITAS, 2012; OLIVEIRA, 2012). Entre seus isômeros, os mais conhecidos são o 1,2,4-oxadiazol (**24**) e o 1,3,4-oxadiazol (**25**), pois são os mais explorados devido a suas propriedades químicas e biológicas (OLIVEIRA, 2012).



**Figura 15.** Isômeros dos oxadiazóis (FREITAS, 2012; OLIVEIRA, 2012).

Os primeiros fármacos da classe dos oxadiazóis, utilizados na década de 60, foram os 1,2,4-oxadiazóis: Oxolamina (**27**) e Libexina (**28**), como antitussígenos; e o

Irrigor (**29**), um vasodilatador e anestésico local (ELOY, 1966; HARSANYI, 1966; FREITAS, 2012). Para exemplos de fármacos da classe dos 1,3,4-oxadiazóis podemos citar: o Furamizol (**30**), utilizado como um antibiótico nitrofurânico (OGATA, 1971); o Tiodazosin (**31**) (VARDAN, 1983) e Nesapidil (**32**) (SCHLECKER, 1988), como anti-hipertensivos vasodilatadores; Raltegravir (**33**) (TEMESGEN, 2008), como inibidor HIV-integrase; e o Zibotentan (**34**) (JAMES, 2009; SCHELMAN, 2011), como agente antitumoral.



**Figura 16.** Fármacos da classe dos oxadiazóis.

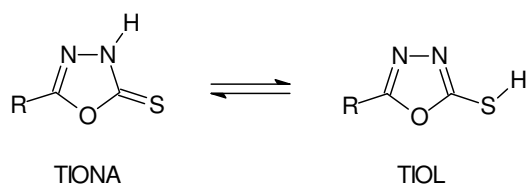
Nas últimas décadas, os heterociclos 1,3,4-oxadiazóis tem sido considerados na construção e desenvolvimento de novos fármacos (DABIRI, 2006; OLIVEIRA, 2012). Estudos indicam que este heterociclo se destaca como bioisótero de amidas e ésteres –

estratégia de modificação molecular empregada para conferir maior resistência a hidrólise no meio biológico, mantendo, ou até mesmo otimizando, as propriedades farmacofóricas do seu precursor (LEUNG, 2005; GUIMARAES, 2005; KUMAR, 2012; BOSTROM, 2012).

Segundo o trabalho de revisão de OLIVEIRA (2012), no período de 2002 a 2012, foram reportadas 2577 referências contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol, o que demonstra considerável relevância deste núcleo heterocíclico na síntese de novos candidatos a fármacos.

### 1.5.1- 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL

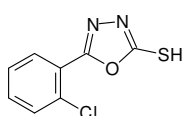
Um grande número de derivados do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona)-5-substituído foram reportados nos últimos anos. Nestes heterociclos há um tautomerismo do tipo tiol-tiona (**Figura 17**) e, dependendo das condições químicas e/ou estruturais, geralmente uma das formas é predominante (KOPARIR, 2005; OLIVEIRA, 2012).



**Figura 17.** Tautomerismo Tiol-Tiona em 1,3,4-oxadiazol (KOPARIR, 2005).

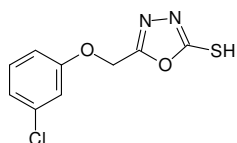
A **Figura 18** mostra derivados do núcleo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona), com diferentes substituintes na posição 5 do heterociclo, relacionando-os às suas respectivas atividades biológicas.



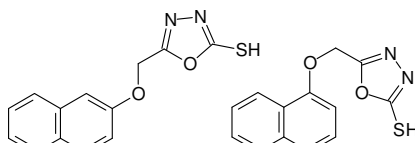


**35**

Fungicida (GRI, 1976)

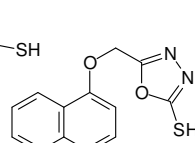


**36**

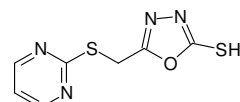


**37**

Fungicida / Bactericida (SAHN, 2002)



**38**



**39**

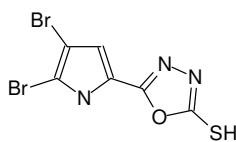
Fungicida (KAPLANCIKLI, 2011)



**40a-h**

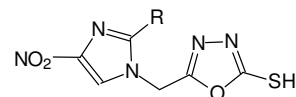
R<sub>1</sub> = 2-CF<sub>3</sub> (a); 2-CH<sub>3</sub>(b); 2-OCH<sub>3</sub>(c);  
2-F (d); 2-Br (e); 2,6-di-F (f);  
2,6-di-Cl (g); 2,3,4-tri-F (h)

Fungicida (XU, 2011)



**41**

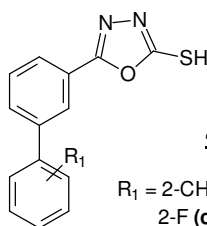
Fungicida / Bactericida  
(RANE, 2012)



**42a-b**

R = H (a); CH<sub>3</sub>(b)

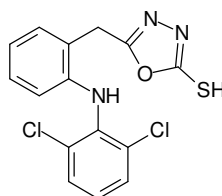
Bactericida (VOSOOGHI, 2005)



**43a-e**

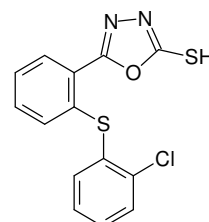
R<sub>1</sub> = 2-CH<sub>3</sub> (a); 2-OCH<sub>3</sub> (b);  
2-F (c); 3-Cl (d); 5-F (e)

Bactericida (RAMAPRASAD, 2010)



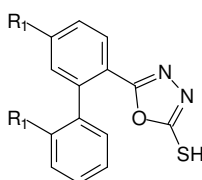
**44**

Analgésico / Anti-inflamatório  
(AMIR, 2004)



**45**

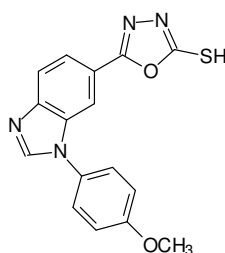
Analgésico (ALMASIRAD, 2011)



**46a-c**

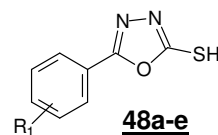
R<sub>1</sub> = H (a); Cl (b); F (c)

Anti-convulsivante / Relaxante muscular  
(ALMASIRAD, 2007)



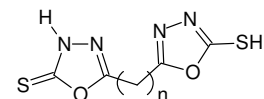
**47**

Inibidor de glicogênio sintase-quinase  
(SAITOH, 2009)



**48a-e**

R<sub>1</sub> = H (a); 3-OH (b); 4-OH (c);  
3-OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (d);  
4-OCH<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> (e);



**49a-c**

n = 0 (a); 1 (b); 3 (c)

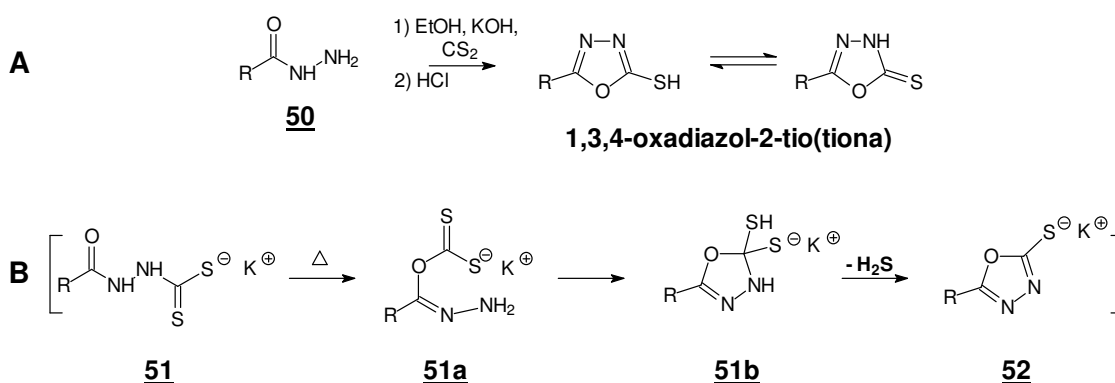
Inibidor de tirosinase  
(GHANI, 2010)

**Figura 18.** Estruturas contendo o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol com diferentes substituintes na posição 5 e suas respectivas atividades biológicas.

## 1.5.2- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL

### 1.5.2.1- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL-5-SUBSTITUIDOS

A principal estratégia sintética para obtenção deste heterociclo é a reação entre a acilhidrazida (**50**) e dissulfeto de carbono em uma solução alcalina alcoólica, seguida pela acidificação da mistura reacional (**Esquema 1, A**) (YOUNG, 1955). O dissulfeto de carbono deve ser adicionado à solução em banho de gelo para evitar a evaporação do mesmo. Segundo YOUNG (1955), um intermediário (**51**) é formado e após refluxo por algumas horas a reação de ciclização é concluída, gerando o heterociclo desprotonado (**52**, **Esquema 1, B**) que em meio ácido forma o 1,3,4-oxadiazol-2-tiol, como pode ser visto no **Esquema 1**.



**Esquema 1. A)** Síntese do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol a partir de acilhidrazinas (**50**) e **B)** Reação do intermediário **51** durante a ciclização intramolecular (YOUNG, 1955).

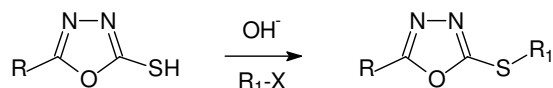
Apesar de ter sido descrita originalmente há quase 60 anos (YOUNG, 1955), esta mesma técnica continua sendo aplicada para a síntese deste heterociclo, que é obtido em rendimentos satisfatórios, como foi o caso das estruturas mostradas na **Figura 18**.

Apesar de se apresentarem bastante úteis como unidade farmacofórica, *per se*, estes heterociclos também permitem modificações estruturais, tanto no enxofre (*S*-2) quanto no nitrogênio (*N*-3). Esta característica torna a estrutura mais versátil como

precursora de derivados com grande diversidade estrutural permitindo assim o estudo da relação estrutura atividade (*REA*).

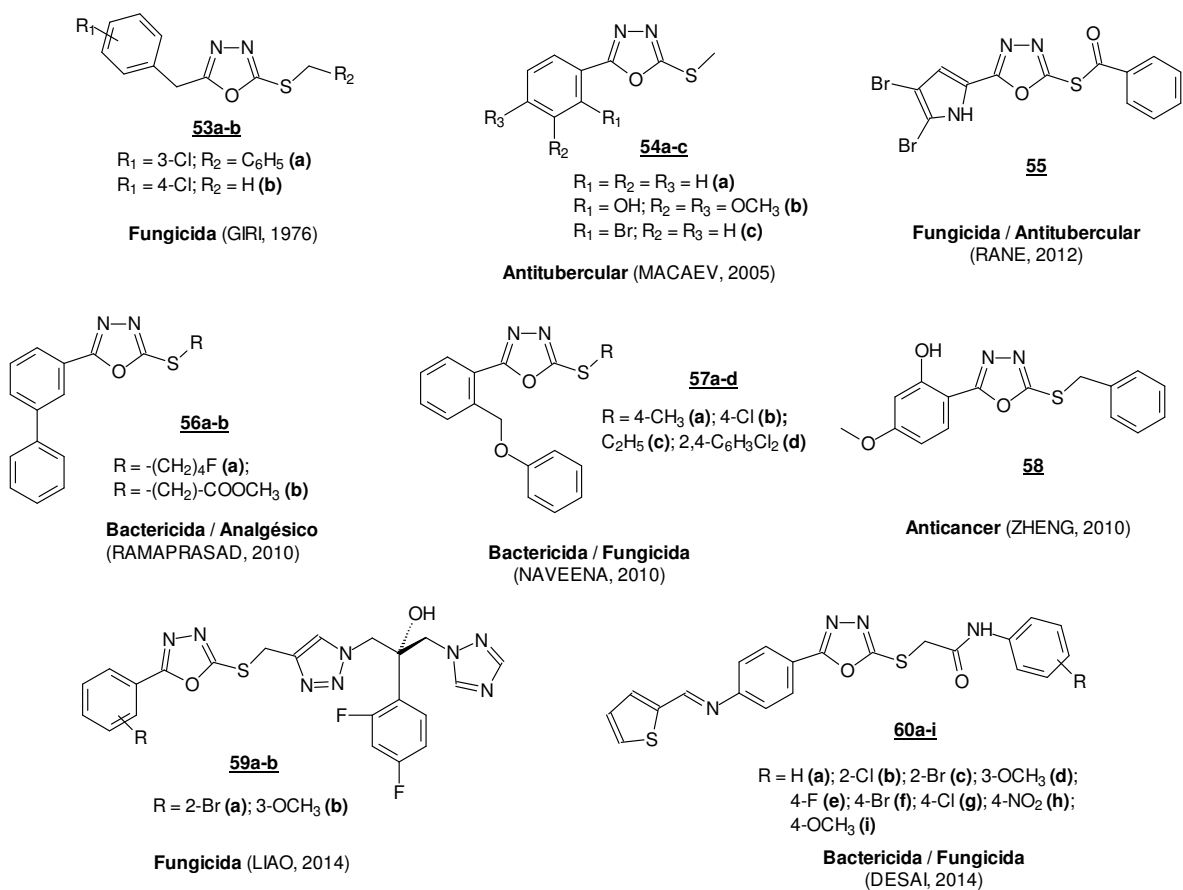
### 1.5.2.2- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIO-SUBSTITUIDOS (*S*-SUBSTITUÍDOS)

A síntese dos derivados *S*-substituídos pode ser feita através da reação entre o heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona) e haletos de alquila ou arila em meio básico (**Figura 19**). Em meio básico o enxofre é desprotonado, tornando-se mais reativo para a reação de substituição nucleofílica ( $S_N2$ ) com o haleto correspondente. Segundo GIRI (1976) estes derivados são conhecidos desde a década de 60 e são produzidos com rendimentos bastante satisfatórios. (RUSSO, 1967; GIRI, 1976).



**Figura 19.** Síntese de derivados *S*-substituídos em 1,3,4-oxadiazol-2-tiol

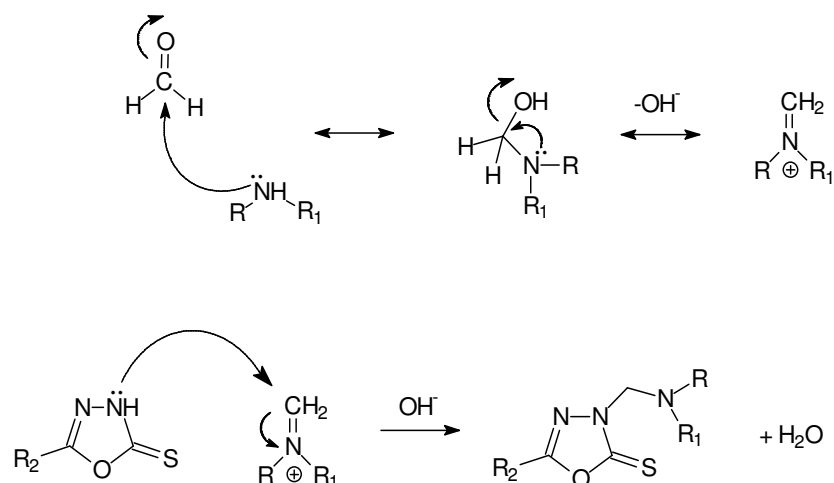
Esta mesma técnica continua sendo aplicada atualmente na síntese de estruturas destinadas a inúmeras atividades biológicas, como pode ser visto na **Figura 20**.



**Figura 20.** Derivados S-substituídos de 1,3,4-oxadiazol-2-tiol e suas respectivas aplicações biológicas

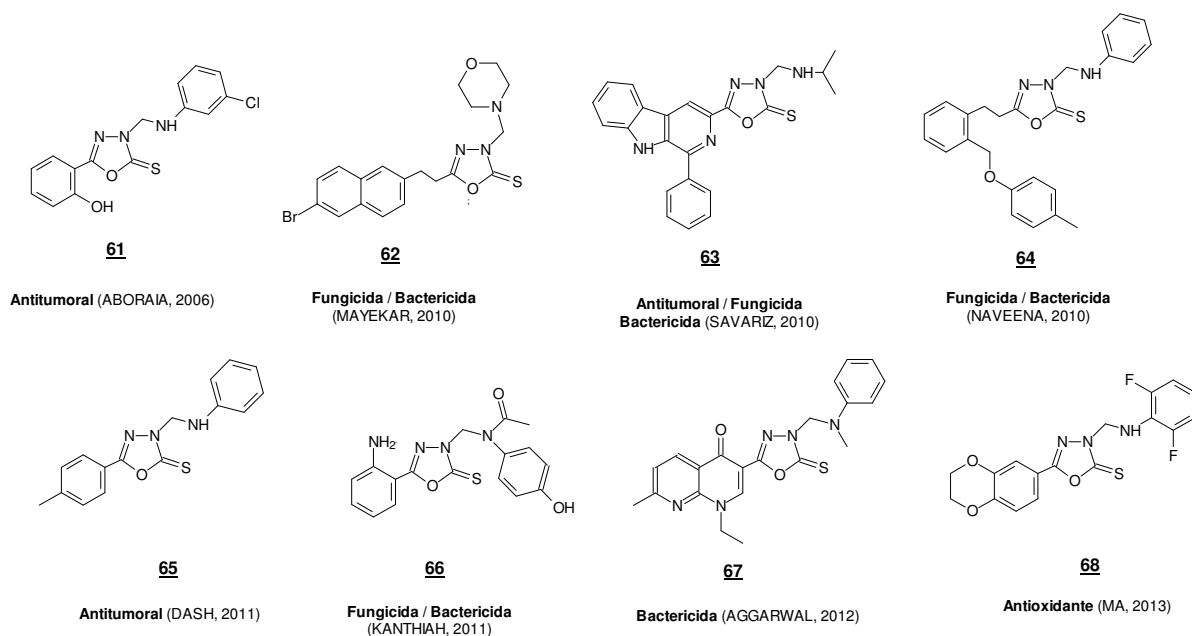
### 1.5.2.3- SÍNTESE DE HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA-3-N-SUBSTITUÍDOS

A principal estratégia na síntese de derivados *N*-substituídos em 1,3,4-oxadiazol-2-tiol é a reação de *Mannich*. Esta reação ocorre pela condensação entre três componentes (**Esquema 2**): o heterociclo contendo hidrogênio reativo, formaldeído ( $CH_2O$ ) e aminas – primárias ou secundárias (BLICKE, 1942; SIEGER, 1971).



**Esquema 2.** Mecanismo da reação de *Mannich* adaptada para 1,3,4-oxadiazol-2-tionas (BLICKE, 1942; SIEGER, 1971).

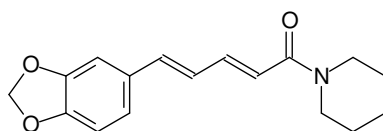
A amino-alkilação de substratos aromáticos pela reação de *Mannich* é considerada uma técnica importante na síntese e na modificação de estruturas biologicamente ativas (TRAMONTINI, 1990; NAVEENA, 2010; MA, 2013). A **Figura 21** mostra algumas estruturas sintetizadas, nos últimos anos, pelo método da reação de *Mannich* e suas respectivas aplicações biológicas.



**Figura 21.** Estruturas sintetizadas pela reação de Mannich derivadas de 1,3,4-oxadiazol-2-tiol

## 1.6- PROTÓTIPO NATURAL: PIPERINA

A amida natural piperina **69** (amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2*E*-4*E*-pentadienóico - **Figura 22**) é o principal constituinte químico, bioativo, presente em *Piper nigrum* (Piperaceae), ocorrendo em maior proporção nos frutos da planta (SEMLER, 1988). *Piper nigrum* (popularmente conhecida como “pimenta do reino”) tem seu uso bastante difundido na medicina popular da Índia, país de onde é originária, sendo que no Brasil, seu principal uso é como condimento (FERREIRA, 2012). A pimenteira do reino apresenta grande produtividade de frutos, podendo ser colhidos até três vezes ao ano, e é um dos condimentos mais valorizados no mundo, apresentando grande valor econômico, permitindo que a atividade desenvolvida pelos produtores proporcione alta rentabilidade (LIMA, 2010; LOURINHO, 2014).



**69**

**Figura 22.** Piperina, principal constituinte bioativo de *Piper nigrum*

Apesar de ser considerada aqui uma planta exótica, o Brasil é um dos grandes produtores mundiais de pimenta do reino. O cultivo no Brasil foi estimulado por imigrantes japoneses, instalados no Estado do Pará no início da década de 30. A partir de 1950 o Brasil tornou-se autossuficiente e nos anos de 1980 a 1983 tornou-se o maior produtor e exportador mundial de pimenta do reino. Atualmente o Brasil oscila entre o segundo e terceiro lugar na posição de mercado mundial (LOURINHO, 2014). Segundo o IBGE, o Estado do Pará é responsável por quase 84% da produção Brasileira. Depois deste, o Espírito Santo responde por mais de 10% desta produção. Segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO) a maior produção total nacional registrada até o momento foi de 83 toneladas, em 1991 (FAO, 2014).

Outro ponto relevante em relação a esta planta é a abundância da piperina, principalmente nos frutos secos da planta, que pode ser extraída com rendimentos que variam entre 3 a 7% (IKAN, 1991). Como sua maior ocorrência é nos frutos, a pimenta

do reino constitui-se como uma fonte renovável para esta substância, visto que com manejo adequado pode-se realizar várias colheitas do fruto no ano sem comprometer a planta (FERREIRA, 2012).

### 1.6.1. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE *Piper nigrum*

A utilização da pimenta do reino como condimento é tão antiga quanto o conhecimento de suas propriedades inseticidas, que foram cientificamente constatadas apenas em 1924 (ESTRELA, 2003). Desde então, várias pesquisas foram desenvolvidas com o intuito de se identificar as substâncias responsáveis por esta e outras atividades de *P. nigrum*. Como a piperina é a piperamida que ocorre em maior proporção na planta, esta se tornou o principal alvo de diferentes avaliações biológicas (PARMAR, 1997; SRINIVASAN, 2007). Na **Tabela 1** estão sumarizadas algumas destas atividades (FERREIRA, 2012).

**Tabela 1.** Algumas atividades biológicas exibidas pela piperina

<b>Atividades Biológicas</b>
Amebicida
Anticonvulsivante
Antidepressiva
Antifúngica
Anti-inflamatória
Antitumoral
Antimalárica*
Hepatoprotetora
Inseticida
Inibição da resistência bacteriana
Leishmanicida
Protetora do SNC**
Reguladora do metabolismo lipídico
Tripanocida

\* *Em associação com outros fármacos*

\*\* *Sistema Nervoso Central*

Na Índia, o uso de pimentas da espécie *Piper* para o tratamento de doenças intestinais é bastante antigo. Isto estimulou a investigação da atividade antiparasitária de algumas destas espécies. Em 1993, Kapil relatou a atividade leishmanicida, *in vitro*, da piperina sobre cepas de *Leishmania donovani*, tendo a amida natural apresentando atividade comparável a da pentamidina – fármaco indicado para o tratamento da leishmaniose (KAPIL, 1993). Após alguns anos, a piperina foi avaliada *in vivo*, tendo sido evidenciada a sua capacidade de diminuir significativamente a parasitemia em animais infectados com *L. donovani* e *L. amazonensis* quando tratados com baixas concentrações da amida natural (RAAY, 1999; FERREIRA, 2011).

RIBEIRO e colaboradores avaliaram a atividade de outro parasito da família dos Tripanossomatídeos e constataram que tanto a piperina quanto alguns derivados da amida natural apresentaram efeito inibitório contra o protozoário *Trypanosoma cruzi* – agente etiológico da Doença de Chagas (RIBEIRO, 2004).

O aumento da biodisponibilidade de outros fármacos quando administrados em associação com a piperina, sem dúvida, é uma das atividades biológicas mais intrigantes desta substância. Este efeito é observado quando alguns medicamentos são coadministrados com a amida natural, traduzindo-se numa maior concentração plasmática dos mesmos. Tal efeito foi constatado em estudos com a vasicina, a esparteína (ATAL, 1981), o propranolol, a teofilina, a fenitoína (BANO, 1991), nimesulida (GUPTA, 1998), a curcumina (SHOBA, 1998), nevirapina, pirazinamida e carbamazepina (OLIVEIRA, 2014). A maioria dos trabalhos relata um aumento de 100% (ou mais) na concentração de tais substâncias na corrente sanguínea. As razões levantadas para este efeito, segundo a maioria dos autores são:

- Alterações na permeabilidade das células epiteliais do trato gastrointestinal, facilitando a absorção dos fármacos (JOHRI, 1992);
- Influência na glicuronidação – uma das etapas mais importante na biotransformação de compostos xenobióticos (metabolismo de fase II) (REEN, 1993);
- Influência na atividade da tripsina, amilase e lipase pancreática (PLATEL, 2000);
- Atuação sobre enzimas hepáticas metabolizantes (ATAL, 1985), monooxigenases hepáticas, dependentes de citocromo P450 (KOUL, 2000; MEGHWAL, 2013).
- Interação mais seletiva, que os fármacos associados, pelo citocromo CYP3A4 – uma das enzimas da família do CYP450 humano, envolvida no metabolismo de



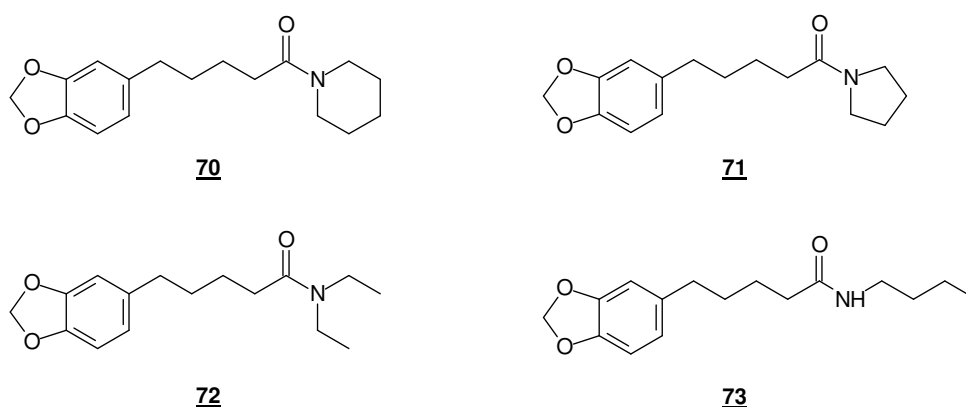
mais de 50% dos fármacos e outros xenobióticos (JAYAKANTHAN, 2010; OLIVEIRA, 2014).

A grande vantagem ressaltada em todos os trabalhos para o aumento da biodisponibilidade de fármacos está na possibilidade da utilização de uma rota alternativa de administração destes medicamentos, por via oral, evitando assim a via parenteral, que é mais dolorosa e invasiva, além de permitir o uso de doses menores dos fármacos coadministrados com piperina (RIBEIRO, 2004). A coadministração com piperina valoriza a administração por via oral, visto que a absorção é facilitada e o metabolismo hepático de primeira passagem é reduzido.

### 1.6.2- MODIFICAÇÕES ESTRUTURAIS NA PIPERINA

Encontra-se na literatura diversas atividades biológicas associadas à piperina, entre estes trabalhos destacamos aqui alguns, que além de evidenciarem o efeito da piperina, mostram também o efeito de derivados e análogos, visando traçar um perfil de relação estrutura atividade (*REA*) para os modelos estudados.

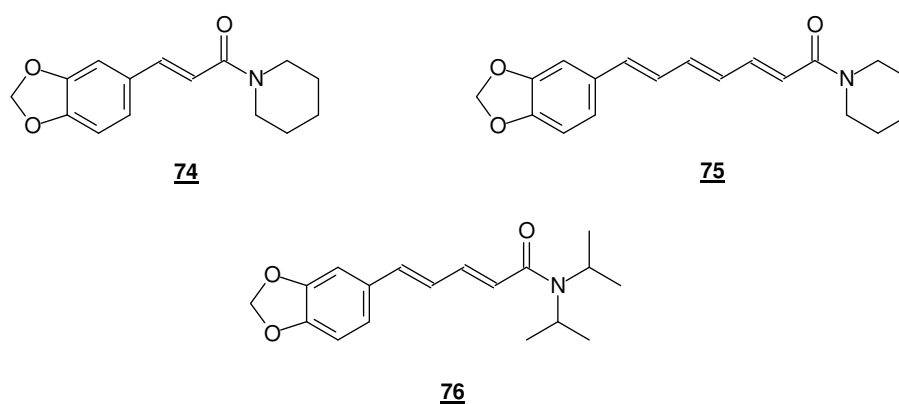
KOUL e colaboradores demonstraram que a piperina e derivados inibem enzimas hepáticas (oxigenases), dependentes do citocromo P450. Neste estudo foi observado que a saturação da cadeia lateral da piperina resultou em um derivado (**70**, **Figura 23**) com maior inibição enzimática, enquanto que, nas modificações do anel aromático e na função amídica foram poucos os derivados que demonstraram seletividade em inibir a atividade das oxigenases estudadas (KOUL, 2000).



**Figura 23.** Estruturas químicas dos derivados da piperina que demonstraram melhor efeito inibitório nas oxigenases hepáticas estudadas.

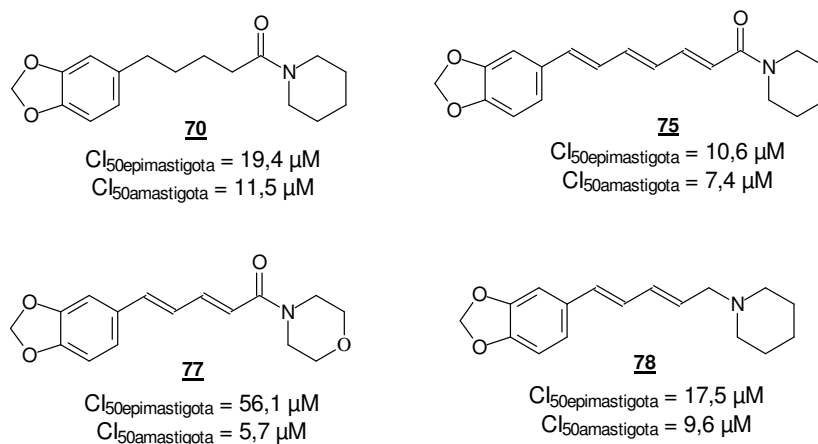
VENKATASAMY e colaboradores sintetizaram uma série de análogos e derivados da amida natural para avaliar suas atividades frente à proliferação de melanócitos, reportada anteriormente pela piperina (LIN, 1999; VENKATASAMY, 2004).

A perda progressiva dos melanócitos e a despigmentação da pele ocasiona o vitiligo, doença cutânea não contagiosa que atinge cerca de 1% da população mundial, variando de 0,1-2% em diferentes países. A **Figura 24** mostra alguns exemplos de compostos modificados sinteticamente que estimularam a proliferação de melanócitos, indicando a piperina como precursora de novos protótipos no tratamento do vitiligo (VENKATASAMY, 2004).



**Figura 24.** Exemplos de análogos sintéticos da piperina que apresentaram potencial para o tratamento do vitiligo (VENKATASAMY, 2004).

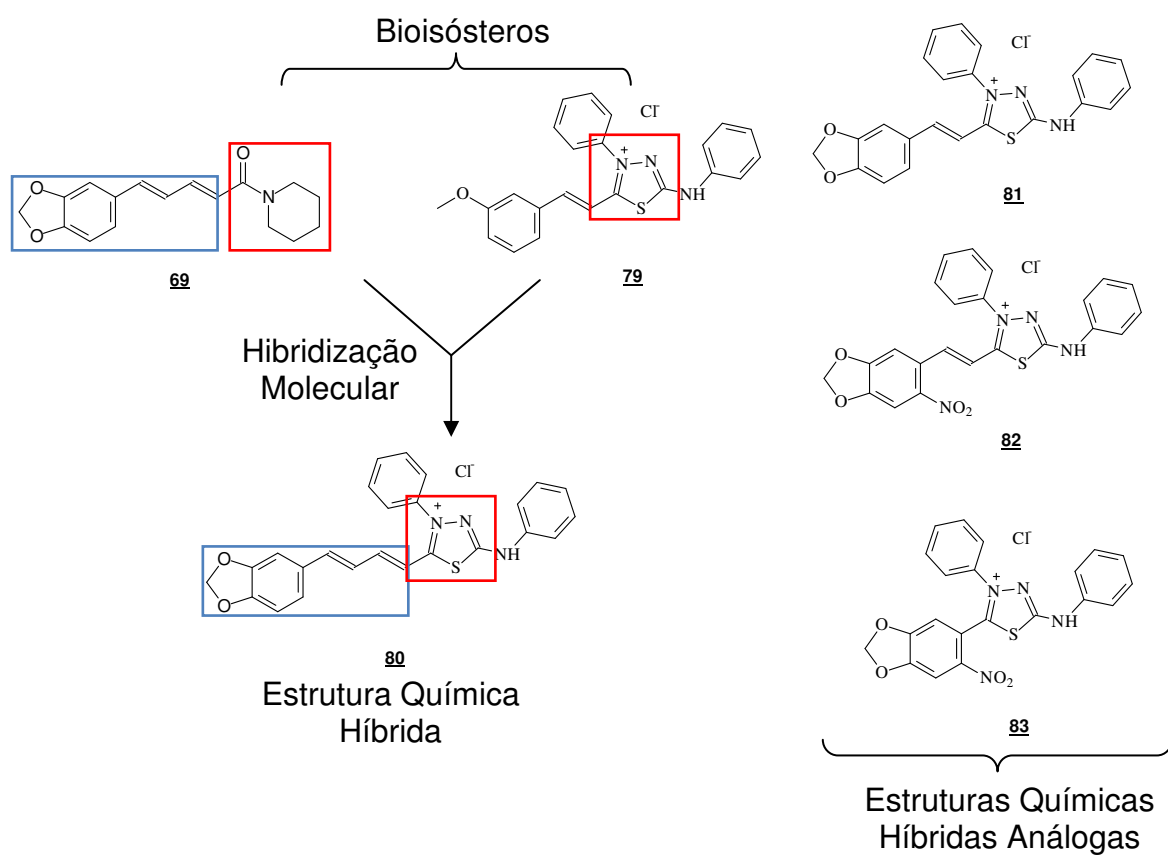
RIBEIRO e colaboradores (2004) sintetizaram uma série de análogos e derivados da amida natural visando avaliar a atividade antiparasitária anteriormente reportada pela piperina sobre *Leishmania donovani* (KAPIL, 1993; RAAY, 1999; RIBEIRO, 2004). A avaliação da atividade antiparasitária foi realizada contra diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*, *in vitro* e os resultados obtidos mostraram que a piperina ( $CI_{50epimastigota} = 7,3 \mu\text{M}$  e  $CI_{50amastigota} = 4,9 \mu\text{M}$ ) e alguns derivados apresentaram efeitos semelhantes ao benzonidazol ( $CI_{50epimastigota} = 2,2 \mu\text{M}$  e  $CI_{50amastigota} = 2,5 \mu\text{M}$ ) – fármaco utilizado como referência. A **Figura 25** mostra alguns exemplos de derivados de modificação estrutural que apresentaram atividades biológicas mais relevantes e suas concentrações inibitórias ( $CI_{50}$ ) avaliadas em *T. cruzi*. Com este estudo foi verificado que a presença do átomo de nitrogênio é importante na estrutura para influenciar a atividade tripanocida, quando comparados aos demais derivados não nitrogenados, avaliados frente às diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*.



**Figura 25.** Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica ao *T. cruzi* (RIBEIRO, 2004).

FERREIRA e colaboradores sintetizaram uma série de derivados e análogos da amida natural, visando avaliar as atividades antiparasitárias anteriormente reportadas, tanto pela piperina quanto pelo cloridrato mesoiônico cinâmico (**79**) contra *Leishmania amazonensis* (SILVA, 2002; FERREIRA, 2008). A estratégia de modificação molecular utilizada por FERREIRA (2008) foi a hibridação molecular (VIEGAS-JUNIOR, 2007) tendo o heterociclo mesoiônico, um azol da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas, como unidade farmacofórica adicionada ao protótipo natural – substituindo a função amida piperidínica. Os derivados e análogos sintetizados apresentaram ainda modificações na cadeia olefínica, variando seu tamanho e saturação dos mesmos além de nitração no anel aromático (metilenodioxifenil), já que é um grupo funcional presente nas estruturas dos fármacos de referência (benzonidazol e nifurtimox). Com estes compostos foram avaliadas a atividade *in vitro* e *in vivo* contra as diferentes formas do parasito do *T. cruzi*. A estrutura **80** representa o derivado que apresentou a melhor atividade inibitória, incluindo uma baixa citotoxicidade, frente a macrófagos murinos, e é a estrutura mais semelhante à piperina entre todos os outros derivados ( $CI_{50epimastigotas} = 10,8 \mu M$ ,  $CI_{50tripomastigotas} = 6,7 \mu M$ ,  $CI_{50amastigotas} = 1,3 \mu M$  e  $DL_{50} = 38,5 \mu M$ ). Apesar de serem ativos, os derivados nitrados (**82** e **83**) apresentaram maior citotoxicidade nas concentrações inibitórias avaliadas contra o parasito (FERREIRA, 2008). A **Figura 26** mostra alguns exemplos de compostos modificados sinteticamente que apresentaram atividades biológicas mais significativas e o cloridrato mesoiônico Leishmanicida **79**, ressaltando a estratégia utilizada no planejamento destes novos derivados. Já a **Tabela 2** mostra os valores da concentração inibitória ( $CI_{50}$ )

para diferentes formas evolutivas do *T. cruzi* e a dose letal (DL<sub>50</sub>) em macrófagos murinos tratados com os cloridratos mesoiônicos mais ativos, a amida natural (**69**) e o benzonidazol (**2**).



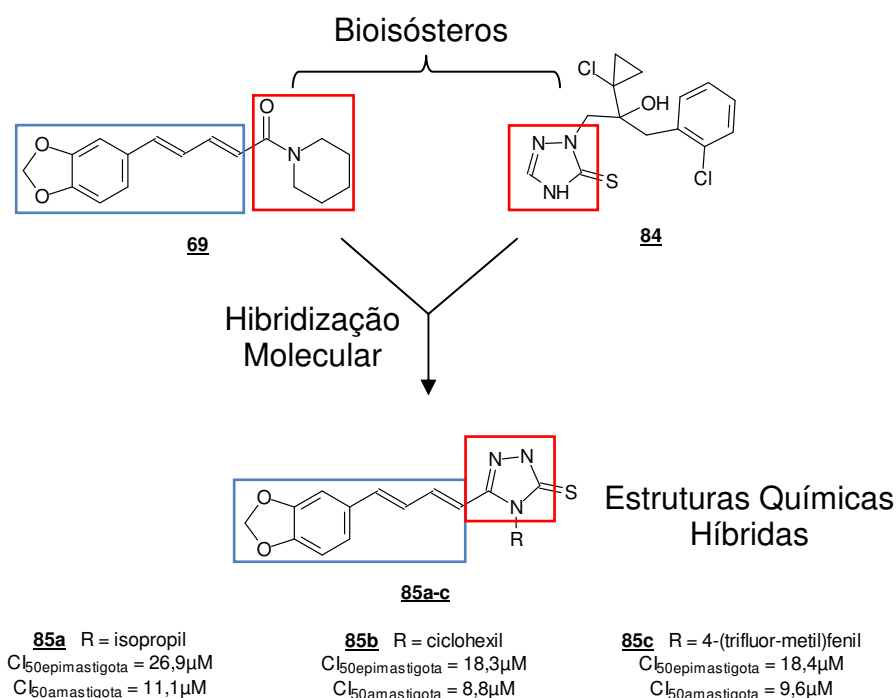
**Figura 26.** Compostos mesoiônicos com atividade antiparasitária: **79** (Leshmanicida) e **80-83** (Tripanocidas) (SILVA, 2002; FERREIRA, 2008).

**Tabela 2.** Valores da concentração inibitória (CI<sub>50</sub>) contra epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas de *T. cruzi* e a dose letal (DL<sub>50</sub>) frente a macrófagos murinos tratados com os cloridratos mesoiônicos **80-83**, a amida natural (**69**) e o benzonidazol (**2**).

Substâncias	CI <sub>50</sub> (μM)			DL <sub>50</sub> (μM)
	Epimastigota	Tripomastigota	Amastigota	Citotoxicidade*
<b>69</b>	7,3	**	4,9	20
<b>80</b>	10,8	6,7	1,3	38,5
<b>81</b>	4,1	**	***	1,9
<b>82</b>	0,6	**	***	1
<b>83</b>	13,4	**	***	6,6
<b>2****</b>	2,2	6,6	2,5	***

\*Citotoxicidade para macrófagos murinos; \*\*Maior que a concentração máxima permitida; \*\*\*Não testado; \*\*\*\*Fármaco de referência.

Em trabalho posterior, do mesmo grupo, FRANKLIM e colaboradores sintetizaram derivados da piperina, utilizando como estratégia de modificação estrutural a hibridação molecular, tendo o heterociclo azol da classe das 1,2,4-triazóis-3-tionas como unidade farmacofórica, adicionada ao protótipo natural – substituindo a função amida piperidínica (FRANKLIM, 2013). Os derivados sintetizados apresentavam diferentes substituintes no *N-4* do heterociclo azólico, visando variar parâmetros eletrônicos e lipofílicos. A utilização deste heterociclo foi inspirada na estrutura do protioconazol (**84**), fármaco com atividade antifúngica, que possui como mecanismo de ação a inibição da enzima CYP51 (mais detalhes **secção 1.4**, página 12), responsável pela síntese de esteróides presentes na membrana celular de eucariotos (FRANKLIM, 2013). A **Figura 27** mostra a estrutura da amida natural (**69**), as estruturas dos compostos modificados sinteticamente que apresentaram atividades inibitórias mais relevantes contra o *T. cruzi*, com seus respectivos valores de concentração inibitória (CI<sub>50</sub>) em diferentes formas evolutivas do *T. cruzi*, além da estrutura do antifúngico protioconazol (**84**), ressaltando a estratégia utilizada no planejamento destes novos derivados.



**Figura 27.** O protoconazol (**84**) antifúngico, derivados triazólicos (**85a-c**) com atividade tripanocida e seus respectivos valores de concentração inibitória (FRANKLIM, 2013).

A síntese de derivados e as avaliações biológicas realizadas por RIBEIRO (2004), FERREIRA (2008; 2011) e FRANKILIM (2013), incluindo este trabalho, fazem parte de um projeto de pesquisa em Química Medicinal (UFRRJ) que visa à utilização da amida natural **69**, abundante e acessível, como protótipo na obtenção de novos candidatos a fármacos para o tratamento da DC e também, a partir deste trabalho, infecções fúngicas focalizando principalmente o fungo *Cryptococcus neoformans*. A estratégia de sintetizar derivados com atividade dupla (tripanocida e fungicida), tendo a piperina como protótipo está diretamente relacionada às propriedades biológicas desta amida natural (**Tabela 1**), que atua na inibição de enzimas do sistema microssomal hepático, ou seja, citocromos (CYP's), responsáveis pelo metabolismo de xenobióticos e biossíntese de esteróides de membrana (FERREIRA, 2012; OLIVEIRA, 2012). Somando o fato que heterociclos azólicos são descritos também como inibidores de CYP's, em especial CYP51 (LEPESHEVA, 2006 e 2011), funcionando como alvos específicos para fungos e tripanossomatídeos. Isto elege os derivados e análogos da piperina contendo estes heterociclos ao *status* de potenciais candidatos para ensaios de atividades antifúngicas e antichagásica.

## 2- OBJETIVOS

- Realizar modificações estruturais na piperina, utilizando a estratégia de hibridação molecular, através da substituição da amida piperidínica pelo heterociclo 1,3,4-oxadiazól-2-tiol;
- Realizar a síntese de análogos do híbrido piperínico;
- Sintetizar derivados do híbrido piperínico com modificações nas posições *S*-2 e *N*-3 do heterociclo azólico;
- Realizar ensaios biológicos, *in vitro*, com os produtos sintetizados: *C. neoformans* e epimastigotas de *T. cruzi*;
- Realizar um estudo de *REA* para identificar a modificação estrutural mais eficiente do(s) derivado(s) ou análogo(s) mais ativo(s);
- A partir dos dados obtidos, propor novas modificações estruturais que possam aperfeiçoar a atividade antifúngica e antichagásica.

## 3- JUSTIFICATIVAS

A utilização de produtos naturais na síntese de fármacos tem sido uma das estratégias mais aplicadas ao desenvolvimento de novos fármacos (NEWMAN, 2012). A piperina, por exemplo, pura ou associada a outros fármacos, segundo alguns autores apresentam inúmeras atividades biológicas incluindo a antifúngica e antichagásica (SRINIVASAN, 2007; FERREIRA, 2012).

O fungo capsulado *C. neoformans* apesar de descrito a mais de um século, vem sendo destacado nas últimas décadas por ser considerado mortal em pacientes imunossuprimidos. Estes fungos afetam principalmente pacientes transplantados em recuperação e HIV-positivo (STEENBERGEN, 2003). A utilização indiscriminada de antifúngicos gera resistência adaptativa, por parte dos fungos. Neste sentido a introdução de novas estruturas aliado ao conhecimento de novos alvos apresenta-se como uma importante alternativa no desenvolvimento de novos inibidores para o tratamento desta micose mortal (LEPESHEVA, 2011; VANDEPUTTE, 2012).

A doença de Chagas, por sua vez, apesar de descrita desde 1909 por Carlos Chagas (CHAGAS, 1909), possui apenas dois fármacos para o seu tratamento (Benzonidazol e Nifurtimox). Estes fármacos, além de apresentarem elevadas

toxicidades só apresentam eficiência no estágio inicial da doença. Dois fatores que explicam a negligência no tratamento desta doença são: a complexa capacidade de diferenciação do parasito no hospedeiro e vetor; e a principal faixa econômica de pessoas afetadas pelo parasito, que não estimula a indústria farmacêutica (RIBEIRO, 2004).

A síntese de fármacos para o tratamento da DC vem sendo beneficiada pelo conhecimento do sequenciamento de genomas. A elucidação da estrutura de inibidores mais seletivos ao parasito torna o tratamento mais seguro e específico (LEPESHEVA, 2011). Recentemente heterociclos azólicos com atividades antifúngicas foram descritos com potencial antichagásico, sendo os únicos a chegar à fase II de triagens para o tratamento da DC (PINAZO, 2010). Pesquisadores indicam a influência de um alvo específico, a CYP51. Esta enzima, da família do citocromo P450, quando inibida desestrutura o funcionamento adequado da membrana, ocasionando a morte celular (COURNIA, 2007).

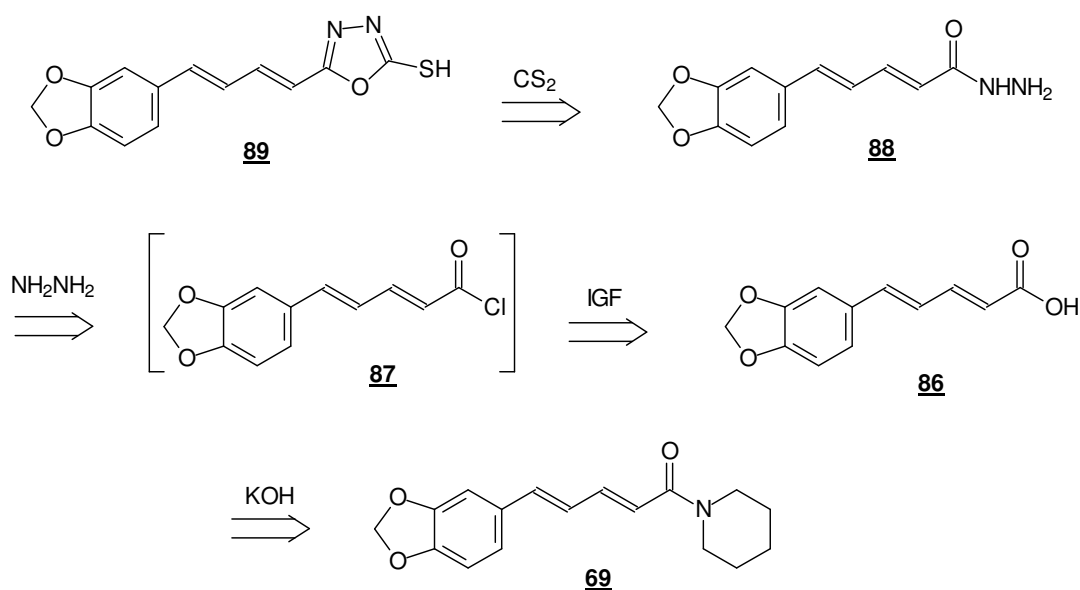
O heterociclo 1,3,4-oxadiazól-2-tiol, proposto neste trabalho, além de funcionar como bioisómero de amidas e ésteres é descrito na literatura como fármaco na estrutura de antifúngicos e inibidores de CYP51 (DE-SARRO, 2008). A hibridação deste heterociclo com o produto natural é uma abordagem aparentemente promissora que permitirá avaliar o efeito antifúngico e antichagásico dos derivados obtidos. Outra vantagem da utilização deste azól está na possibilidade de serem realizadas modificações estruturais no heterociclo (*S*-2 e *N*-3), permitindo o acesso a famílias de derivados com grande diversidade estrutural (NAVEENA, 2010; LIAO, 2014). Esta possibilidade permite a avaliação da *REA*.



#### 4- PLANEJAMENTO

A síntese dos heterocíclis 1,3,4-oxadiazólio, derivados e análogos da amida natural **69**, será realizada utilizando metodologias sintéticas conhecidas na literatura (AMIR, 2004; ALMASIRAD, 2007 e 2011). Estes derivados serão sintetizados visando aperfeiçoar e aumentar o número de estruturas obtidas pelo nosso grupo de pesquisa para estudos de relação estrutura-atividade (*REA*), principalmente análogos dos derivados 1,3,4-oxadiazólio-2-tiol, com variação na quantidade de carbonos olefínicos, presença ou não de insaturações na cadeia, além dos derivados com substituições no enxofre (*S*-2) e nitrogênio (*N*-3).

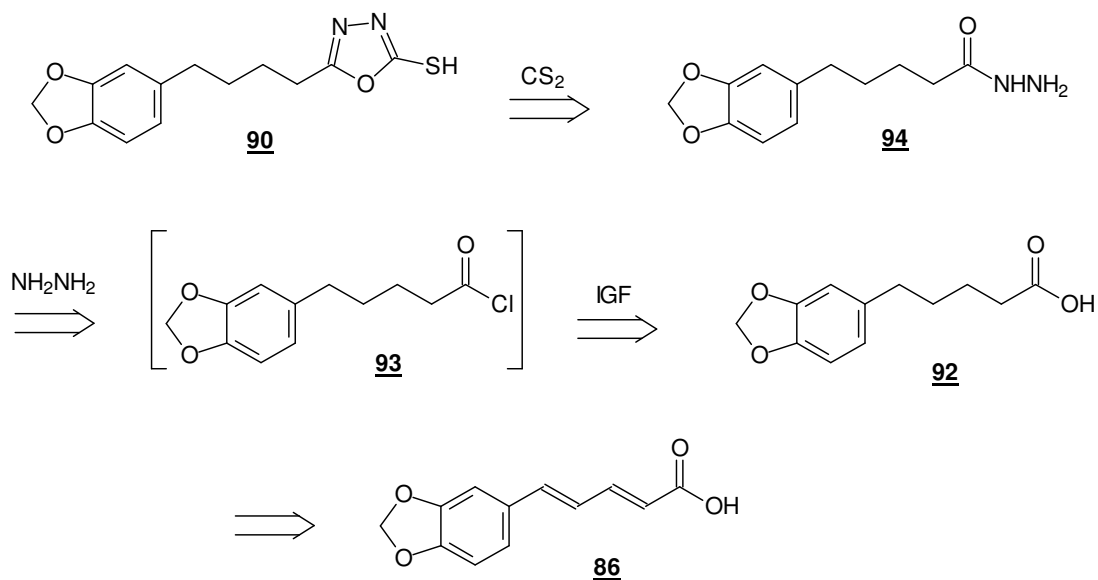
A preparação do intermediário 1,3,4-oxadiazol **89** pode ser realizada através do tratamento da acilidrazina **88** com dissulfeto de carbono em meio alcalino alcoólico sob refluxo (AMIR, 2004) (**Esquema 3**). A acilidrazina **88** pode ser preparada a partir da formação do respectivo cloreto de ácido **87**, pela interconversão de grupo funcional (IGF), seguido de uma reação de  $S_NAC$  com hidrato de hidrazina. E o ácido piperínico **86** pode ser obtido através da hidrólise alcalina da amida natural **69**.



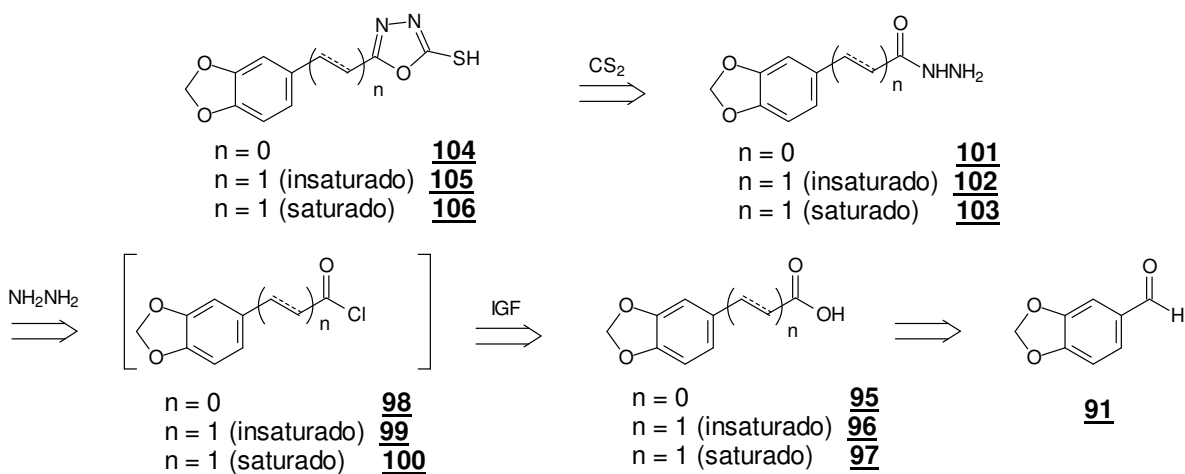
**Esquema 3.** Obtenção do 1,3,4-oxadiazol (**89**) derivado híbrido da piperina (**69**).

Seguindo a mesma estratégia sintética descrita no **Esquema 3**, outros derivados e análogos podem também ser preparados, através da variação da estrutura da acilidrazina (preparada a partir dos respectivos ácidos), empregadas na etapa de

ciclização. No **Esquema 4**, pode ser observada a estratégia para a síntese do derivado saturado (**90**) do híbrido piperínico, pela hidrogenação catalítica do ácido piperínico **86**, e no **Esquema 5** encontram-se as estratégias utilizadas na obtenção dos 1,3,4-oxadiazóis, análogos da piperina **69**, derivados do piperonal (**91**).



**Esquema 4.** Obtenção do 1,3,4-oxadiazol derivado saturado (**90**) do híbrido piperínico.

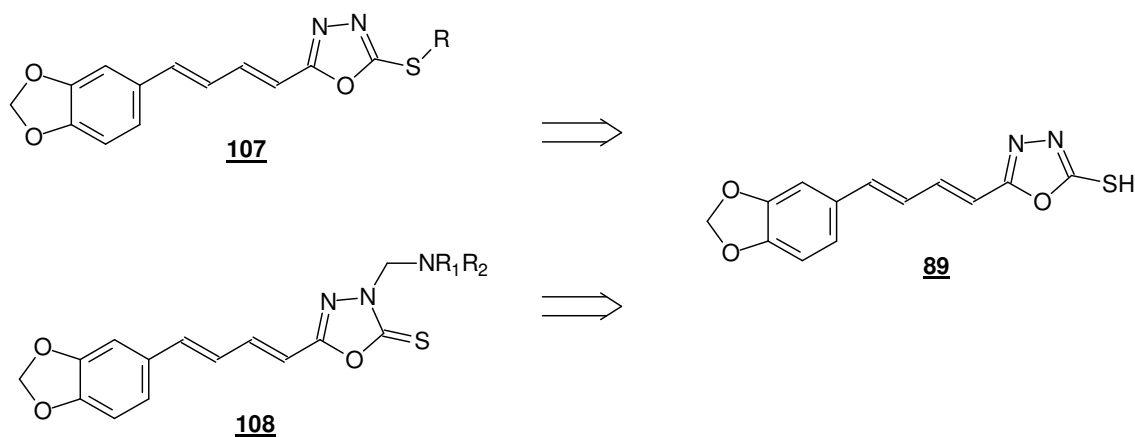


**Esquema 5.** Obtenção do 1,3,4-oxadiazol-2-tiol derivado do piperonal **91**.

Para realizar a síntese dos ácidos carboxílicos, derivados do piperonal (**91**), foram necessárias reações tais como:

- Síntese do ácido cinâmico (**96**), com uma insaturação ( $2C - sp^2$ ) entre a carbonila e o anel aromático, utilizando a reação de *Knoevenagel* com o piperonal (**91**) (SILVA, 2002);
- Síntese do ácido piperonílico (**95**), com ausência de carbono entre a carbonila e o anel aromático, utilizando o reagente de *Jones* ( $CrO_3$  e  $H_2SO_4$ ) na reação de oxidação de piperonal (**91**) (RODIG, 1990);
- Síntese dos ácidos saturados (**92** e **97**), utilizando a redução catalítica ( $H_2 - Pd/C$ ) das ligações duplas responsáveis pela conjugação da carbonila ao anel aromático (VENKATASAMY, 2004).

Já os derivados *S*-substituídos (**107**) podem ser preparados pela reação de  $S_N2$ , em meio básico com alguns haletos orgânicos (NAVEENA, 2010). Pretendemos também realizar a síntese de derivados *N*-substituídos (**108**) pela reação de *Mannich* (BLICKE, 1942; SIEGER, 1971) tratando **89** com formaldeído ( $CH_2O$ ) e aminas nucleofílicas (**Esquema 6**).



**Esquema 6.** Obtenção dos derivados 1,3,4-oxadiazol *S* (**107**) e *N*-substituídos (**108**).

## 4.1- DISCUSSÕES DOS RESULTADOS

### 4.1.1- ISOLAMENTO DA PIPERINA DOS FRUTOS SECOS DE *Piper nigrum*

A primeira etapa de nosso trabalho envolveu a obtenção de quantidades adequadas da amida natural, para a execução das transformações químicas propostas contendo o núcleo 1,3,4-oxadiazol, com substituição (ou não) nos átomos *S*-2 ou *N*-3. A piperina (**69**) teve a sua extração realizada com etanol, em aparelhagem de Soxhlet (**Figura 28**), sob refluxo (RIBEIRO, 2004). Após extração e concentração, em evaporador rotatório, foi adicionada uma solução etanólica de KOH (10%) ao extrato, para remoção, por precipitação de substâncias fenólicas e taninos. Após filtração, a solução básica foi acrescida de água até a ocorrência de turvação total do meio. Durante a decantação, por 72 horas a temperatura ambiente, os cristais são formados (agulhas de coloração amarelo-clara), os mesmos foram filtrados em funil de Buchner e lavados, consecutivamente, com água e éter etílico, ambos gelados. Após a recristalização em etanol os rendimentos da extração variaram de 3-7%. A pureza da piperina é confirmada com os dados espectrocópicos do EM (RIBEIRO, 2004).

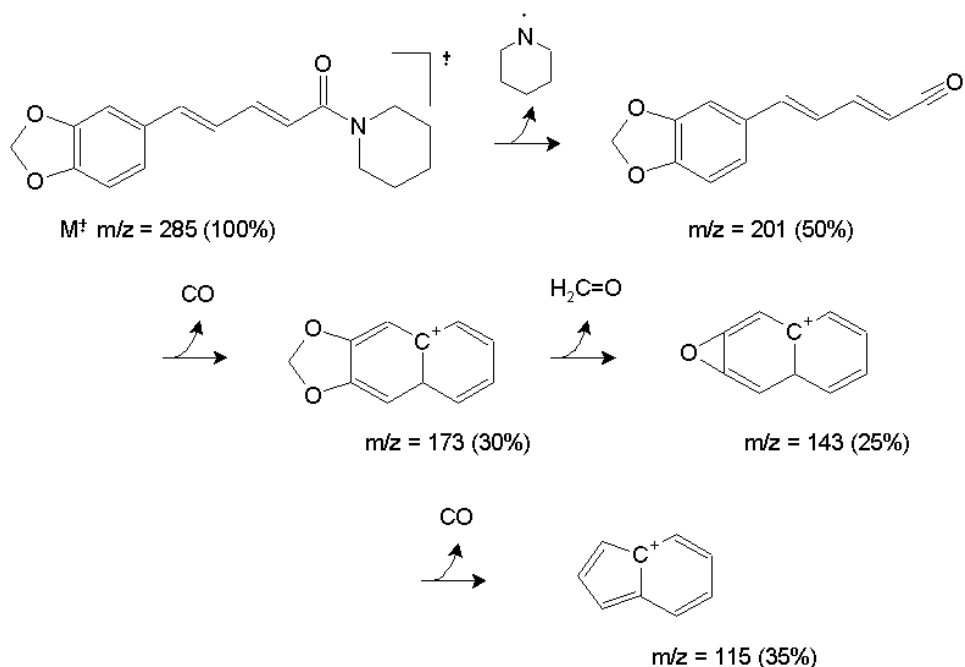


**Figura 28.** <sup>1</sup>Condensador, <sup>2</sup>Extrator de Soxhlet, <sup>3</sup>Balão de fundo redondo e <sup>4</sup>Manta de aquecimento: Aparelhagem para extração da piperina (**69**).

A pureza do material obtido foi confirmada através dos métodos convencionais de análise (RMN, IV e EM). E os dados obtidos foram totalmente compatíveis com a estrutura da amida natural (**69**), e também por comparação com dados descritos na literatura (IKAN, 1991; RIBEIRO, 2004).

No espectro de infravermelho (**Espectro 1**) podem ser observadas uma forte banda de absorção em  $1634\text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença da função carbonila amídica conjugada, além das absorções na região entre  $2937\text{-}2858\text{ cm}^{-1}$ , referentes às deformações axiais das ligações C-H ( $\text{sp}^3$ ). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 3**), podem ser observados um simpleto em  $\delta = 5,97\text{ ppm}$ , referente aos 2 hidrogênios do grupamento metilenodioxílico, um grupo de sinais entre  $\delta = 6,40\text{ e }7,43\text{ ppm}$ , referentes aos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral, e os 3 hidrogênios aromáticos. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 4**) podem ser observados um sinal em  $\delta = 165,3\text{ ppm}$ , referente ao carbono da carbonila amídica. Já no espectro de massas (**Espectro 2**) pode ser observado, além do pico do íon molecular e pico base ( $m/z = 285\text{ u.m.a.}$ , 100% de abundância relativa), fragmentos característicos para a estrutura da amida natural.

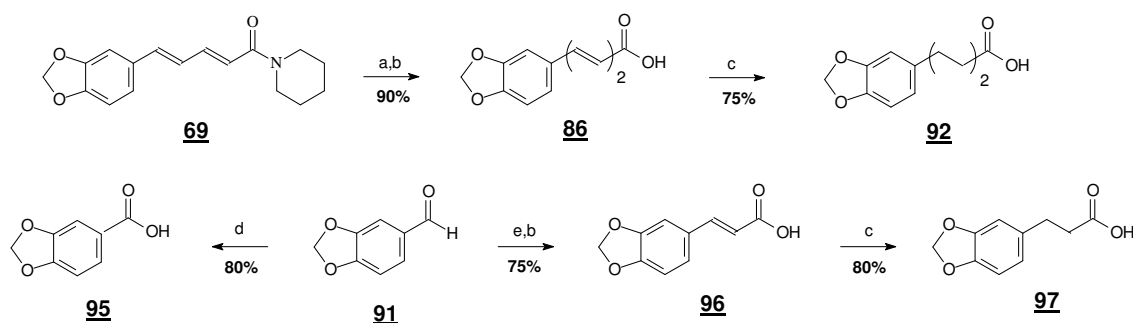
O **Esquema 7** mostra uma proposta de fragmentação para a piperina **69**.



**Esquema 7.** Proposta de fragmentação para a piperina **69**.

#### 4.1.2- PREPARAÇÕES DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS: INTERMEDIÁRIOS NA SÍNTESE DAS ACILIDRAZINAS CORRESPONDENTES.

A série dos cinco intermediários, ácidos carboxílicos (**86**, **92** e **95-97**), foi obtida com grau de pureza adequado, com rendimentos satisfatórios, utilizando como material de partida a amida natural **69** e o aldeído piperonal **91** (Esquema 8).



**Condições reacionais:** a) KOH, Etanol, refluxo, 20h; b) HCl (até pH ~ 3); c) H<sub>2</sub>, Pd/C, CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, t.a. 3h; d) CrO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, acetona, 0°C, 4h; e) Ácido malônico, piperidina, piridina, 60°C, 8h.

**Esquema 8:** Esquema sintético para obtenção da série dos ácidos carboxílicos (**86**, **92** e **95-97**) a partir dos precursores: piperina **69** e piperonal **91**, com seus respectivos rendimentos.

Os dados espectrocópicos, dos ácidos carboxílicos, foram compatíveis com suas estruturas. Nos espectros de RMN <sup>1</sup>H a presença do simpleto próximo a  $\delta = 12$  ppm caracteriza a presença do hidrogênio da carboxila dos ácidos carboxílicos obtidos (**86**, **92** e **95-97**). Já nos espectros de RMN <sup>13</sup>C o sinal das carbonila indicam a mudança de grupo funcional se comparado com seus precursores. O sinal próximo a  $\delta = 169$  ppm (superior a carbonila conjugada amídica do precursor **69**) indica a carbonila conjugada do ácido **86**, o sinal próximo a  $\delta = 175$  ppm (superior a carbonila conjugada do precursor **86**) indica a carbonila não conjugada do ácido **92**, o sinal próximo a  $\delta = 168$  ppm (inferior a carbonila benzóica do aldeído do precursor **91**) indica a carbonila benzóica do ácido **95**, o sinal próximo a  $\delta = 168$  ppm (inferior a carbonila benzóica do precursor **91**) indica a carbonila conjugada do ácido **96** e o sinal próximo a  $\delta = 174$  ppm

(superior a carbonila conjugada do precursor **96**) indica a carbonila não conjugada do ácido **97**. Estes dados podem ser comparados na **Tabela 3** e **Tabela 4**.

**Tabela 3.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  da amida natural **69** e os ácidos carboxílicos **86**, **92**, **95**, **96** e **97**.

Posição	Deslocamento químico RMN $^1\text{H}$ (ppm)					
	Piperina		Ácidos carboxílicos			
	<b>69</b>	<b>86</b>	<b>92</b>	<b>95</b>	<b>96</b>	<b>97</b>
<b>OH</b>	-	12,2	12,0	12,65	12,27	12,13
<b>2</b>	6,98	7,22	6,77	7,21	7,38	6,82
<b>5</b>	6,76	6,9	6,8	6,85	6,95	6,81
<b>6</b>	6,89	6,97	6,64	7,4	7,16	6,68
<b><math>\alpha</math></b>	6,43	5,96	2,5	-	6,41	2,74
<b><math>\beta</math></b>	7,39	7,3	1,51	-	7,52	2,49
<b><math>\gamma</math></b>	6,76	6,97	1,51	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	6,76	6,97	2,22	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	5,97	6,04	5,96	5,98	6,08	5,97

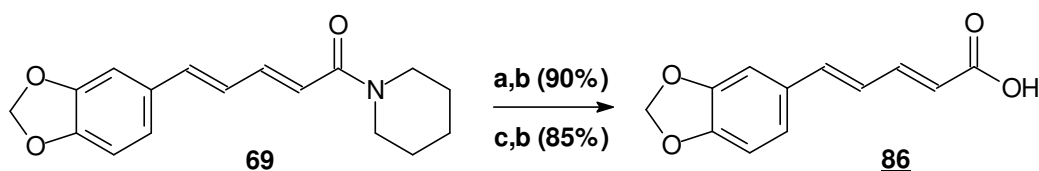
**Tabela 4.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  da amida natural **69** e os ácidos carboxílicos **86**, **92**, **95**, **96** e **97**.

Posição	Deslocamento químico RMN $^{13}\text{C}$ (ppm)					
	Piperina		Ácidos carboxílicos			
	<b>69</b>	<b>86</b>	<b>92</b>	<b>95</b>	<b>96</b>	<b>97</b>
<b>C=O</b>	165,3	169	174,9	167,8	168,3	174,2
<b>1</b>	130,8	131,8	136,3	125,7	129,1	135,1
<b>2</b>	108,3	109,8	108,4	109,9	108,9	109,2
<b>3</b>	148	149,3	145,6	148,6	149,5	145,8
<b>4</b>	148	149,5	147,6	152,2	149,6	147,6
<b>5</b>	105,5	107	109,1	109,1	107,1	108,5
<b>6</b>	122,4	124,5	121,2	126,1	125	121,5
<b><math>\alpha</math></b>	119,8	122,5	34,9	-	117,5	36
<b><math>\beta</math></b>	142,4	146	24,4	-	144,3	30,5
<b><math>\gamma</math></b>	125,1	126,1	31	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	138,3	141,1	33,9	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	101,1	102,7	101	103	101,9	101,9

#### 4.1.2.1- HIDRÓLISE ALCALINA DA PIPERINA

O ácido piperínico (**86**) pode ser obtido em elevado rendimento, através da hidrólise da amida natural, piperina (**69**). Esta etapa foi descrita originalmente por IKAN e otimizada em nosso laboratório (**Esquema 9**) (IKAN, 1991; RIBEIRO, 2004).

O uso da irradiação de microondas em síntese orgânica tem se mostrado extremamente útil, entre outras coisas, por fornecer os produtos desejados em maiores rendimentos e em tempos reacionais menores (KAPPE, 2009). Com base nestes dados, estudamos a execução desta hidrólise sob aquecimento por irradiação com microondas (Equipamento: Discovery-CEM). Nestas condições a amida (**69**), mantida nas mesmas condições básicas da hidrólise sob aquecimento convencional, forneceu o ácido **86** em 60 minutos, com 85% de rendimento.



**Reagentes:** (a) KOH, EtOH, Refluxo, 12h (aquecimento convencional); (b) HCl (até pH= 3-4) ou (c) KOH, EtOH, Refluxo, 1h (microondas: 92°C, 50W).

#### **Esquema 9.** Hidrólise da amida natural (**69**).

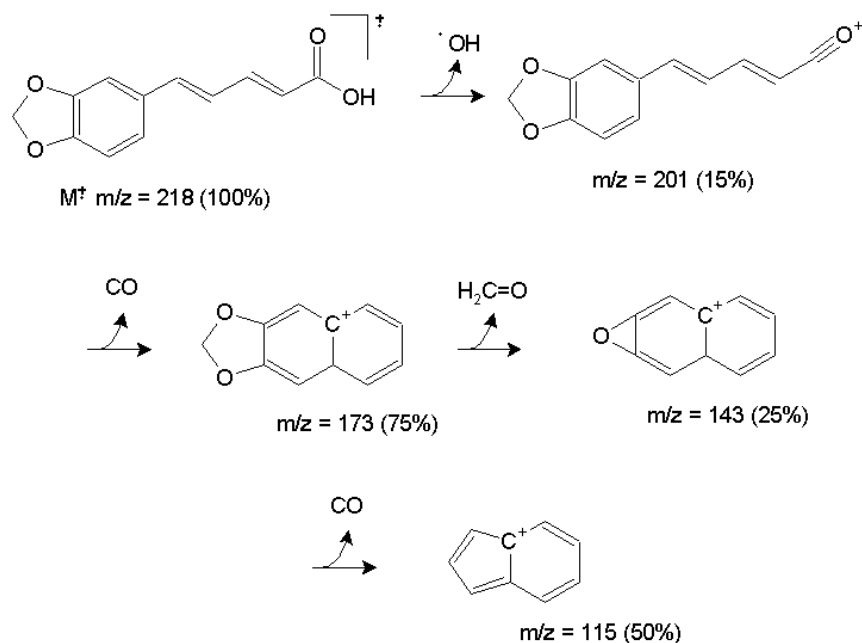
O ácido piperínico (**86**) obtido apresentou ponto de fusão idêntico ao descrito na literatura (PF: 218-219°C) (IKAN, 1991). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 5**) podem ser observadas uma banda larga, entre 3300-3200  $\text{cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico e uma absorção em 1678  $\text{cm}^{-1}$  que caracteriza a carbonila de ácido carboxílico conjugado. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 8**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 169$  ppm, referente ao carbono da carbonila – superior ao precursor amida **69**. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 7**) pode ser observado um simpleto em  $\delta = 12,2$  ppm do hidrogênio ácido, e o restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de **86**. Já o espectro de massas (**Espectro 6**) mostra, além do pico do íon molecular e



pico base ( $m/z = 218$  u.m.a., 100% de abundância relativa), fragmentos característicos para o ácido **86**.

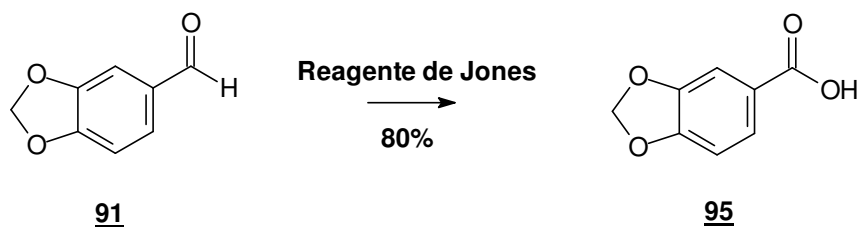
O **Esquema 10** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido **86**.



**Esquema 10.** Proposta de fragmentação para o ácido piperônico **86**.

#### 4.1.2.2- SÍNTESE DO ÁCIDO PIPERONÍLICO **95**.

Para a preparação do derivado piperonílico **95** foi realizada uma reação de oxidação com o Reagente de Jones (2,68M  $CrO_3$  em  $H_2SO_4$ ) (RODIG, 1990) sobre o piperonal **91** (**Esquema 11**), tendo acetona como solvente.



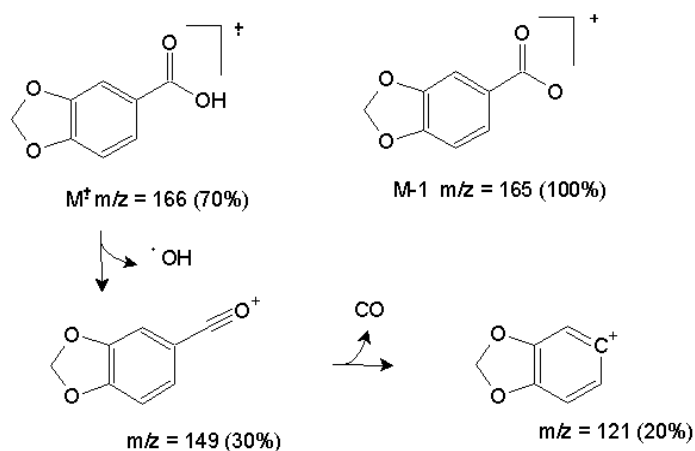
**Reagente de Jones:** 2,68M  $CrO_3$  /  $H_2SO_4$ , acetona,  $0^\circ C$ , 4h (80%)

**Esquema 11.** Oxidação do piperonal **91**.

Após a recristalização em metanol, o ácido piperonílico (**95**) (**Esquema 11**) apresentou ponto de fusão, 231-232°C, semelhante ao descrito na literatura (ALDRICH, 2012). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 9**) podem ser observadas uma banda larga, entre 3500-3400  $\text{cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico e uma absorção em 1673  $\text{cm}^{-1}$  que caracteriza a carbonila de ácido benzóico. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 12**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 167$  ppm, referente ao carbono da carbonila. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 11**) podem ser observados um simpleto em  $\delta = 12,6$  ppm de um hidrogênio, referente ao ácido carboxílico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura do ácido piperonílico **95**. Já o espectro de massas (**Espectro 10**) mostra, além do pico do íon molecular e pico base ( $m/z = 165$  u.m.a., 100% de abundância relativa), fragmentos característicos para o ácido **95**.

O **Esquema 12** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido **95**.

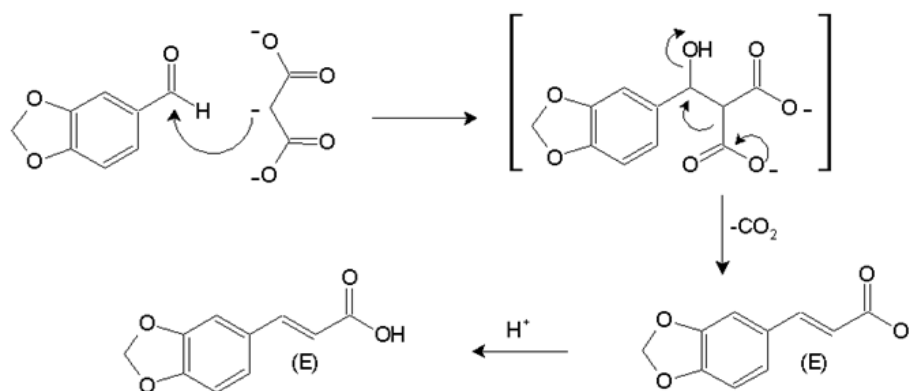


**Esquema 12.** Proposta de fragmentação para o ácido piperonílico **95**.

#### 4.1.2.3- SÍNTESE DO ÁCIDO CINÂMICO **96**

A preparação do ácido cinâmico (**96**) foi realizada através da reação de Knoevenagel entre o piperonal (**91**) e o ácido malônico (**Esquema 13**), em presença de piperidina, tendo piridina como solvente (SILVA, 2002).

A reação ocorre através da formação do enolato do ácido malônico, pela ação da piperidina como base. O ânion formado ataca o centro eletrofílico do piperonal **91** (carbonila aldeídica), formando um intermediário suscetível de sofrer, *in situ*, uma eliminação descarboxilativa, gerando o alceno com configuração *E*. Após neutralização do meio, o ácido cinâmico **96** é formado, como mostra o mecanismo descrito no **Esquema 13**.



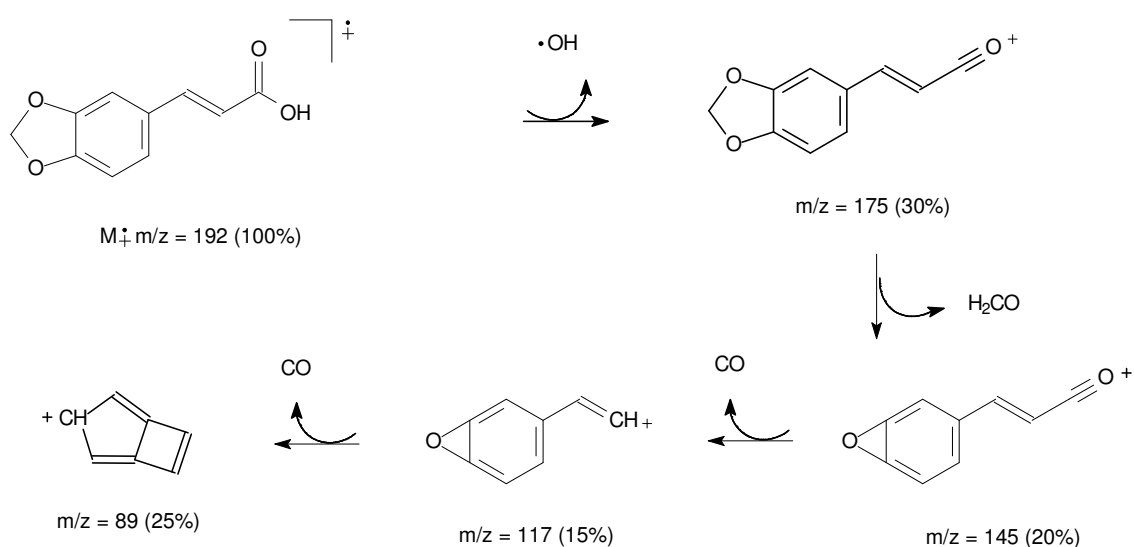
**Esquema 13.** Mecanismo simplificado da reação de Knoevenagel (SILVA, 2002).

O ácido cinâmico **96** foi obtido, após recristalização em ácido acético glacial, na forma de cristais brancos apresentando ponto de fusão idêntico ao descrito na literatura (PF: 238°C) (SILVA, 2002). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 13**) pode ser observada uma banda larga, entre 3500-3400  $\text{cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico e outra banda de absorção em 1692  $\text{cm}^{-1}$  que caracteriza a carbonila de ácido conjugado. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 16**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 168$  ppm,

referente ao carbono da carbonila conjugada. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 15**) podem ser observados um simpleto em  $\delta = 12,2$  ppm, de um hidrogênio, referente ao ácido carboxílico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura do ácido **96**. Já o espectro de massas (**Espectro 14**) além do pico do íon molecular e pico base ( $m/z = 192$  u.m.a., 100% de abundância relativa), mostram fragmentos característicos para o ácido **96**.

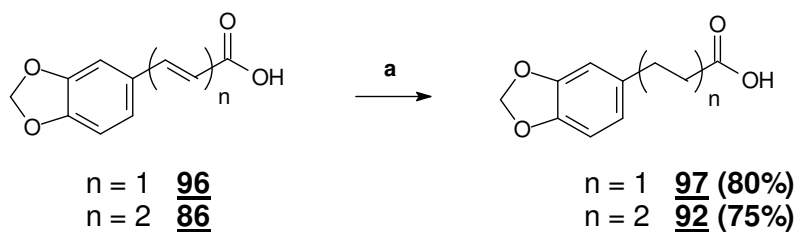
O **Esquema 14** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido cinâmico **96**.



**Esquema 14.** Proposta de fragmentação para o ácido cinâmico **96**.

#### 4.1.2.4- SÍNTESE DOS ÁCIDOS SATURADOS 92 E 97.

A preparação, tanto do ácido tetraidropiperínico (92) quanto do diidrocinâmico (97), foi realizada através da hidrogenação catalítica heterogênea, em atmosfera de H<sub>2</sub>, como reagente, catalisado por Pd/C em acetato de etila como solvente (VENKATASAMY, 2004). O **Esquema 15** mostra as reações de redução catalítica.



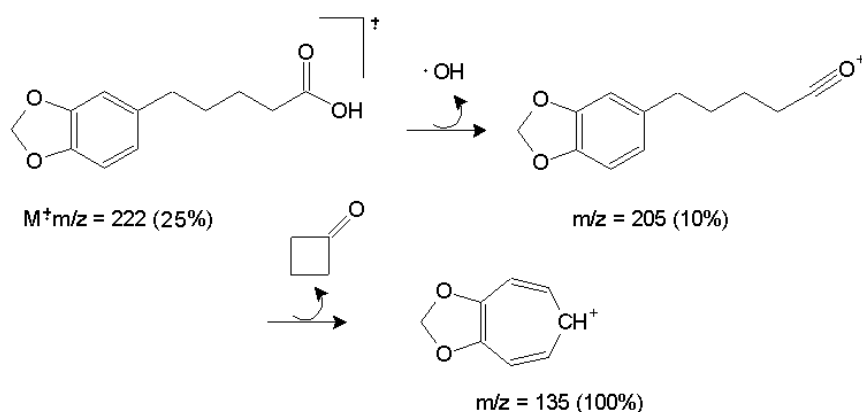
**Reagentes:** a) H<sub>2</sub>, Pd/C; acetato de etila, pressão atmosférica, t.a, 3h

**Esquema 15.** Reação de redução catalítica dos ácidos 86 e 96.

O ácido tetraidropiperínico (92) (**Esquema 15**) foi obtido após recristalização em CHCl<sub>3</sub>:Hexano (10%), na forma de cristais bege apresentando ponto de fusão idêntico ao descrito na literatura (95-96°C) (VENKATASAMY, 2004). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 17**), podem ser observadas uma banda larga entre 3500-3400 cm<sup>-1</sup>, devido ao estiramento da ligação OH e outra banda de absorção em 1708 cm<sup>-1</sup>, que caracteriza a carbonila de ácido não conjugado. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 20**) podem ser observados um sinal em δ = 175 ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada – deslocamento químico superior ao precursor 86, e sinais entre δ = 24,4 e 34,9 ppm referentes aos carbonos saturados. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 19**) podem ser observados três sinais entre δ = 1,5 a 2,5 ppm, referentes aos hidrogênios da cadeia saturada e um simpleto largo próximo a δ = 12 ppm, referente ao hidrogênio ácido da função carboxílica. Já o espectro de massas (**Espectro 18**) além do pico do íon molecular m/z = 222 u.m.a. (25%) e pico base 135 u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos ao ácido 92.

O **Esquema 16** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido tetraidropiperínico 92.

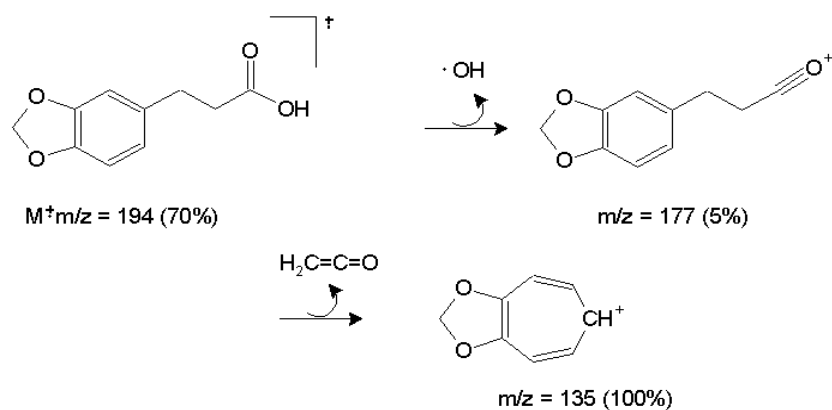


**Esquema 16.** Proposta de fragmentação para o ácido tetraidropiperínico **92**.

O ácido diidrocinâmico (**97**) (**Esquema 15**) foi obtido após recristalização em  $\text{CHCl}_3$ :Hexano (20%), na forma de cristais brancos apresentando ponto de fusão (85-87°C) semelhante ao descrito na literatura (86-88°C) (VENKATASAMY, 2004). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho do ácido diidrocinâmico (**97**) pode ser observada uma banda larga, entre 3300-3200  $\text{cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação OH e outra banda de absorção em 1733  $\text{cm}^{-1}$ , que caracteriza a carbonila de ácido não conjugado (**Espectro 21**). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 24**) podem ser observados um sinal em  $\delta = 174$  ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada – deslocamento químico superior ao ácido precursor **96**, e os sinais  $\delta = 36,0$  e 30,5 ppm referentes aos carbonos metilênicos  $\alpha$  e  $\beta$ -carbonílicos, respectivamente. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 23**) podem ser observados um simpleto em  $\delta = 12,13$  ppm, referente ao hidrogênio do ácido carboxílico e dois tripletos em 2,74 e 2,49 ppm referentes aos dois metilenos  $\alpha$  e  $\beta$ -carbonílicos. Já o espectro de massas (**Espectro 22**) além do pico do íon molecular  $m/z = 194$  u.m.a. (70%) e pico base 135 u.m.a. (100%), mostra fragmentos característicos ao ácido **97**.

O **Esquema 17** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido diidrocinâmico **97**.



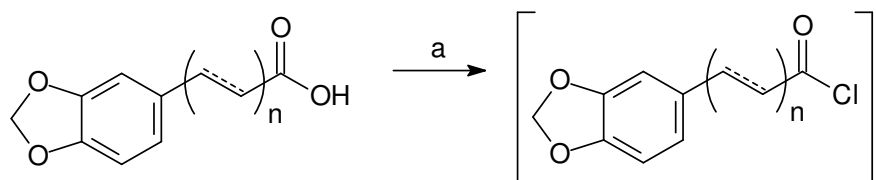
**Esquema 17.** Proposta de fragmentação para o ácido diidrocínâmico **97**.

#### 4.1.3- SÍNTESE DOS CLORETOS DE ÁCIDO

Para a síntese de todas as acilidrazinas, precursoras dos heterociclos da classe dos 1,3,4-oxadiazóis, a passagem pelo cloreto de ácido foi comum, visto que é um intermediário mais reativo, que o próprio ácido carboxílico correspondente, na reação de substituição nucleofílica acílica ( $S_NAC$ ) com o hidrato de hidrazina.

Os cloretos de tionila ( $SOCl_2$ ) e oxalila ( $COCl_2$ ) são usualmente os reagentes de escolha para a síntese de cloretos de acila. Apresentam a vantagem de formarem subprodutos gasosos ( $SO_2$ ,  $CO$ ,  $CO_2$ ) que não contaminam o produto (MARCH, 1985). Apesar de apresentarem comportamento reacional semelhante, as condições reacionais são distintas: para utilizar o cloreto de tionila o refluxo é necessário, já o cloreto de oxalila faz-se em temperatura ambiente.

Devido à disponibilidade do cloreto de oxalila no laboratório, este foi utilizado na preparação dos cloretos de ácidos (**Esquema 18**). Sendo mais reativo que o  $SOCl_2$ , todas as reações foram realizadas em temperatura ambiente. Por apresentar alta reatividade os cloretos de ácido sintetizados não foram quantificados ou purificados por nenhuma técnica, foram todos considerados puros pelo acompanhamento por CCF (pela formação instantânea do éster metílico, pela reação com metanol) e utilizados logo em seguida, após remoção do cloreto de oxalila em evaporador rotatório.



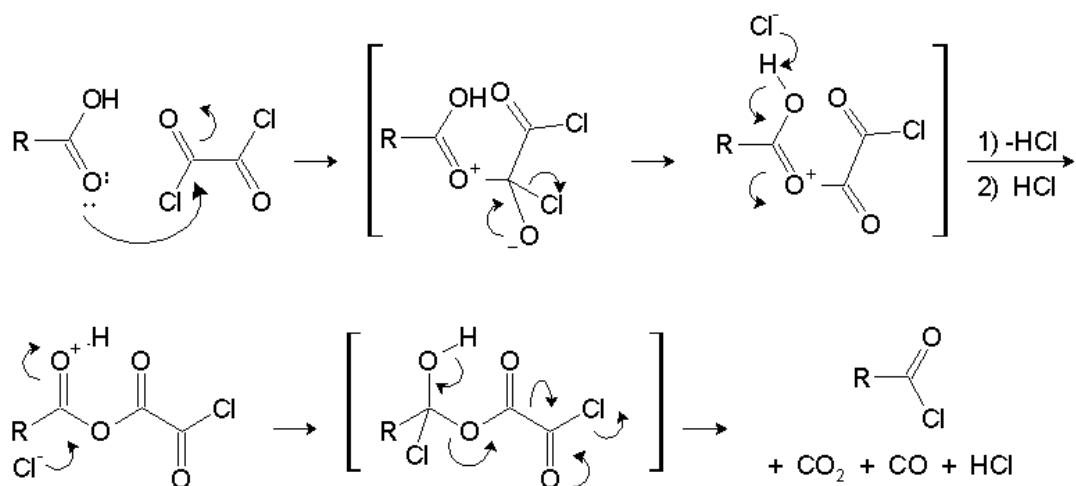
n = 0            95  
 n = 1 (insaturado)    96  
 n = 1 (saturado)      97  
 n = 2 (insaturado)    86  
 n = 2 (saturado)      92

n = 0            98  
 n = 1 (insaturado)    99  
 n = 1 (saturado)      100  
 n = 2 (insaturado)    87  
 n = 2 (saturado)      93

**Reagente: a)** (COCl)<sub>2</sub>, t.a., 1-3h

**Esquema 18.** Síntese dos cloretos de acila.

No **Esquema 19** descrevemos uma proposta para o mecanismo de formação dos cloretos de acila pela reação dos respectivos ácidos com cloreto de oxalila.

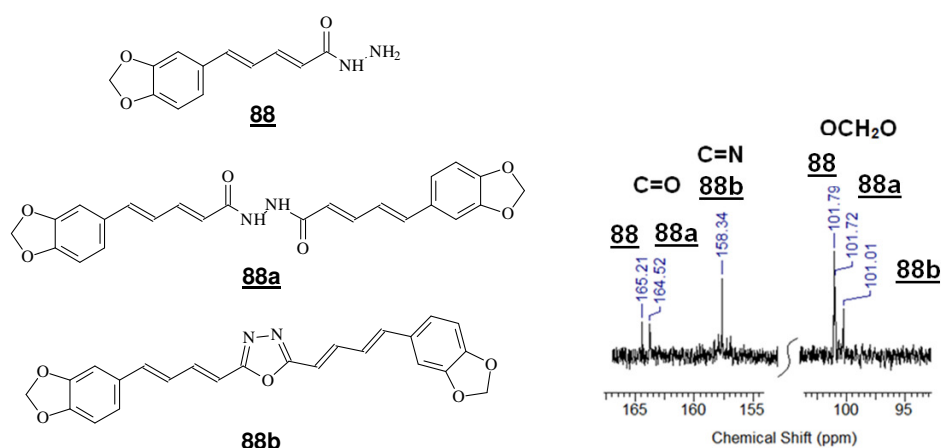


**Esquema 19.** Mecanismo de formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila (MARCH, 1985).



#### 4.1.4- SÍNTESES DAS ACILIDRAZINAS

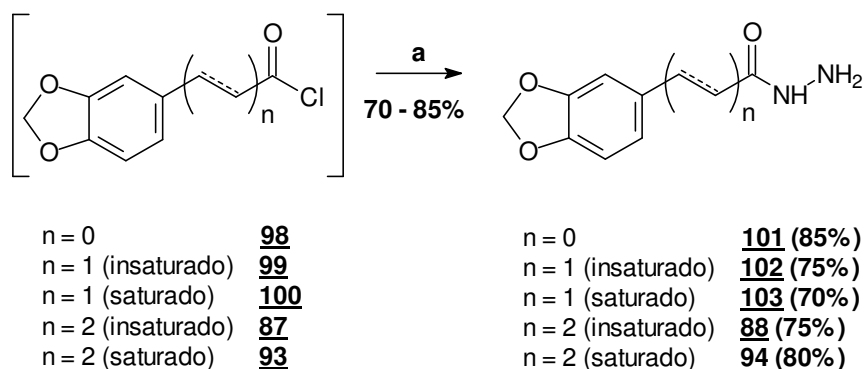
As sínteses de todas as acilidrazinas foram realizadas imediatamente após a preparação dos intermediários cloretos de ácido correspondentes. Na primeira síntese ao cloreto de ácido **87**, preparado em rendimento quantitativo, dissolvido em diclorometano (seco) foi adicionado, em banho de gelo, mono-hidrato de hidrazina (gota-a-gota), a qual, através de uma reação de substituição nucleofílica acílica ( $S_NAC$ ) gerou a acilidrazina **88** juntamente com uma mistura de produtos de difícil separação. Como houve a formação de subprodutos, não caracterizados, a metodologia foi invertida, pela adição da solução do cloreto de acila em diclorometano (seco) à solução de hidrazina, também em diclorometano (seco), ao invés do contrário, descrito pela literatura (RIBEIRO, 2004). Esta mudança foi suficiente para evitar o aparecimento dos subprodutos anteriormente visualizados por CCF. Apesar de não terem sido caracterizados, imaginamos que sejam os derivados diméricos (diacilidrazina – **88a**) e seu oxadiazol correspondente (**88b**), como pode ser visto na **Figura 29**. Os dados de RMN  $^{13}C$  obtidos da mistura dão subsídio a esta proposta – principalmente pelos deslocamentos referentes aos carbonos: C=O, da acilidrazina **88** e do dímero **88a**; e C=N, do oxadiazol **88b**, com deslocamentos químicos de  $\delta = 165$ , 164 e 158 ppm, respectivamente. Podemos observar também na região próxima a  $\delta = 100$  ppm a presença de três sinais, referentes aos carbonos do metilenodióxi (OCH<sub>2</sub>O) de cada um dos componentes da mistura.



**Figura 29.** Estruturas da acilidrazina **88** e os possíveis subprodutos gerados (**88a** e **88b**); e o espectro de RMN  $^{13}C$  da mistura.

Outro dado que auxilia esta afirmação é a descrição na literatura da formação destes tipos de produtos em condições reacionais semelhantes (OLIVEIRA, 2012). Esta observação já havia sido feita, pelo nosso grupo de pesquisa, por FRANKILIM (2013).

Esta modificação da técnica de obtenção da acilidrazina foi aplicada também na síntese das demais acilidrazinas (**94** e **101-103**), logo esta série foi obtida com grau de pureza adequado, com rendimentos satisfatórios, utilizando como material de partida os cloretos de ácido correspondentes, como é mostrado no **Esquema 20**.



**Reagente: a)**  $\text{NH}_2\text{-NH}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 0,5h

**Esquema 20.** Síntese das acilidrazinas **88**, **94**, **101**, **102** e **103**

Os dados espectrocópicos, das acilidrazinas, foram compatíveis com suas estruturas. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  a presença de dois simpletos próximos a  $\delta = 9$  e 3,5 ppm caracterizam a presença dos hidrogênios das acilidrazidas (**88**, **94** e **101-103**) – indicando a presença dos hidrogênios no NH e  $\text{NH}_2$ , respectivamente da função correspondente. Já nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  o sinal das carbonila indicam a mudança de grupo funcional se comparado com seus precursores. Os sinais próximos a  $\delta = 165$  ppm (inferior às carbonila conjugadas carboxílicas e benzóicas dos precursores **86**, **96** e **95**, respectivamente) indicam as carbonilas conjugadas e benzóicas das acilidrazinas **88**, **102** e **101**, respectivamente. Os sinais próximos a  $\delta = 171$  ppm (inferiores as carbonilas não conjugadas carboxílicas precursoras **92** e **97**) indicam as carbonilas não conjugadas das acilidrazinas **94** e **103**, respectivamente. Estes dados podem ser comparados na **Tabela 5** e **Tabela 6**.

**Tabela 5.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  das acilidrazinas **88**, **94**, **101**, **102** e **103**.

Deslocamento químico RMN $^1\text{H}$ (ppm)					
Posição	Acilidrazinas				
	<b>88</b>	<b>94</b>	<b>101</b>	<b>102</b>	<b>103</b>
<b>NH<sub>2</sub></b>	4,42	3,36	3,37	3,37	3,38
<b>NH</b>	9,3	8,94	10,32	9,26	8,99
<b>2</b>	7,26	6,77	7,45	7,14	6,78
<b>5</b>	6,84	6,81	7,54	6,96	6,8
<b>6</b>	6,98	6,64	7,06	7,07	6,65
<b><math>\alpha</math></b>	6,02	2,52	-	6,4	2,73
<b><math>\beta</math></b>	7,17	1,49	-	7,37	2,28
<b><math>\gamma</math></b>	6,84-95	1,49	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	6,84-95	2,52	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,05	5,97	6,14	6,07	5,96

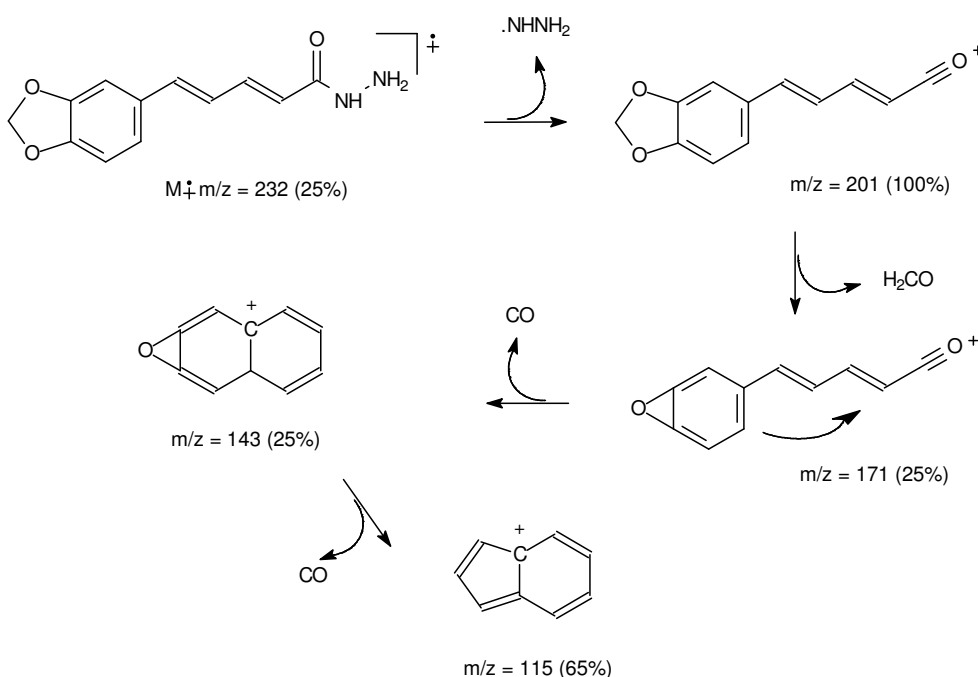
**Tabela 6.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  das acilidrazinas **88**, **94**, **101**, **102** e **103**.

Deslocamento químico RMN $^{13}\text{C}$ (ppm)					
Posição	Acilidrazinas				
	<b>88</b>	<b>94</b>	<b>101</b>	<b>102</b>	<b>103</b>
<b>C=O</b>	165,2	171,7	164,2	165,2	171,2
<b>1</b>	131,3	136,3	126,8	129,7	135,4
<b>2</b>	106,1	108,4	107,3	108,9	109,1
<b>3</b>	148,1	145,6	146,6	148,3	145,7
<b>4</b>	148,4	147,6	149,4	148,8	147,5
<b>5</b>	108,9	109,2	106,5	106,6	108,5
<b>6</b>	123,1	121,4	121,6	123,5	121,4
<b><math>\alpha</math></b>	122,9	34,9	-	118,8	35,8
<b><math>\beta</math></b>	138,3	25,2	-	138,4	31,1
<b><math>\gamma</math></b>	125,7	31,2	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	138,2	33,7	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	101,7	101	101	101,9	101

A acilidrazina **88** foi obtida, após recristalização em etanol, como um sólido amarelo amorfo e com ponto de fusão entre 237-239°C. Além do ponto de fusão, superior a seu precursor **86**, indicar a mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho da acilidrazina **88** (**Espectro 25**) pode ser observada uma banda larga entre 3400-3300  $\text{cm}^{-1}$  do estiramento N-H da função acilidrazina, e absorções em 1595, 1440 e 1215  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento C=O (carbonila amídica conjugada), C-N e C-O (metilenodioxílico) respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 28**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 163$  ppm, referente ao carbono da carbonila amídica conjugada – deslocamento químico inferior ao seu precursor ácido (**86**). Nos espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 27**) foram observados os sinais  $\delta = 3,35$  e 10,3 ppm, referentes aos hidrogênios  $\text{NH}_2$  e NH, respectivamente, da acilidrazina. Já o espectro de massas (**Espectro 26**), além do pico do íon molecular  $m/z = 232$  u.m.a. (25%) e pico base 201 u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos à acilidrazina **88**.

O **Esquema 21** mostra uma proposta de fragmentação para acilidrazina **88**.

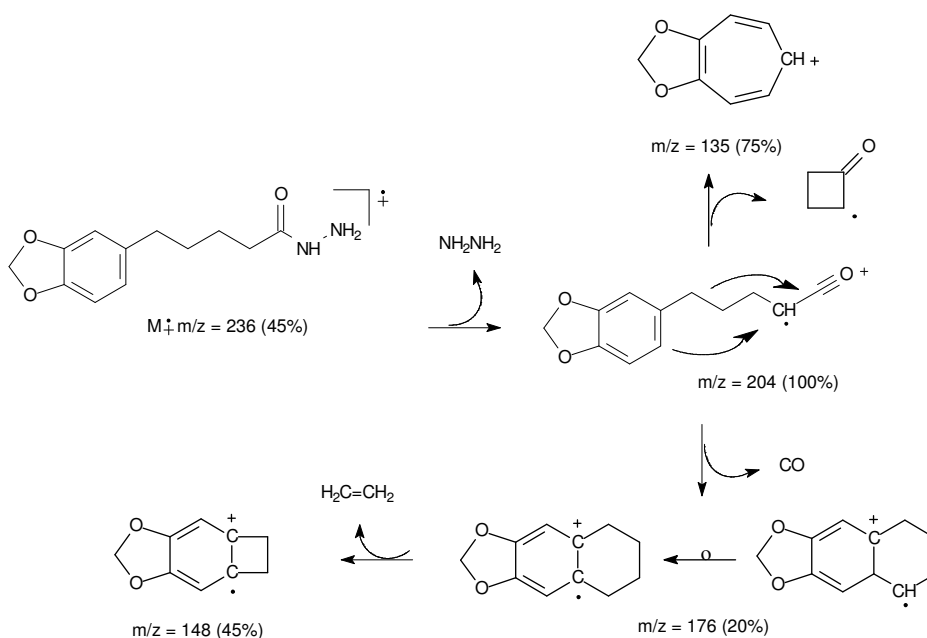


**Esquema 21.** Proposta de fragmentação para acilidrazina **88**.

A acilidrazina **94** foi obtida (**Esquema 20**), após recristalização em metanol, como cristais brancos em forma de agulhas e com ponto de fusão entre 98-100°C. Além do ponto de fusão, superior a seu precursor **92**, indicar a mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho da acilidrazina **94** (**Espectro 29**) pode ser observada uma banda entre 3429-3203  $\text{cm}^{-1}$  referente às vibrações da ligação NH da acilidrazina, e absorções em 1635, 1450 e 1220  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento C=O (carbonila amídica não conjugada), C-N e C-O (metilenodioxílico) respectivamente (**Espectro 32**). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 32**) podem ser observados um sinal em  $\delta = 171$  ppm, referente ao carbono da carbonila amídica não conjugada – deslocamento químico inferior a seu precursor ácido **92**, e sinais entre 25,2 a 34,9 referente aos hidrogênios saturados. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 31**) podem ser observados os sinais  $\delta = 3,36$  e 8,94 ppm, referentes aos hidrogênios  $\text{NH}_2$  e NH da acilidrazina, respectivamente, e sinais entre 1,49 a 2,52 referentes aos hidrogênios saturados. Já o espectro de massas (**Espectro 30**) além do pico do íon molecular  $m/z = 236$  u.m.a. (45%) e pico base  $m/z = 204$  u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos para a acilidrazina **94**.

O **Esquema 22** mostra uma proposta de fragmentação para acilidrazina **94**.

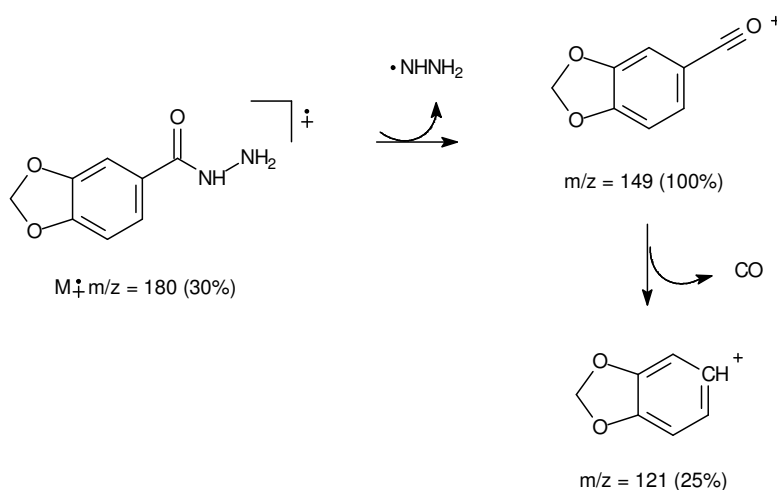


**Esquema 22.** Proposta de fragmentação para a acilidrazina **94**.

A acilidrazina **101** foi obtida (**Esquema 20**), após recristalização em metanol, como um sólido amorfo bege com ponto de fusão entre 196-198°C. Além do ponto de fusão, inferior ao seu precursor ácido **95**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho da acilidrazina **101** (**Espectro 33**) pode ser observada uma banda larga entre 3435-3190  $\text{cm}^{-1}$  referente a vibrações da ligação NH da acilidrazina e uma absorção em 1618  $\text{cm}^{-1}$  referente à carbonila benzóica. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 36**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 164$  ppm, referente ao carbono da carbonila benzóica – deslocamento químico inferior a seu precursor ácido **95**. Nos espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 35**) podem ser observados os sinais  $\delta = 3,37$  e 10,32 ppm, referentes aos hidrogênios  $\text{NH}_2$  e NH, respectivamente, da acilidrazina. Já o espectro de massas (**Espectro 34**) além do pico do íon molecular  $m/z = 180$  u.m.a. (30%) e pico base  $m/z = 149$  u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos para a acilidrazina **101**.

O **Esquema 23** mostra uma proposta de fragmentação para acilidrazina **101**.

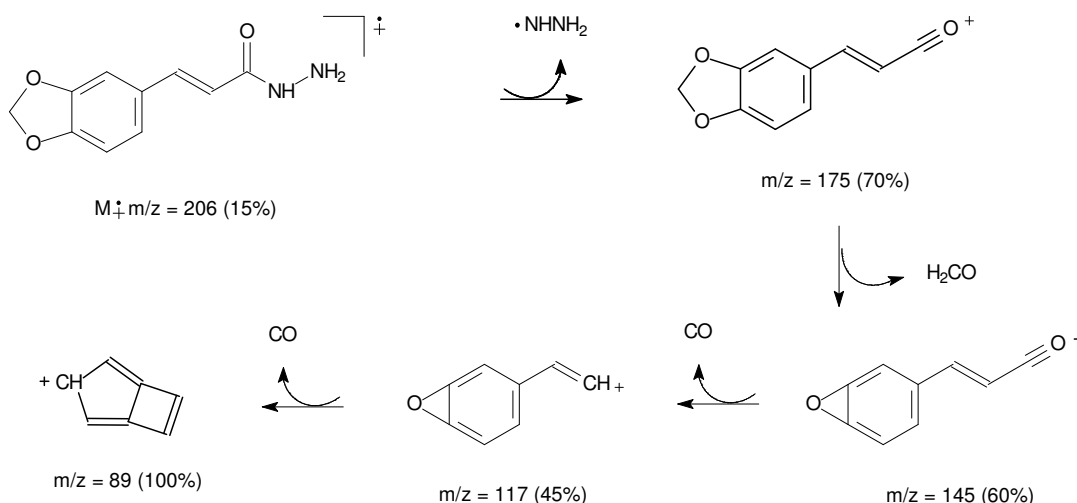


**Esquema 23.** Proposta de fragmentação para a acilidrazina **101**.

A acilidrazina **102** foi obtida (**Esquema 20**), após recristalização em metanol, como um sólido amorfo branco com ponto de fusão entre 149-151°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor ácido **96**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 37**), pode ser observada uma banda larga entre 3435-3261  $\text{cm}^{-1}$  referente a vibrações da ligação NH da acilidrazina, e uma absorção em 1660  $\text{cm}^{-1}$  referente à carbonila amídica conjugada. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 40**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 165$  ppm, referente ao carbono da carbonila amídica conjugada – deslocamento químico inferior ao precursor ácido **96**. Nos espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 39**) podem ser observados os sinais  $\delta = 3,37$  e  $9,26$  ppm, referentes aos hidrogênios  $\text{NH}_2$  e NH da acilidrazina, respectivamente. Já o espectro de massas (**Espectro 38**) além do pico do íon molecular  $m/z = 206$  u.m.a. (15%) e o pico base  $m/z = 89$  u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos para a acilidrazina **102**.

O **Esquema 24** mostra uma proposta de fragmentação para acilidrazina **102**.



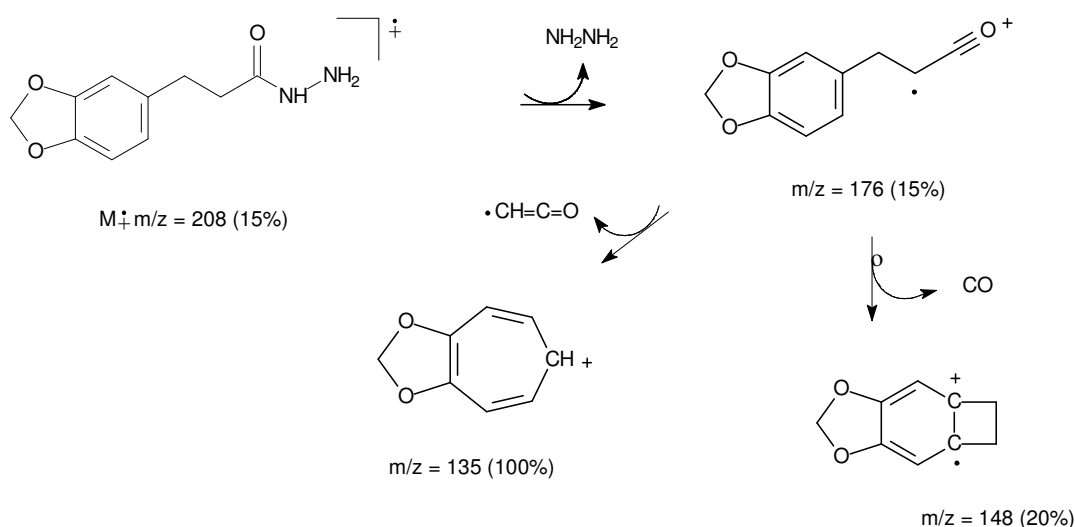
**Esquema 24.** Proposta de fragmentação para a acilidrazina **102**.

A acilidrazina **103** foi obtida (**Esquema 20**), após recristalização em metanol, como cristais brancos na forma de agulhas com ponto de fusão entre 118-120°C. Além do ponto de fusão, superior ao precursor ácido **97**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 41**) pode ser observada uma banda larga entre 3435-3284  $\text{cm}^{-1}$  referente às vibrações da ligação NH da acilidrazina e uma absorção em 1631  $\text{cm}^{-1}$  referente à carbonila amídica não conjugada. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 44**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 171$  ppm, referente ao

carbono da carbonila amídica não conjugada – deslocamento químico inferior ao precursor ácido **97**. Nos espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 43**) podem ser observados os sinais  $\delta = 3,38$  e  $8,99$  ppm, referentes aos hidrogênios  $\text{NH}_2$  e  $\text{NH}$  da acilidrazina, respectivamente, além de dois tripletos  $\delta = 2,28$  e  $2,73$  ppm, referentes aos hidrogênios saturados. Já o espectro de massas (**Espectro 42**) além do pico do íon molecular  $m/z = 208$  u.m.a. (15%) e pico base  $m/z = 135$  u.m.a. (100%) mostra fragmentos característicos para a acilidrazina **103**.

O **Esquema 25** mostra uma proposta de fragmentação para acilidrazina **103**.



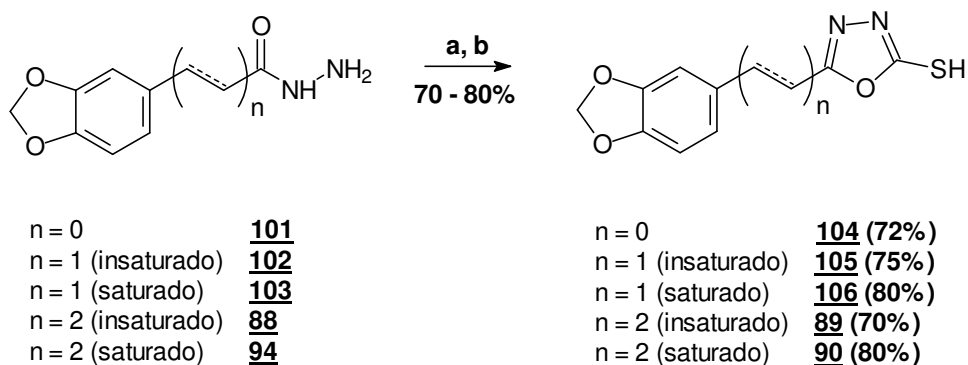
**Esquema 25.** Proposta de fragmentação para a acilidrazina **103**.

#### 4.1.5- SÍNTESE DOS HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL

A última etapa para obtenção dos heterociclos envolve o tratamento das acilidrazinas obtidas com dissulfeto de carbono em meio básico e refluxo (**Esquema 26**). A primeira síntese foi realizada com a acilidrazina **88**, esta foi tratada com dissulfeto de carbono em refluxo de etanol, em meio básico, por aproximadamente 12 horas, gerando o derivado **89** em 60% de rendimento (ABORAIA, 2005; RAMAPRASAD, 2010 e NAVEENA, 2010). Visando aperfeiçoar o rendimento e diminuir o tempo de reação, a mesma foi realizada com radiação em microondas (78°C, 50W) (WANG, 2006; RAJAPAKNE, 2006) gerando o derivado **89** em 70% de rendimento em apenas 1 hora. Diante desta aparente otimização, de rendimento e tempo reacional, as demais reações de ciclização foram realizadas em refluxo por microondas.

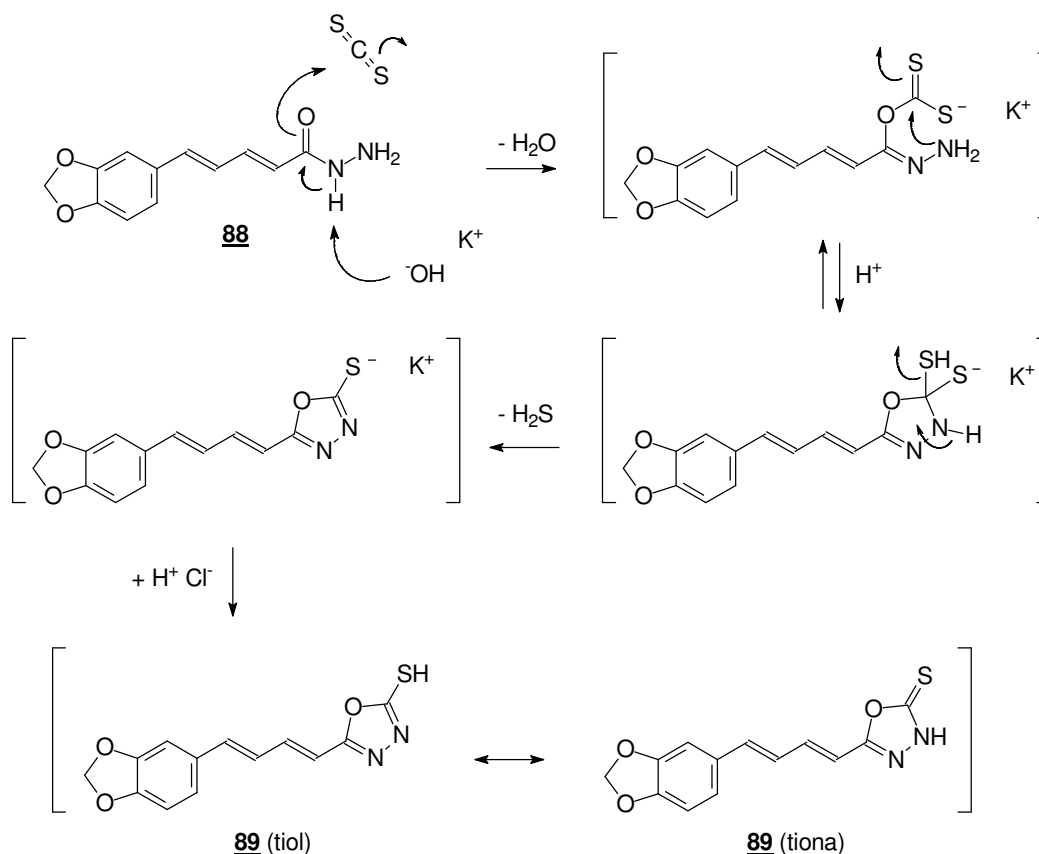


O **Esquema 27** mostra o mecanismo para obtenção do heterociclo **89** a partir da acilidrazina **88**.



**Reagentes:** a) CS<sub>2</sub>, etanol, KOH, refluxo, 1h; b) HCl<sub>conc</sub> até pH 3,0.

**Esquema 26.** Preparação dos derivados heterocíclicos 1,3,4-oxadiazol-2-tiol **89**, **90**, **104**, **105** e **106**.



**Esquema 27.** Proposta de Mecanismo para a formação do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona) **89** a partir da acilidrazina **88**.

A série de cinco derivados heterocíclicos (**89**, **90**, **104**, **105** e **106**) foi obtida com rendimentos satisfatórios, com grau de pureza adequado, caracterizados pelos métodos convencionais de análise e apresentaram dados espectroscópicos compatíveis com suas estruturas. Alguns sinais de RMN foram fundamentais para caracterizar a formação do heterociclo. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  a presença do simpleto largo próximo a  $\delta = 14$  ppm caracteriza a presença do hidrogênio do heterociclo (NH/SH), segundo dados da literatura (RAMAPRASAD, 2010 e NAVEENA, 2010). Já no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a presença de dois sinais próximos a  $\delta = 162$  e  $177$  ppm caracterizam os carbonos do heterociclo (C=N e C=S, respectivamente), segundo dados da literatura (RAMAPRASAD, 2010 e NAVEENA, 2010). Estes dados podem ser comparados na **Tabela 7** e **Tabela 8**.

**Tabela 7.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  dos derivados heterocíclicos **89**, **90**, **104**, **105** e **106**.

Deslocamento químico RMN $^1\text{H}$ (ppm)					
Posição	1,3,4-oxadiazol-2-tiol				
	<b>89</b>	<b>90</b>	<b>104</b>	<b>105</b>	<b>106</b>
<b>SH/NH</b>	14,15	14,34	14,68	14,57	-
<b>2</b>	7,22	6,81	7,37	7,49	6,88
<b>5</b>	6,94	6,82	7,45	6,98	6,71
<b>6</b>	7,03	6,65	7,13	7,25	6,83
<b><math>\alpha</math></b>	6,44	2,74	-	7,01	2,99
<b><math>\beta</math></b>	7,23	1,61	-	7,43	2,89
<b><math>\gamma</math></b>	7,00	1,61	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	7,05	2,53	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,07	5,97	6,18	6,1	5,98

**Tabela 8.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  dos derivados heterocíclicos **89**, **90**, **104**, **105** e **106**.

Deslocamento químico RMN $^{13}\text{C}$ (ppm)					
Posição	1,3,4-oxadiazol-2-tiol				
	<b>89</b>	<b>90</b>	<b>104</b>	<b>105</b>	<b>106</b>
<b>C-S</b>	177,32	178,14	177,63	177,36	178,22
<b>C=N</b>	161,07	164,62	160,82	161,35	163,84
<b>1</b>	131,01	136,04	116,54	139,33	133,79
<b>2</b>	106,02	108,48	106,2	106,74	108,61
<b>3</b>	148,48	145,67	148,65	149,53	146,16
<b>4</b>	148,6	147,64	151,17	148,55	147,72
<b>5</b>	109,04	109,19	109,6	107,39	109,25
<b>6</b>	110,93	121,29	122,04	108,97	121,71
<b><math>\alpha</math></b>	123,57	34,62	-	125,07	31,06
<b><math>\beta</math></b>	140,18	25,03	-	129,4	27,28
<b><math>\gamma</math></b>	139,66	24,87	-	-	-
<b><math>\delta</math></b>	125,78	30,66	-	-	-
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	101,88	101,04	102,69	102,06	101,21

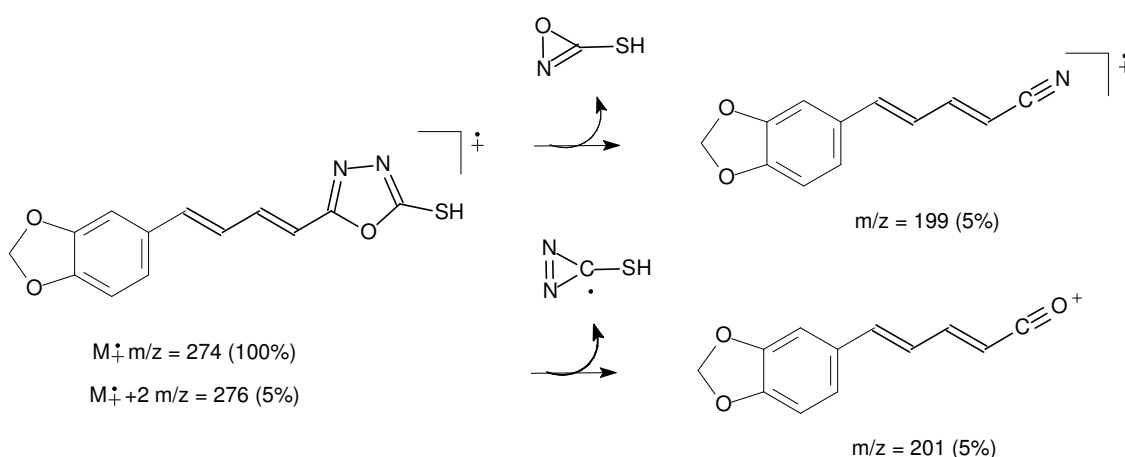
Para os heterociclos 1,3,4-oxadiazóis sintetizados, na espectrometria de massas por impacto de elétrons, além do pico do íon molecular ( $\text{M}^+$ ), a maioria, apresentou o pico do íon  $\text{M} + 2$ , que indica a contribuição do isótopo  $^{34}\text{S}$  em compostos contendo enxofre (SILVERSTEIN, 1994). Entre estes o heterociclo **89** apresentou limitações para identificar o sinal do íon molecular logo foi necessário utilizar uma técnica mais branda e de maior resolução (analisador TOF / MS-ES) que foi capaz de identificar o íon molecular ( $\text{M}^+ + \text{H}$  e  $\text{M}^+ + 2$ ) e alguns outros fragmentos.

O heterociclo da estrutura **89** foi obtido (**Esquema 26**), após recristalização em etanol, como um sólido amorfo amarelo com ponto de fusão entre 213-215°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor acilidrazina **88**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 45**) pode ser observada uma banda larga em  $3329\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação NH do heterociclo, e absorções em  $1607$ ,  $1458$  e  $1210\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos C=N, C-N (heterociclo) e C-O

(metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 48**) podem ser observados dois sinais característicos do equilíbrio tautomérico do heterociclo, um em  $\delta = 177,3$  ppm (C=S) e outro em  $\delta = 161$  ppm (C=N). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 47**) pode ser observado um sinal largo em  $\delta = 14,15$  ppm (NH/SH) característico do hidrogênio ácido que participa do equilíbrio tautomérico do heterociclo – deslocamento químico superior aos sinais NH do precursor acilidrazina **88**. Já o espectro de massas (**Espectro 46**) além do pico do íon molecular ( $\text{M}^+ + \text{H}$ ) e pico base  $m/z = 275$  u.m.a. (100%) mostra o pico do íon  $\text{M}^+ + 2$   $m/z = 276$  u.m.a. (5%) e fragmentos característicos para o heterociclo **89**.

O **Esquema 28** mostra uma proposta de fragmentação para o heterociclo **89**.



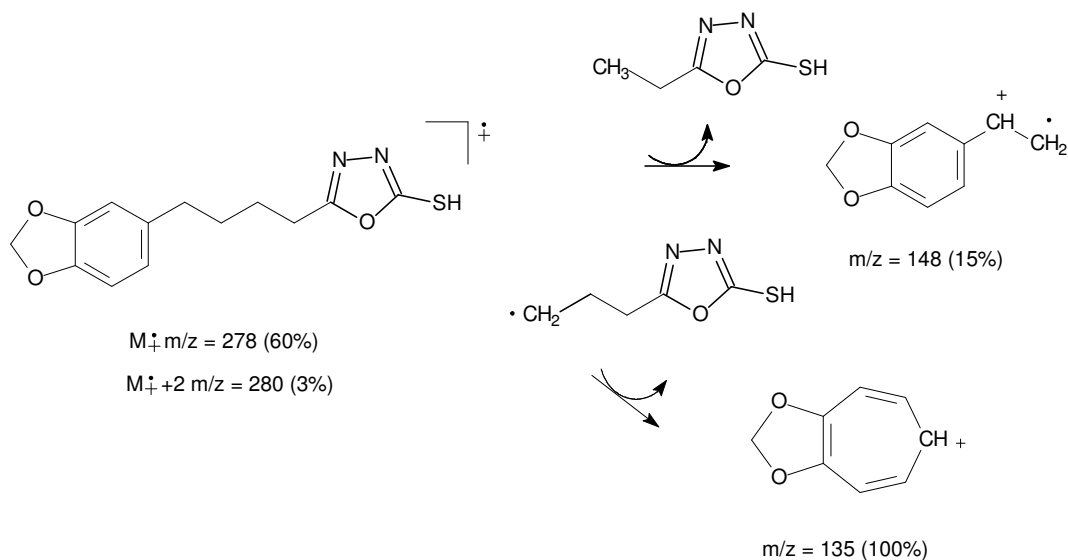
**Esquema 28.** Proposta de fragmentação para o heterociclo **89**.

O heterociclo da estrutura **90** foi obtido (**Esquema 26**), após recristalização em metanol, como um sólido branco amorfo com ponto de fusão entre 66-68°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor acilidrazina **94**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 49**) pode ser observada uma banda larga em  $3350\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação NH do heterociclo, e absorções em  $1580$ ,  $1390$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 52**) podem ser observados dois sinais característicos do equilíbrio tautomérico do heterociclo, um em  $\delta = 178,1$  ppm (C=S) e outro em  $\delta = 164,6$  ppm (C=N). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 51**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 14,3$  ppm (NH/SH) característico do hidrogênio ácido que participa do equilíbrio tautomérico do heterociclo – deslocamento

químico superior aos sinais NH do precursor acilidrazina **94**. Já o espectro de massas (**Espectro 50**) além do pico do íon molecular  $m/z = 278$  u.m.a. (60%) e pico base  $m/z = 135$  u.m.a. (100%), mostra o pico do íon  $M + 2$   $m/z = 280$  u.m.a. (3%) e fragmentos característicos para o heterociclo **90**.

O **Esquema 29** mostra uma proposta de fragmentação para o heterociclo **90**.



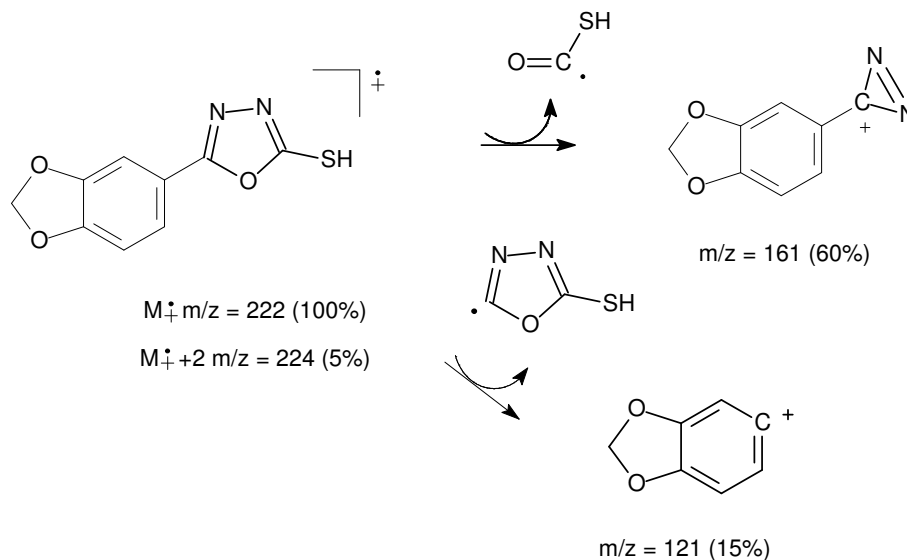
**Esquema 29.** Proposta de fragmentação para o heterociclo **90**.

O heterociclo da estrutura **104** foi obtido (**Esquema 26**), após recristalização em metanol, como um sólido branco amorfo com ponto de fusão entre 196-198°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor acilidrazina **101**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 53**) pode ser observada uma banda larga em  $3450\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação NH do heterociclo, e absorções em  $1605$ ,  $1500$  e  $1220\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 56**) podem ser observados dois sinais característicos do equilíbrio tautomérico do heterociclo, um em  $\delta = 177,6$  ppm (C=S) e outro em  $\delta = 160,8$  ppm (C=N). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 55**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 14,6$  ppm (NH/SH) característico do hidrogênio ácido que participa do equilíbrio tautomérico do heterociclo – deslocamento químico superior aos sinais NH do precursor acilidrazina **101**. Já o espectro de massas (**Espectro 54**) além do pico do íon molecular e pico base  $m/z = 222$  u.m.a. (100%),

mostra o pico do íon  $M + 2$   $m/z = 224$  u.m.a. (5%) e fragmentos característicos para o heterociclo **104**.

O **Esquema 30** mostra uma proposta de fragmentação para o heterociclo **104**.

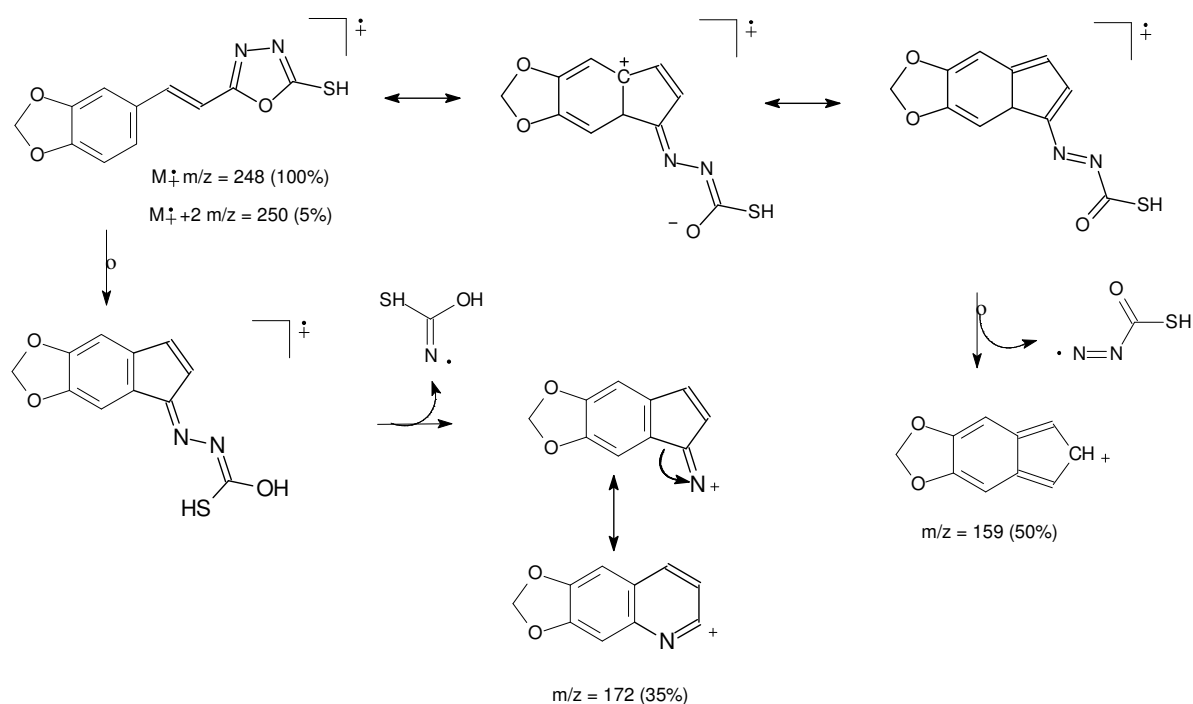


**Esquema 30.** Proposta de fragmentação para o heterociclo **104**.

O heterociclo da estrutura **105** foi obtido (**Esquema 26**), após recristalização em metanol, como um sólido branco amorfo com ponto de fusão entre 180-182°C. Além do ponto de fusão, superior ao precursor acilidrazina **102**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 57**) pode ser observada uma banda larga em  $3350\text{ cm}^{-1}$ , devido ao estiramento da ligação NH do heterociclo, e absorções em  $1580$ ,  $1450$  e  $1210\text{ cm}^{-1}$  referentes aos estiramentos C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 60**) podem ser observados dois sinais característicos do equilíbrio tautomérico do heterociclo, um em  $\delta = 177,3$  ppm (C=S) e outro em  $\delta = 161,3$  ppm (C=N). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 59**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 14,5$  ppm (NH/SH) característico do hidrogênio ácido que participa do equilíbrio tautomérico do heterociclo – deslocamento químico superior aos sinais NH do precursor acilidrazina **102**. Já o espectro de massas (**Espectro 58**) além do pico do íon molecular e pico base  $m/z = 248$  u.m.a. (100%), mostra o pico do íon  $M + 2$   $m/z = 250$  u.m.a. (5%) e fragmentos característicos para o heterociclo **105**.

O Esquema 31 mostra uma proposta de fragmentação para o heterociclo **105**.



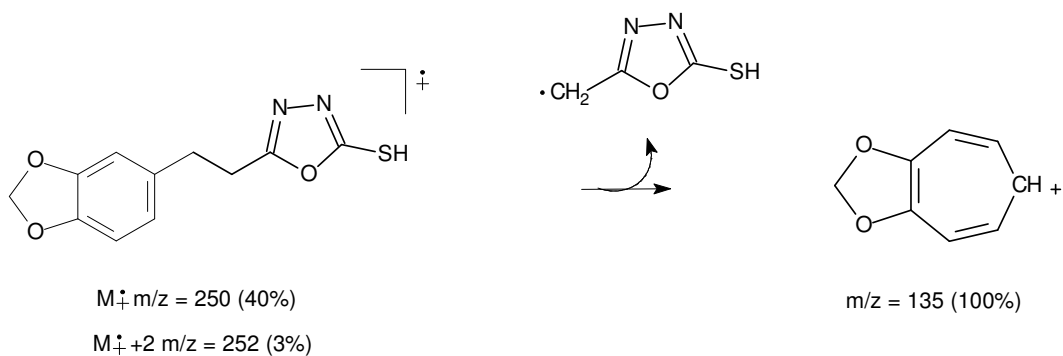
Esquema 31. Proposta de fragmentação para o heterociclo **105**.

O heterociclo da estrutura **106** foi obtido (Esquema 26), após recristalização em metanol, como um sólido branco amorfo com ponto de fusão entre 96-98°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor acilidrazina **103**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (Espectro 61) pode ser observada uma banda larga entre 3100-3600 cm<sup>-1</sup>, devido ao estiramento da ligação NH do heterociclo, e absorções em 1598, 1493 e 1245 cm<sup>-1</sup> referentes aos estiramentos C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metileno-dioxi), respectivamente. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (Espectro 64) podem ser observados dois sinais característicos do equilíbrio tautomérico do heterociclo, um em δ = 178,2 ppm (C=S) e outro em δ = 163,8 ppm (C=N). No espectro de RMN <sup>1</sup>H (Espectro 63) não pôde ser observado o sinal característico do hidrogênio ácido que participa do equilíbrio tautomérico do heterociclo – possivelmente foi trocado pelo deutério do solvente durante a preparação da solução para a espectrometria. Já o

espectro de massas (**Espectro 62**) além do pico do íon molecular  $m/z = 250$  u.m.a. (40%) e pico base  $m/z = 135$  u.m.a. (100%), mostra o pico do íon  $M + 2$   $m/z = 252$  u.m.a. (5%) e fragmentos característicos para o heterociclo **106**.

O **Esquema 32** mostra uma proposta de fragmentação para o heterociclo **106**.

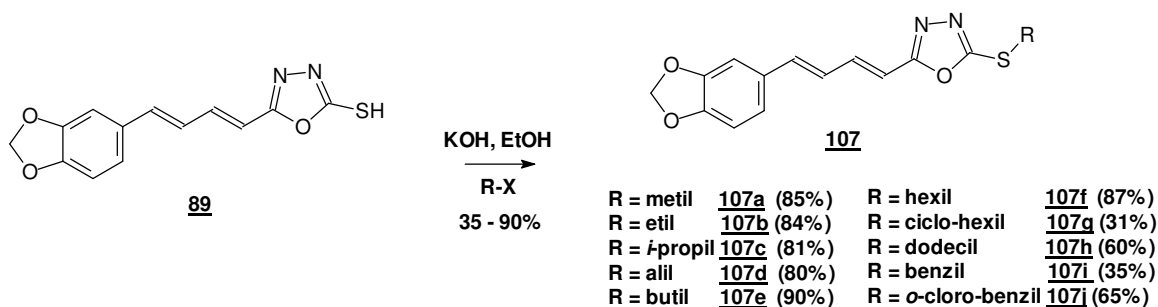


**Esquema 32.** Proposta de fragmentação para o heterociclo **106**.



#### 4.1.6- SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOL S-SUBSTITUÍDOS

A síntese dos derivados com substituição no átomo de enxofre foi realizada através de reações de substituição nucleofílica do derivado **89** com haletos de alquila adequados em solução etanólica básica e refluxo (NAVEENA, 2010). Visando avaliar a importância biológica da substituição no enxofre do derivado piperínico 1,3,4-oxadiazólico (**89**), foi utilizada esta abordagem sintética e foi possível homologar ao heterociclo uma série de substituintes (**107a-j**), utilizando diferentes haletos de alquila R-X (iodeto de metila, iodeto de etila, iodeto de isopropila, brometo de alila, iodeto de butila, iodeto de hexila, brometo de ciclo-hexila, iodeto de dodecila, brometo de benzila e cloreto de *o*-cloro-benzila), conforme pode ser visto no **Esquema 33**, a seguir:



**Esquema 33.** Síntese da série de derivados 1,3,4-oxadiazólicos S-substituídos (**107**).

A série, de dez derivados S-substituídos (**107**), foi obtida com rendimentos satisfatórios, com grau de pureza adequado segundo métodos convencionais de análise e apresentaram dados espectroscópicos compatíveis com suas estruturas. Alguns sinais de RMN foram fundamentais para caracterizar a reação de substituição nucleofílica no átomo de enxofre do heterociclo. Nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  podemos observar sinais entre  $\delta = 2-4$  ppm referentes à função tio-éter além outros sinais referentes aos substituintes – a ausência do simpleto largo próximo a  $\delta = 14$  ppm (NH/SH) também caracteriza a formação dos derivados. Com a formação destes derivados os heterociclos deixam de realizar o equilíbrio tautomérico (tiol-tiona). Nos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  os sinais próximos a  $\delta = 177$  ppm, referentes ao C=S do reagente de partida, são substituídos por sinais referentes ao C=N observados próximo a  $\delta = 163$  ppm, referente ao C=N (carbono 5 do heterociclo) e  $\delta = 165$  ppm, referente ao C=N (carbono 2 do

heterociclo) respectivamente. Além destes, outros sinais referentes aos substituintes podem ser observados e comparados com o reagente de partida **89**, como mostra as **Tabelas 9 e 10**, que relacionam dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente.

Já as espectrometrias de massas apresentaram duas fragmentações específicas, a eliminação do radical 3,4-metilenodioxifenil (a) e a eliminação do radical 1,3,4-oxadiazol-2-tiossubstituído (b). Como alguns dos derivados apresentaram a razão massa/carga baixa, para estes o íon M+2 não ficou aparente.

**Tabela 9.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  dos derivados heterocíclicos **89**, e **107a-j**.

Deslocamento químico RMN $^1\text{H}$ (ppm)											
Posição	Derivados S-substituídos (107)										
	<b>89</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>f</b>	<b>g</b>	<b>h</b>	<b>i</b>	<b>j</b>
<b>2</b>	7,22	6,79	7,02	6,79	6,79	7,02	7,02	6,8	7,02	6,79	7,02
<b>5</b>	6,9-7,08	7,03	6,81	7,03	7,03	6,81	6,81	7,03	6,81	7,03	6,82
<b>6</b>	6,9-7,08	6,82	6,93	6,82	6,82	6,93	6,93	6,82	6,93	6,82	6,94
<b>7</b>	-	2,77	3,3	3,96	3,92	3,29	3,28	3,8	3,28	4,52	4,63
<b>8</b>	-	-	1,52	1,53	6,01	1,82	1,83	2,01	1,83	-	-
<b>9</b>	-	-	-	-	5,41/5,25	1,51	1,48	1,62	1,47	7,47	-
<b>10</b>	-	-	-	-	-	0,98	1,34	1,62	1,28	7,36	7,63
<b>11</b>	-	-	-	-	-	-	1,34	-	1,28	7,36	7,25
<b>12</b>	-	-	-	-	-	-	0,92	-	1,28	-	7,25
<b>13-18</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9-1,28	-	7,43
<b><math>\alpha</math></b>	6,43	6,51	6,51	6,52	6,51	6,51	6,51	6,52	6,51	6,51	6,51
<b><math>\beta</math></b>	7,23	7,23	7,23	7,24	7,42	7,22	7,23	7,24	7,23	7,22	7,23
<b><math>\gamma</math></b>	6,9-7,06	6,78	6,78	6,78	6,78	6,78	6,78	6,78	6,78	6,78	6,79
<b><math>\delta</math></b>	6,9-7,06	6,94	6,78	6,94	6,94	6,78	6,82	6,94	6,78	6,94	6,79
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,06	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	6,01	6,02	6,01	6,01	6,02

**Tabela 10.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN <sup>13</sup>C dos derivados heterocíclicos **89**, e **107a-i**.

Deslocamento químico RMN <sup>13</sup> C (ppm)											
Posição	Derivados S-substituídos ( <b>107</b> )										
	<b>89</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>	<b>e</b>	<b>f</b>	<b>g</b>	<b>h</b>	<b>i</b>	<b>j</b>
<b>C=N</b>	177,3*	165,6	165,5	165,4	165,7	165,4	165,4	165,3	165,4	165,6	165,7
<b>C=N</b>	161,1	164,4	163,7	163,3	163	163,9	164	163,4	163,9	163,2	163,1
<b>1</b>	131	130,6	130,6	130,6	130,6	130,6	130,6	130,7	130,6	130,6	130,6
<b>2</b>	106	105,8	105,8	105,8	105,8	105,8	105,8	105,8	105,8	105,8	105,7
<b>3</b>	148,5	148,3	148,3	148,3	148,3	148,3	148,3	148,3	148,3	148,3	148,5
<b>4</b>	148,6	148,5	148,5	148,5	148,5	148,5	148,3	148,5	148,4	148,5	148,3
<b>5</b>	109	108,6	108,6	108,6	108,6	108,6	108,6	108,6	108,5	108,6	108,5
<b>6</b>	110,9	111,5	111,6	111,7	111,6	111,6	111,6	111,7	111,6	111,5	111,4
<b>7</b>	-	14,57	26,94	38,99	35,18	32,20	32,56	46,68	32,93	36,79	34,52
<b>8</b>	-	-	14,75	23,39	131,7	31,20	31,21	33,3	31,56	135,5	133,7
<b>9</b>	-	-	-	-	119,8	21,80	29,18	25,72	22-29	128,8	134,3
<b>10</b>	-	-	-	-	-	13,50	28,28	29,72	22-29	129,2	131,5
<b>11</b>	-	-	-	-	-	-	22,49	-	22-29	128,1	129,7
<b>12</b>	-	-	-	-	-	-	14,02	-	22-29	-	127,1
<b>13-18</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	14-29	-	129,6
<b>α</b>	123,6	122,8	122,8	122,8	122,8	122,9	122,8	122,8	122,7	122,8	122,8
<b>β</b>	140,2	138,9	138,9	138,9	139	139,3	138,6	138,9	138,8	139,1	139,1
<b>γ</b>	139,7	138,7	138,6	138,6	138,7	138,8	138,6	138,6	138,5	138,8	138,7
<b>δ</b>	125,8	125,1	125,1	125,1	125,1	125,1	125,1	125,2	125,1	125,1	125
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	101,9	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4	101,4

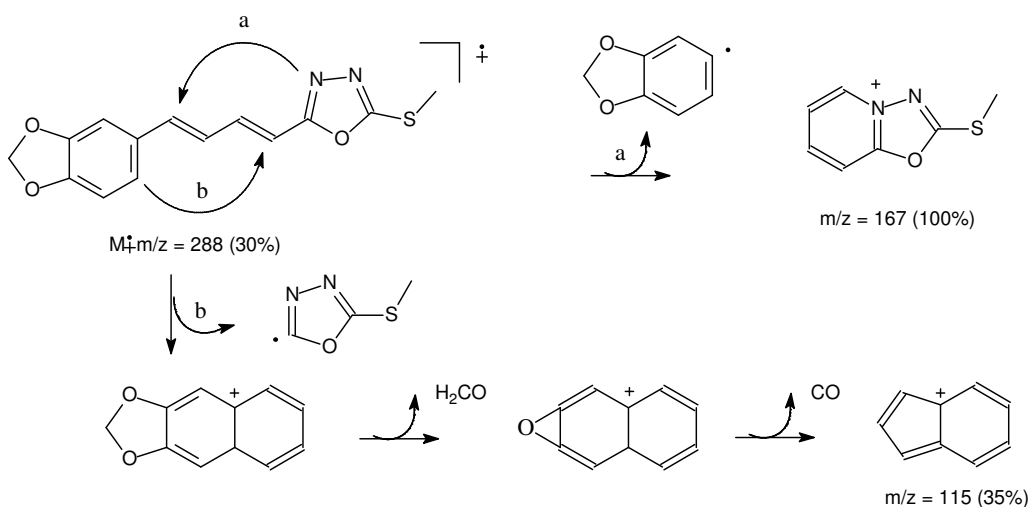
\*Deslocamento químico de C=S

O derivado **107a** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em metanol, como um sólido amarelo amorfo com ponto de fusão entre 153-155°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 65**) podem ser observadas as absorções em 2924, 1597, 1472 e 1250 cm<sup>-1</sup> referente aos estiramentos C-H (C sp<sup>3</sup>), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 68**) podem ser observados três sinais característicos: dois em δ = 165,6 e 164,4 ppm (C=N heterociclo) e um sinal em δ = 14,57 ppm (substituinte C-7, **Tabela**

**29)** que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 67**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 2,77$  ppm referente ao substituinte metil (C-7, **Tabela 29**). Já o espectro de massas (**Espectro 66**) além do pico do íon molecular  $m/z = 288$  u.m.a. (30%) mostra o pico base  $m/z = 167$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107a**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 34** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107a**.



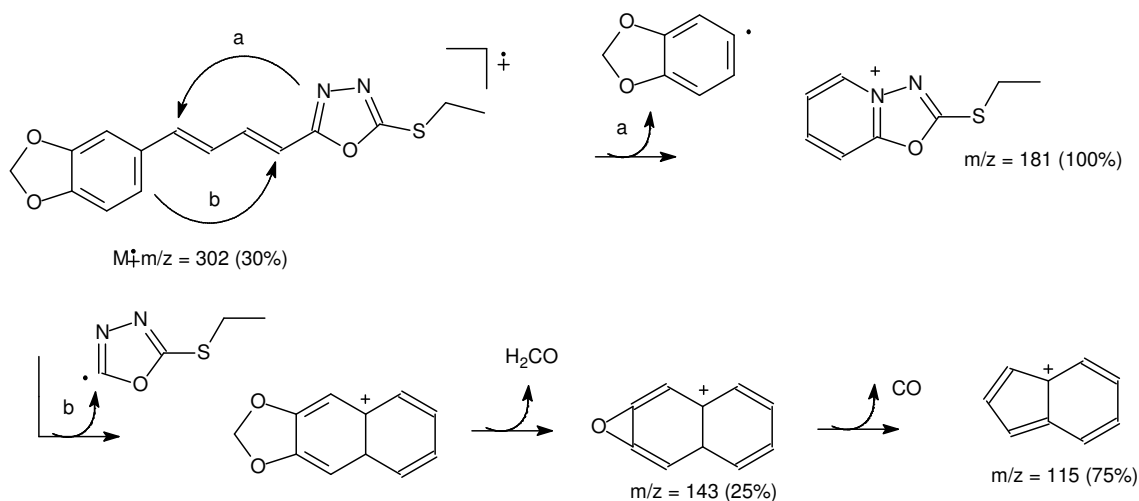
**Esquema 34.** Proposta de fragmentação para o derivado **107a**.

O derivado **107b** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo castanho amorfo com ponto de fusão entre 110-112°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 69**) podem ser observadas as absorções em 2922, 1614, 1445 e 1244  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 72**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,4$  e 163,6 ppm (C=N heterociclo) e dois em  $\delta = 14,7$  e 26,9 ppm (substituinte C-7 e C-8, **Tabela 30**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 71**) podem ser observados dois sinais em  $\delta = 3,3$  e 1,52 ppm referentes ao substituinte etil (C-7 e C-8, **Tabela 30**). Já o espectro de massas (**Espectro 70**) além do pico do íon

molecular  $m/z = 302$  u.m.a. (20%) mostra o pico base  $m/z = 181$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107b**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 35** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107b**.

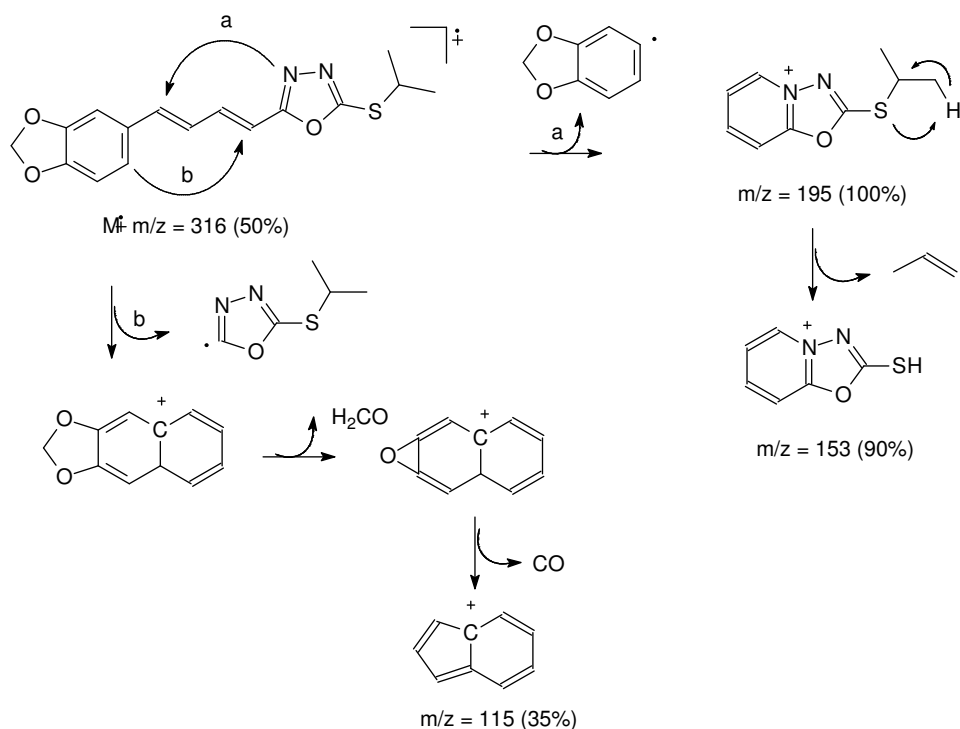


**Esquema 35.** Proposta de fragmentação para o derivado **107b**.

O derivado **107c** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo castanho amorfo com ponto de fusão entre 90-92°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 73**) podem ser observadas as absorções em 2922, 1597, 1466 e 1244  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 76**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,3$  e 163,3 ppm (C=N heterociclo) e dois em  $\delta = 38,9$  e 23,3 ppm (substituinte C-7 e C-8, **Tabela 31**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 75**) podem ser observados dois sinais em  $\delta = 3,96$  e 1,53 ppm referentes ao substituinte isopropil (C-7 e C-8, **Tabela 31**). Já o espectro de massas (**Espectro 74**) além do pico do íon molecular  $m/z = 316$  u.m.a. (50%) mostra o pico base  $m/z = 195$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107c**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 36** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107c**.

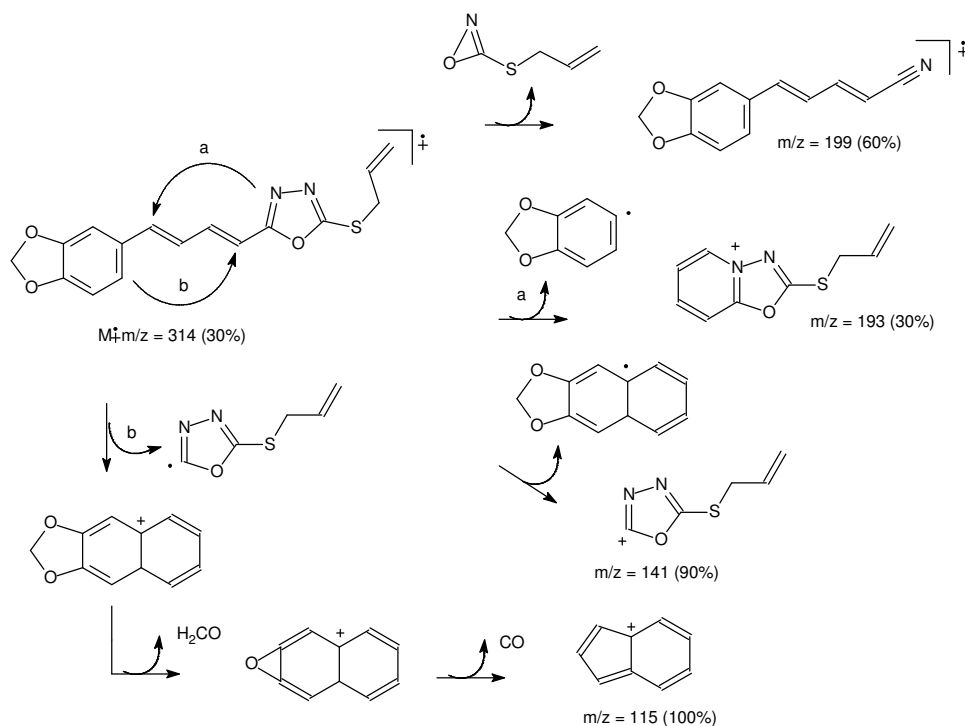


**Esquema 36.** Proposta de fragmentação para o derivado **107c**.

O derivado **107d** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo mostarda amorfo com ponto de fusão entre 84-86°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 77**) podem ser observadas as absorções em 2918, 1614, 1466 e 1256  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 80**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,6$  e 163 ppm (C=N heterociclo) e três sinais em  $\delta = 35,1$ , 131,7 e 119,8 ppm (substituinte C-7, C-8 e C-9, **Tabela 32**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 79**) podem ser observados três sinais em  $\delta = 3,96$ , 5,41 e 6,01 ppm referentes ao substituinte vinil (C-7, C-9 e C-8, **Tabela 32**). Já o espectro de massas (**Espectro 78**) além do pico do íon molecular e pico base  $m/z = 314$  u.m.a. (100%) mostra o pico do íon  $M + 2$   $m/z = 316$  u.m.a. (5%) e fragmentos característicos do derivado **107d**.

O **Esquema 37** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107d**.

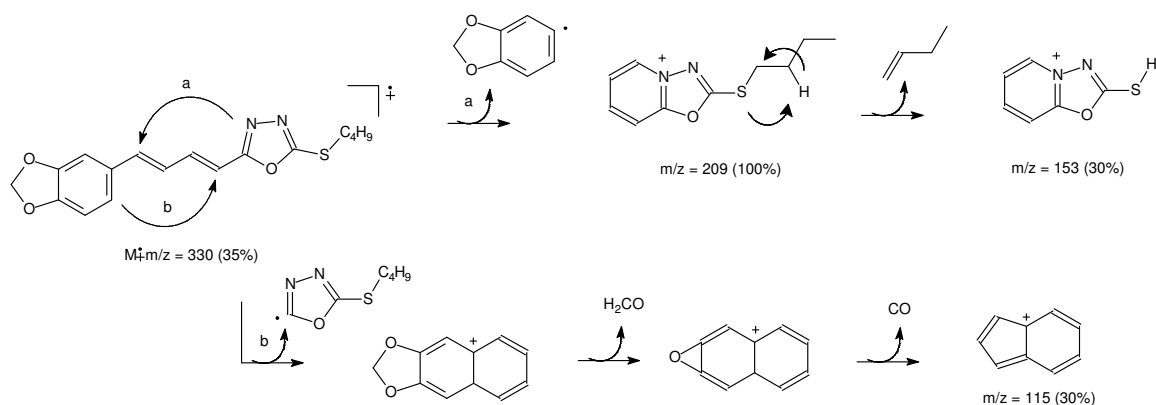


**Esquema 37.** Proposta de fragmentação para o derivado **107d**.

O derivado **107e** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em metanol, como um sólido bege amorfo com ponto de fusão entre 85-86°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 81**) podem ser observadas as absorções em 2921, 1620, 1470 e 1250  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 84**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,4$  e 163,9 ppm (C=N heterociclo) e sinais entre  $\delta = 13-32$  ppm (substituinte C-7-10, **Tabela 33**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 83**) podem ser observados alguns sinais entre  $\delta = 0,99-3,3$  ppm referentes ao substituinte n-butil (C-7-10, **Tabela 33**).

O **Esquema 38** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107e**.



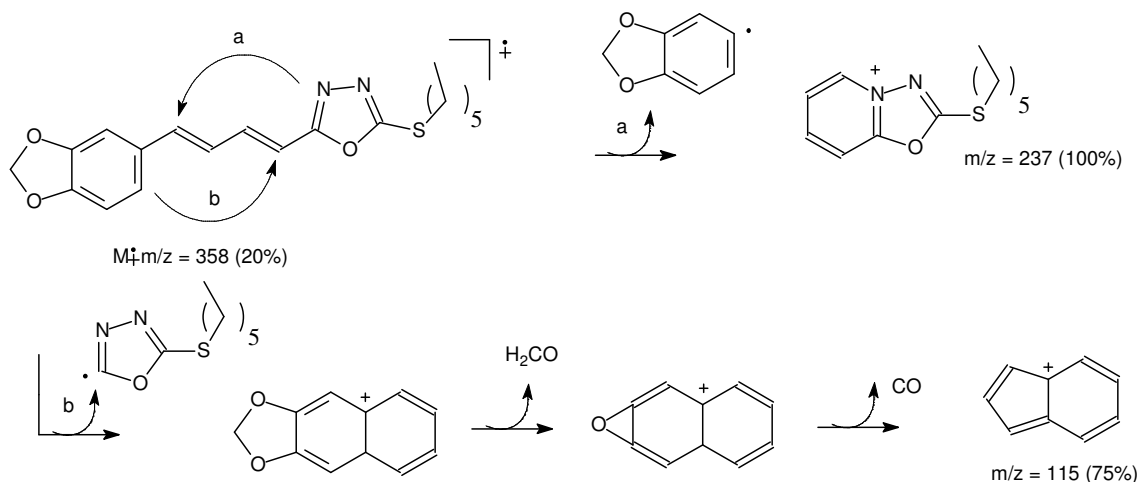
**Esquema 38.** Proposta de fragmentação para o derivado **107e**.

O derivado **107f** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido bege amorfo com ponto de fusão entre 76-78°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 85**) podem ser observadas as absorções em 2928, 1623, 1466 e 244  $cm^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $C sp^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}C$  (**Espectro 88**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,4$  e 163,9 ppm (C=N heterociclo) e sinais entre  $\delta = 14-32,5$  ppm (substituinte C-7-12, **Tabela 34**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1H$  (**Espectro 87**) podem ser observados alguns sinais entre  $\delta = 0,9-3,2$  ppm referentes ao substituinte n-hexil (C-7-12, **Tabela 34**). Já o espectro de massas (**Espectro 86**) além do pico do íon molecular  $m/z = 358$  u.m.a. (20%) mostra o pico base  $m/z = 237$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107f**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 39** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107f**.



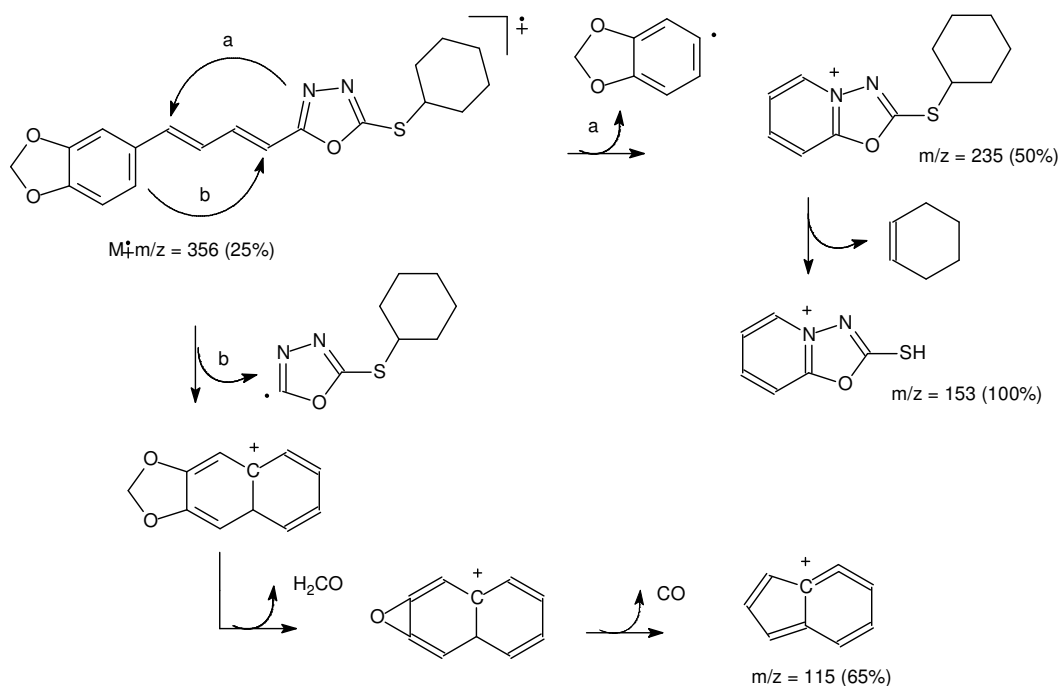


**Esquema 39.** Proposta de fragmentação para o derivado **107f**.

O derivado **107g** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo amorfo com ponto de fusão entre 108-110°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 89**) podem ser observadas as absorções em 2926, 1614, 1447 e 1254  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 92**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,3$  e 163,3 ppm (C=N heterociclo) e sinais entre  $\delta = 25-46,6$  ppm (substituinte C-7-10, **Tabela 35**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 91**) podem ser observados alguns sinais entre  $\delta = 1,6-3,8$  ppm referentes ao substituinte ciclo-hexil (C-7-10, **Tabela 35**). Já o espectro de massas (**Espectro 90**) além do pico do íon molecular  $m/z = 356$  u.m.a. (25%) mostra o pico base  $m/z = 153$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107g**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 40** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107g**.

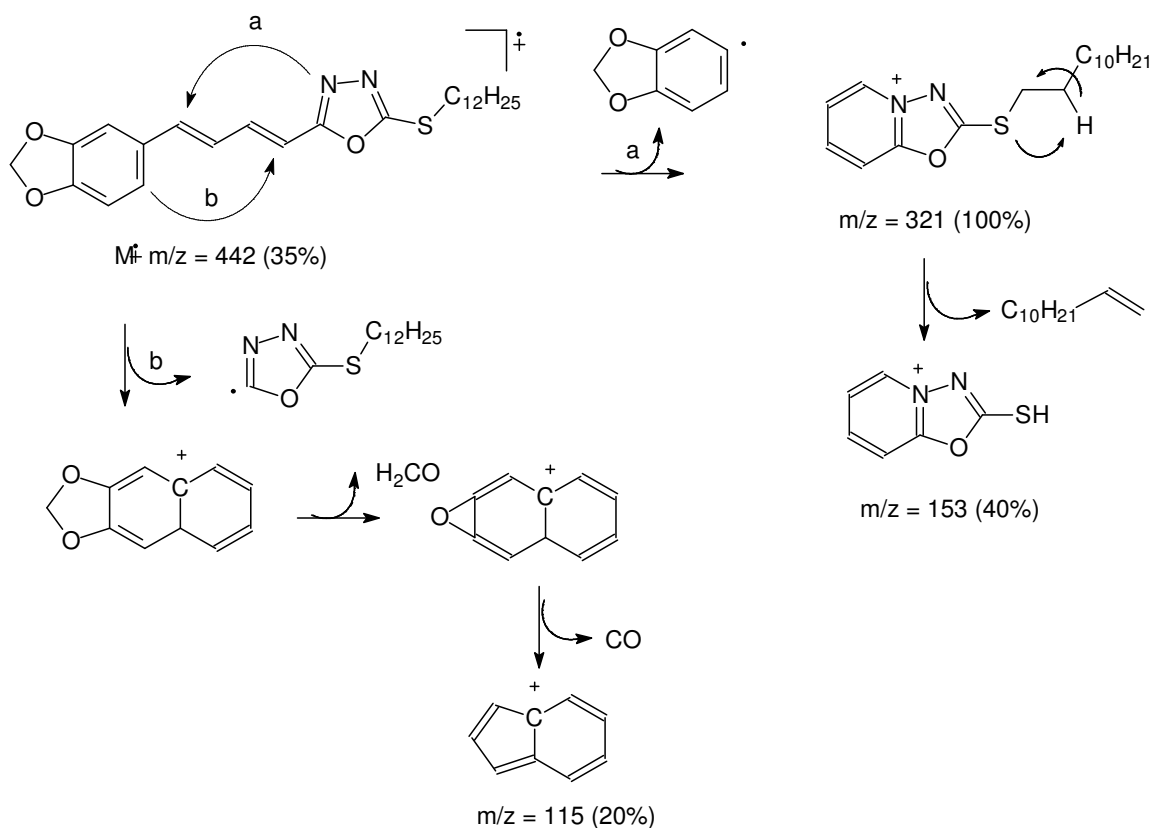


**Esquema 40.** Proposta de fragmentação para o derivado **107g**.

O derivado **107h** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido bege amorfo com ponto de fusão entre 78-80°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 93**) podem ser observadas as absorções em 2917, 1618, 1471 e 1245  $cm^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $C\ sp^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}C$  (**Espectro 96**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,4$  e 163,9 ppm (C=N heterociclo) e sinais entre  $\delta = 14-32,5$  ppm (substituinte C-7-18, **Tabela 36**) que caracteriza a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1H$  (**Espectro 95**) podem ser observados alguns sinais entre  $\delta = 0,9-3,3$  ppm referentes ao substituinte dodecil (C-7-18, **Tabela 36**). Já o espectro de massas (**Espectro 94**) além do pico do íon molecular  $m/z = 442$  u.m.a. (35%) mostra o pico base  $m/z = 321$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107h**. Como o pico do íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 41** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107h**.



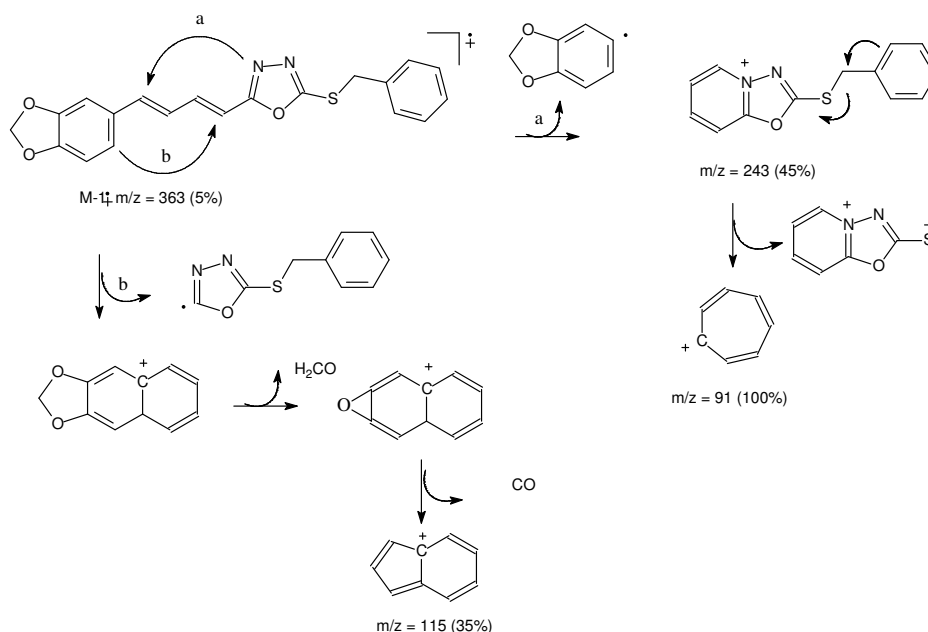
**Esquema 41.** Proposta de fragmentação para o derivado **107h**.

O derivado **107i** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo castanho amorfo com ponto de fusão entre 151-152°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 97**) podem ser observadas as absorções em 2909, 1616, 1448 e 1256  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H (C  $\text{sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 100**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,6$  e 163,2 ppm (C=N heterociclo), um sinal em  $\delta = 36,7$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 37**) e sinais entre  $\delta = 128-135$  ppm (C-8-11, **Tabela 37**) que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 99**) podem ser observados um simpleto em  $\delta = 4,52$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 37**) e alguns sinais entre  $\delta = 7,3-7,4$  ppm referentes ao substituinte benzil (C-7-11, **Tabela 37**). Já o espectro de massas (**Espectro 98**) além do pico do íon molecular  $m/z = 363$  u.m.a. (5%) mostra o pico base  $m/z = 91$  u.m.a. (100%) e fragmentos característicos do derivado **107i**. Como o pico do

íon molecular apresentou uma relação massa-carga baixa o íon  $M + 2$  não ficou aparente.

O **Esquema 42** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107i**.



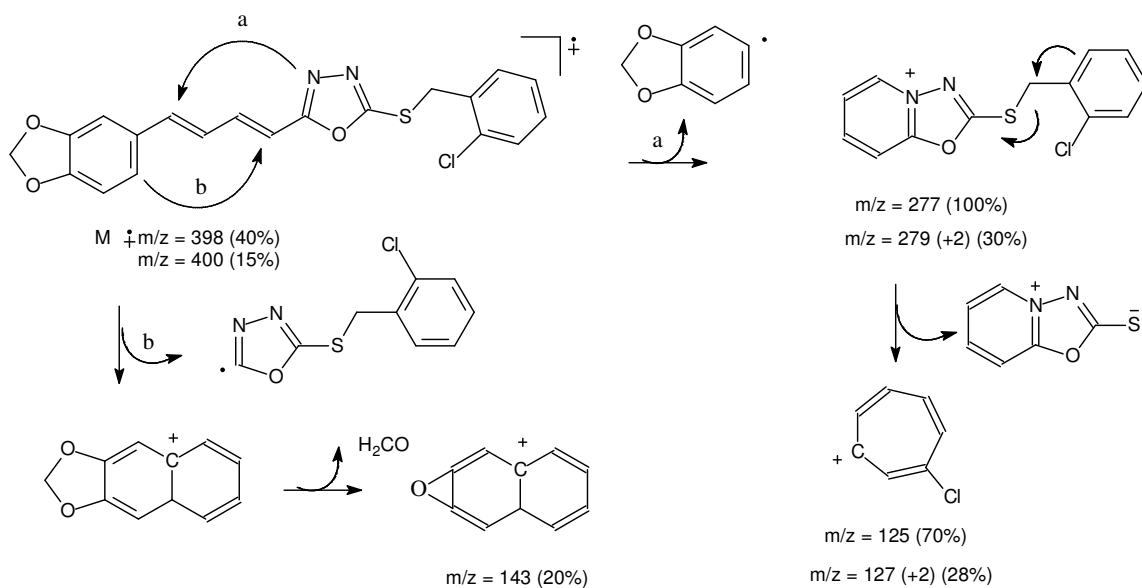
**Esquema 42.** Proposta de fragmentação para o derivado **107i**.

O derivado **107i** foi obtido (**Esquema 33**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo amorfo com ponto de fusão entre 115-117°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 101**) podem ser observadas as absorções em 2916, 1622, 1470 e 1256  $cm^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $C sp^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}C$  (**Espectro 104**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 165,7$  e 163,1 ppm (C=N heterociclo), um sinal em  $\delta = 34,5$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 38**) e sinais entre  $\delta = 127-134$  ppm (C-8-13, **Tabela 38**) que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1H$  (**Espectro 103**) podem ser observados um simpleto em  $\delta = 4,63$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 38**) e alguns sinais entre  $\delta = 7,2-7,6$  ppm referentes ao substituinte *o*-cloro-benzil (**Tabela 38**). Já o espectro de massas (**Espectro 102**) além do pico do íon molecular  $m/z = 398$  u.m.a. (30%) e o pico

base  $m/z = 277$  u.m.a. (100%), mostra fragmentos de íons + 2 relativos aos isótopos do cloro e enxofre que são característicos do derivado **107j**.

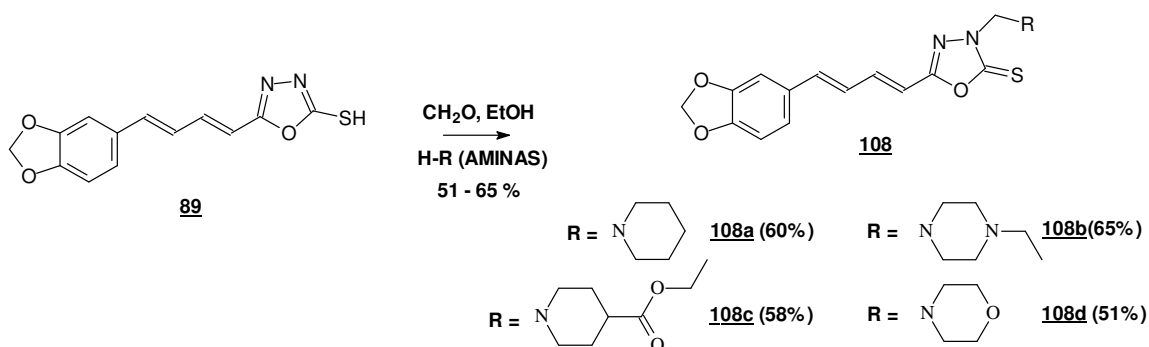
O **Esquema 43** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **107j**.



**Esquema 43.** Proposta de fragmentação para o derivado **107j**.

#### 4.1.7- SÍNTESE DOS DERIVADOS 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONAS *N*(3)-SUBSTITUÍDOS (**108**)

A síntese dos derivados com substituição no nitrogênio (*N*-3) do anel oxadiazólico, foi realizada utilizando como ferramenta sintética a reação de *Mannich* (BLICKE, 1942; SIEGER, 1971), onde o formaldeído pode ser condensado com aminas primárias ou secundárias, gerando espécies altamente eletrofílicas que, segundo dados da literatura, são capazes de fazer adição sobre o *N*-3 do núcleo 1,3,4-oxadiazólico (EL-EMAM, 2004). Visando avaliar a importância biológica da substituição no nitrogênio (*N*-3) do derivado piperínico oxadiazólico (**89**), foi utilizada esta abordagem sintética e foi possível homologar ao heterociclo uma série de substituintes (**108a-d**), utilizando diferentes aminas cíclicas de seis membros (piperidina, *N*-etil-piperazina, 4-carboxietil-piperidina e morfolina), conforme pode ser visto no **Esquema 44**, a seguir:



**Esquema 44.** Síntese da série de derivados 1,3,4-oxadiazólicos *N*(3)- substituídos.

Os quatro derivados *N*(3)-substituídos (**108a-d**) foram obtidos com rendimentos razoáveis, todos com grau de pureza adequado, caracterizados pelos métodos convencionais de análise e os dados espectroscópicos foram compatíveis com suas estruturas. Alguns sinais de RMN foram fundamentais para caracterizar a formação destes derivados. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  a presença do simpleto largo próximo a  $\delta = 5$  ppm, interpretados para dois hidrogênios, caracteriza a presença dos metilendiamino ( $\text{NCH}_2\text{N}$ ) resultante da base de *Mannich* (NAVEENA, 2010; MA, 2013). No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  a presença do sinal próximo a  $\delta = 70$  ppm confirma a presença do metilendiamino ( $\text{NCH}_2\text{N}$ ) resultante da base de *Mannich* obtida. Com a formação destes derivados os heterociclos deixam de realizar o equilíbrio tautomérico (tiol-tiona), mas os valores dos deslocamentos químicos de  $\text{C}=\text{S}$  e  $\text{C}=\text{N}$  não sofrem alterações

significativas, ou seja, continuam sendo observados próximos a  $\delta = 177$  e  $160$  ppm no espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ , respectivamente. Além destes outros sinais referentes à amina adicionada podem ser observados e comparados com o reagente de partida **89** como mostra a **Tabela 11** e **12**, que relaciona dados de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , respectivamente. Já a espectrometria de massas por impacto de elétron apresentou algumas limitações na detecção do íon molecular destes derivados (**108a-d**). Com isso foi necessário utilizar uma técnica mais branda e de maior resolução (analisador TOF / MS-ES) que foi capaz de identificar o íon molecular (M+H e M+H+2).

**Tabela 11.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^1\text{H}$  dos derivados heterocíclicos **89**, e **108a-d**.

Deslocamento químico RMN $^1\text{H}$ (ppm)					
Posição	<b>89</b>	Derivados <i>N</i> -substituídos ( <b>108</b> )			
		<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>
<b>2</b>	7,22	7,01	6,99	7,02	7,02
<b>5</b>	6,9-7,1	6,82	6,78	6,78	6,8
<b>6</b>	6,9-7,1	6,92	6,94	6,94	6,94
<b>7</b>	-	4,97	5,03	5	4,99
<b>8</b>	-	2,76	2,62	3,1/2,5	3,71
<b>9</b>	-	1,57	3	1,9/1,7	2,82
<b>10</b>	-	1,41	1,17	2,23	-
<b>11</b>	-	-	-	-	-
<b>12</b>	-	-	-	4,13	-
<b>13</b>	-	-	-	1,25	-
<b><math>\alpha</math></b>	6,43	6,23	6,22	6,23	6,23
<b><math>\beta</math></b>	7,23	7,26	7,27	7,29	7,29
<b><math>\gamma</math></b>	6,9-7,1	6,82	6,78	6,82	6,82
<b><math>\delta</math></b>	6,9-7,1	6,92	6,78	6,76	6,8
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,06	6,01	6	6,02	6,01

**Tabela 12.** Relação dos dados de deslocamento químico da espectrometria de RMN  $^{13}\text{C}$  dos derivados heterocíclicos **89**, e **108a-d**.

Deslocamento químico RMN $^{13}\text{C}$ (ppm)					
Posição	Derivados <i>N</i> -substituídos ( <b>108</b> )				
	<b>89</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>c</b>	<b>d</b>
C=S	177,32	177,85	177,68	177,66	177,77
C=N	161,07	158,94	158,8	158,83	158,9
<b>1</b>	131,01	130,4	130,36	130,37	130,35
<b>2</b>	106,02	105,83	105,84	105,81	105,82
<b>3</b>	148,48	148,5	148,72	148,37	148,37
<b>4</b>	148,6	148,5	148,32	148,77	148,78
<b>5</b>	109,04	108,63	108,58	108,63	108,63
<b>6</b>	110,93	109,98	109,71	109,8	109,69
<b>7</b>	-	71,35	69,7	70,76	70,27
<b>8</b>	-	51,63	52,13	60,42	66,78
<b>9</b>	-	25,89	49,27	28,17	50,54
<b>10</b>	-	23,7	29,69	40,46	-
<b>11</b>	-	-	11,22	174,85	-
<b>12</b>	-	-	-	50,12	-
<b>13</b>	-	-	-	14,21	-
$\alpha$	123,57	123,18	123,19	123,23	123,25
$\beta$	140,18	140,71	140,76	140,68	140,82
$\gamma$	139,66	139,9	140,07	140,04	140,14
$\delta$	125,78	124,71	124,57	124,55	124,52
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	101,88	101,48	101,44	101,48	101,49

O derivado **108a** foi obtido (**Esquema 44**), após recristalização em etanol, como um sólido marrom amorfo com ponto de fusão entre 132-134°C. Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 105**) podem ser observadas as absorções em 3030, 2934, 1601, 1425 e 1248  $\text{cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H (C  $\text{sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 108**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 177,8$  e 158,9 ppm (C=S e C=N do heterociclo, respectivamente), um sinal em  $\delta$



= 71,3 ppm (substituinte C-7, **Tabela 39**) e três sinais em  $\delta = 23, 25$  e  $51$  ppm que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 107**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 4,97$  ppm referente ao substituinte metileno (C-7, **Tabela 39**) e sinais entre  $\delta = 1,4$  e  $2,7$  ppm referentes ao anel piperidínico. Já o espectro de massas (**Espectro 106**), ionizado por eletronspray, mostra o pico do íon molecular M+H ( $371,13036 + 1,0079$ ) pico base  $m/z = 372$  ( $372,1382$ ) u.m.a. (100%), o pico do íon  $m/z = 373$  ( $373,1411$ ) (10%) e o pico do isótopo do enxofre M+H+2  $m/z = 374$  ( $374,1381$ ) (5%).

O derivado **108b** foi obtido (**Esquema 44**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo mostarda com ponto de fusão entre  $137-139^\circ\text{C}$ . Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 109**) podem ser observadas as absorções em  $2921, 1612, 1444$  e  $1246\text{ cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H ( $\text{C sp}^3$ ), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 112**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 177,6$  e  $158,8$  ppm (C=S e C=N do heterociclo, respectivamente), um sinal em  $\delta = 69,7$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 40**) e quatro sinais em  $\delta = 11, 29, 49$  e  $52$  ppm que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 111**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 5,03$  ppm referente ao substituinte metileno (C-7, **Tabela 40**) e sinais entre  $\delta = 1,1$  e  $3$  ppm referentes à *N*-etil-piperazina.

Já o espectro de massas (**Espectro 110**), ionizado por eletronspray, mostra o pico do íon molecular M+H ( $400,1569 + 1,0079$ ) pico base  $m/z = 401$  ( $401,1647$ ) u.m.a. (100%), o pico do íon  $m/z = 402$  ( $402,1676$ ) (10%) e o pico do isótopo do enxofre M+H+2  $m/z = 403$  ( $403,1649$ ) (5%).

O derivado **108c** foi obtido (**Esquema 44**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo amorfo com ponto de fusão entre  $135-137^\circ\text{C}$ . Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

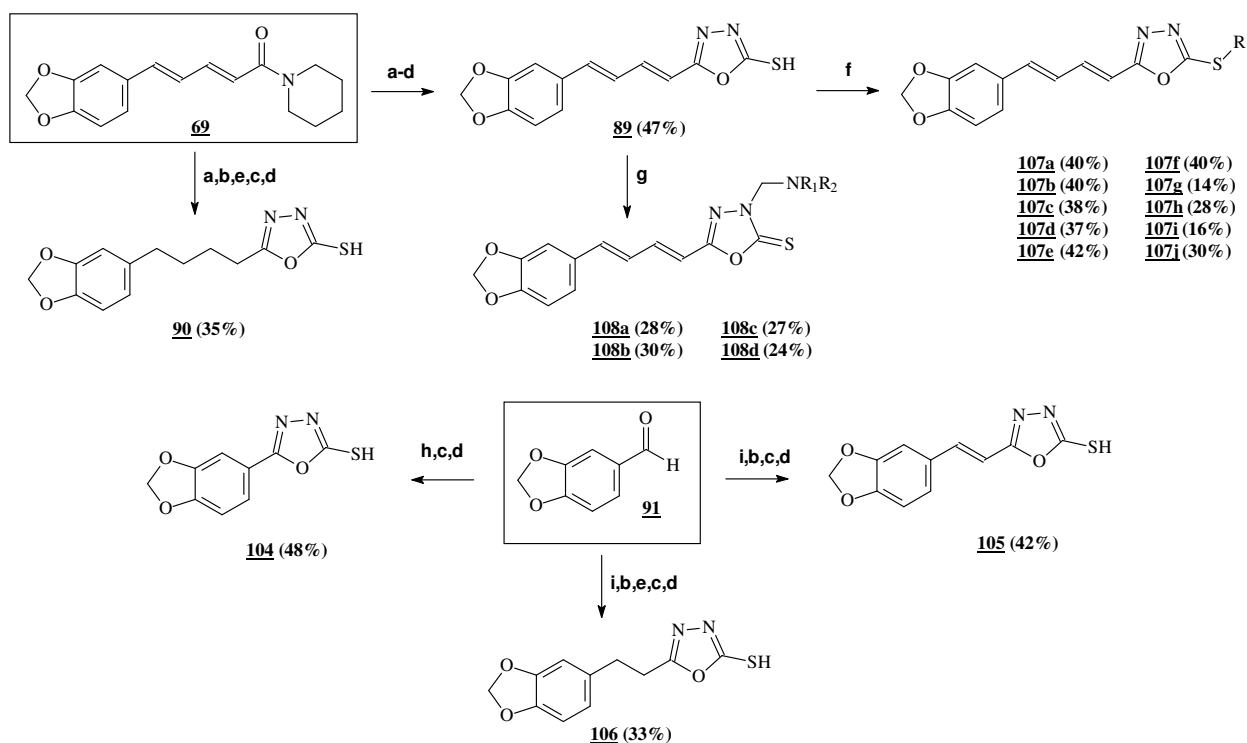
No espectro de infravermelho (**Espectro 113**) podem ser observadas as absorções em  $2928, 1726, 1612, 1443$  e  $1256\text{ cm}^{-1}$  referente aos estiramentos C-H (C

sp<sup>3</sup>), C=O (carbonila de éster), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 115**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 177,6$  e  $158,8$  ppm (C=S e C=N do heterociclo, respectivamente), um sinal em  $\delta = 174,8$  ppm (carbonila de éster, C-11, **Tabela 41**), um sinal em  $\delta = 70,7$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 41**) e cinco sinais entre  $\delta = 14$  e  $60$  ppm que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 114**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 5,0$  ppm referente ao substituinte metileno (C-7, **Tabela 41**) e sinais entre  $\delta = 1,2$  e  $4,1$  ppm referentes à 4-carboxietilpiperidina.

O derivado **108d** foi obtido (**Esquema 44**), após recristalização em etanol, como um sólido amarelo claro com ponto de fusão entre  $156-158^{\circ}\text{C}$ . Além do ponto de fusão, inferior ao precursor heterocíclico **89**, indicar mudança de grupo funcional, o produto foi caracterizado pelos métodos convencionais de análise.

No espectro de infravermelho (**Espectro 116**) podem ser observadas as absorções em  $2924$ ,  $1646$ ,  $1440$  e  $1246$  cm<sup>-1</sup> referente aos estiramentos C-H (C sp<sup>3</sup>), C=N, C-N (heterociclo) e C-O (metilenodioxílico), respectivamente. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 118**) podem ser observados alguns sinais característicos: dois em  $\delta = 177,7$  e  $158,9$  ppm (C=S e C=N do heterociclo, respectivamente), um sinal em  $\delta = 70,2$  ppm (substituinte C-7, **Tabela 42**) e dois sinais  $\delta = 50$  e  $66$  ppm que caracterizam a reação de substituição. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 117**) pode ser observado um sinal em  $\delta = 4,99$  ppm referente ao substituinte metileno (C-7, **Tabela 42**) e dois sinais em  $\delta = 2,8$  e  $3,7$  ppm referentes a porção morfolil.

O **Esquema 45** mostra a metodologia de síntese desenvolvida para a preparação de todos os derivados e análogos da piperina **69**, indicando os produtos finais e rendimentos, de forma simplificada.



**Condições reacionais:** a) KOH, Etanol, refluxo, 20h; b) HCl (até pH ~ 3); c) (COCl)<sub>2</sub>, t.a., 1-3h; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.H<sub>2</sub>O, 0°C; d) CS<sub>2</sub>, KOH, refluxo, 1h; e) H<sub>2</sub>, Pd/C, CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, t.a. 3h; f) KOH, haletos de alquila adequados, refluxo, 3h; g) CH<sub>2</sub>O, aminas, t.a., 1-3h; h) CrO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, acetona, 0°C, 4h; i) Ácido malônico, piperidina, piridina, refluxo, 8h.

**Esquema 45.** Metodologia sintética para obtenção dos derivados e análogos da piperina  $\underline{69}$ , com seus respectivos rendimentos globais.

## 4.2- AVALIAÇÕES BIOLÓGICAS

### 4.2.1- ATIVIDADE TRIPANOCIDA

Para a avaliação da atividade tripanocida foi realizado um *screening, in vitro*, contra a forma epimastigota do parasito, como descrito no item 6.14.1. Além do produto natural **69**, foram analisados os derivados e análogos **89**, **90**, **104**, **105** e **106** (Figura 30), para avaliar a influência da presença do heterociclo 1,3,4-oxadiazol e da variação na cadeia carbônica, entre o anel metilenodioxílico e o heterociclo, sob o efeito antiparasitário. Entre as substâncias analisadas os derivados **89** ( $CI_{50\%} = 11,4\mu M$ ) e **90** ( $CI_{50\%} = 8,4\mu M$ ) apresentaram atividades próximas ao produto natural **69** ( $CI_{50\%} = 7,3\mu M$ ) embora inferior ao benzonidazol ( $CI_{50\%} = 2,2\mu M$ ) (Tabela 43, página 216). Foi realizada também a avaliação da citotoxicidade, em concentrações superiores ao tratamento, frente a células do hospedeiro (células mononucleares de sangue periférico humano). Os resultados da avaliação da citotoxicidade indicam que estas substâncias, exceto o **104** que não foi avaliado por ser o menos ativo da série avaliada, não apresentaram efeito tóxico às células do hospedeiro nas concentrações analisadas (Figura 35, página 224).

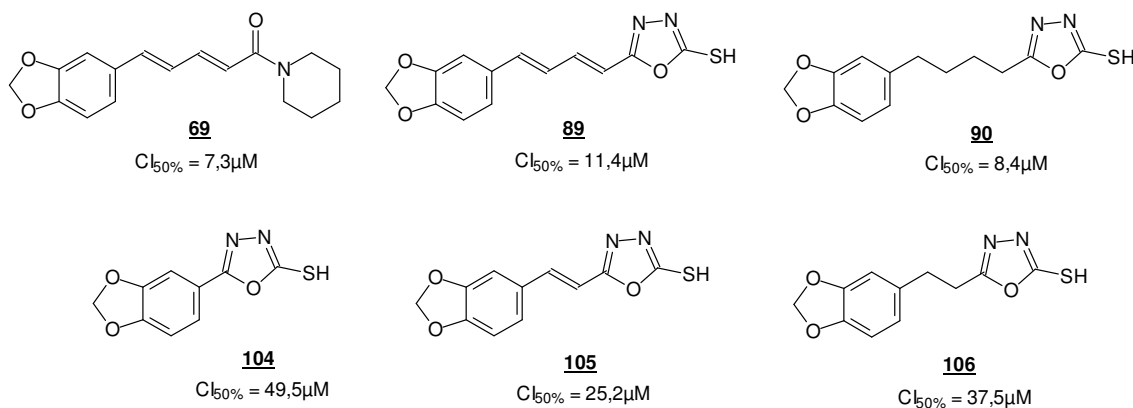


Figura 30. Estruturas das substâncias avaliadas contra epimastigotas do *T. cruzi*.

Diante dos dados obtidos, da avaliação da atividade tripanocida da amida natural (**69**) e dos cinco derivados (**Figura 30**), foi possível traçar a relação estrutura-atividade (*REA*) para a série estudada.

A estratégia de modificação estrutural teve como objetivo manter o grupo 3,4-metilenodioxifenil (presente na piperina), variar a quantidade de carbonos olefínicos, e a saturação dos mesmos, permitindo ou não a conjugação entre os dois anéis (anel benzênico e 1,3,4-oxadiazol); e a hibridação molecular pela incorporação do heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona). A hibridação com este heterociclo da classe dos azóis, além de funcionar como bioisómero de amidas e ésteres (LIMA, 2005; MEANWELL, 2011; OLIVEIRA, 2012), conferindo mais estabilidade à hidrólise no meio biológico, são considerados unidades farmacofóricas para diversos modelos biológicos (ALMASIRAD, 2011; RANE, 2012; OLIVEIRA, 2012).

Relacionando as substâncias avaliadas podemos observar que os derivados (**89** e **90**), mais semelhantes à piperina **69**, contendo quatro carbonos entre os dois anéis, foram os mais ativos contra epimastigotas de *T. cruzi*. Entre estes, o derivado **90** foi o que mostrou atividade discretamente maior que **89** e inferior a **69**.

Apesar de os derivados **89** e **90** apresentarem atividades tripanocidas relevantes, a avaliação nas outras formas evolutivas (amastigota e tripomastigota; ainda em andamento) do parasito permitirá classificá-los melhor quanto ao seu potencial quimioterápico, aplicável ao tratamento da doença de Chagas.

Com o objetivo de obter informações sobre o possível mecanismo de ação dos derivados oxadiazólicos na inibição do crescimento de epimastigotas de *T. cruzi*, foi avaliada a proporção dos lipídeos de membrana, como descrito por PINTO e colaboradores (2011) em epimastigotas tratados em diferentes condições utilizando o derivado **89**, oxadiazol de estrutura próxima à piperina, e o derivado triazólico posaconazol (**19**) como fármaco azólico de referência na concentração de 25nM, que é o valor de  $CI_{50}$  descrito para o mesmo na literatura (VEIGA-SANTOS, 2012). Os resultados preliminares obtidos neste experimento mostram que o oxadiazol **89**, nas concentrações avaliadas, não apresentou perfil inibitório significativo na biossíntese do ergosterol (**15**), como demonstrado pelo fármaco de referência (**19**), que apresentou alteração da área relativa dos lipídeos ergosterol e lanosterol (**12**), quando comparados com o controle não tratado (**Figura 31**, página 217). Este experimento deverá ser refeito, utilizando concentrações mais elevadas de **89** e também do derivado **90** (ambos ativos contra epimastigotas de *T. cruzi*).

#### 4.2.2- ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Para a avaliação da atividade fungicida foram realizados três ensaios *in vitro* contra o fungo *C. neoformans*. Foi avaliada a concentração inibitória para 50% (CI<sub>50</sub>) contra duas cepas deste fungo: B35 (variedade *neoformans* – sorotipo D) e H99 (variedade *grubii* – sorotipo A), que apresentam o sequenciamento do genoma definidos e diferentes proporções dos constituintes da cápsula (HU, 2008; MA, 2009). O ensaio de viabilidade celular foi realizado, para avaliar a citotoxicidade das substâncias testadas contra células do hospedeiro. A extração dos lipídeos de membrana foi realizada para avaliar possível inibição da biossíntese do ergosterol (**15**) a partir do lanosterol (**12**), a fim de correlacionar o efeito com a inibição da enzima CYP51 descrita por núcleos azólicos (LEPESHEVA, 2011). Além destes ensaios também foi avaliada a influência de alguns dos derivados sobre a espessura da cápsula e o corpo celular do fungo já que são parâmetros que conferem a virulência dos mesmos (ZARAGOZA 2004 e 2011).

Primeiramente foram avaliadas as concentrações para inibir 50% dos fungos tratados com a amida natural **69** e os derivados **89**, **90**, **104-108**, expressos em concentração micromolar (µM), utilizando como fármaco de referência a Anfotericina B (**9**) e o fluconazol (**16**), como pode ser visto na **Tabela 44** (página, 221) – com exceção dos derivados **107e**, **107f**, **107h-i** que precipitaram no meio de cultura ou não apresentaram perfil inibitório. Entre as substâncias analisadas os derivados e análogos **90**, **106** e **108a-c** apresentaram efeito inibitório mais elevado que a piperina **69** e bem semelhantes ao fármaco de referência, fluconazol.

A partir dos dados do efeito inibitório das substâncias tratadas foi avaliada a citotoxicidade de **69**, **89**, **90**, **105**, **106** e **108a-c**, em concentrações próximas ou superiores as aplicadas no experimento anterior. Este ensaio foi realizado em células mononucleares do sangue periférico humano, como descrito na secção **6.14.2.2**. (página 222). A **Figura 35** (página 227) mostra que nenhuma, das substâncias avaliadas, apresenta efeitos consideravelmente tóxicos frente às células do hospedeiro.

Para avaliar o possível mecanismo de ação das substâncias avaliadas, responsável pelo efeito inibitório, foi feita a extração de lipídeos dos fungos tratados com os derivados **90**, **105** e **106**, selecionados entre os análogos de **89**, como descritos na secção **6.14.2.5**. (página 224). Os extratos foram cromatografados em HPTLC, a

intensidade e a presença de lanosterol e ergosterol foi comparada com os padrões *espotados* na placa.

Comparando a intensidade das manchas correspondentes aos padrões (lanosterol e ergosterol) podemos verificar se há ou não inibição da biossíntese do ergosterol a partir do lanosterol, ou seja, inibição da enzima CYP51 (RODRIGUES, 2007). Na **Figura 36** (página 226) podemos observar que a intensidade do lanosterol é discretamente maior nos extratos tratados com **90** e **106** mais concentrados que nos extratos tratados mais diluídos, respectivamente – sugerindo uma discreta inibição da biossíntese do ergosterol a partir do lanosterol. Já para os extratos tratados com o derivado **105** não é percebida esta alteração. Este ensaio, apesar de preliminar, indica não ser este o principal mecanismo de ação responsável pela atividade antifúngica, carecendo de estudos posteriores mais detalhados, principalmente em concentrações maiores dos derivados mais ativos, com avaliações e resultados mais quantitativos, inclusive para os derivados piperínicos **108a-c**, que foram os mais ativos.

Segundo ZARAGOZA (2004 e 2011), os fungos de *C. neoformans* podem sofrer modificações estruturais, tais como o aumento da capsula polissacarídica e o aumento do corpo celular, entre outras – que são considerados mecanismos de defesa ao meio nocivo a célula do fungo associados ao fator de virulência do mesmo. A análise do tamanho das células e a influência na espessura da cápsula de *C. neoformans* encontram-se descritas na seção **6.14.2.6**. (página 226). Esta análise foi realizada com os derivados e análogos **90**, **105** e **106** nas concentrações de 25 e 50µM (**Figura 38**, página 227 e **Figura 39**, página 228). Neste experimento podemos observar que as células tratadas com **90** e **105** diminuí a espessura da cápsula nas concentrações de 50µM, sugerindo que estas substâncias possam estar agindo via inibição da biossíntese da cápsula polissacarídica, que é formada principalmente por glicuroxilomanana (GXM) e galactoxilomanana (GalXM) (FRIES, 1999; MA, 2009). Em contra partida o aumento da concentração de **106** aumenta não só a espessura da cápsula como também o tamanho do corpo celular – indicando possível resposta de defesa contra o derivado correspondente.

Comparando os derivados avaliados a estrutura **90**, derivado saturado da piperina **69**, contendo quatro carbonos saturados entre o anel 3,4-metilenodioxifenil e heterociclo 1,3,4-oxadiazol-2-tiol(tiona), observamos que **90** apresentou o melhor conjunto de atividade antifúngica. Este derivado, além de apresentar atividade superior à amida natural **69**, validando a estratégia de planejamento deste trabalho, apresentou

efeito inibitório semelhante ao derivado azólico fluconazol, fármaco de referência, ou seja, entre as várias modificações estruturais realizadas neste trabalho e ensaios biológicos realizados, contendo este heterociclo oxadiazólico, o derivado **90** apresentou o melhor perfil estrutural como antifúngico, contra cepas de *C. neoformans*.



## 5- CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Os resultados obtidos indicam o potencial da piperina, como precursor, na síntese de moléculas candidata a fármaco com perfil antifúngico e antichagásico, validando a estratégia de planejamento molecular utilizada;
- A metodologia sintética aplicada mostrou-se eficaz na síntese dos derivados e análogos heterocíclicos (**89**, **90**, **104-106**, **107a-j** e **108a-d**). Os produtos finais assim como seus precursores foram devidamente caracterizados através dos métodos convencionais de análise;
- Os dezenove híbridos derivados e análogos preparados (**Anexo 1**) além de serem inéditos foram planejados com o objetivo de avaliar a *REA*. Segundo os ensaios biológicos realizados o derivado saturado **90**, apresentou o melhor perfil estrutural responsável pelas atividades antifúngica e antichagásica - quando comparado entre análogos com estruturas semelhantes ao híbrido piperínico **89**.
- A avaliação das substâncias (**69**, **89**, **90** e **104-106**) contra as formas epimastigota do *T. cruzi* indicou que os derivados **89** ( $CI_{50} = 11,4 \mu M$ ) e **90** ( $CI_{50} = 8,4 \mu M$ ), contendo quatro carbonos entre o anel benzênico e o heterociclo, apresentaram concentrações inibitórias próximas à amida natural ( $CI_{50} = 7,3 \mu M$ ). Já os análogos com dois (**105** e **106**) ou nenhum (**104**) carbono entre estes mesmos anéis apresentaram menores efeitos inibitórios – sugerindo que as estruturas mais semelhantes à amida natural apresentam melhores atividades antichagásicas;
- A avaliação da citotoxicidade indica que nenhuma das substâncias testadas (**69**, **89**, **90**, **105**, **106** e **108a-c**) apresentou efeito tóxico, nas dosagens aplicadas às células humanas (PBMC). Já os derivados **107a-j** não foram avaliados até o momento;
- A avaliação estrutural dos fungos tratados com (**90**, **105** e **106**) indicou que **90** e **105** são capazes de diminuir a espessura da cápsula do *C. neoformans*, nas concentrações de  $50 \mu M$  – sugerindo inibição na biossíntese da cápsula polissacarídica do fungo. Já o composto **106** não só aumentou a espessura da

cápsula como também aumentou o corpo celular do fungo – o aumentando destes fatores de virulência sugere a inviabilidade deste tratamento;

- A extração e avaliação dos lipídeos de membrana dos fungos tratados (90, 105 e 106) e cromatografados em HPTLC indicaram que 90 e 105 apresentaram um discreto impedimento na biotransformação do lanosterol em ergosterol – sugerindo inibição da biossíntese do ergosterol (CYP51);
- Apesar de os derivados do híbrido piperínico 108a-d terem apresentado os melhores efeitos inibitórios, encontram-se em andamento as avaliações sobre a influência na composição dos lipídeos de membrana e a estrutura celular do fungo.
- As avaliações contra as formas amastigotas e tripomastigotas do *T. cruzi* encontram-se em andamento, em colaboração ao Laboratório de Glicobiologia do IBCCF-UFRJ;

## 6- MATERIAIS E MÉTODOS

### 6.1- INSTRUMENTOS UTILIZADOS NAS CARACTERIZAÇÕES ESPECTROMÉTRICAS

- Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (200, 400 e 500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50, 100 e 150 MHz) foram obtidos em espectrômetros da marca BRUKER, modelos AC200, AVANCE-400 e AVANCE-500 (PPGQ – UFRRJ). Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e os solventes deuterados: clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ), metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) e dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO-}d_6$ ) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em unidade de parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz).
- Os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos nos espectrômetros VERTEX 70 da marca BRUKER (PPGQ – UFRRJ) utilizando pastilhas de KBr para as amostras sólidas.
- Os espectros de massas dos intermediários sintéticos foram obtidos por impacto de elétrons (70 eV) utilizando cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massa SHIMADZU-CG/EM QP2010 Plus (PPGQ – UFRRJ). Coluna capilar CP-SIL8CB (30m x 0,25 x 0,25 $\mu\text{m}$ ). Temperatura inicial igual a 150°C/1', com rampa de aquecimento de 5°C/1' até 270°C. Os espectros de massas de alta resolução (EMAR) dos derivados **89**, **108a** e **108b** foram obtidos no equipamento Micromass Q-TOF (WATER, UK) do IQ-UNICAMP.
- As análises das frações lipídicas isoladas de epimastigotas de *T. cruzi* foram realizadas em um equipamento HPLC Shimadzu (LC-20AT), forno CTO 20A; Detetor PDA (SPD-M20A), autoinjeter Sil-10AF e controladora CBM-20A. O método utilizado foi de fase reversa (C18-coluna Betasil-THERMO, 25cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ) no modo isocrático, tendo como fase móvel a mistura metanol (98%) e acetonitrila (2%), no fluxo de 1,1 mL min<sup>-1</sup>. A detecção foi realizada em 280 nm (para o ergosterol) e 243 nm (para o lanosterol). O volume de injeção foi de 20  $\mu\text{L}$  com temperatura do forno de 27°C. A identificação dos esteróides (ergosterol e lanosterol) foi feita através da comparação dos tempos de retenção e curvas de absorção no UV com padrões comerciais (Sigma-Aldrich).

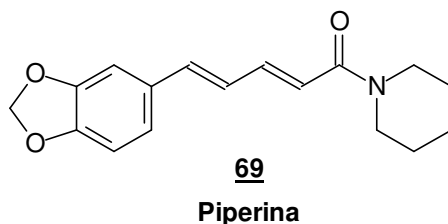
## 6.2- NAS ANÁLISES, SÍNTESE E PURIFICAÇÕES

- Cromatografia em sílica gel 60 F<sub>254</sub> (camada de 0,2 mm), da marca MERCK para o acompanhamento por CCF (Cromatografia de Camada Fina) das reações.
- Solventes: ácido acético glacial, acetato de etila, acetona, clorofórmio, diclorometano, etanol, éter etílico, hexano e metanol da marca VETEC. Todos os solventes utilizados nas reações e nos métodos de purificação foram previamente destilados, quando necessário.
- Reagentes: ácido clorídrico concentrado, ácido malônico, brometo de benzila, brometo de cicloexila, brometo de etila, brometo de vinila, 4-carboxietil-piperidina, cloreto de *o*-cloro-benzila, cloreto de oxalila, dissulfeto de carbono, formaldeído, gás hidrogênio, hidrato de hidrazina, hidróxido de potássio, iodeto de metila, iodeto de *n*-butila, iodeto de *n*-dodecila, iodeto de *n*-hexila, iodeto de isopropila, morfolina, *N*-etil-piperazina, piperidina, piperonal, Reagente de Jones (2,8M de CrO<sub>3</sub> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)(RODIG, 1994).
- Pimenta-do-reino comercial.

## 6.3- OUTROS EQUIPAMENTOS

- Aparelho AAKER, modelo PFM-II para medição dos pontos de fusão.
- Evaporador rotatório da FISATON-Modelo 802.
- Câmara de revelação para CCF equipada com lâmpada UV com comprimento de onda de 254 e 365 nm.
- Placas de agitação magnética da CORNING e FISATOM.
- Dessecador.
- Reator de Micro-ondas DISCOVERY-CEM.

#### 6.4- ISOLAMENTO DA AMIDA PIPERIDINIL DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)-PENTADIENÓICO (PIPERINA 69).



Numa aparelhagem de Soxhlet foram colocados 150g de pimenta-do-reino (adquirida no comércio local) e 500 mL de etanol a 95%. O sistema foi mantido sob refluxo por aproximadamente 12 horas. Após concentrar o extrato em evaporador rotatório, foi obtido um resíduo de aspecto viscoso e aroma adocicado, sendo então adicionado ao mesmo 150 mL de uma solução alcoólica de KOH (10%), para que ocorresse a precipitação dos taninos e demais materiais fenólicos, que são os principais contaminantes do meio, na forma dos respectivos sais de potássio. Após filtração e remoção do material precipitado, foi adicionada ao sobrenadante uma pequena quantidade de água, suficiente para que o meio se tornasse turvo. Após um período de 72 horas em repouso, formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi lavado exaustivamente com água gelada e, em seguida, com uma pequena quantidade de éter etílico gelado. Esse procedimento de isolamento foi repetido com mais algumas quantidades, somando um total de 600g de pimenta-do-reino. Foi obtido um total de 18g (3%) de piperina na forma de cristais amarelo-claro. PF: 127-129°C (IKAN, 1991).

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{C-H (Csp}^2) = 3008$  (anel aromático)

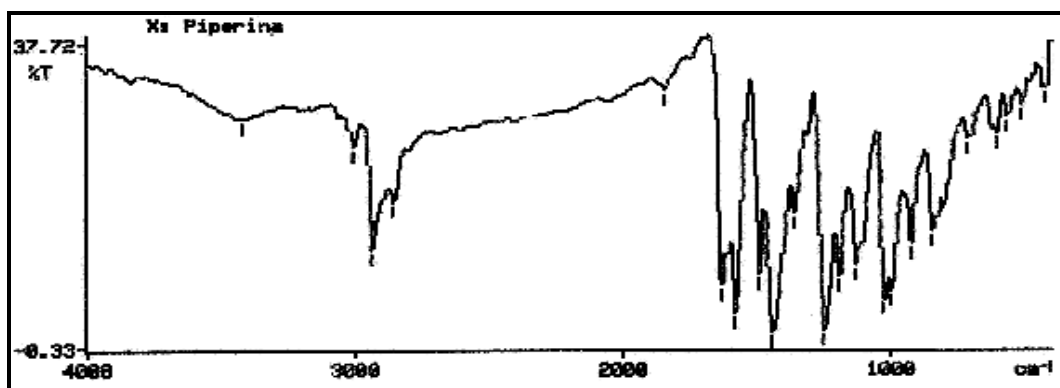
$\nu\text{C-H (Csp}^3) = 2937\text{-}2858$  (anel piperidínico)

$\nu\text{C=O (Csp}^2) = 1634,5$  (vibração da amida conjugada)

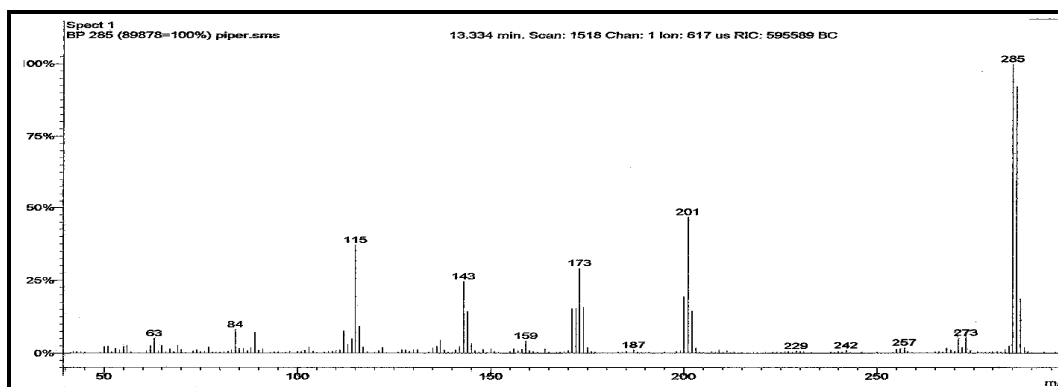
$\nu\text{C=C (Csp}^2) = 1583\text{-}1490$  (vibração do esqueleto aromático)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 930$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

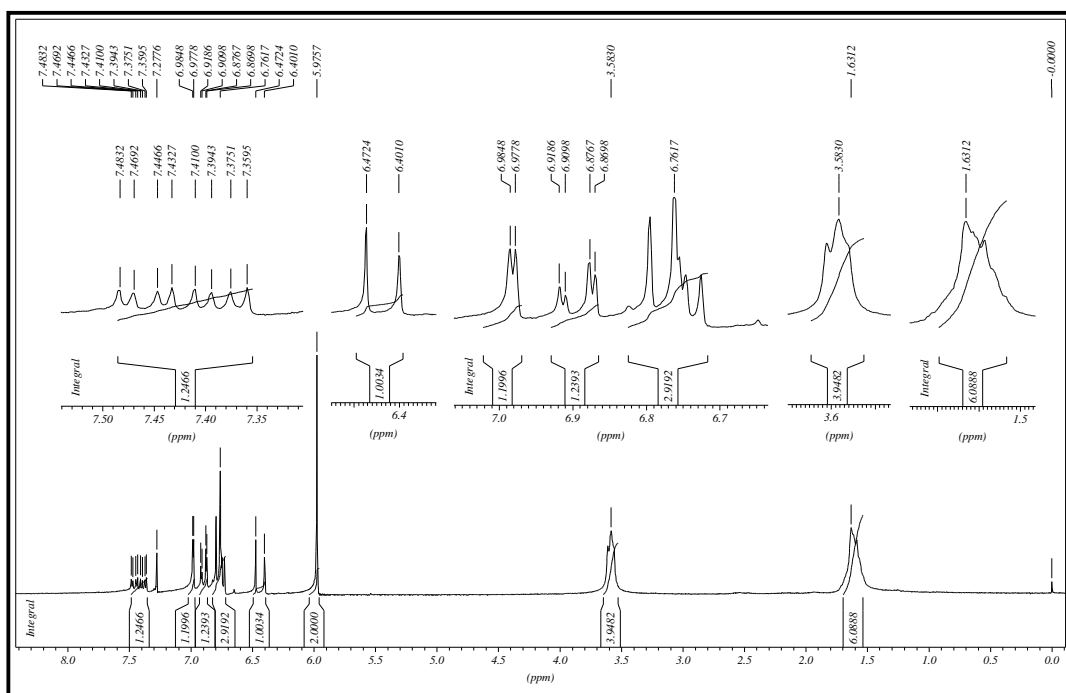
$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 850$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)



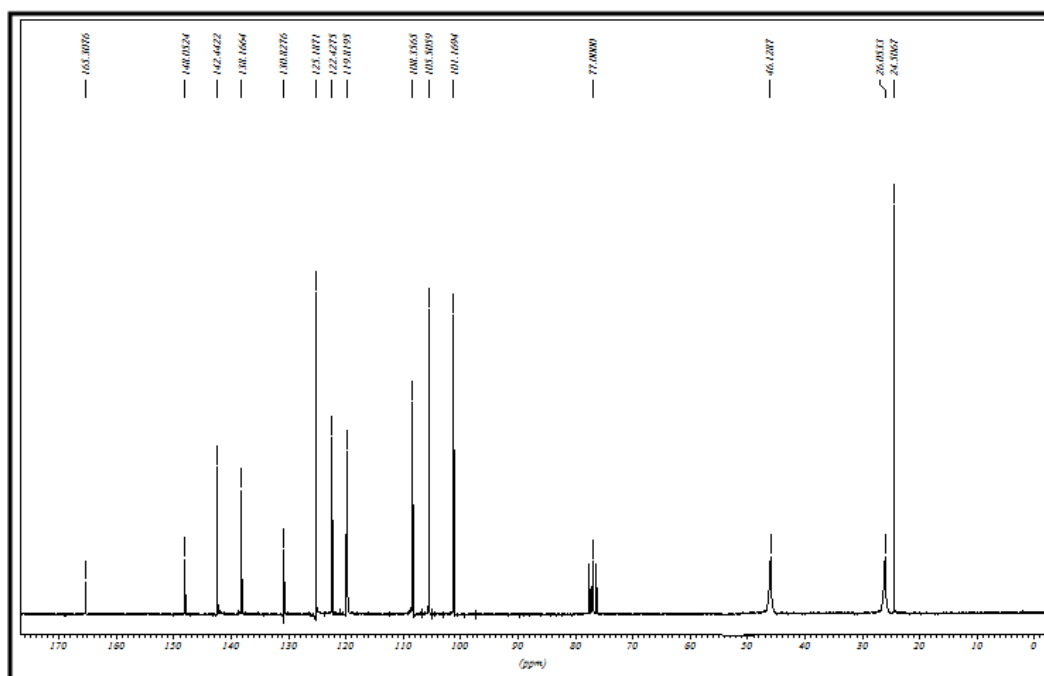
**Espectro 1.** Espectro de IV da piperina 69.



**Espectro 2.** Espectro de massas da piperina 69.



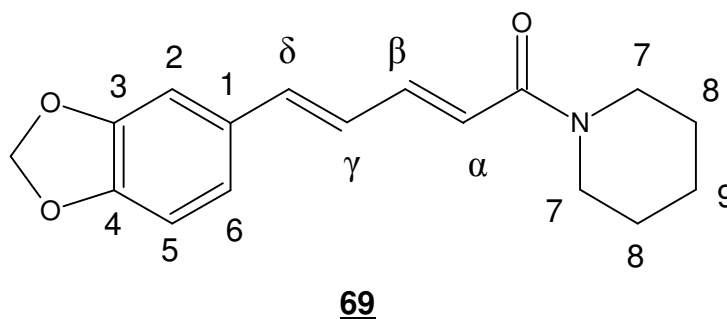
**Espectro 3.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da piperina **69**.



**Espectro 4.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da piperina **69**.

**Tabela 13.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para a piperina **69**.

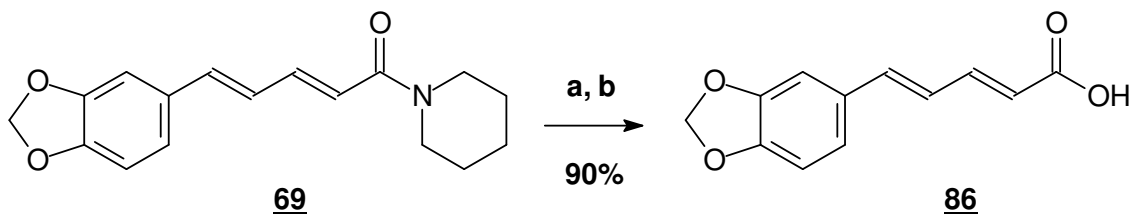
Posições	Piperina <b>69</b> (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
<b>C=O</b>	-	165,30
<b>1</b>	-	130,80
<b>2</b>	6,98 (d; 1,4; 1H)	105,50
<b>3</b>	-	148,00
<b>4</b>	-	148,00
<b>5</b>	6,76 (m; 1H)	108,30
<b>6</b>	6,89 (dd; 8,5 e 1,5; 1H)	122,40
<b>7</b>	3,58 (m; 4H)	46,11
<b>8</b>	1,63 (m; 4H)	26,01
<b>9</b>	1,63 (m; 2H)	24,50
<b><math>\alpha</math></b>	6,43 (d; 14,3; 1H)	119,80
<b><math>\beta</math></b>	7,39 (ddd; 14,6; 7,1 e 2,9; 1H)	142,40
<b><math>\gamma</math></b>	6,76 (m; 1H)	125,10
<b><math>\delta</math></b>	6,76 (m; 1H)	138,30
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	5,97 (sl, 2H)	101,10





## 6.5- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)-PENTADIENÓICO (ÁCIDO PIPERÍNICO **86**)

### 6.5.1- MÉTODO CONVENCIONAL



**Reagentes:** a) KOH / Etanol, refluxo, 20h; b) HCl<sub>(conc)</sub>, até pH 3

Num balão de 50 mL de capacidade foi feita uma suspensão de 2,2 g (7,72 mmol) de piperina em 22 mL de solução alcoólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 20 horas, um pouco acima do tempo reacional descrito na literatura (12 horas) (RIBEIRO, 2004). A reação foi acompanhada por CCF, a solução passou de amarela para marrom-claro, com formação de precipitado.

Após o término da reação, o etanol foi retirado do meio reacional em evaporador rotatório. Acrescentou-se água ao resíduo formado, deixando o mesmo atingir a temperatura de ebulição até total solubilização, sendo a solução formada, em seguida, filtrada a quente. A esta solução aquosa do respectivo carboxilato, acrescentou-se solução de HCl concentrado até chegar a pH próximo de 3, ocorrendo a precipitação do ácido na forma de um sólido amarelo. Após filtração sob pressão reduzida, o material foi lavado com água gelada. O sólido obtido foi seco em dessecador e recristalizado em etanol, gerando 1,56 g (90%) do ácido piperínico **86**.

PF: 218-219°C (IKAN, 1991).

### 6.5.2- MÉTODO ALTERNATIVO: REATOR DE MICROONDAS

Num balão de 50 mL de capacidade foi feita uma suspensão de 2,0 g (7,02 mmol) de piperina em 20 mL de solução alcoólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob refluxo, a temperatura de 92°C, 50W de potencia e acompanhada por CCF, a cada 10 minutos. A solução passou de amarela para marrom-claro, com formação de precipitado, totalizando 60 minutos de reação, bem inferior ao necessário no aquecimento convencional (12 horas) (RIBEIRO, 2004).

Após o término da reação, a metodologia segue como a convencional (veja procedimento experimental 7.2.1). O sólido obtido foi seco em dessecador e recristalizado em etanol, gerando 1,47 g (85%) do ácido piperínico **86**.  
PF: 218°C (IKAN, 1991).

#### **Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{O-H}$  = 3300-3200 (ácido carboxílico)

$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2919,5 (metilenodióxi)

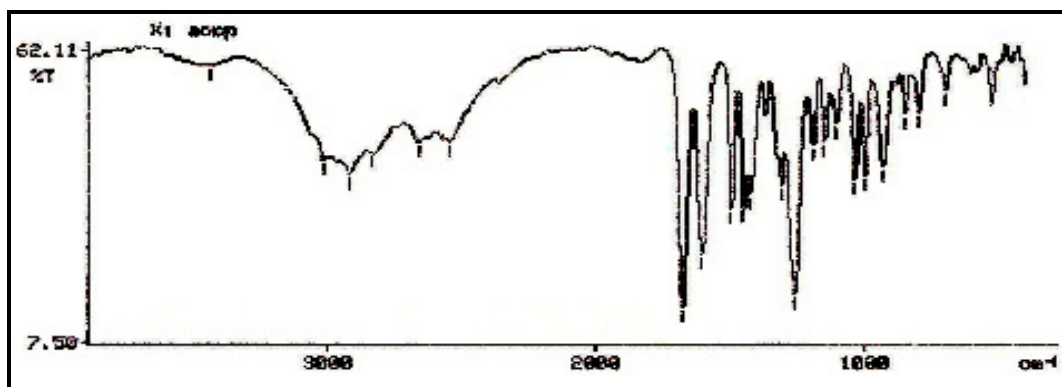
$\nu\text{C=O}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1678,8 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

$\nu\text{C=C}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1603-1495 (vibração do esqueleto aromático)

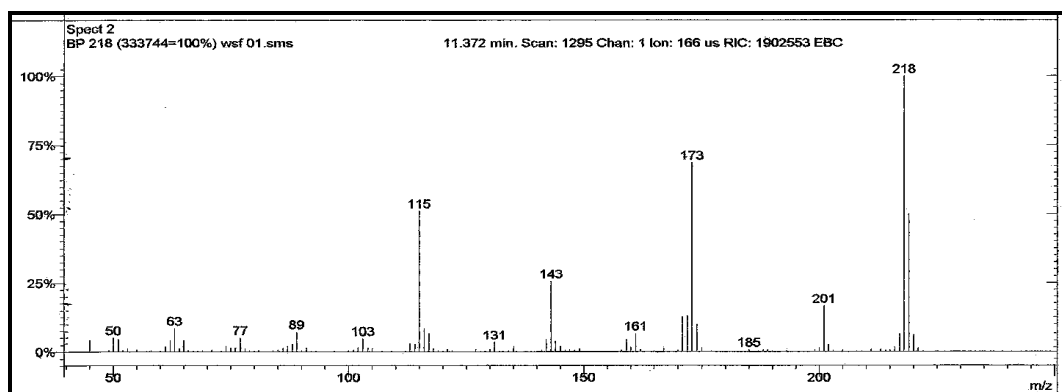
$\nu\text{C-O-C}$  = 1257,5 (metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 930 (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom}}$ . Isolado)

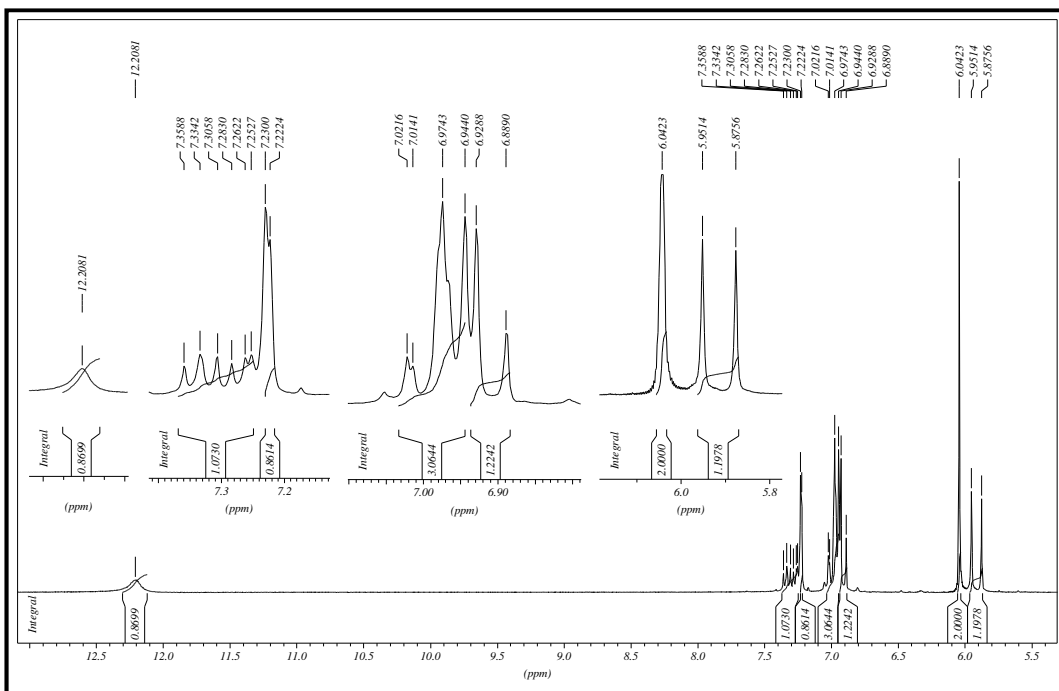
$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 850 (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom}}$ . Vizinhos)



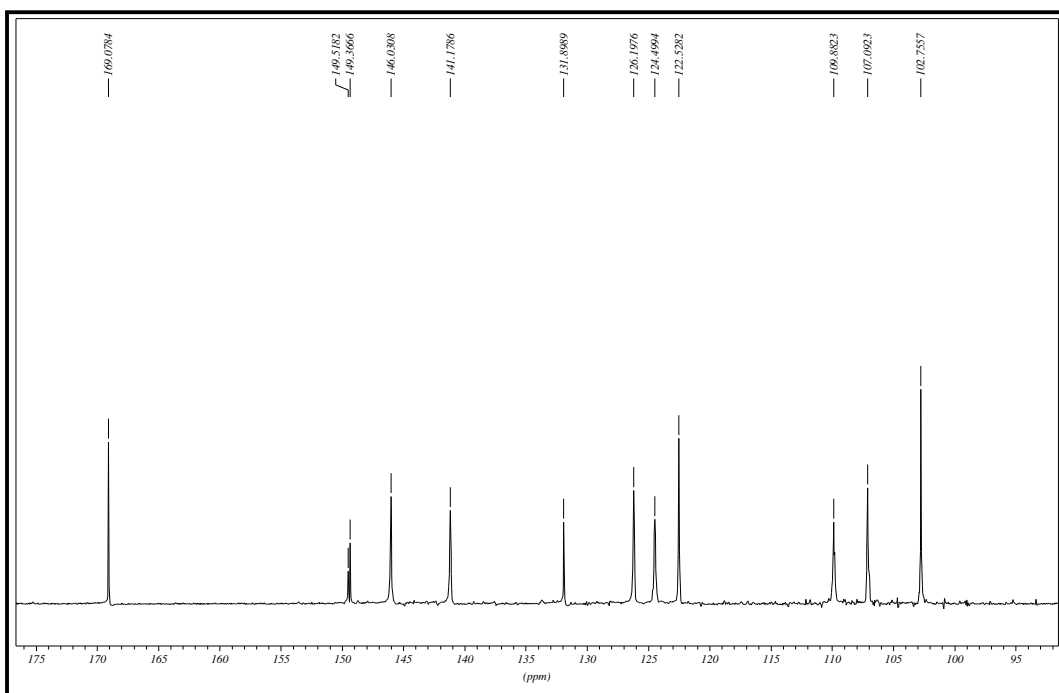
**Espectro 5.** Espectro de IV do ácido piperínico **86**.



**Espectro 6.** Espectro de massas do ácido piperínico **86**.



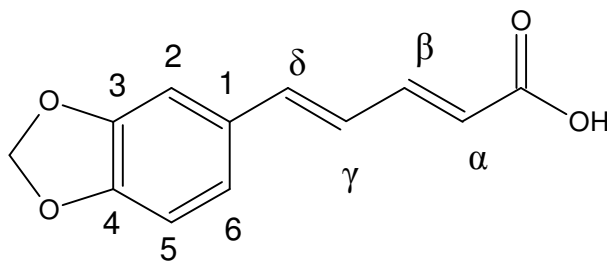
**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do ácido piperínico **86**.



**Espectro 8.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$ ) do ácido piperínico **86**.

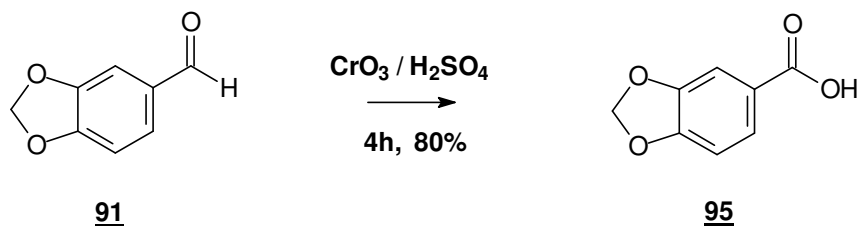
**Tabela 14.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o ácido piperínico **86**.

Posições	Ácido piperínico <b>86</b> (200 MHz, $\text{CD}_3\text{OD}$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
<b>OH</b>	12,20 (sl; 1H)	169
<b>C=O</b>	-	131,8
<b>1</b>	-	109,8
<b>2</b>	7,22 (sl; 1H)	149,3
<b>3</b>	-	149,5
<b>4</b>	-	107
<b>5</b>	6,90 (d; 8,0; 1H)	107
<b>6</b>	6,97 (m; 1H)	122,5
<b><math>\alpha</math></b>	5,96 (d; 15; 1H)	124,4
<b><math>\beta</math></b>	7,30 (m; 1H)	146
<b><math>\gamma</math></b>	6,97 (m; 1H)	126,1
<b><math>\delta</math></b>	6,97 (m; 1H)	141,1
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,04 (sl; 2H)	102,7



**86**

## 6.6- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3,4-METILENODIOXIBENZÓICO (ÁCIDO PIPERONÍLICO **95**)



Num balão de 25 mL de capacidade foram dissolvidos 2,0 g (13,3 mmol) de piperonal **91** em 10 mL de acetona. Essa solução foi colocada em banho-de-gelo e mantida sob agitação, com adição gota-a-gota de 1,7 mL do Reagente de Jones (2,8M CrO<sub>3</sub> em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (RODIG, 1990), durante 4 horas. A reação foi acompanhada pela mudança de cor da solução oxidante, de laranja (Cr<sup>+6</sup>) para verde (Cr<sup>+3</sup>), indicando a oxidação do aldeído. O excesso de reagente de Jones foi consumido pela adição de algumas gotas de álcool isopropílico. A solução resultante foi vertida em 50 mL de água gelada, havendo formação de um precipitado branco. Após um período de 2 horas o precipitado foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com água gelada. O produto formado foi dissolvido em 50 mL de uma solução aquosa de KOH 20%. Esta solução foi extraída com acetato de etila (3 x 10 mL) e a fase aquosa foi neutralizada e acidificada com HCl concentrado, até pH 3, sendo o precipitado formado filtrado e lavado com água gelada. Foram obtidos 1,7 g (78%) do ácido piperonílico **95** na forma de cristais amorfos de coloração bege (Lit.: 80%) (RODIG, 1990).

PF: 231-232°C (Lit.:229-231°C) (ALDRICH, 2005).

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{O-H}$  = 3500-3400 (ácido carboxílico)

$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2921,5 (metilenodioxi)

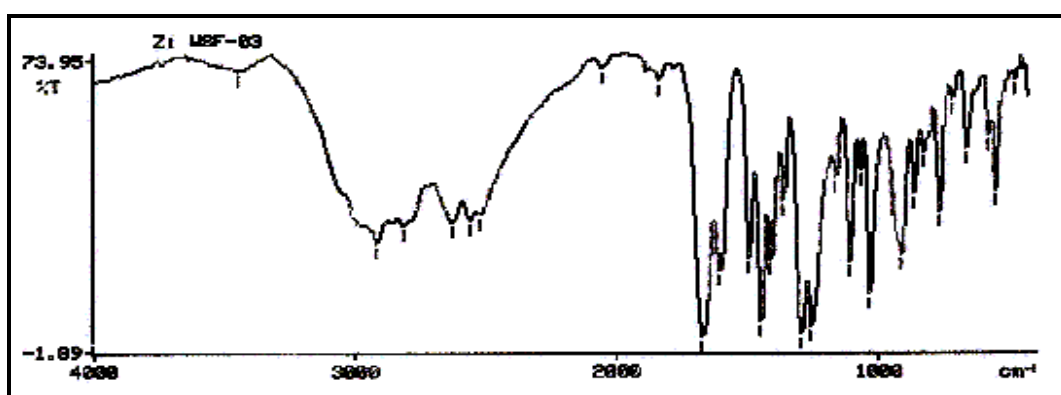
$\nu\text{C=O}$  = 1673,8 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

$\nu\text{C=C}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1498-1450 (vibração do esqueleto aromático)

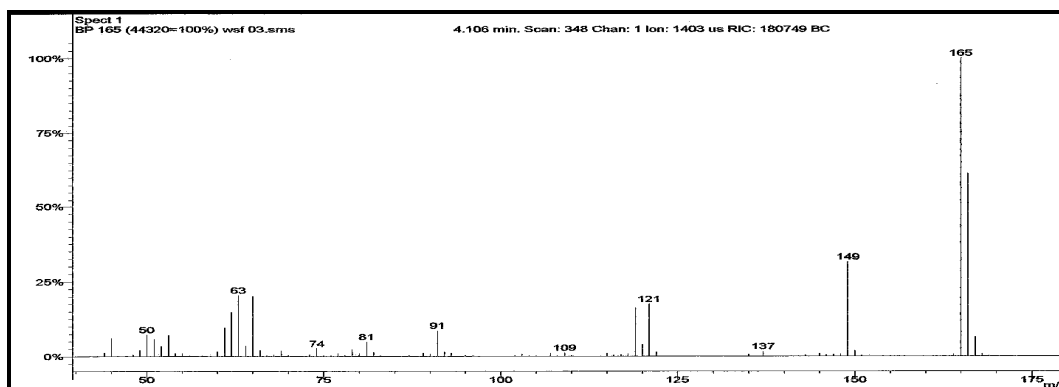
$\nu\text{C-O-C}$  = 1258,5 (metilenodioxi)

$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 930 (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

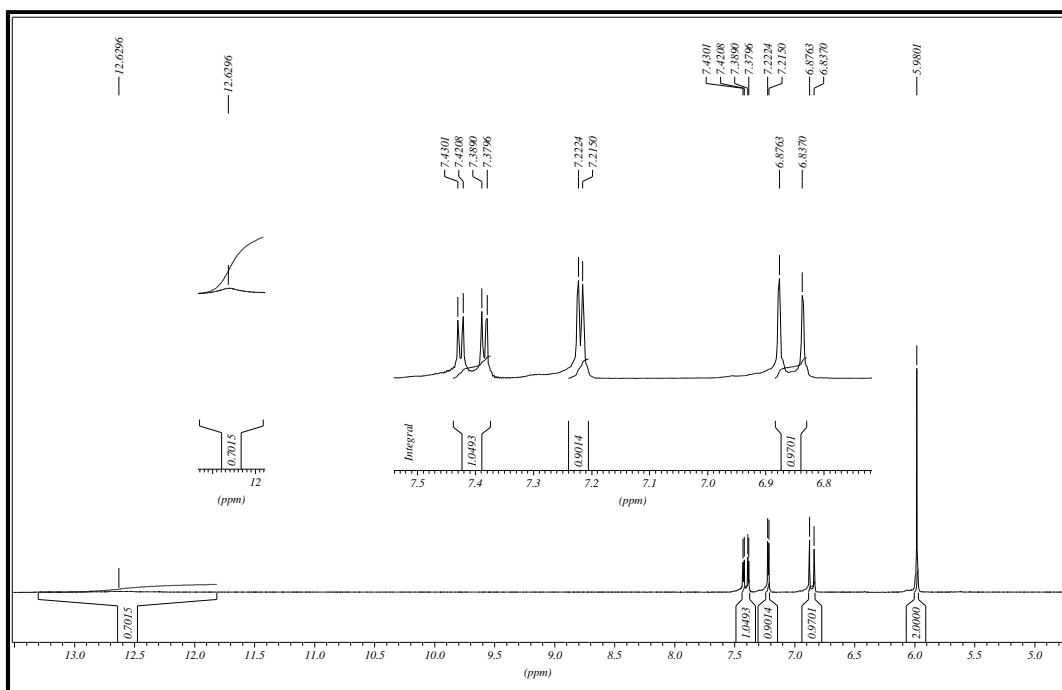
$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 850 (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)



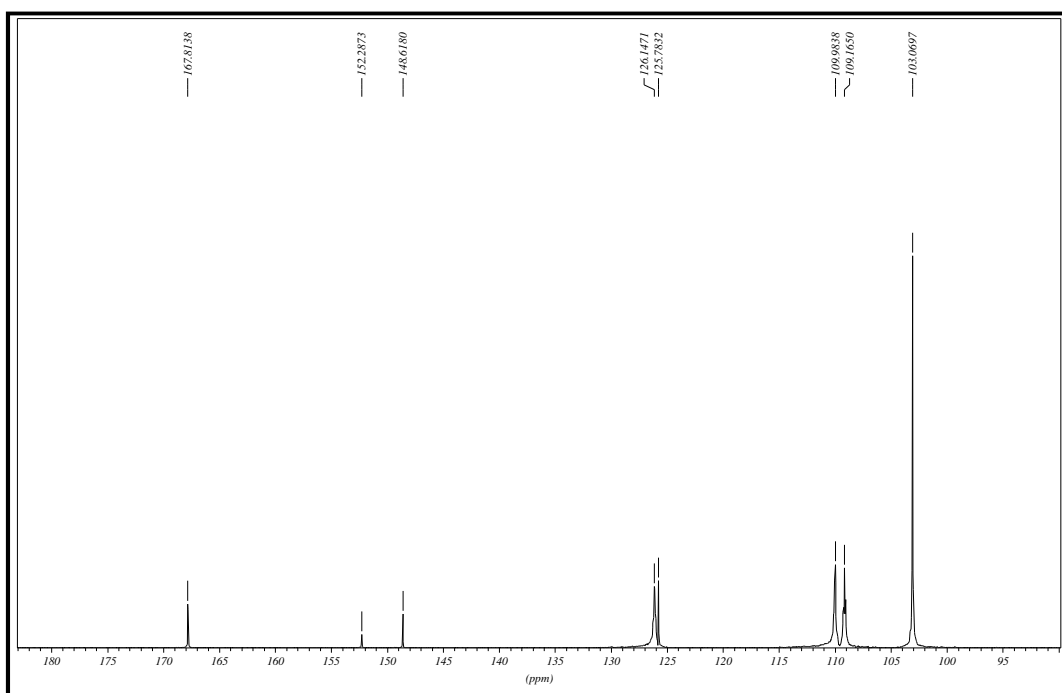
**Espectro 9.** Espectro de IV do ácido piperonílico 95.



**Espectro 10.** Espectro de massas do ácido piperonílico 95.



**Espectro 11.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do ácido piperônico **95**.

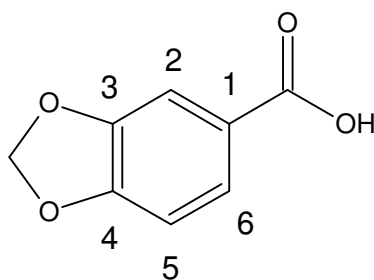


**Espectro 12.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do ácido piperônico **95**.



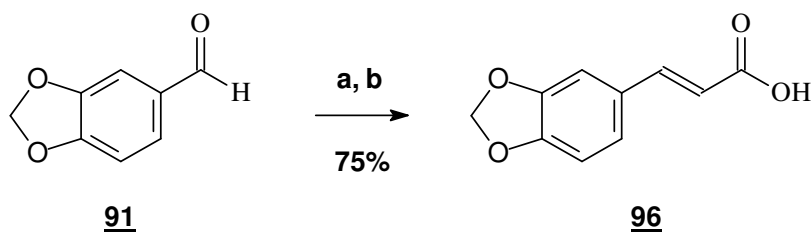
**Tabela 15.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o ácido piperonílico **95**.

Posições	Ácido piperonílico <b>95</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> 6)	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
<b>OH</b>	12,62 (sl; 1H)	-
<b>C=O</b>	-	167,83
<b>1</b>	-	125,78
<b>2</b>	7,21 (d; 1,6; 1H)	109,98
<b>3</b>	-	148,63
<b>4</b>	-	152,28
<b>5</b>	6,85 (d; 7,8; 1H)	109,16
<b>6</b>	7,40 (dd; 7,8 e 1,8; 1H)	126,14
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	5,98 (sl; 2H)	103,06



**95**

### 6.7- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E)-PROPENÓICO (ÁCIDO CINÂMICO 96)



**Reagentes:** a) ác. malônico, piridina e piperidina; b) HCl 10%

Em um balão de 50 mL de capacidade, equipado com condensador de refluxo, foram dissolvidos 5,0 g (33,3 mmol) de piperonal (91) e 7,5 g (72 mmol) de ácido malônico numa mistura de 15 mL de piridina e 0,25 mL (2,53 mmol) de piperidina. Em seguida, a mistura foi aquecida sob refluxo por cerca de 8 horas em banho-maria, ocorrendo um vigoroso desprendimento de CO<sub>2</sub>. A reação se completou após ebulição por mais 10 minutos adicionais e, em seguida, após resfriar, foi vertida em 10 mL de solução de HCl 10%, o suficiente para neutralizar a piridina, ocorrendo a precipitação do produto na forma de um sólido branco. O produto formado foi filtrado, lavado com água, éter etílico e seco ao ar. Após recristalização em etanol, o produto em sua forma pura, foi obtido na forma de um sólido branco 4,8 g, em 75 % de rendimento (Lit.: 96%) (SILVA, 2002).

PF: 238°C (Lit.: 238°C) (SILVA, 2002)

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{O-H}$  = 3500-3400 (ácido carboxílico)

$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2919,8 (metilenodioxi)

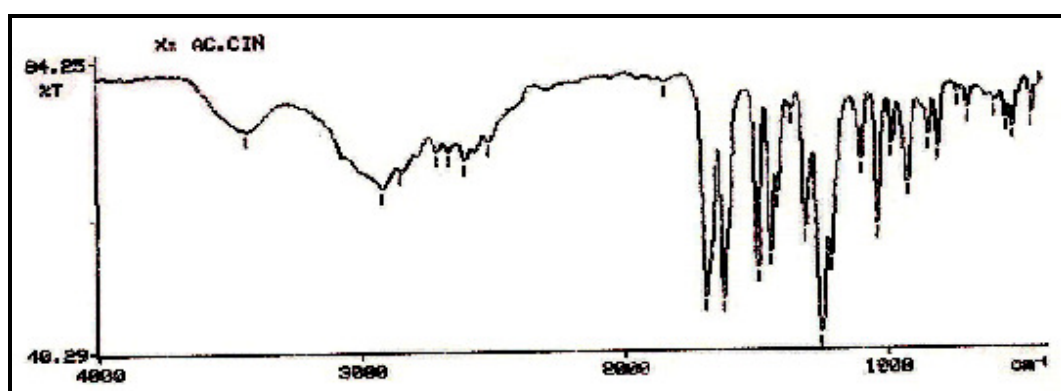
$\nu\text{C=O}$  = 1692,1 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

$\nu\text{C=C}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1493-1448 (vibração do esqueleto aromático)

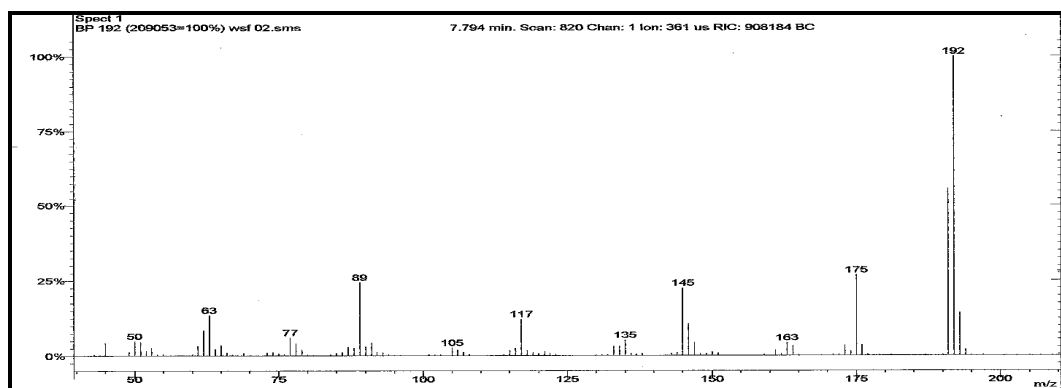
$\nu\text{C-O-C}$  = 1250,3 (metilenodioxi)

$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 930 (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

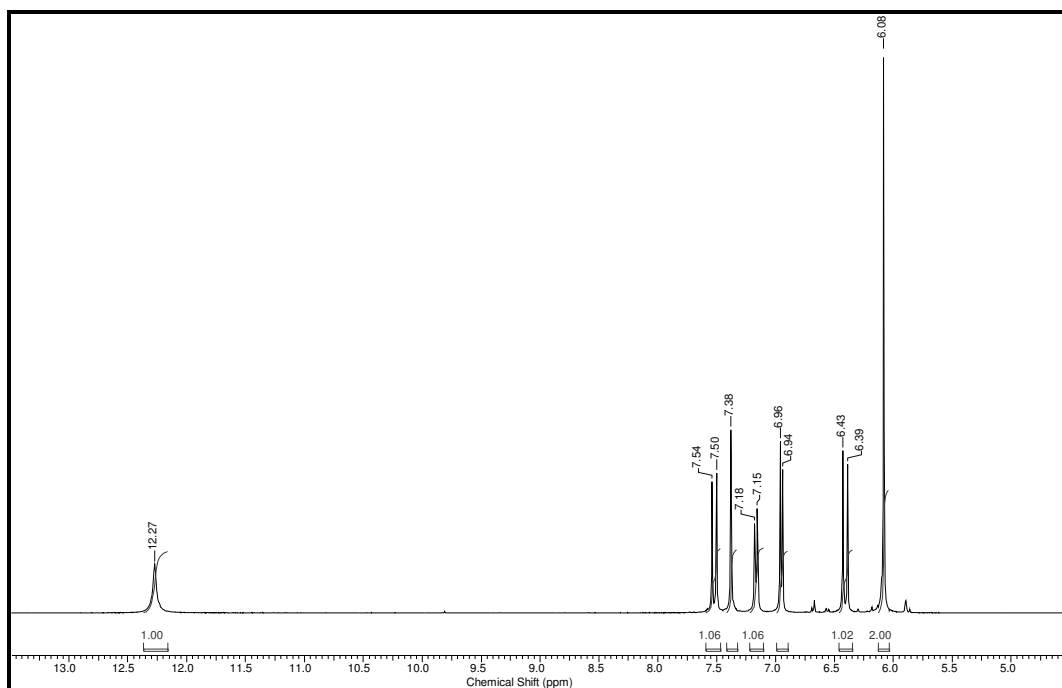
$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 850 (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)



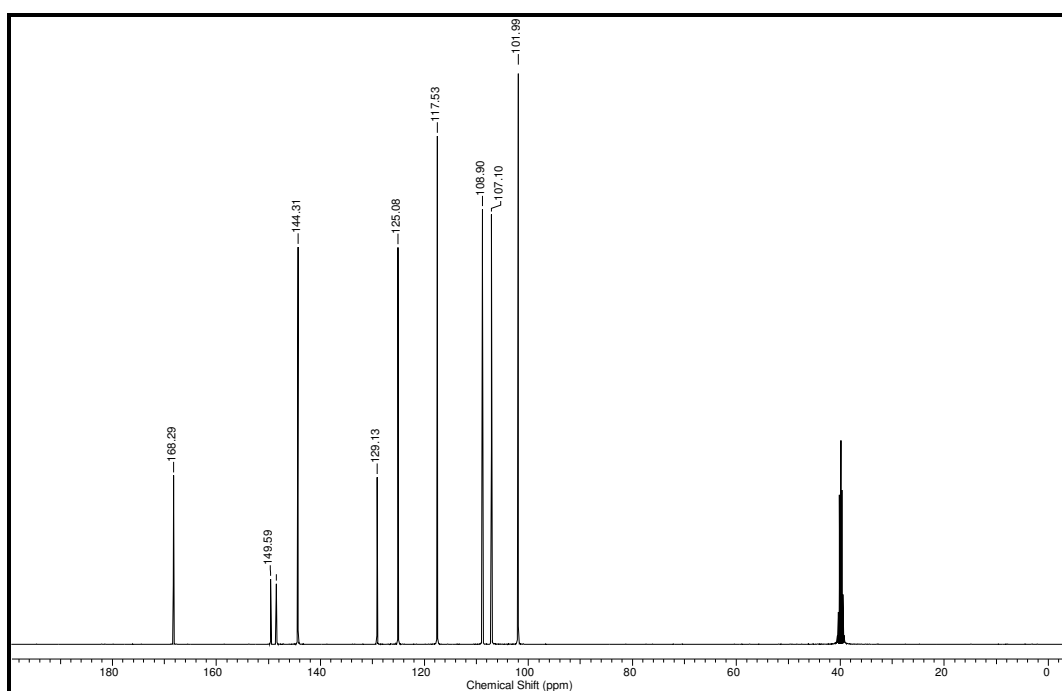
**Espectro 13.** Espectro de IV do ácido cinâmico 96.



**Espectro 14.** Espectro de massas do ácido cinâmico 96.



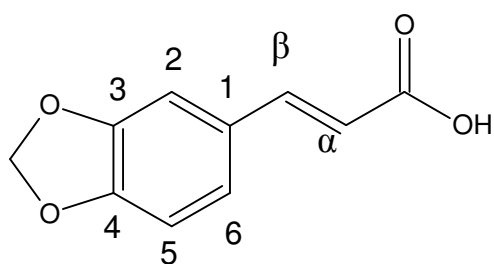
**Espectro 15.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do ácido cinâmico **96**.



**Espectro 16.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) do ácido cinâmico **96**.

**Tabela 16.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o ácido cinâmico **96**.

Posições	Ácido cinâmico <b>96</b> (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
OH	12,27 (sl, 1H)	-
C=O	-	168,29
1	-	129,13
2	7,38 (d; 1,5; 1H)	108,9
3	-	149,48
4	-	149,59
5	6,95 (d; 8,0; 1H)	107,1
6	7,16 (dd; 8,0 e 1,5; 1H)	125,08
$\alpha$	6,41 (d; 15,8; 1H)	117,53
$\beta$	7,52 (d; 16,1; 1H)	144,31
OCH <sub>2</sub> O	6,08 (sl, 2H)	101,99

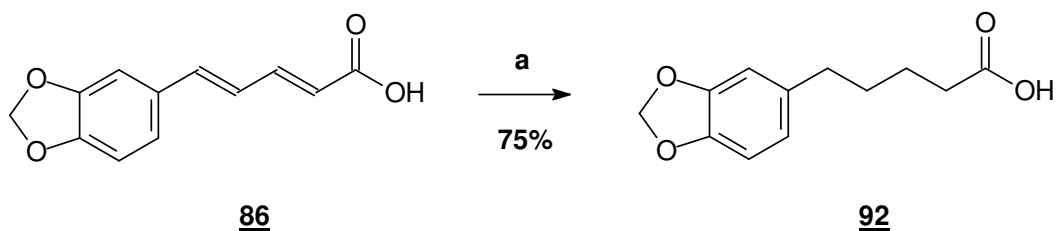


**96**

## 6.8- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A REDUÇÃO CATALÍTICA DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS 86 E 96

Num balão de 50 mL de capacidade, foi feita uma solução de 0,40 g do ácido carboxílico em 20 mL de acetato de etila, sobre a qual foi adicionado 0,05 g do catalisador Pd/C10%. Esta suspensão foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por alguns minutos. Selou-se o balão com um septo, retirando-se o ar presente no balão por um sistema de vácuo acoplado a um balão contendo hidrogênio fixado ao septo. O sistema então permaneceu por 3 horas sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética. Após o término da reação (acompanhada por CCF), o meio reacional foi filtrado numa seringa empacotada com sílica gel, a fim de retirar o catalisador. O solvente orgânico foi evaporado em pressão reduzida, fornecendo o produto desejado em grau de pureza adequado (VENKATASAMY, 2004).

### 6.8.1- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PENTANÓICO (ÁCIDO TETRAIDROPIPERÍNICO 92)



**Reagentes:** a) H<sub>2</sub>(g), Pd/C; acetato de etila, t.a., 3h.

Após evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado em CHCl<sub>3</sub>: Hexano (1:9), e o produto foi obtido na forma de um sólido bege amorfo com 75% de rendimento.

PF: 95-96°C (Lit.:95-96°C) (VENKATASAMY, 2004).

## Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu\text{O-H}$  = 3500-3400 (ácido carboxílico)

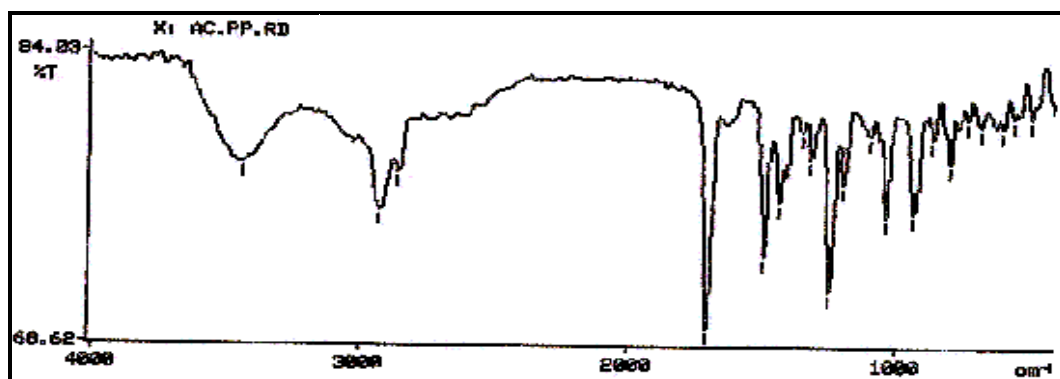
$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2928- 2859 (saturados e metilenodioxi)

$\nu\text{C=O}$  = 1708,0 (vibração da carbonila do ácido carboxílico não conjugado)

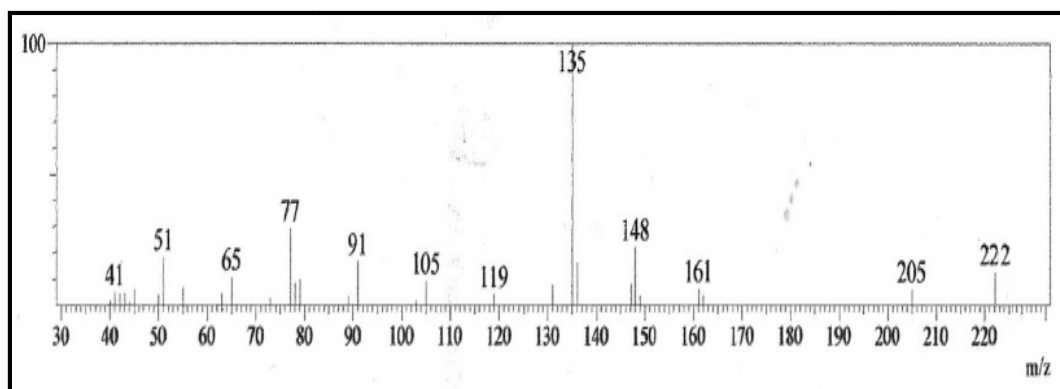
$\nu\text{C=C}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1491-1440 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu\text{C-O-C}$  = 1252,5 (metilenodioxi)

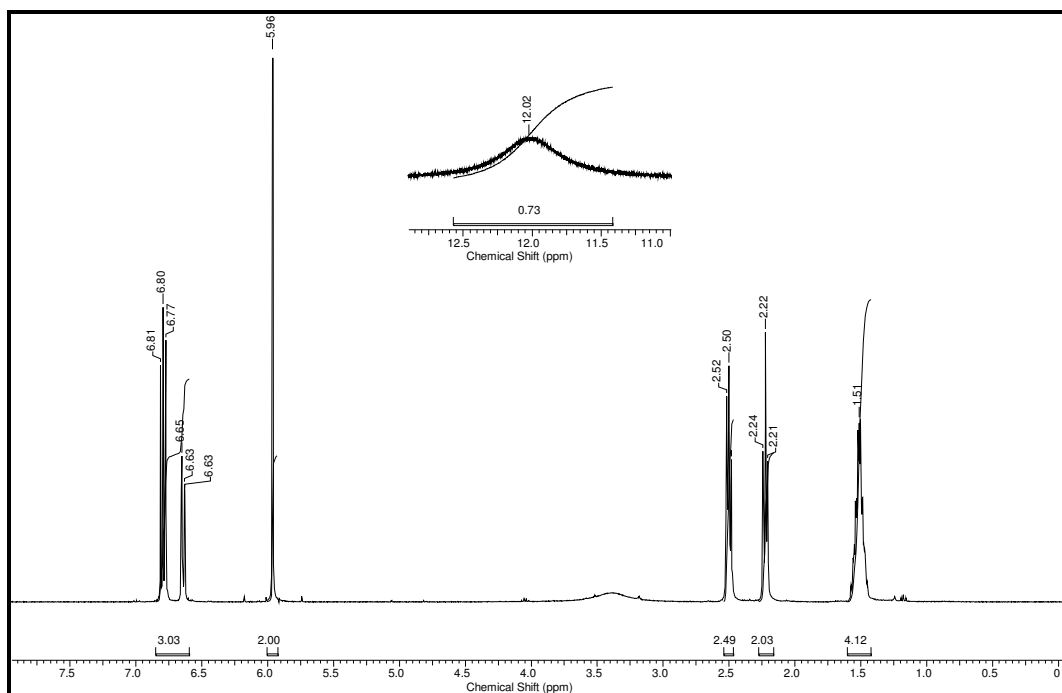
$\sigma\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 936 ( dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)



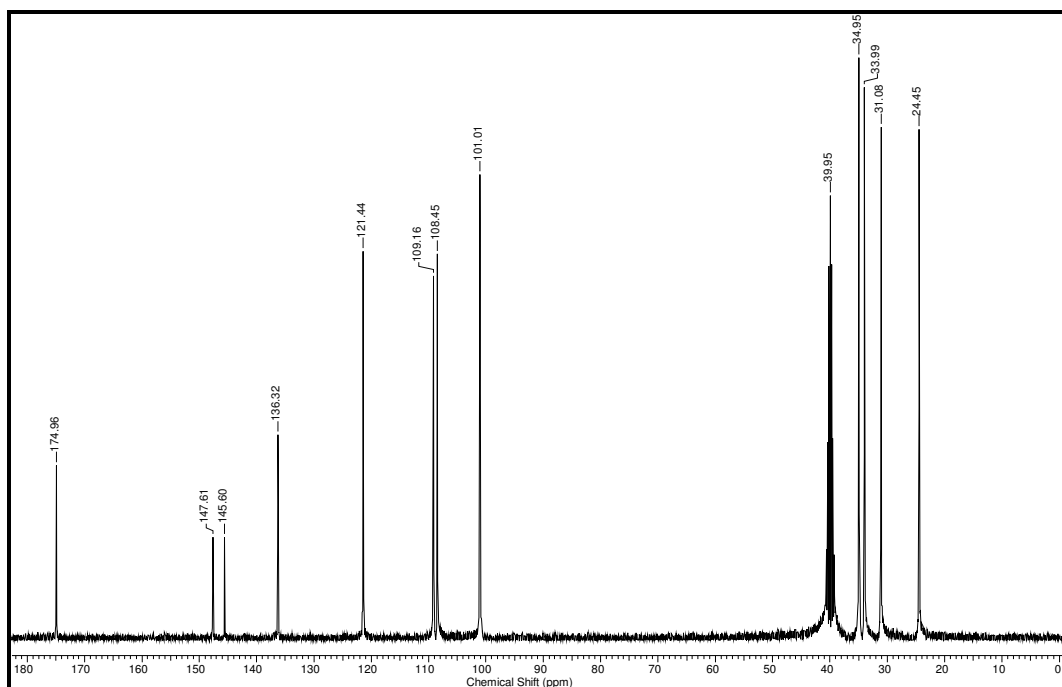
**Espectro 17.** Espectro de IV do ácido tetrahidropiperínico 92.



**Espectro 18.** Espectro de massas do ácido tetrahidropiperínico 92.



**Espectro 19.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ácido tetrahidropiperínico **92**.

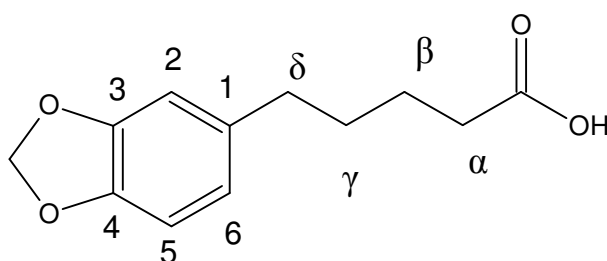


**Espectro 20.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ácido tetrahidropiperínico **92**.



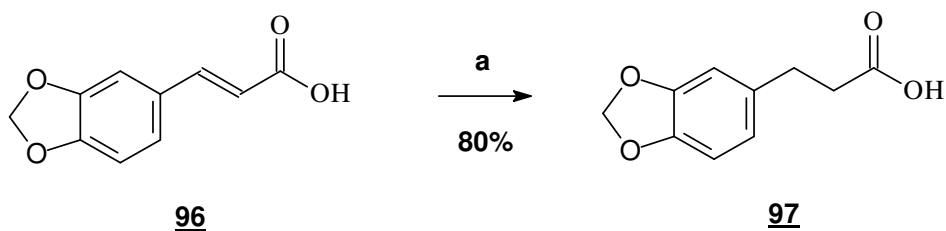
**Tabela 17.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o ácido tetrahidropiperínico **92**.

Posições	Ácido tetrahidropiperínico <b>92</b> (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
OH	12,02 (sl; 1H)	-
C=O	-	174,96
1	-	136,32
2	6,77 (d; 1,5; 1H)	108,45
3	-	145,6
4	-	147,61
5	6,81 (d; 7,8; 1H)	109,16
6	6,64 (dd; 7,9 e 1,6; 1H)	121,21
$\alpha$	2,50 (t; 7,2; 2H)	34,95
$\beta$	1,51 (m; 2H)	24,45
$\gamma$	1,51 (m; 2H)	31,08
$\delta$	2,22 (t; 7,0; 2H)	33,99
OCH <sub>2</sub> O	5,96 (sl, 2H)	101,01



**92**

### 6.8.2- PREPARAÇÃO DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PROPANÓICO (ÁCIDO DIIDROCINÂMICO 97)



**Reagente:** a) H<sub>2</sub>(g), Pd/C; acetato de etila, t.a., 3h.

Após evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado em CHCl<sub>3</sub>: hexano (2:8), e o produto foi obtido na forma de cristais brancos em forma de agulhas com 80% de rendimento (Lit.: 80%) (VENKATASAMY, 2004).

PF: 85-87°C (Lit.:86-88°C) (VENKATASAMY, 2004).

#### Infravermelho (KBr,cm<sup>-1</sup>)

νO-H = 3300-3200 (ácido carboxílico)

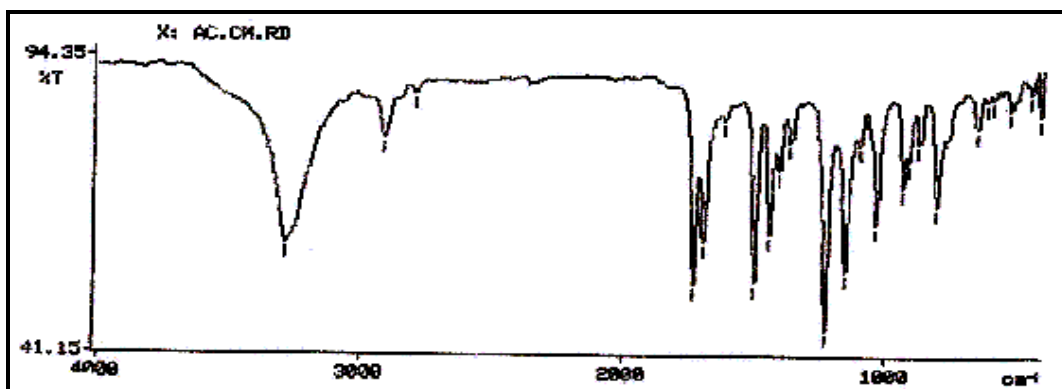
νC-H (Csp<sup>3</sup>) = 2916-2795 (saturados e metilenodioxi)

νC=O = 1733,3 (vibração da carbonila do ácido carboxílico não conjugado)

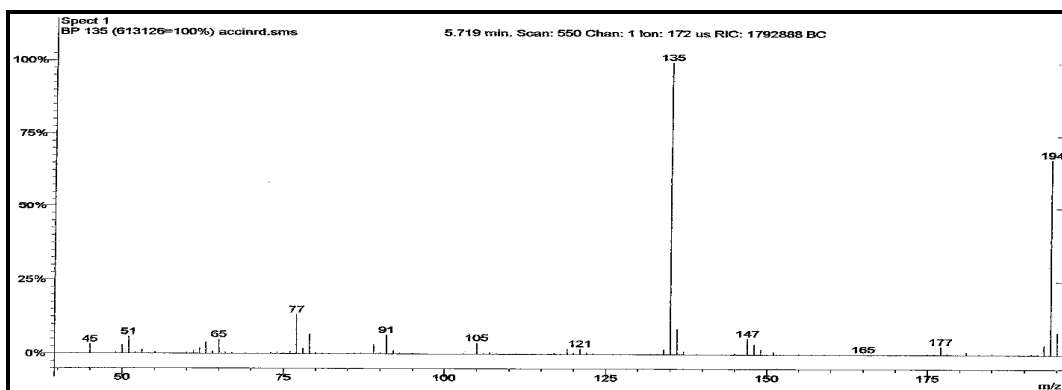
νC=C (Csp<sup>2</sup>) = 1612-1446 (vibração do esqueleto aromático)

νC-O-C = 1232,6 (metilenodioxi)

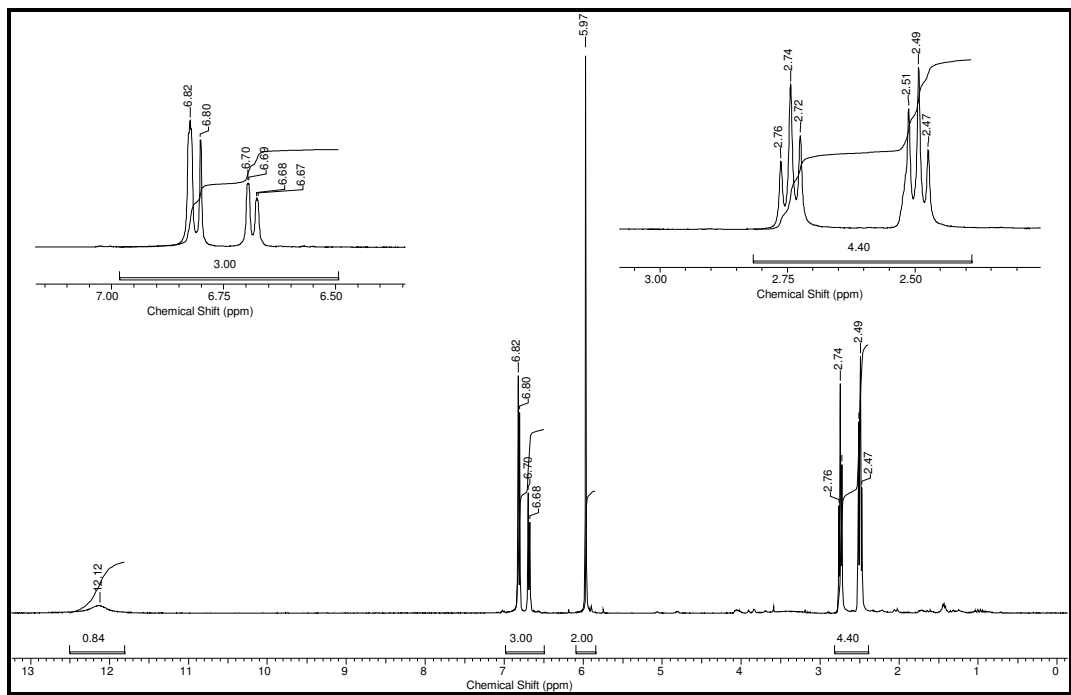
σC-H (Csp<sup>2</sup>) = 938,5 (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> Isolado)



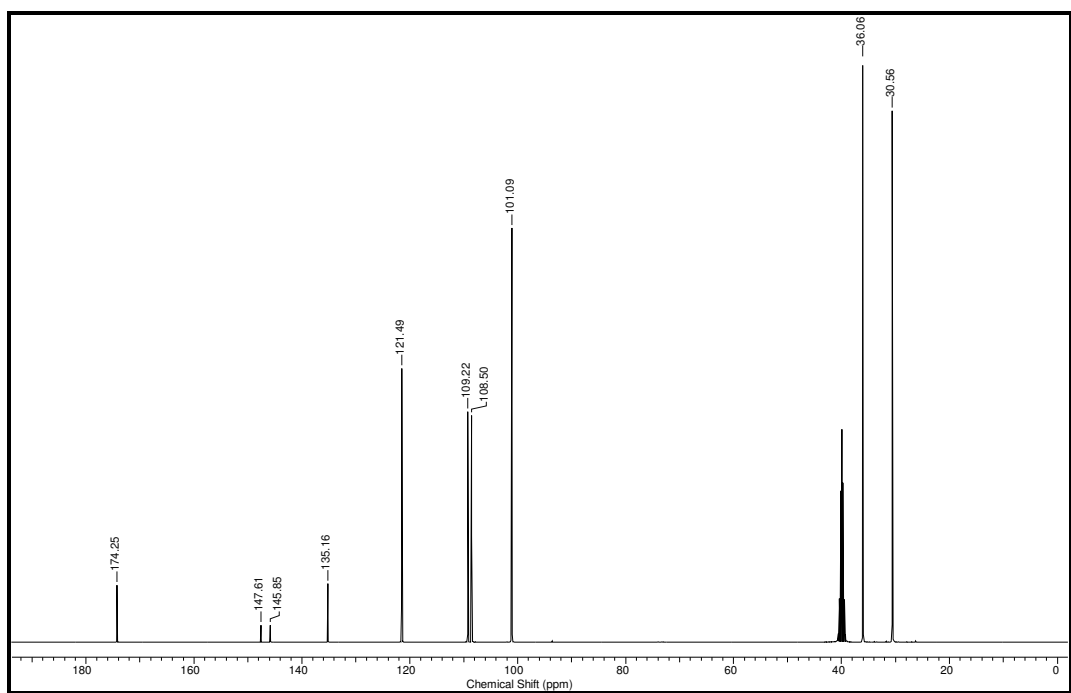
**Espectro 21.** Espectro de IV do ácido diidrocinâmico 97.



**Espectro 22.** Espectro de massas do ácido diidrocinâmico 97.



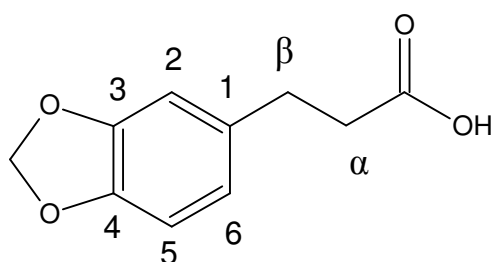
**Espectro 23.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ácido dihidrocínâmico **97**.



**Espectro 24.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do ácido dihidrocínâmico **97**.

**Tabela 18.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o ácido cinâmico reduzido **97**.

Posições	Ácido diidrocinâmico <b>97</b> (400 MHz, DMSO- $d_6$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
OH	12,12 (sl, 1H)	-
C=O	-	174,25
1	-	135,16
2	6,82 (sl; 1H)	109,22
3	-	145,85
4	-	147,61
5	6,81 (d; 8,0; 1H)	108,5
6	6,68 (d; 8,0; 1H)	121,49
$\alpha$	2,74 (t; 7,7; 1H)	36,06
$\beta$	2,49 (t; 7,7; 1H)	30,56
OCH <sub>2</sub> O	5,97 (sl, 2H)	101,09



**97**

### **6.9- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DOS CLORETOS DE ACILA DOS ÁCIDOS CARBOXÍLICOS 86, 92, 95, 96 E 97**

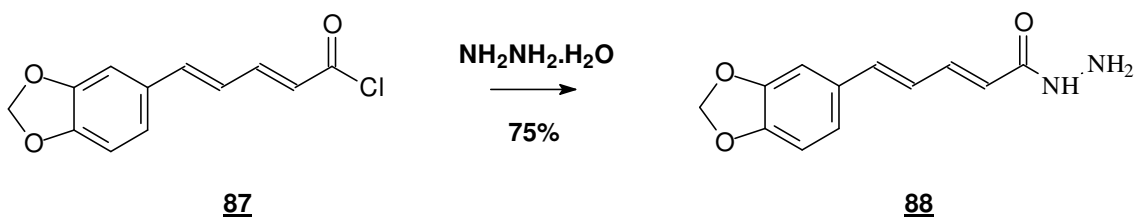
Num balão de 25 mL de capacidade, contendo 0,40g do ácido carboxílico, equipado com condensador de refluxo e barra de agitação magnética, mantido sob atmosfera inerte, foram adicionados aproximadamente 0,5 mL do cloreto de oxalila e deixado sob agitação à temperatura ambiente por cerca de 40 minutos.

Verificamos o término da reação por CCF (indiretamente, acompanhando a formação do éster metílico, através da reação de uma pequena alíquota com metanol). Terminada a reação, o resíduo de cloreto de oxalila foi evaporado por um evaporador rotatório e o cloreto do ácido foi obtido em rendimento quantitativo e alto grau de pureza. O produto seco foi imediatamente utilizado na etapa seguinte (procedimento experimental 7.7).

### **6.10- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DAS ACILIDRAZINAS 88, 94, 101, 102 E 103**

A reação de preparação da acilidrazina foi realizada imediatamente após a reação de obtenção do cloreto de acila, evitando assim a hidrólise do intermediário. O produto seco obtido foi dissolvido em 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (seco) (SOARES, 2006). Paralelamente foi adicionado em outro balão semelhante, 0,4 mL de hidrato de hidrazina e 5 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (seco). Sobre esta solução, mantida sob atmosfera inerte e em banho de gelo, foram adicionados, gota a gota, o cloreto de acila. Após cerca de 30 minutos de agitação à temperatura ambiente, a análise por CCF demonstrou o término da reação. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida e filtrado em buchner, lavado com água gelada.

### 6.10.1- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-2(E),4(E)-PENTADIENÓICO (**88**)



O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em etanol formando um sólido amorfo de coloração amarela com aproximadamente 75% de rendimento  
PF: 237-240°C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):

$\nu_{\text{N-H}} = 3600\text{-}3200$  (acilidrazina)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2901$  (metilenodioxi)

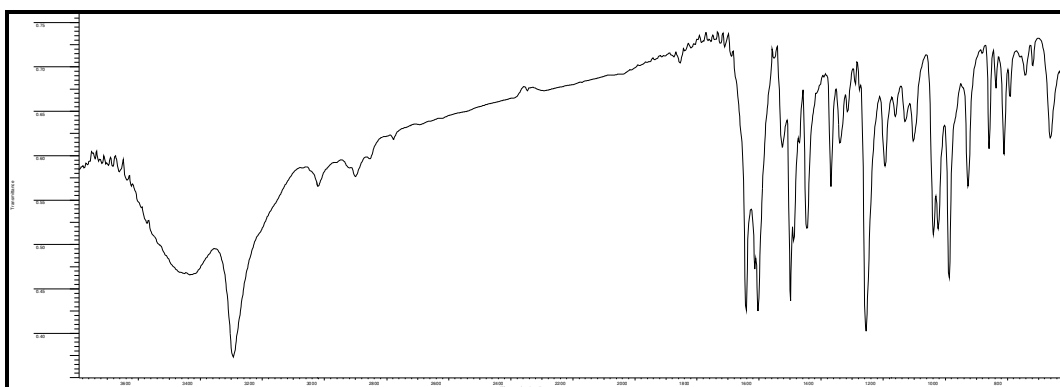
$\nu_{\text{C=O}} = 1641$  (vibração de carbonila da acilidrazina)

$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1498\text{-}1444$  (vibração do esqueleto aromático)

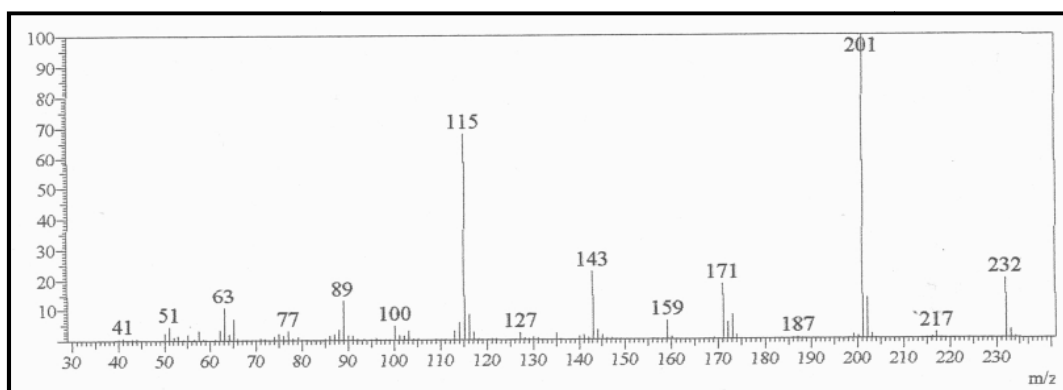
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1257$  (metilenodioxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 927$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 857$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)

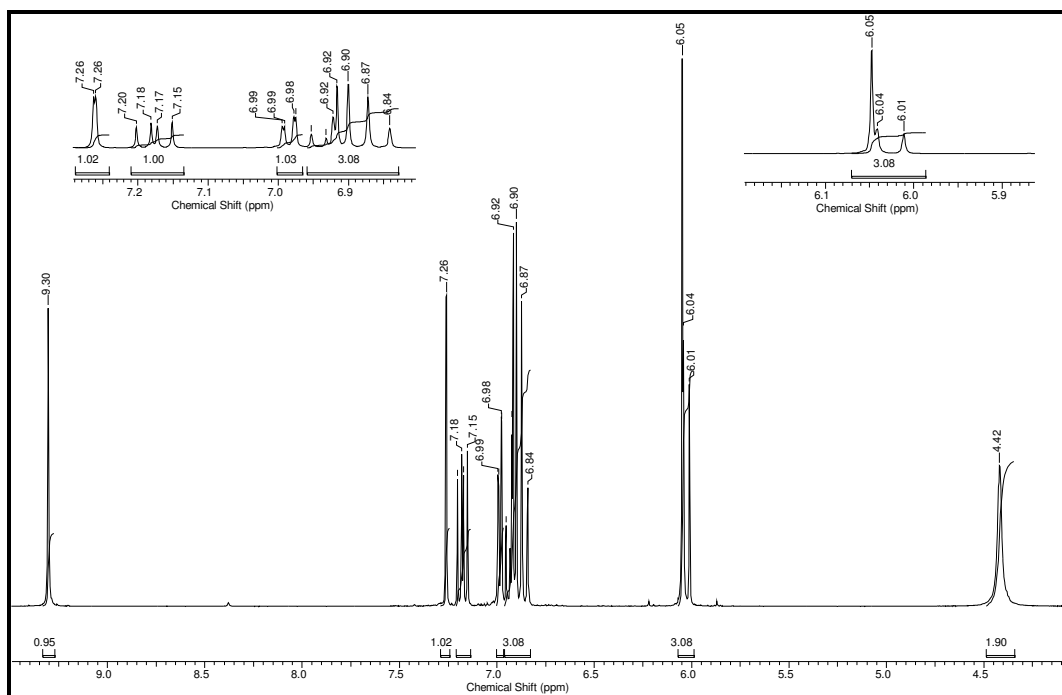


**Espectro 25.** Espectro de IV da acilidrazina **88**.

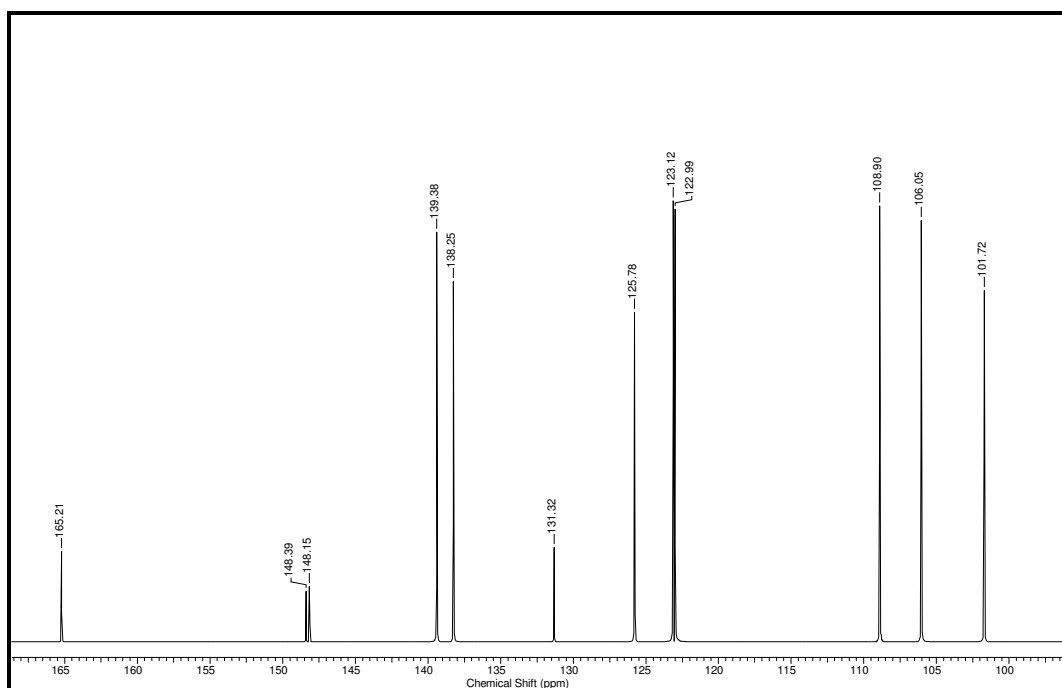


**Espectro 26.** Espectro de massas da acilidrazina **88**.





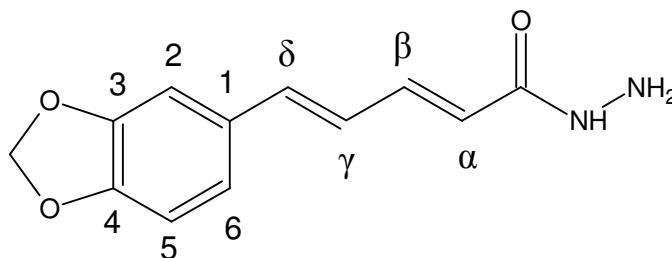
**Espectro 27.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) da acilidrazina **88**.



**Espectro 28.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) da acilidrazina **88**.

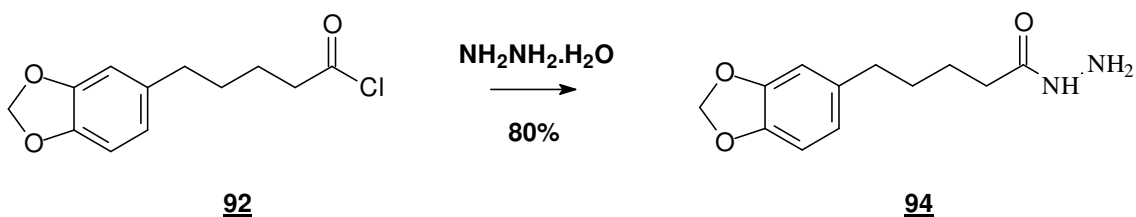
**Tabela 19.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para acilidrazina **88**.

Posições	Acilidrazina <b>88</b> (200 MHz, DMSO- <i>d</i> 6)	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH <sub>2</sub>	4,42 (sl; 2H)	-
NH	9,30 (sl; 1H)	-
C=O	-	165,21
1	-	131,32
2	7,26 (d; 1,3; 1H)	106,05
3	-	148,15
4	-	148,39
5	6,84 – 6,95, (m; 1H)	108,90
6	6,98 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	123,12
$\alpha$	6,02 (d; 15; 1H)	122,99
$\beta$	7,17 (dd; 15 e 10,5; 1H)	138,25
$\gamma$	6,84 – 6,95, (m; 1H)	125,78
$\delta$	6,84 – 6,95, (m; 1H)	138,38
OCH <sub>2</sub> O	6,05 (sl; 2H)	101,72



**88**

### 6.10.2- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-PENTANÓICO (94)



O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido branco em forma de agulhas com 80% de rendimento.

PF: 98-100°C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu_{\text{N-H}} = 3429\text{-}3203$  (vibrações da acilidrazina)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3010$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2929\text{-}2856$  (vibrações do metilenodióxi e carbonos saturados)

$\nu_{\text{C=O}} (\text{Csp}^2) = 1635$  (vibrações de carbonila da acilidrazina)

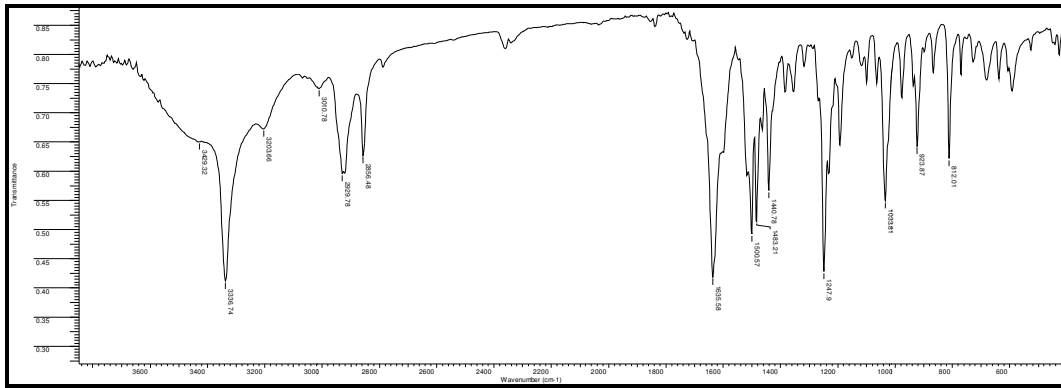
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1500$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1440$  (vibrações da acilidrazina)

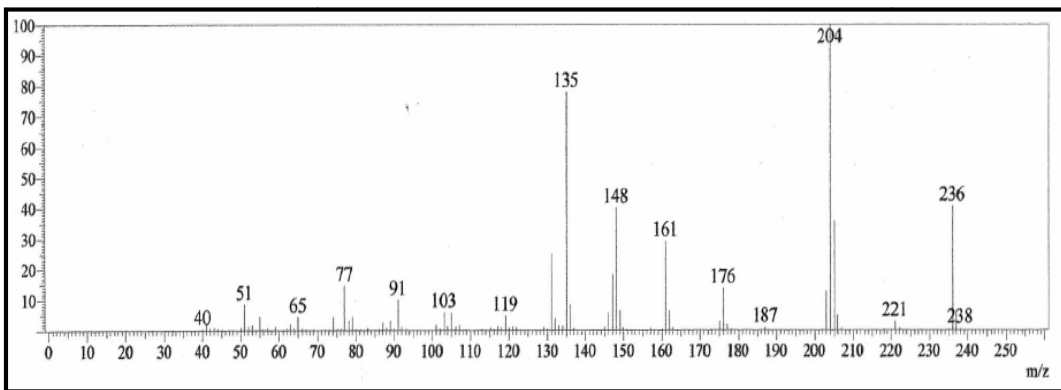
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1247$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 923$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom}}$ . Isolado)

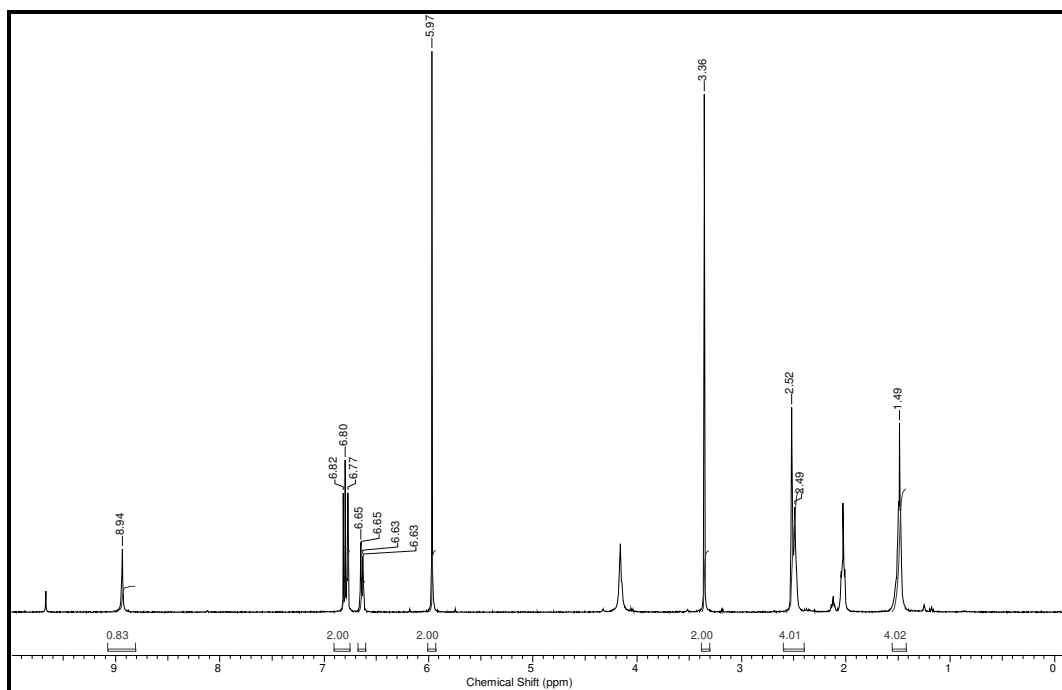
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 812$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom}}$ . Vizinhos)



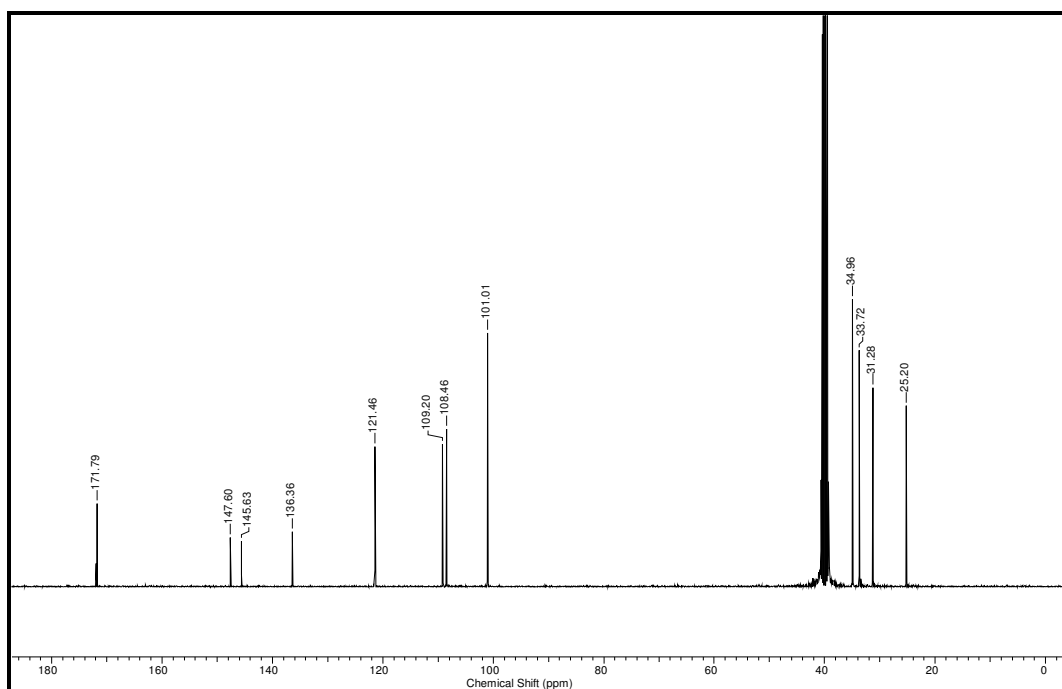
**Espectro 29.** Espectro de IV da acilidrazina 94.



**Espectro 30.** Espectro de massas da acilidrazina 94.



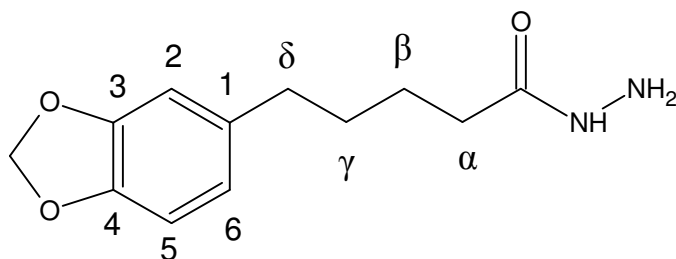
**Espectro 31.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) acilidrazina **94**.



**Espectro 32.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) da acilidrazina **94**.

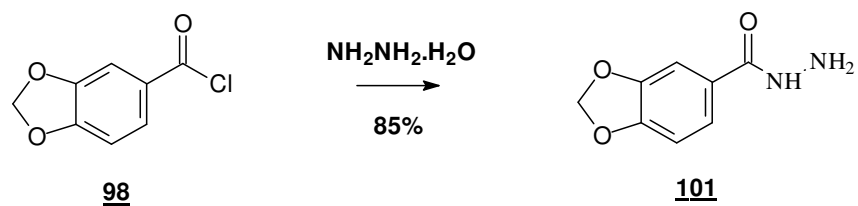
**Tabela 20.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para acilidrazina **94**.

Posições	Acilidrazina 94 (400 MHz, DMSO-d6)	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH	3,36 (s; 2H)	-
NH	8,94 (s; 1H)	-
C=O	-	171,79
1	-	136,36
2	6,77 (d; 1,5; 1H)	108,46
3	-	145,63
4	-	147,6
5	6,81 (d; 7,8; 1H)	109,2
6	6,64 (dd; 7,9 e 1,6; 1H)	121,46
$\alpha$	2,52 (m; 2H)	34,96
$\beta$	1,49 (m; 2H)	25,2
$\gamma$	1,49 (m; 2H)	31,28
$\delta$	2,52 (m; 2H)	33,72
OCH <sub>2</sub> O	5,97 (sl, 2H)	101,01



**94**

### 6.10.3- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3,4-METILENODIOXIBENZÓICO (101)



O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido amorfo branco bege com 85% de rendimento.

PF: 196-198°C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu\text{N-H} = 3435\text{-}3190$  (vibrações da acilidrazina)

$\nu\text{C-H} (\text{Csp}^2) = 3060$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-H} (\text{Csp}^3) = 2931$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu\text{C=O} (\text{Csp}^2) = 1618$  (vibrações de carbonila da acilidrazina)

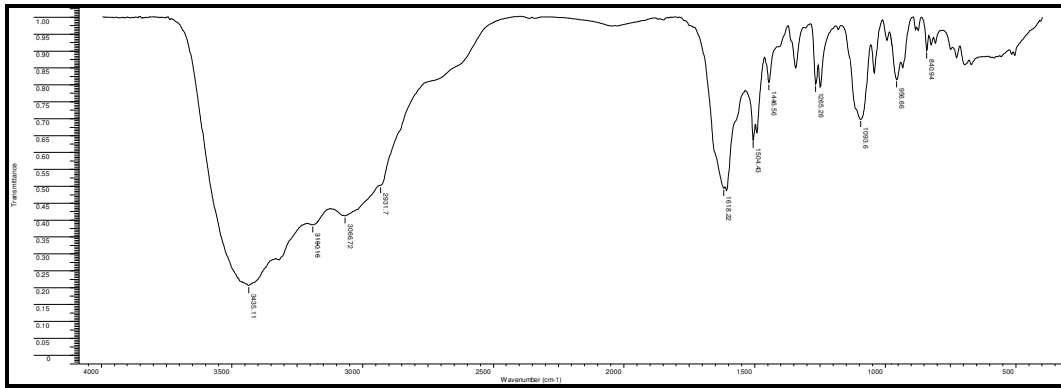
$\nu\text{C=C} (\text{Csp}^2) = 1504$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N} (\text{Csp}^2) = 1446$  (vibrações da acilidrazina)

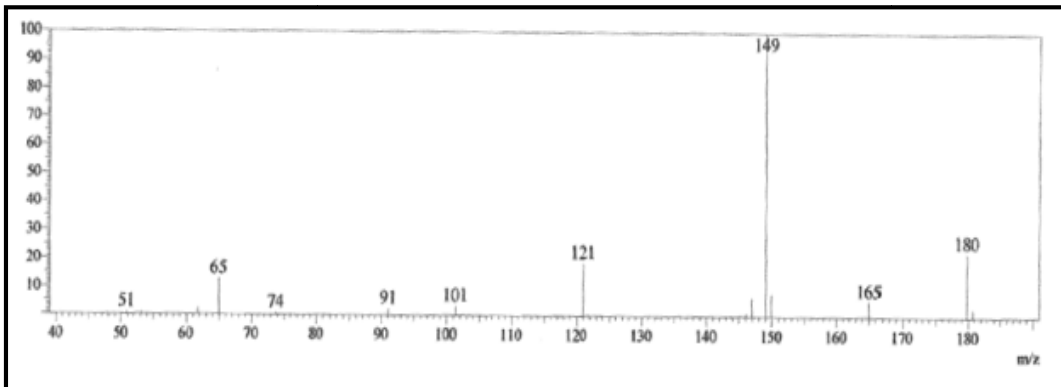
$\nu\text{C-O-C} = 1265$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H} (\text{Csp}^2) = 956$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

$\sigma\text{C-H} (\text{Csp}^2) = 840$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)

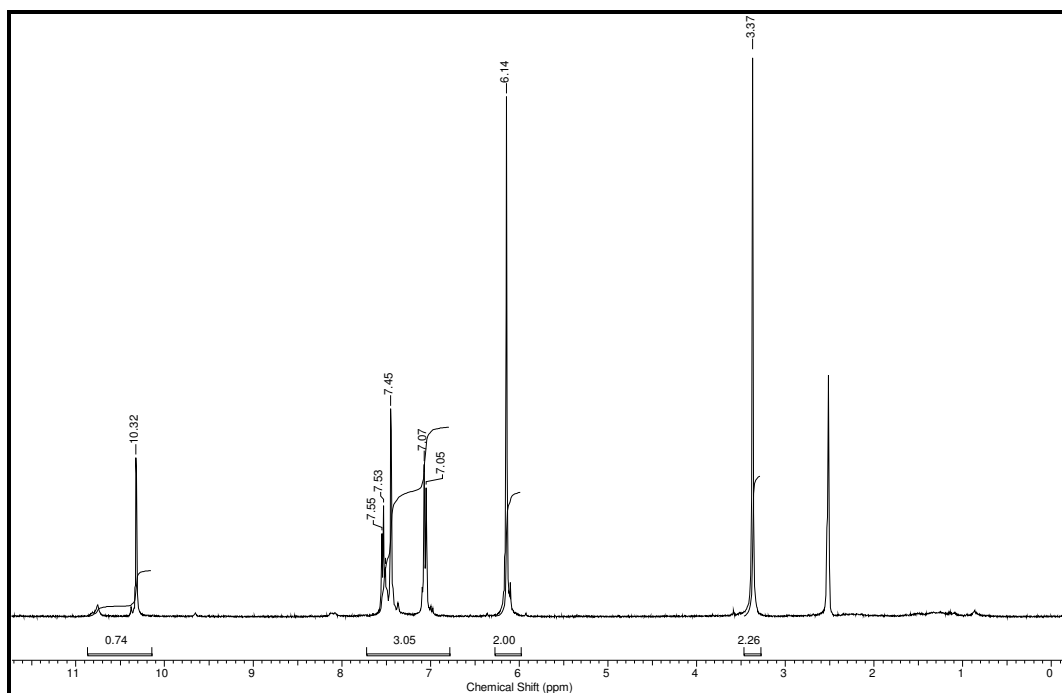


**Espectro 33.** Espectro de IV da acilidrazina 101.

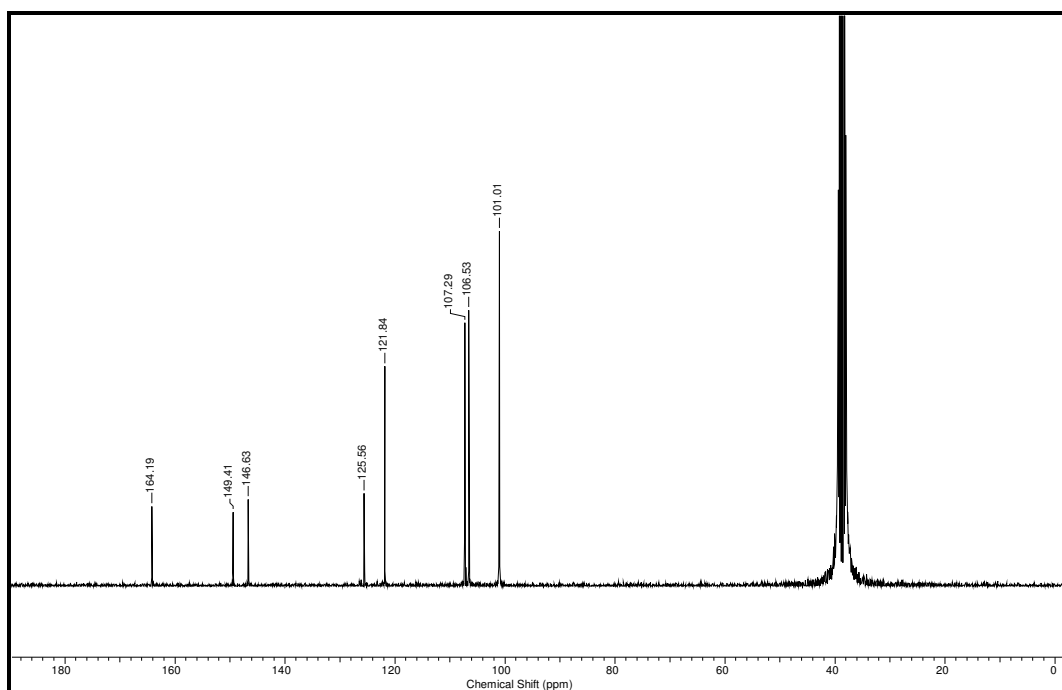


**Espectro 34.** Espectro de massas da acilidrazida 101.





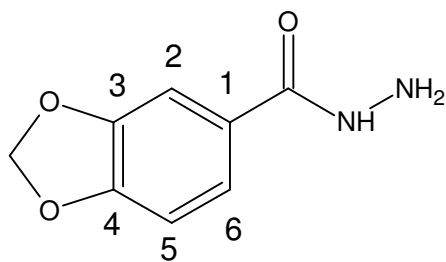
**Espectro 35.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) da acilidrazida **101**.



**Espectro 36.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) da acilidrazina **101**.

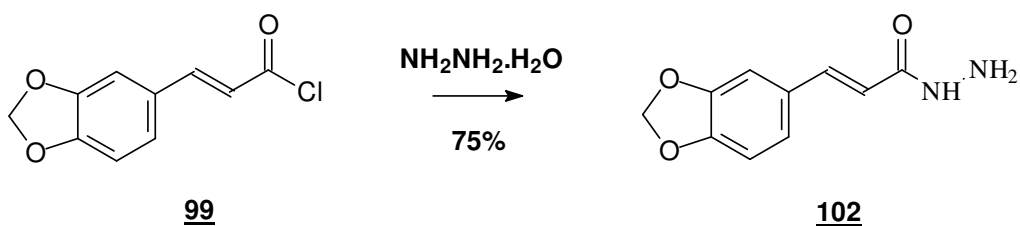
**Tabela 21.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para a acilidrazina **101**.

Posições	Acilidrazina <b>101</b> (400 MHz, DMSO- $d_6$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH	3,37 (s; 2H)	-
NH	10,32 (s; 1H)	-
C=O	-	164,19
1	-	126,84
2	7,45 (s; 1H)	107,29
3	-	146,63
4	-	149,41
5	7,54 (d; 7,7; 1H)	106,53
6	7,06 (d; 7,8; 1H)	121,64
OCH <sub>2</sub> O	6,14 (sl; 2H)	101,01



**101**

#### 6.10.4- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL) CINÂMICO (102)



O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido amorfo branco com 75% de rendimento.

PF: 149-151°C

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu_{\text{N-H}} = 3435-3261$  (vibrações da acilidrazina)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3000$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2918$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=O}} (\text{Csp}^2) = 1660$  (vibrações de carbonila da acilidrazina)

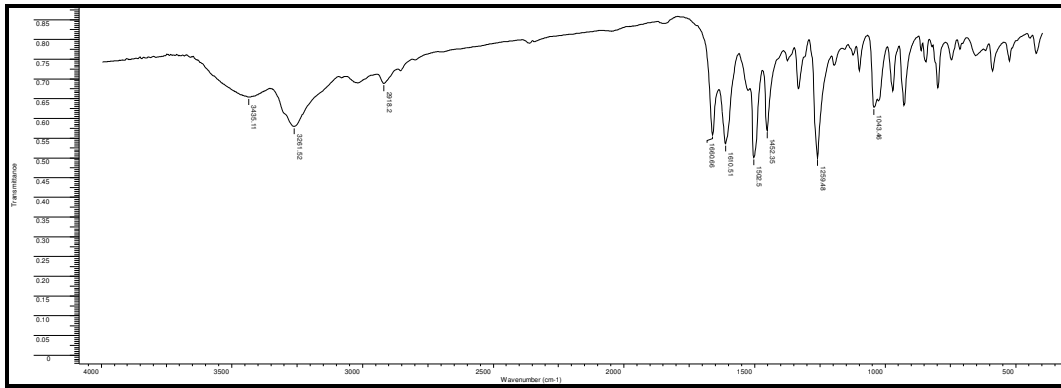
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1502$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1452$  (vibrações da acilidrazina)

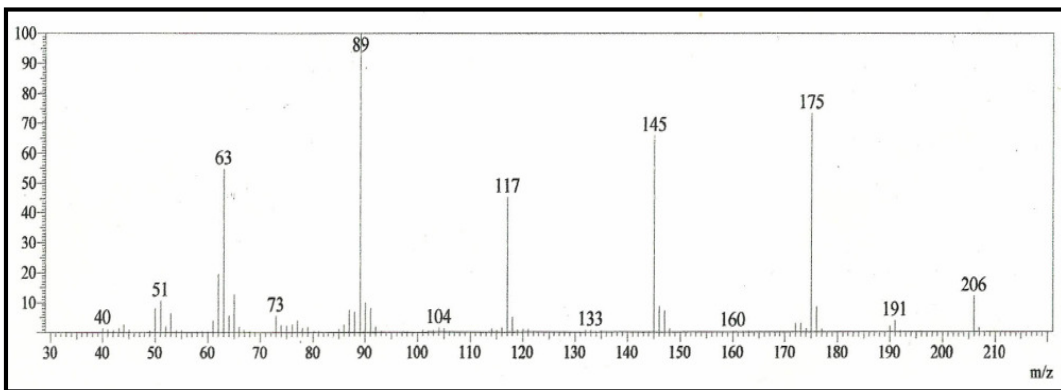
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1259$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 927$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

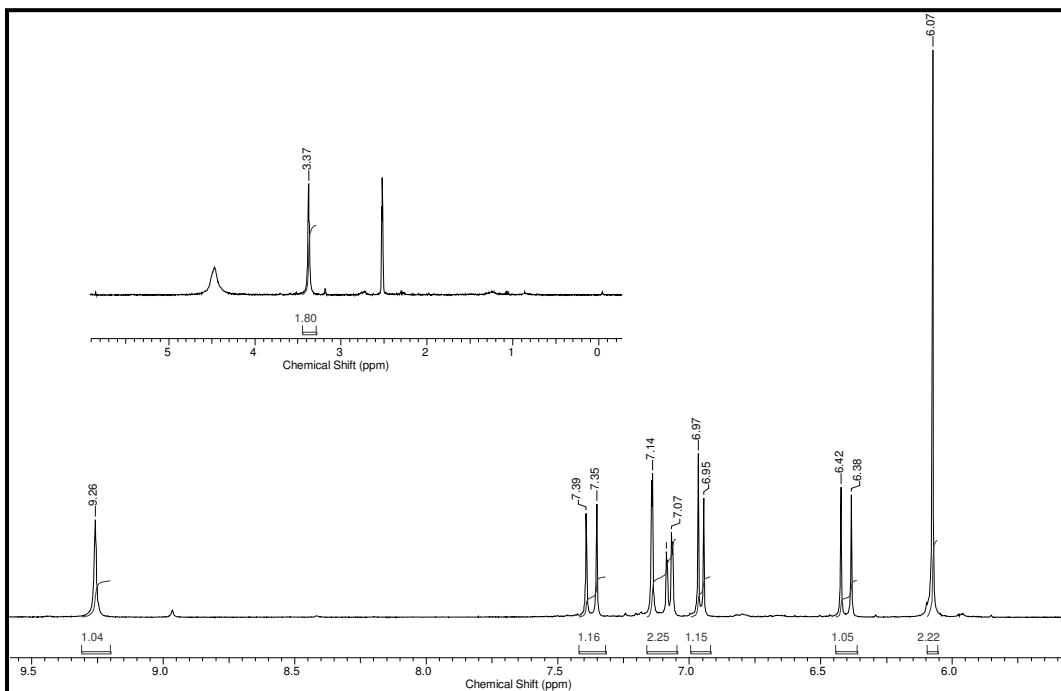
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 842$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)



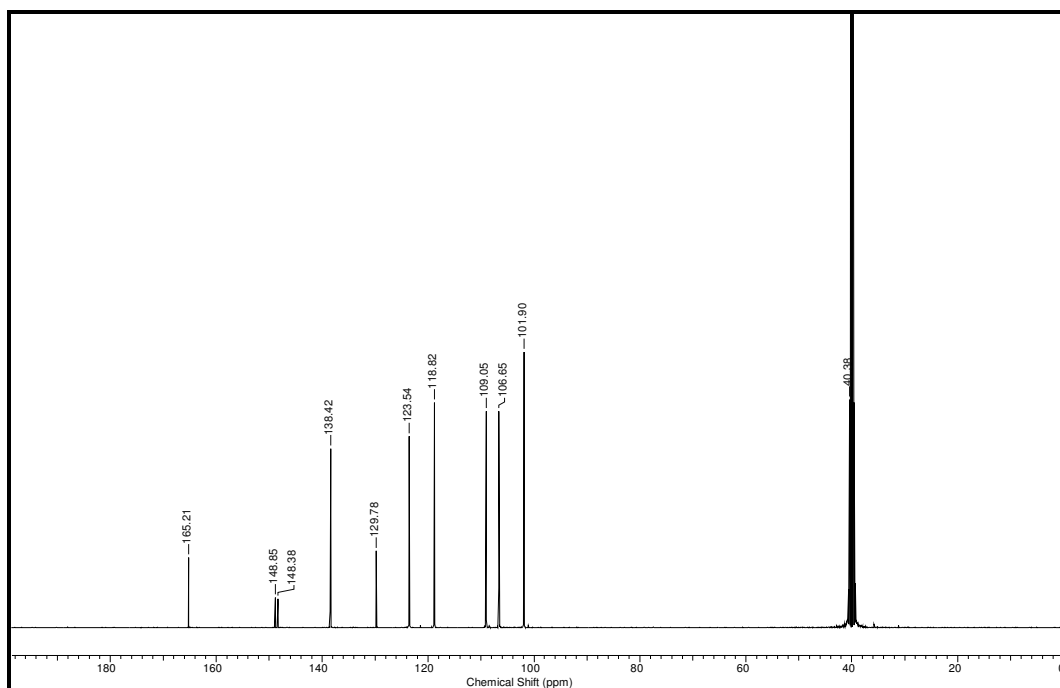
**Espectro 37.** Espectro de IV da acilidrazina 102.



**Espectro 38.** Espectro de massas da acilidrazina 102.



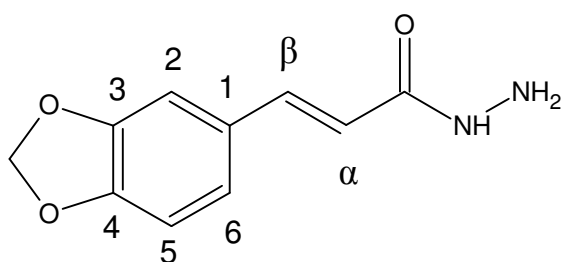
**Espectro 39.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) da acilidrazina **102**.



**Espectro 40.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) da acilidrazina **102**.

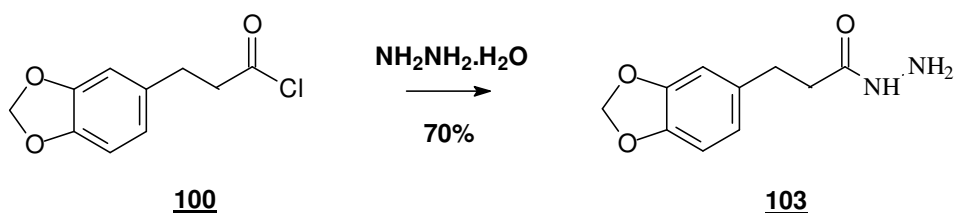
**Tabela 22.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para acilidrazina **102**.

Posições	Acilidrazina <b>102</b> (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH	3,37 (s; 2H)	-
NH	9,26 (s; 1H)	-
C=O	-	165,21
1	-	129,78
2	7,14 (d; 1,5; 1H)	108,9
3	-	148,38
4	-	148,85
5	6,96 (d; 8,0; 1H)	106,65
6	7,07 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	123,54
$\alpha$	6,40 (m; 2H)	118,82
$\beta$	7,37 (m; 2H)	138,42
OCH <sub>2</sub> O	6,07 (sl, 2H)	101,9



**102**

### 6.10.5- PREPARAÇÃO DA ACILIDRAZINA DO ÁCIDO 3-(3,4-METILENODIOXIFENIL) DIIDROCINÂMICO (103)



O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido branco em forma de agulhas com 70% de rendimento.

PF: 118-120°C

#### **Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )**

$\nu_{\text{N-H}} = 3435\text{-}3284$  (vibrações da acilidrazina)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3035$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2923$  (vibrações do metilenodióxi e carbonos saturados)

$\nu_{\text{C=O}} (\text{Csp}^2) = 1631$  (vibrações de carbonila da acilidrazina)

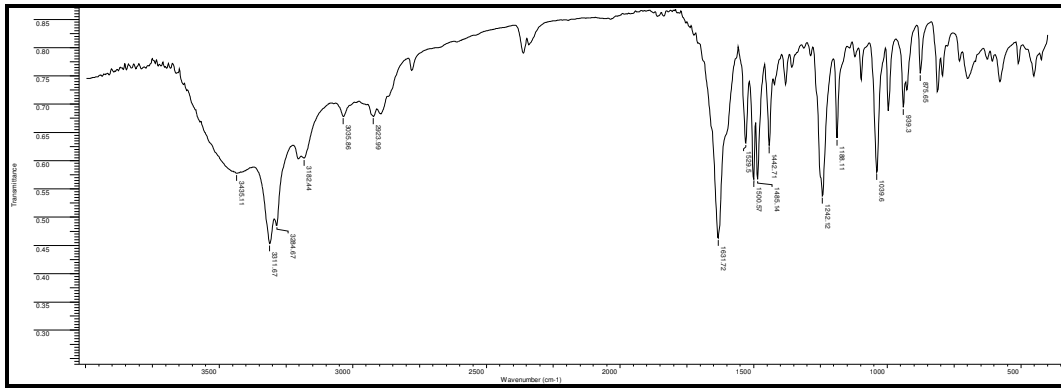
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1500$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1485$  (vibrações da acilidrazina)

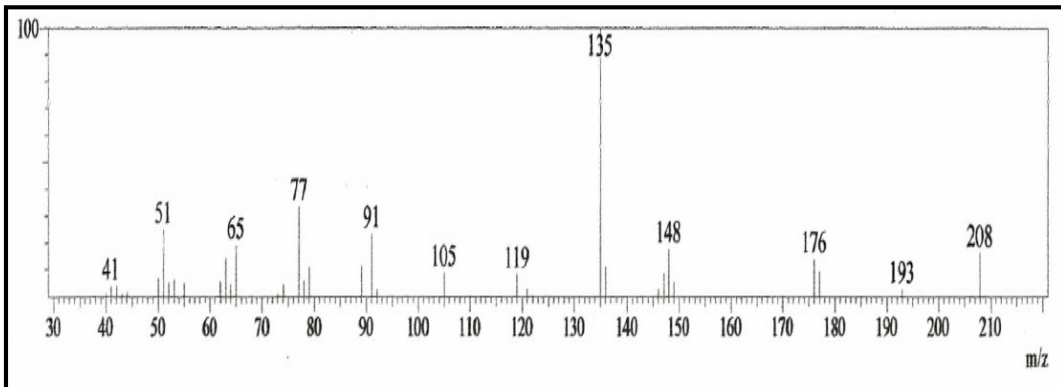
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1242$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 939$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 875$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)

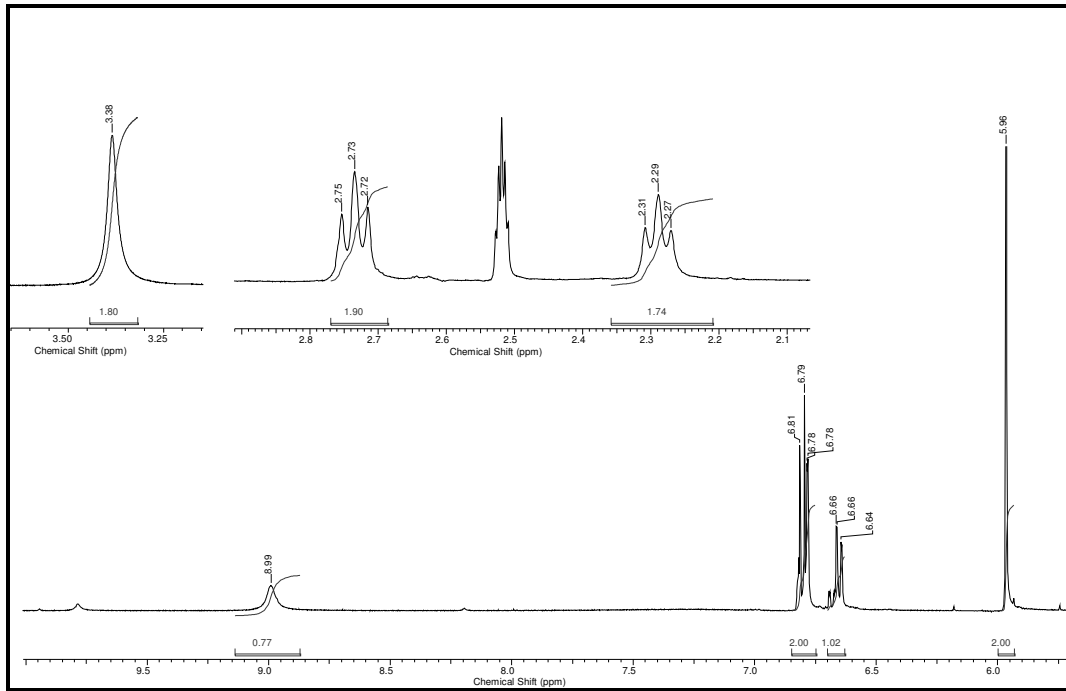


**Espectro 41.** Espectro de IV da acilidrazina **103**.

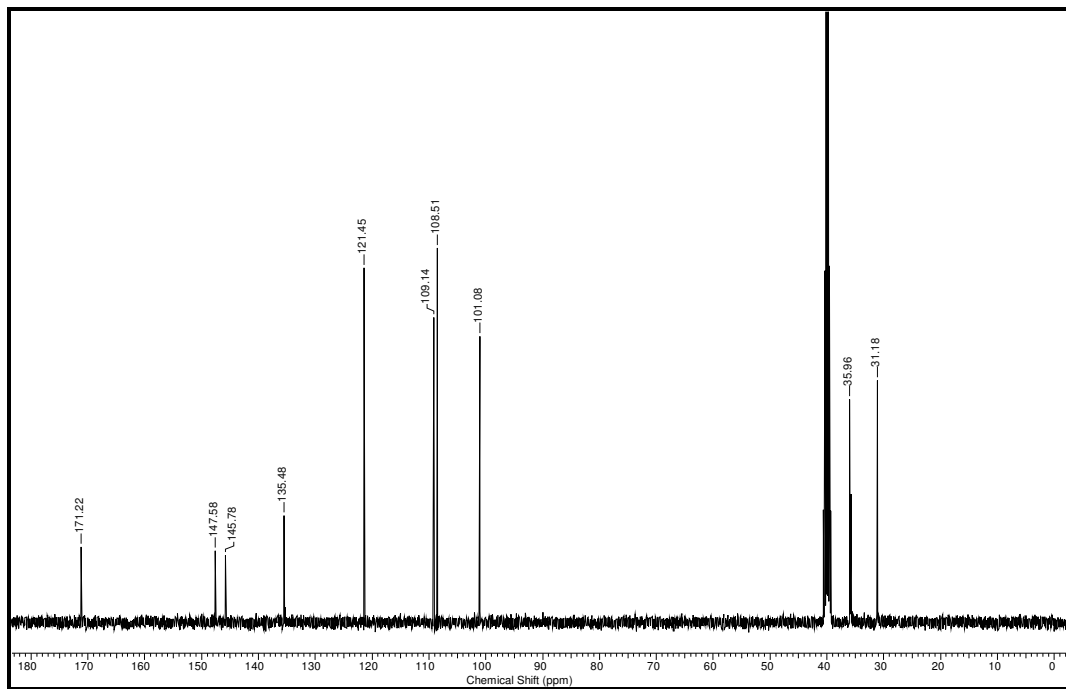


**Espectro 42.** Espectro de massas da acilidrazina **103**.





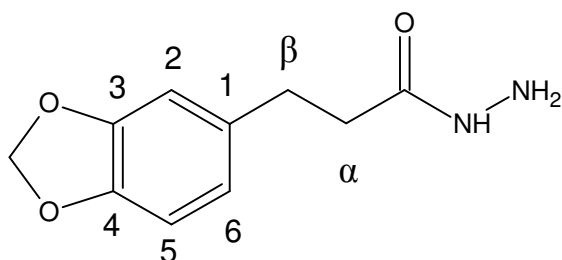
**Espectro 43.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) da acilidrazina **103**.



**Espectro 44.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) da acilidrazina **103**.

**Tabela 23.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para acilidrazina **103**.

Posições	Acilidrazina <b>103</b> (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH	3,38 (s; 2H)	-
NH	8,99 (s; 1H)	-
C=O	-	171,22
1	-	135,48
2	6,78 (d; 1,5; 1H)	109,14
3	-	145,78
4	-	147,58
5	6,80 (d; 7,8; 1H)	108,51
6	6,65 (dd; 7,8 e 1,5; 1H)	121,45
$\alpha$	2,73 (t; 7,7; 2H)	35,85
$\beta$	2,28 (t; 7,7; 2H)	31,18
OCH <sub>2</sub> O	5,96 (sl; 2H)	101,08

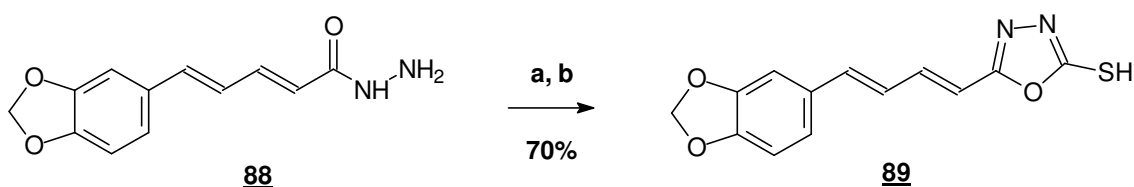


**103**

## 6.11- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, PARA A SÍNTESE DOS HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZÓIS-2-TIONA 89, 90, 104, 105 E 106

Num balão de 25 mL de capacidade, equipado com agitador magnético e condensador de refluxo, foram colocados 0,5g de acilidrazina, 5 mL de etanol e 0,2 mL (6,0 mmol – excesso) de CS<sub>2</sub>, após agitação por 10 minutos foi adicionado gota a gota 5 mL de etanol em KOH (mesmo equivalente da acilidrazina), após 60 minutos de agitação a frio foi colocada em refluxo no reator de microondas (condições: 78 °C; 50 W) durante 30-45 minutos. A reação foi acompanhada por CCF. Após o término da reação, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida, o resíduo solubilizado em água, e filtrado. A solução básica foi acidificada com algumas gotas de HCl (concentrado), onde ocorreu a precipitação do produto desejado, que foi filtrado e lavado com água gelada (EL-EMAM, 2004).

### 6.11.1- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO PIPERÍNICO 89)



**Reagentes:** a) KOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CS<sub>2</sub>; b) HCl (conc.) até pH 3,0.

O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em etanol formando um sólido amorfo amarelo com 70% de rendimento.

PF: 213-215°C.

## Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu\text{N-H} = 3329$  (vibrações do heterociclo)

$\nu\text{C-H (Csp}^2) = 3000$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-H (Csp}^3) = 2914$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu\text{C=N (Csp}^2) = 1607$  (vibrações do heterociclo)

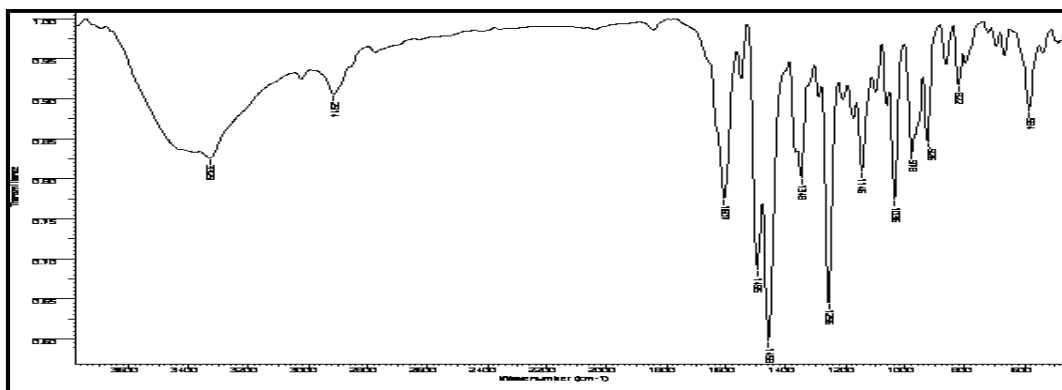
$\nu\text{C=C (Csp}^2) = 1495$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2) = 1458$  (vibrações do heterociclo)

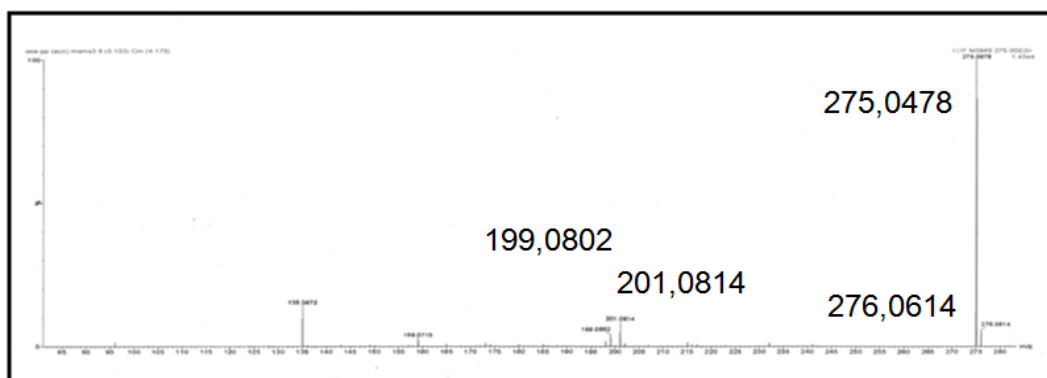
$\nu\text{C-O-C} = 1256$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 926$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  Isolado)

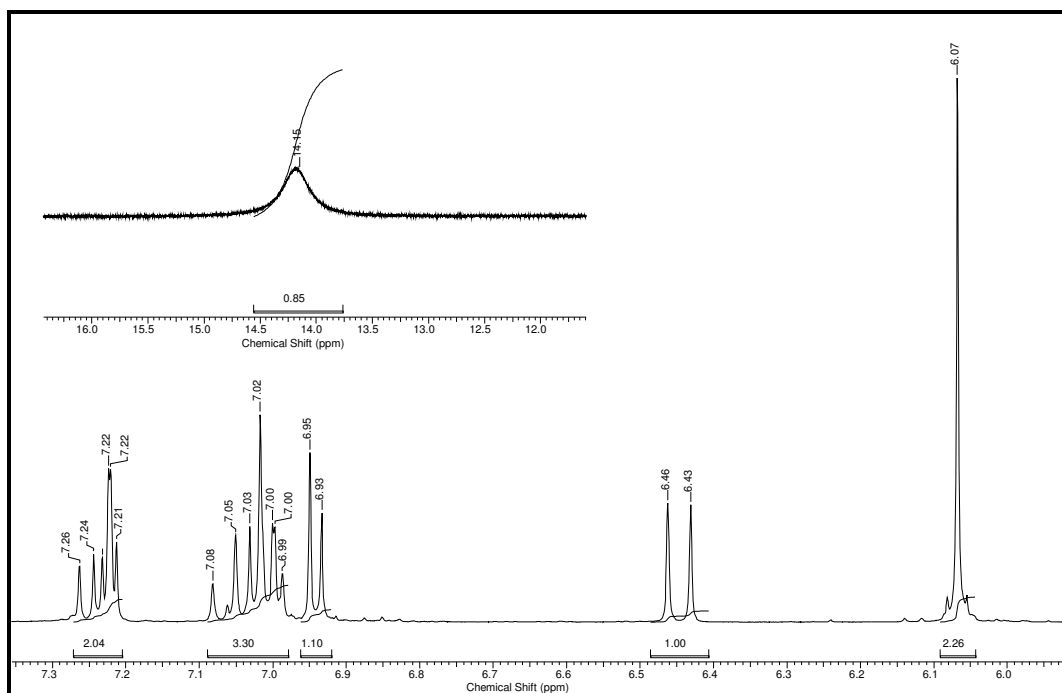
$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 850$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  Vizinhos)



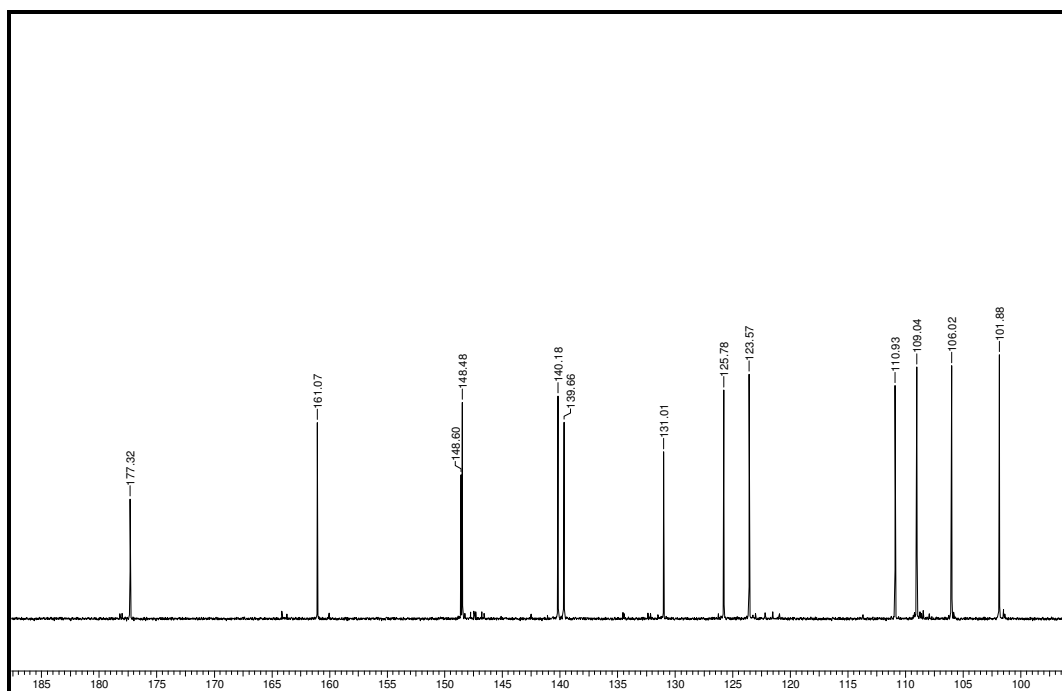
**Espectro 45.** Espectro de IV do heterociclo 89.



**Espectro 46.** Espectro de massas do heterociclo 89.



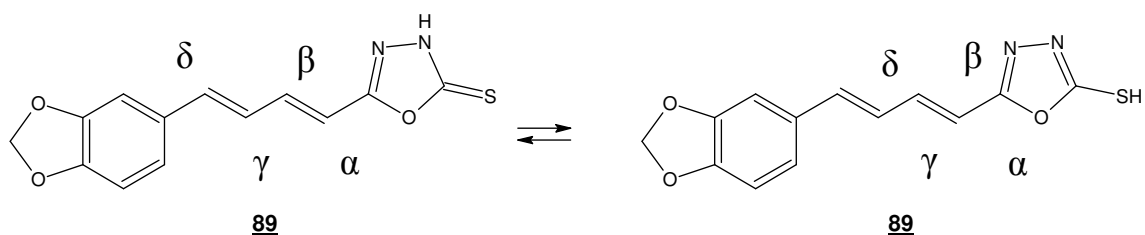
**Espectro 47.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do heterociclo **89**.



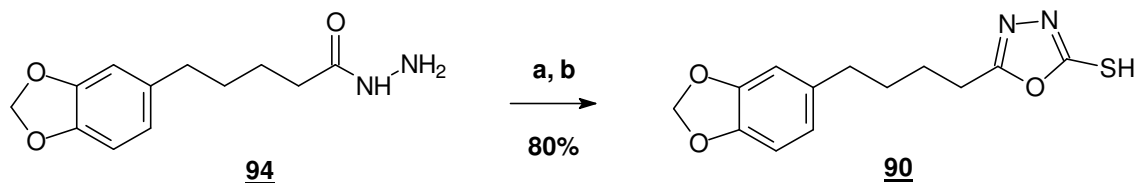
**Espectro 48.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do heterociclo **89**.

**Tabela 24.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o heterociclo **89**.

Posições	Heterociclo <b>89</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH/SH	14,15 (sl, 1H)	-
C=S	-	177,32
C=N	-	161,07
1	-	131,01
2	7,22 (sl; 1H)	106,02
3	-	148,48
4	-	148,6
5	6,94 (d; 8,2; 1H)	109,04
6	7,03 (m; 1H)	110,93
$\alpha$	6,44 (d; 15; 1H)	123,57
$\beta$	7,23 (dd; 15 e 9,6; 1H)	140,18
$\gamma$	7,00 (m; 1H)	139,66
$\delta$	7,05 (m; 1H)	125,78
OCH <sub>2</sub> O	6,07 (sl; 2H)	101,88



**6.11.2- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-  
BUTANÓICO-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO  
TETRAIDROPIPERÍNICO 90)**



**Reagentes:** a) KOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CS<sub>2</sub>; b) HCl (conc.) até pH 3,0.

O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido amorfo branco com 80% de rendimento.

PF: 66-68 °C.

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>)**

$\nu_{N-H}$  = 3500-3100 (vibrações do heterociclo)

$\nu_{C-H}$  (Csp<sup>3</sup>) = 2950 (vibrações da cadeia saturada e metilenodióxi)

$\nu_{C=N}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1618 (vibrações do heterociclo)

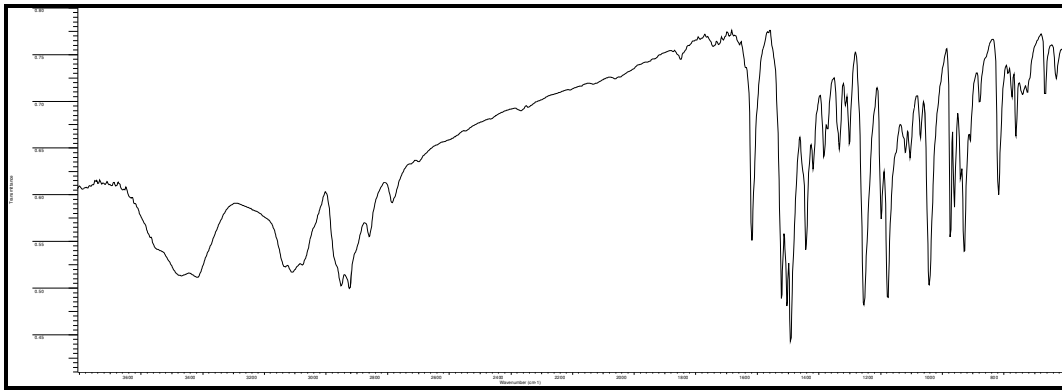
$\nu_{C=C}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1522 (vibrações do anel aromático)

$\nu_{C-N}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1491 (vibrações do heterociclo)

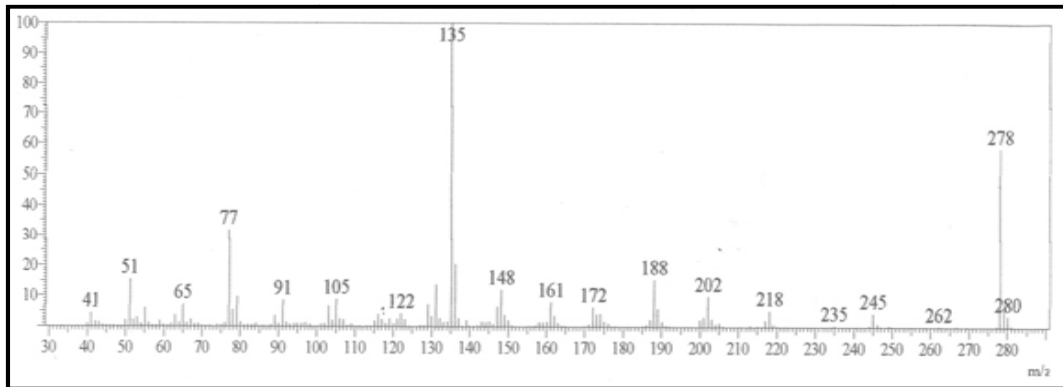
$\nu_{C-O-C}$  = 1251 (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{C-H}$  (Csp<sup>2</sup>) = 928 (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> isolado)

$\sigma_{C-H}$  (Csp<sup>2</sup>) = 813 (dobramento de 2H<sub>arom.</sub> vizinhos)

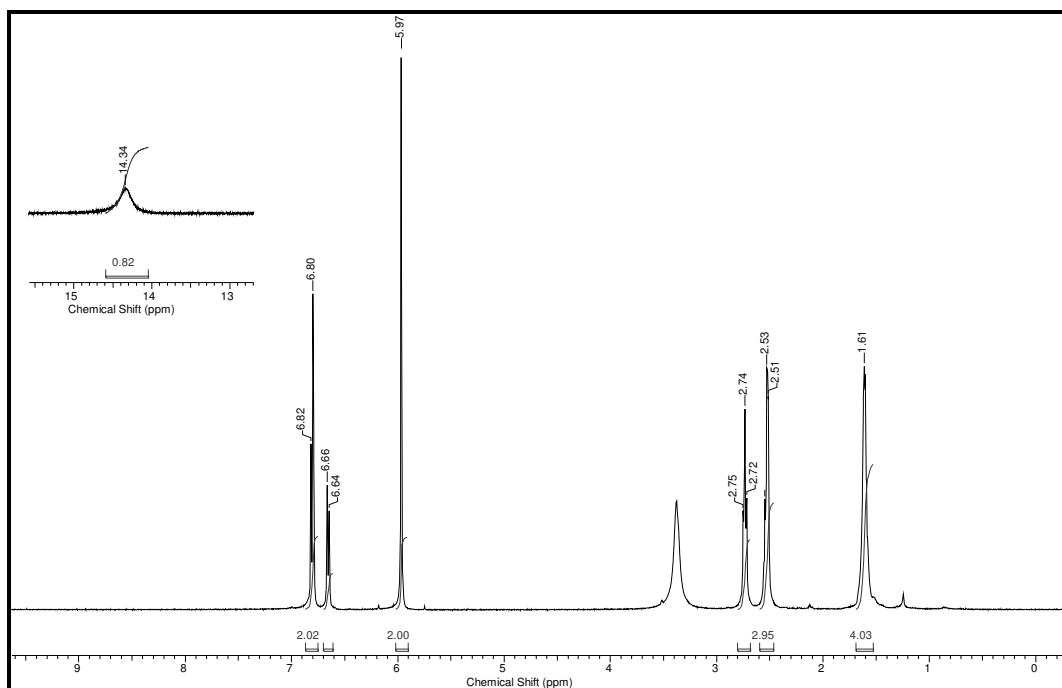


**Espectro 49.** Espectro de IV do heterociclo 90.

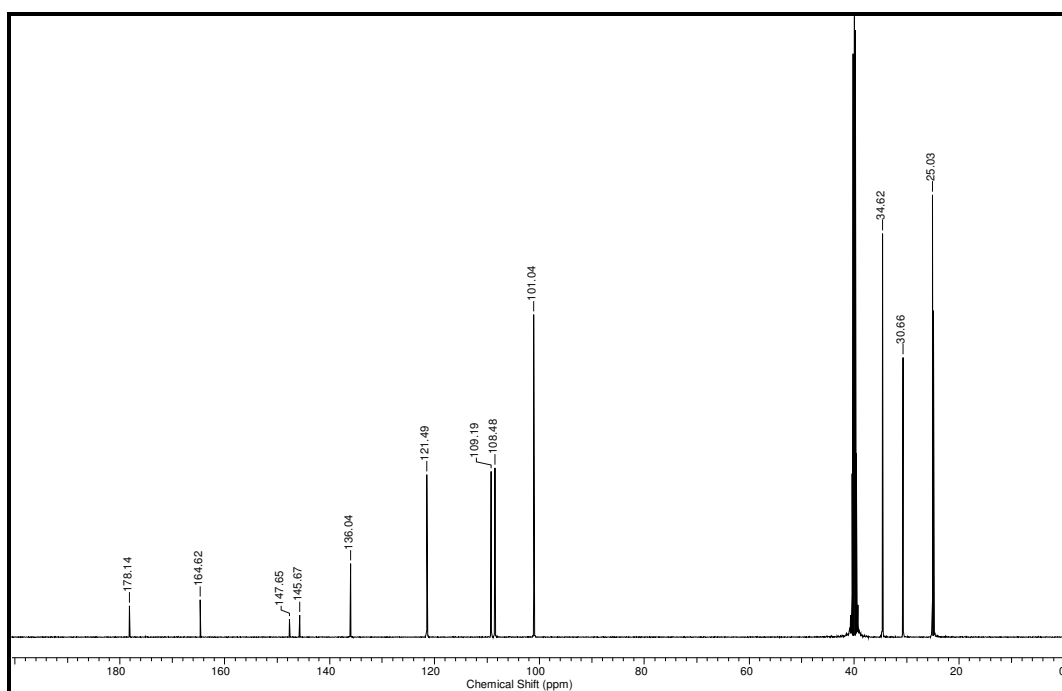


**Espectro 50.** Espectro de massas do heterociclo 90.





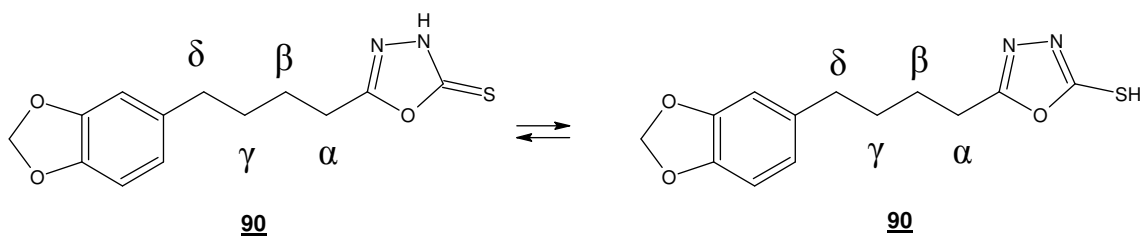
**Espectro 51.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do heterociclo 90.



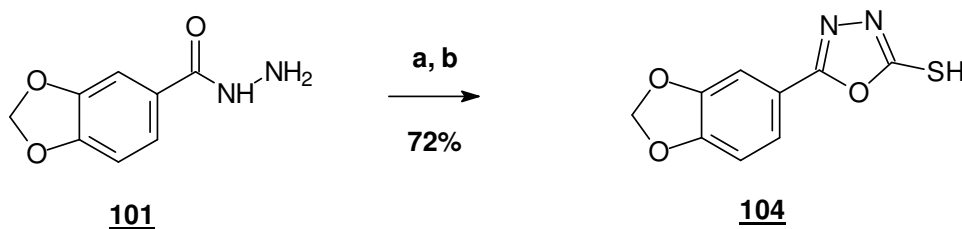
**Espectro 52.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) do heterociclo 90.

**Tabela 25.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o heterociclo **90**.

Posições	Heterociclo <b>90</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH/SH	14,34(sl; 1H)	-
C=S	-	178,14
C=N	-	164,62
1	-	136,04
2	6,80 (m; 1H)	108,48
3	-	145,67
4	-	147,64
5	6,82 (m; 1H)	109,19
6	6,65 (d; 7,8; 1H)	121,49
$\alpha$	2,74 (t; 6,8; 2H)	34,62
$\beta$	1,61 (m; 2H)	25,03
$\gamma$	1,61 (m; 2H)	24,87
$\delta$	2,53 (m; 2H)	30,66
OCH <sub>2</sub> O	5,97 (sl; 2H)	101,04



### 6.11.3- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO PIPERONÍLICO 104)



**Reagentes:** a) KOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CS<sub>2</sub>; b) HCl (conc.) até pH 3,0.

O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em metanol formando um sólido amorfo branco com 72% de rendimento.

PF: 215-217°C.

#### **Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>)**

$\nu_{\text{N-H}} = 3600-3100$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2963$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1609$  (vibrações do heterociclo)

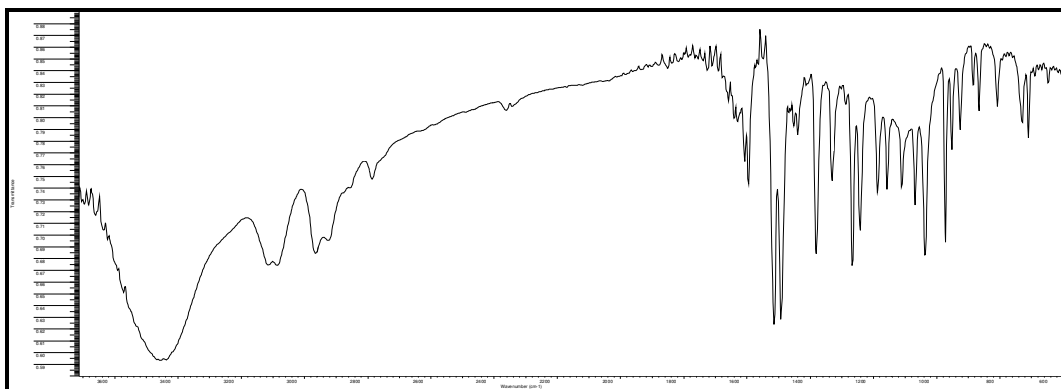
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1516$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1490$  (vibrações do heterociclo)

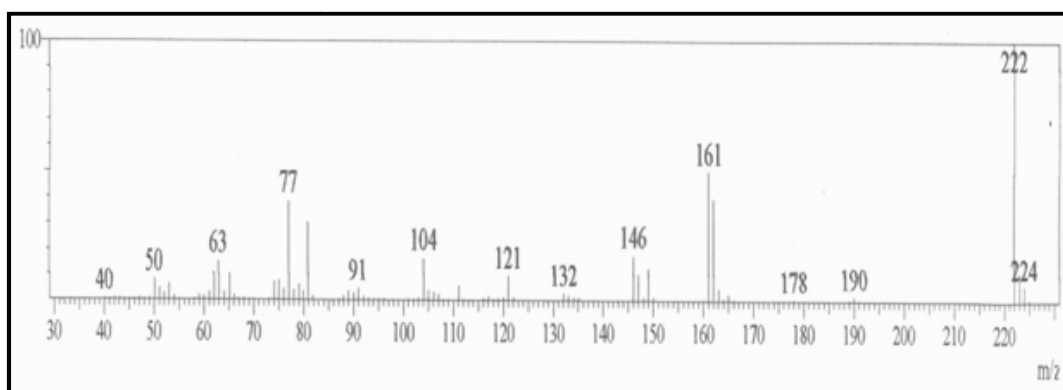
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1264$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 951$  (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> isolado)

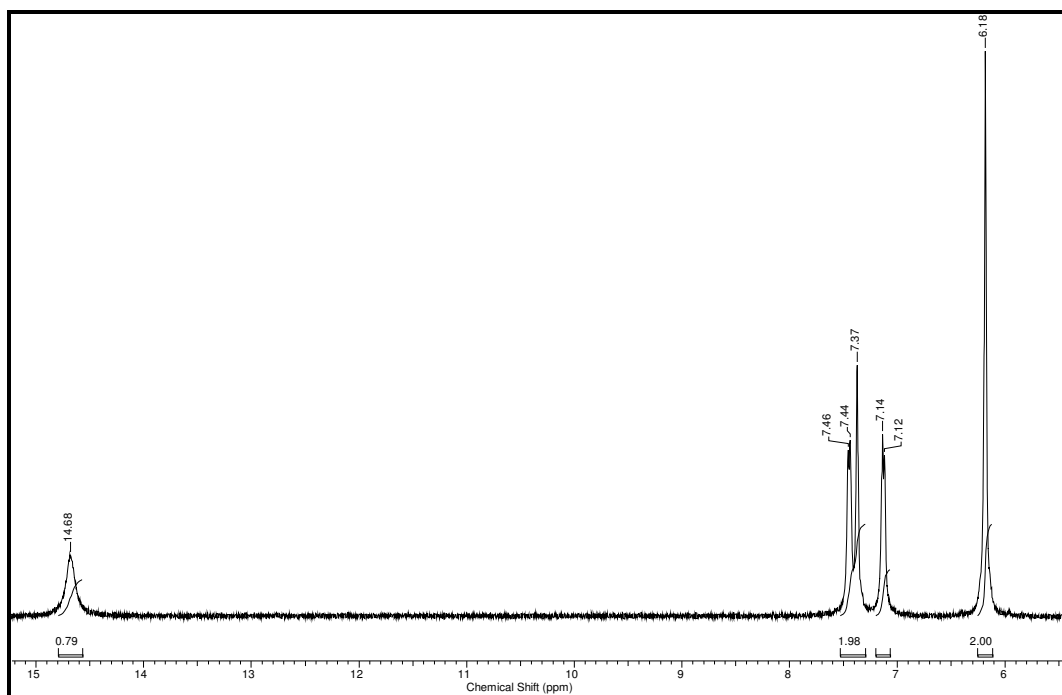
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 805$  (dobramento de 2H<sub>arom.</sub> vizinhos)



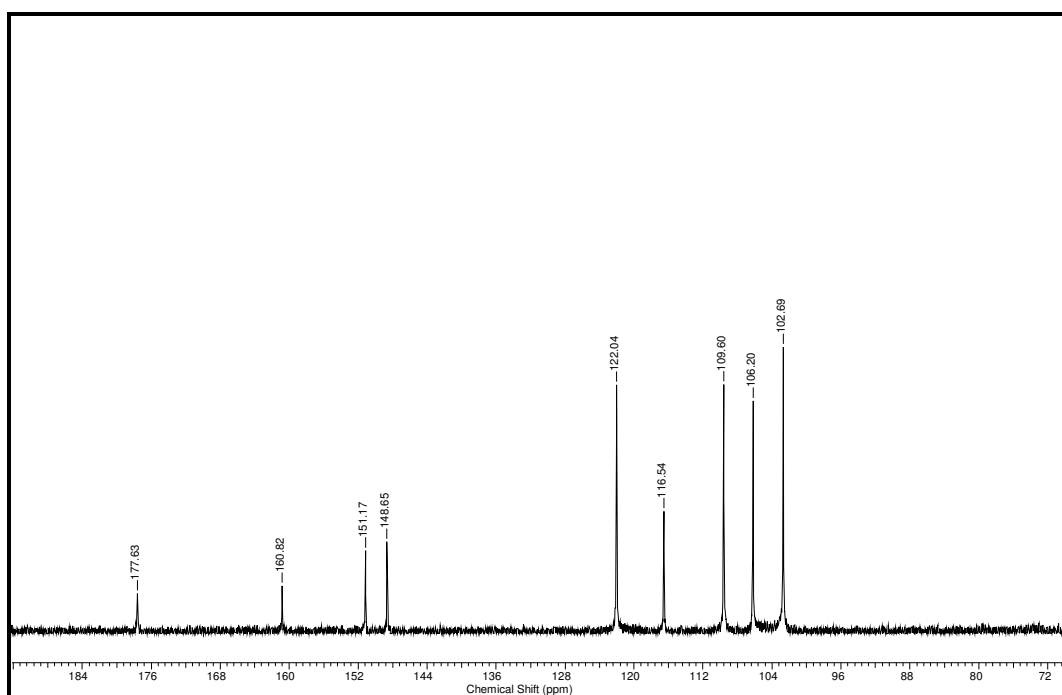
**Espectro 53.** Espectro de IV do heterociclo **104**.



**Espectro 54.** Espectro de massas do heterociclo **104**.



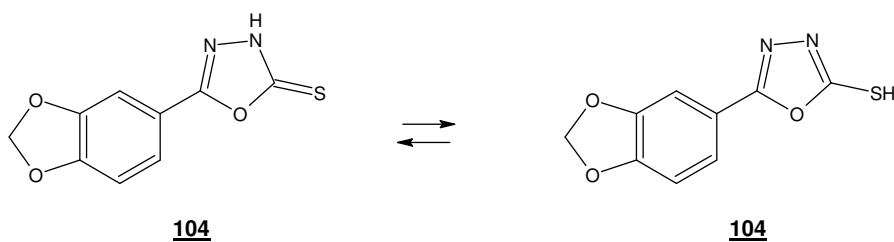
**Espectro 55.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-*d*6) do heterociclo **104**.



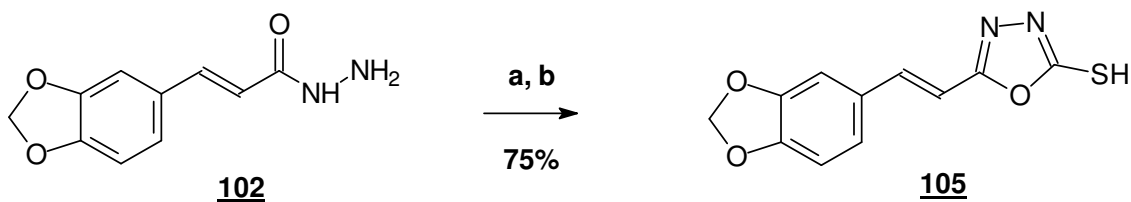
**Espectro 56.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO-*d*6) do heterociclo **104**.

**Tabela 26.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o heterociclo **104**.

Posição	Heterociclo <b>104</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH/SH	14,68 (sl; 1H)	-
C=S	-	177,6
C=N	-	160,8
1	-	116,5
2	7,37 (s; 1H)	106,2
3	-	148,6
4	-	151,1
5	7,13 (d; 7,5; 1H)	109,6
6	7,44 (d; 7,3; 1H)	122,1
OCH <sub>2</sub> O	6,18 (sl; 2H)	102,7



**6.11.4- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[2-(3,4-METILENODIÓXIFENIL)-  
(E)ETENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO CINÂMICO 105)**



**Reagentes:** a) KOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CS<sub>2</sub>; b) HCl (conc.) até pH 3,0.

O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em etanol formando um sólido amorfo branco com 75% de rendimento.

PF: 208-210°C.

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>)**

$\nu_{\text{N-H}} = 3500-3100$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2915$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1616$  (vibrações do heterociclo)

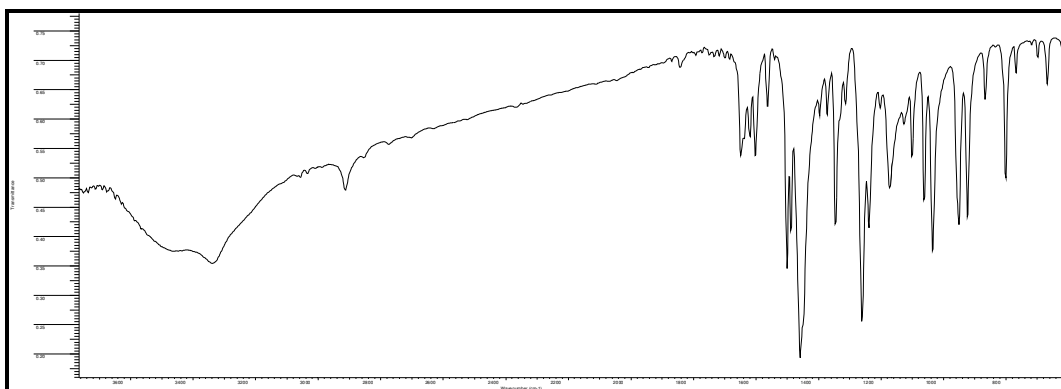
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1500$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1457$  (vibrações do heterociclo)

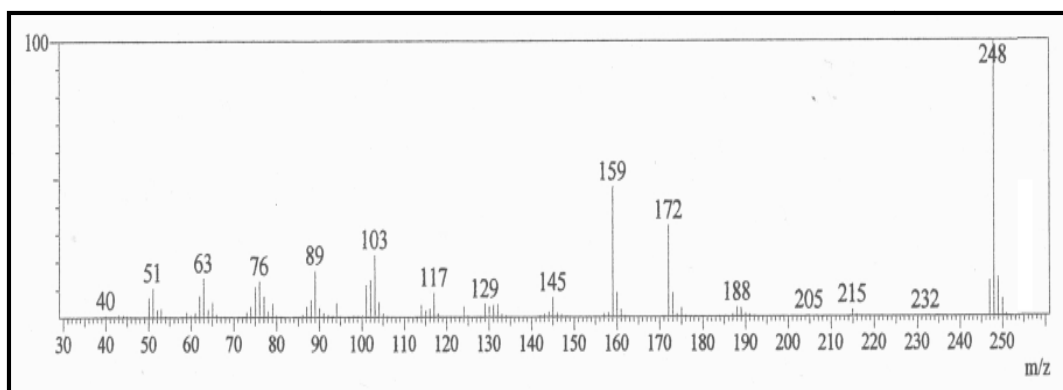
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1259$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 922$  (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 803$  (dobramento de 2H<sub>arom.</sub> vizinhos)

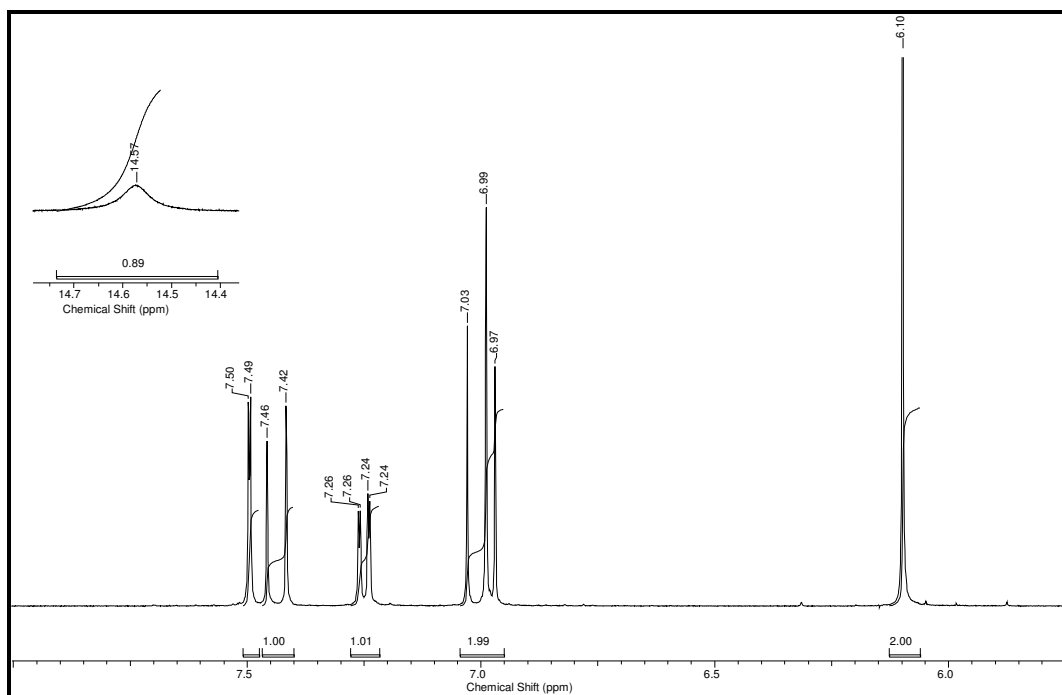


**Espectro 57.** Espectro de IV do heterociclo **105**.

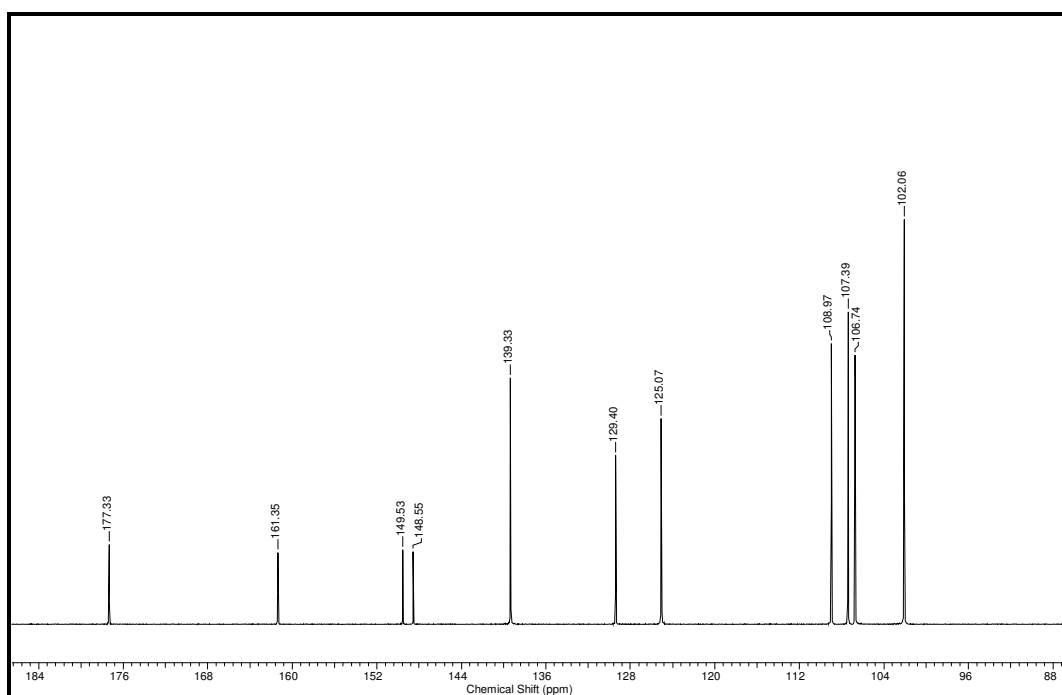


**Espectro 58.** Espectro de massas do heterociclo **105**.





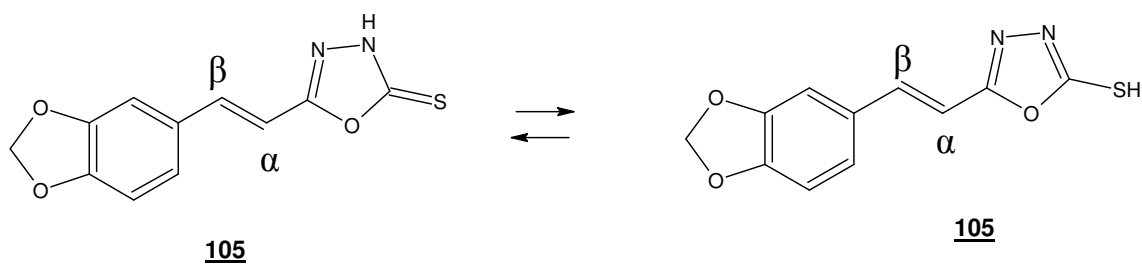
**Espectro 59.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do heterociclo **105**.



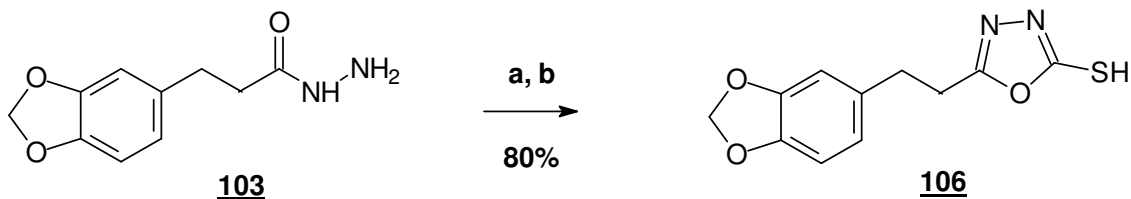
**Espectro 60.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do heterociclo **105**.

**Tabela 27.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o heterociclo **105**.

Posição	Heterociclo <b>105</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH/SH	14,57 (sl; 1H)	-
C=S	-	177,33
C=N	-	161,35
<b>1</b>	-	129,40
<b>2</b>	7,49 (d; 1,7; 1H)	106,74
<b>3</b>	-	148,55
<b>4</b>	-	149,53
<b>5</b>	6,98 (d; 7,8; 1H)	107,39
<b>6</b>	7,25 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	108,97
$\alpha$	7,01 (d; 16; 1H)	125,07
$\beta$	7,43 (d; 16; 1H)	139,33
OCH <sub>2</sub> O	6,10 (sl; 2H)	102,06



**6.11.5- PREPARAÇÃO DO DERIVADO 5-[2-(3,4-METILENODIÓXIFENIL)-ETANÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (DERIVADO DIIDROCINÂMICO 106)**



**Reagentes:** a) KOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH e CS<sub>2</sub>; b) HCl (conc.) até pH 3,0.

O produto obtido foi seco ao ar e recristalizado em etanol formando um sólido amorfo branco com 80% de rendimento.

PF: 96-98°C.

**Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>)**

$\nu_{\text{N-H}} = 3600-3100$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2915$  (vibrações da cadeia saturada e metilenodióxi)

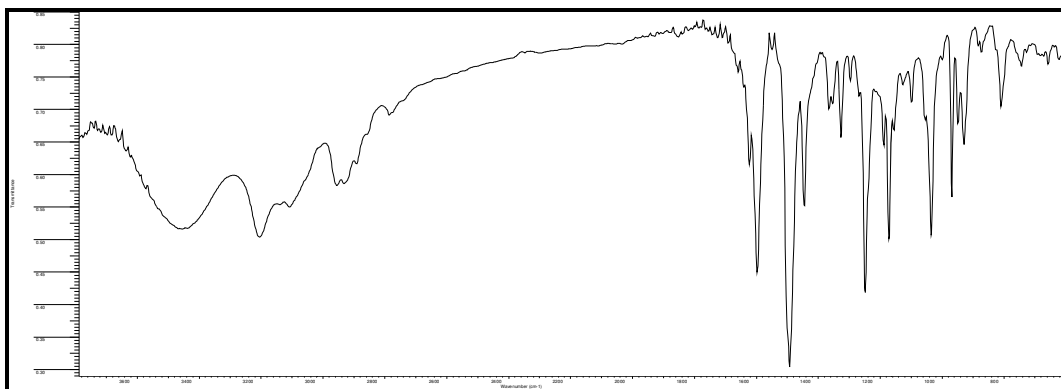
$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1598$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1493$  (vibrações do heterociclo)

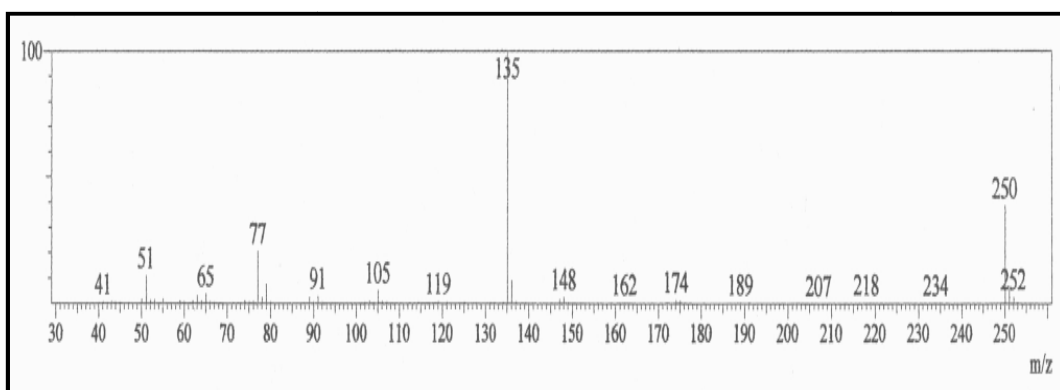
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1245$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 948$  (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> isolado)

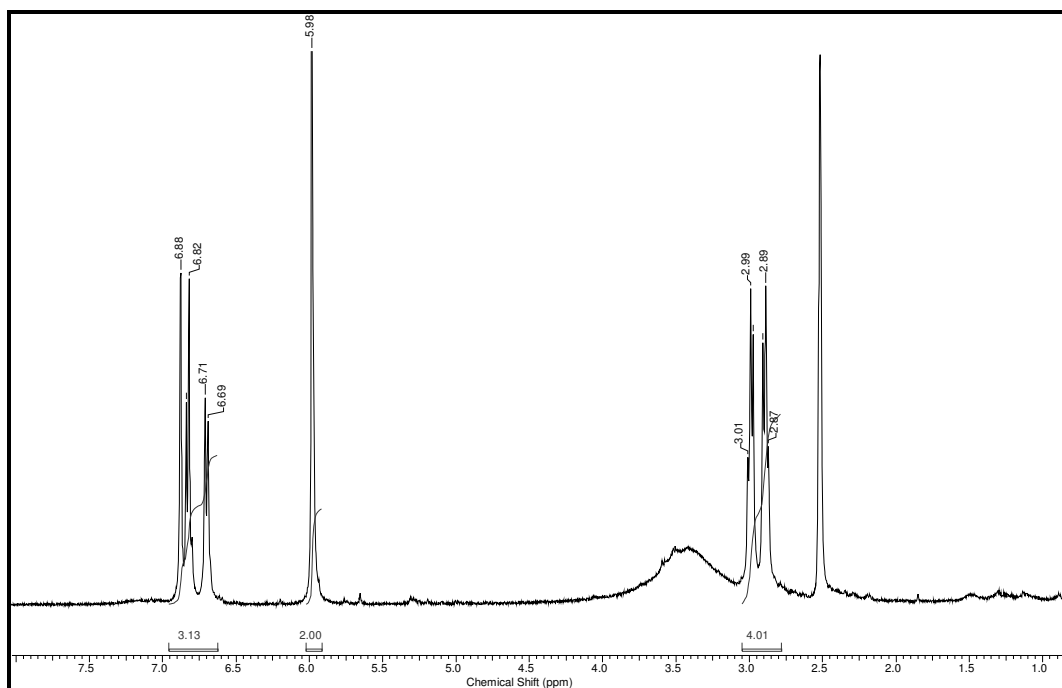
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 809$  (dobramento de 2H<sub>arom.</sub> vizinhos)



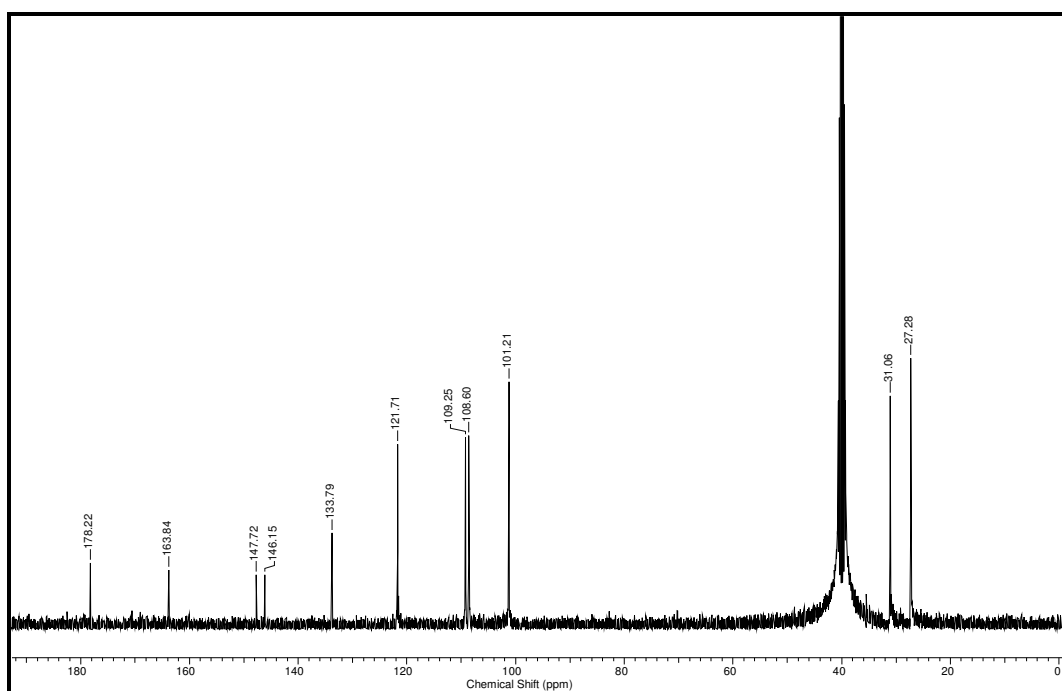
**Espectro 61.** Espectro de IV do heterociclo **106**.



**Espectro 62.** Espectro de massas do heterociclo **106**.



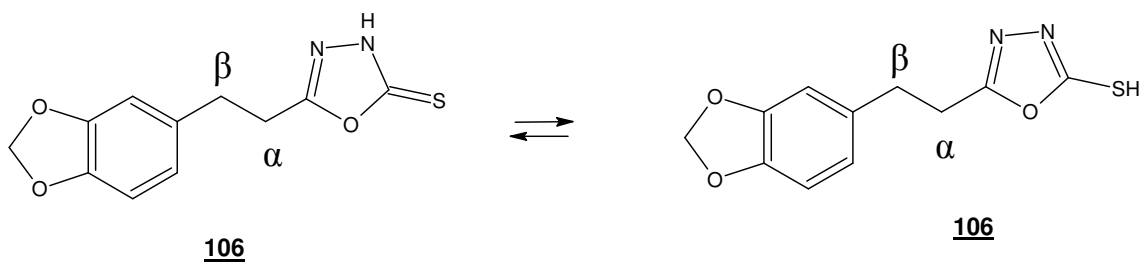
**Espectro 63.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do heterociclo **106**.



**Espectro 64.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) do heterociclo **106**.

**Tabela 28.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o heterociclo **106**.

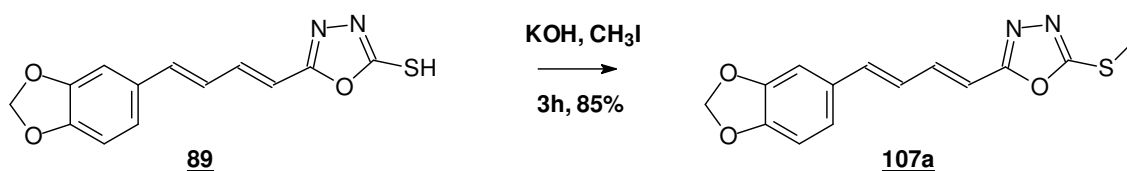
Posições	Heterociclo <b>106</b> (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
NH/SH	-	-
C=S	-	178,22
C=N	-	163,84
1	-	133,79
2	6,88 (sl; 1H)	108,6
3	-	146,16
4	-	147,72
5	6,71 (d; 6,7; 1H)	109,25
6	6,83 (d; 6,8; 1H)	121,71
$\alpha$	2,99 (t; 3; 2H)	31,06
$\beta$	2,89 (t 2,9; 2H)	27,28
OCH <sub>2</sub> O	5,98 (sl, 2H)	101,21



## 6.12- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, DE PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS S-ALQUILADOS (107a-j)

Em um balão de 10 mL de capacidade, equipado com condensador de refluxo e agitação magnética, foi preparada uma solução de 100 mg do intermediário 1,3,4-oxadiazol 89 em 5 mL de etanol, sobre a qual foram adicionados 33,6 mg de KOH dissolvidos em 2 mL de etanol. A mistura reacional foi mantida sobre refluxo por 20 minutos e, em seguida, foi adicionada a quantidade estequiométrica do respectivo haleto de alquila (iodeto de metila, brometo de etila, iodeto de isopropila, brometo de vinila, iodeto de butila, iodeto de hexila, brometo de ciclo-hexila, iodeto de dodecanila, brometo de fenila ou cloreto de *o*-cloro-benzila). O progresso da reação foi acompanhado por CCF (NAVEENA, 2010). Aproximadamente 3 horas de refluxo o solvente foi evaporado sob pressão reduzida e o sólido formado foi suspenso em uma solução aquosa (5% KOH) e extraído por três vezes com acetato de etila. O solvente orgânico foi evaporado em pressão reduzida, fornecendo o produto desejado em grau de pureza adequado.

### 6.12.1- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(*E*),3(*E*)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOMETILA (107a)



O produto obtido foi recristalizado em metanol na forma de um sólido amorfo amarelo mostarda com 85% de rendimento.

PF: 153-155 °C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{C-H (Csp}^3) = 2924$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu\text{C=N (Csp}^2) = 1597$  (vibrações do heterociclo)

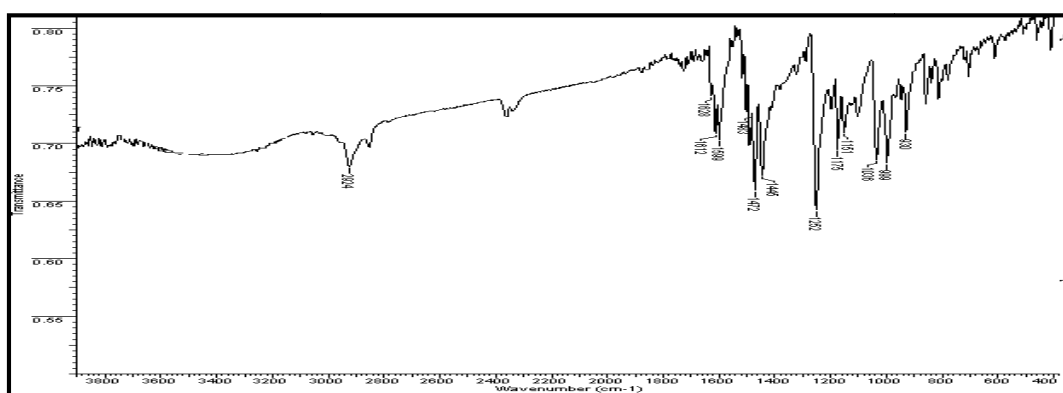
$\nu\text{C=C (Csp}^2) = 1472$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2) = 1445$  (vibrações do heterociclo)

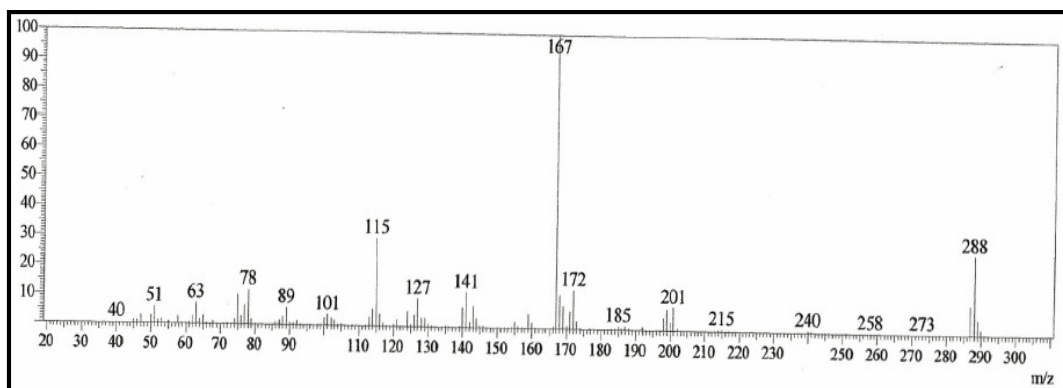
$\nu\text{C-O-C} = 1250$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 930$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2) = 825$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

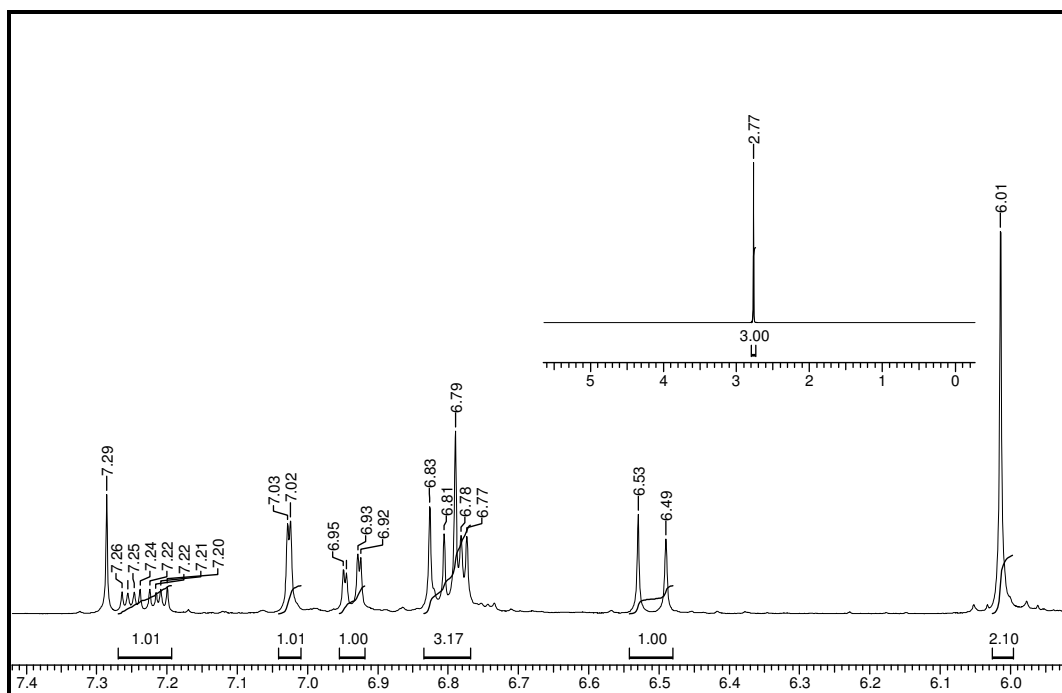


**Espectro 65.** Espectro de IV do derivado **107a**.

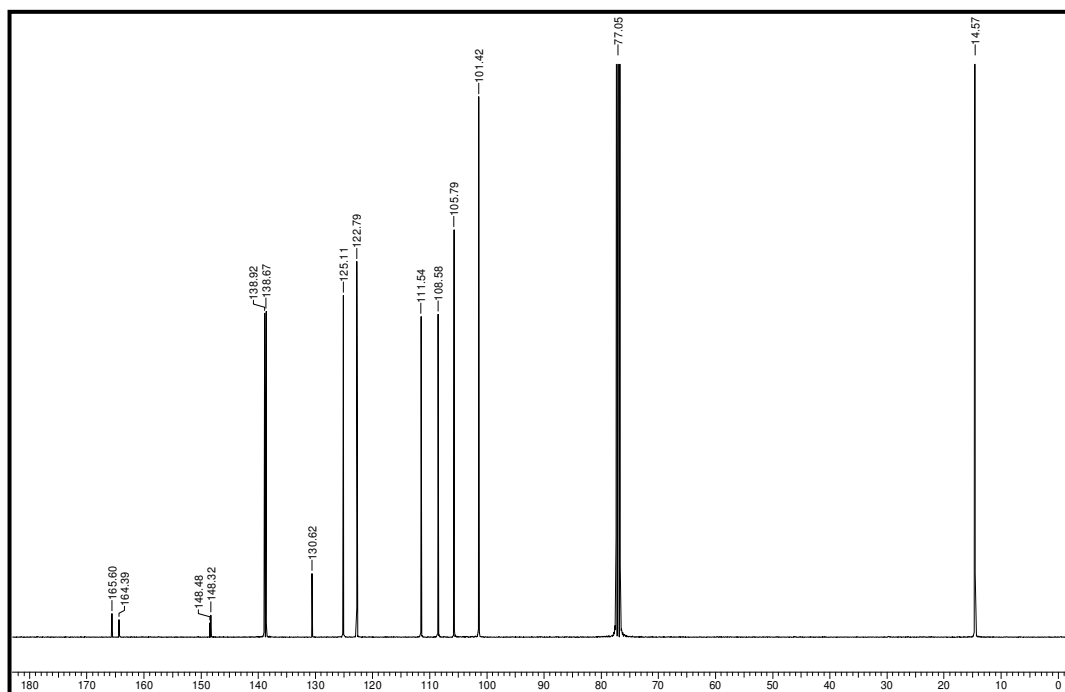


**Espectro 66.** Espectro de massas do derivado **107a**.





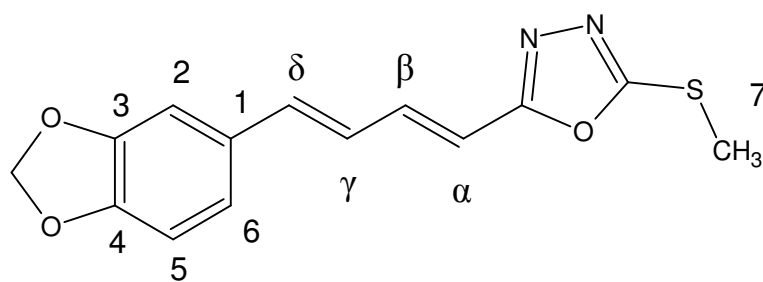
**Espectro 67.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107a**.



**Espectro 68.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107a**.

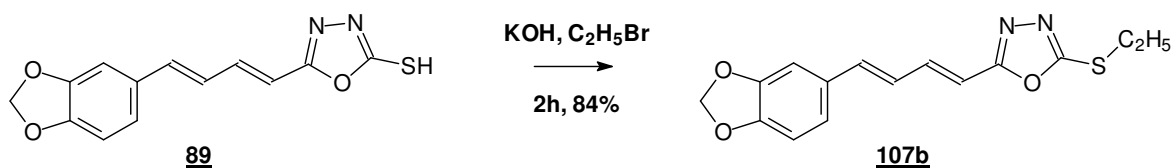
**Tabela 29.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107a**.

Posições	Derivado <b>107a</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,6
SC=N	-	164,39
<b>1</b>	-	130,62
<b>2</b>	6,79 (sl; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,32
<b>4</b>	-	148,48
<b>5</b>	7,03 (d; 1,5; 1H)	108,58
<b>6</b>	6,82 (m; 1H)	111,54
<b>7</b>	2,77 (sl; 3H)	14,57
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	122,79
$\beta$	7,23 (ddd; 15; 6,3 e 3,5; 1H)	138,92
$\gamma$	6,78 (d; 3,2; 1H)	138,67
$\delta$	6,94 (dd; 6,5 e 1,7; 1H)	125,11
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,42



**107a**

### 6.12.2- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOETILA (**107b**)



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amorfo castanho com 84% de rendimento.

PF: 110-112 °C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):

$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2922 (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1614 (vibrações do heterociclo)

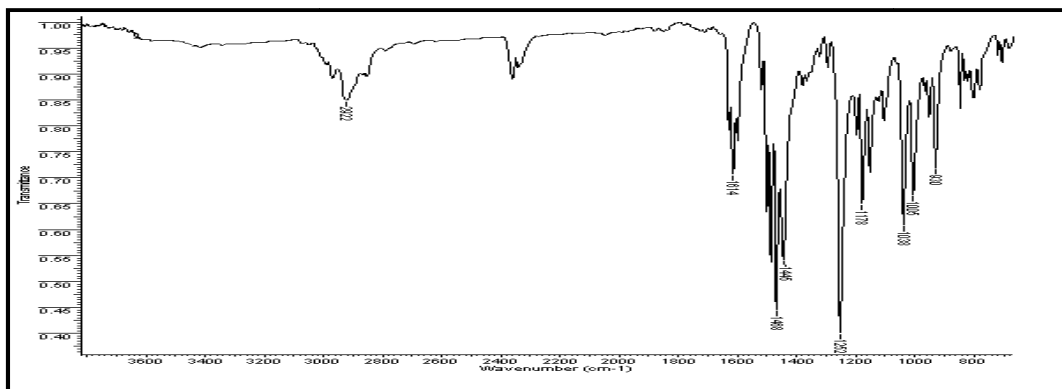
$\nu_{\text{C=C}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1487 (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1445 (vibrações do heterociclo)

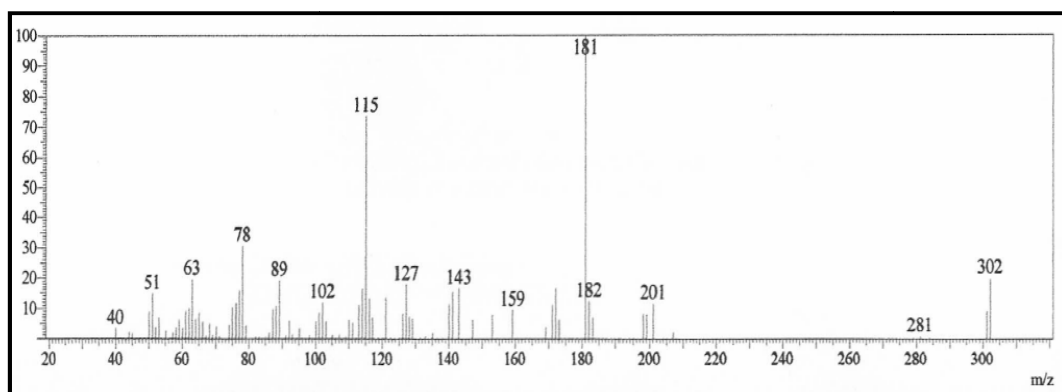
$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1244 (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 930 (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

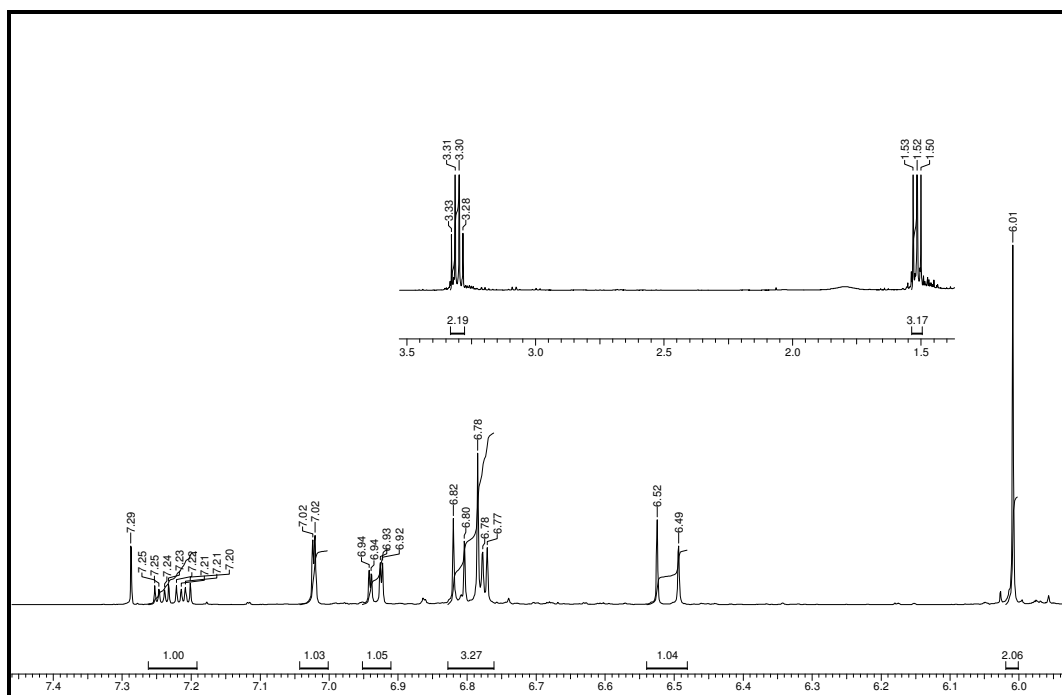
$\sigma_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 825 (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



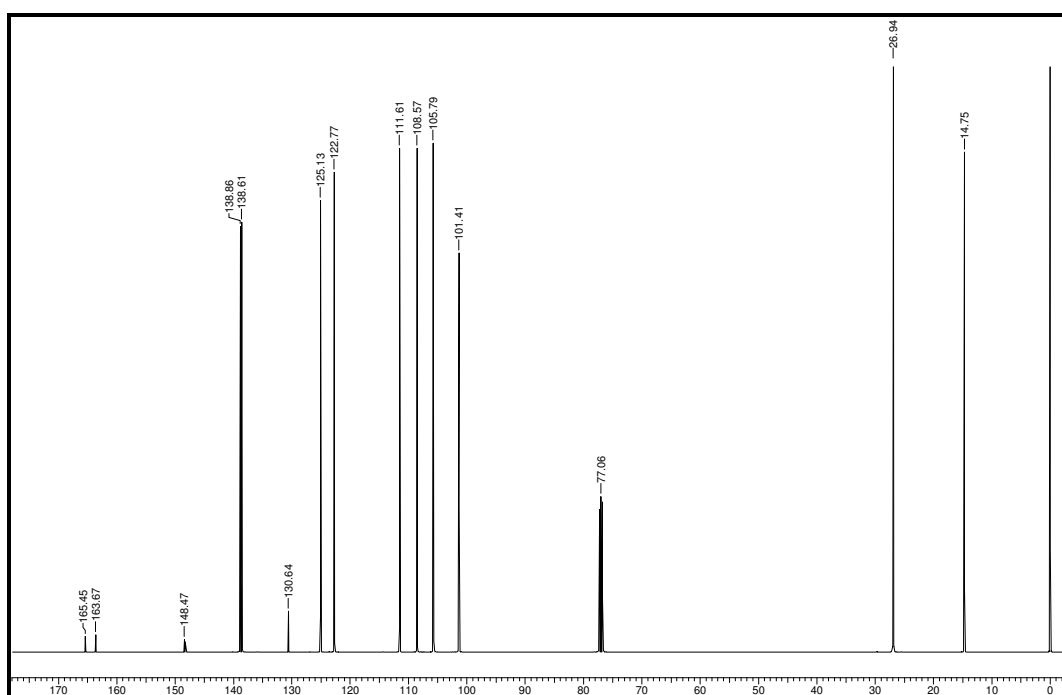
**Espectro 69.** Espectro de IV do derivado **107b**.



**Espectro 70.** Espectro de massas do derivado **107b**.



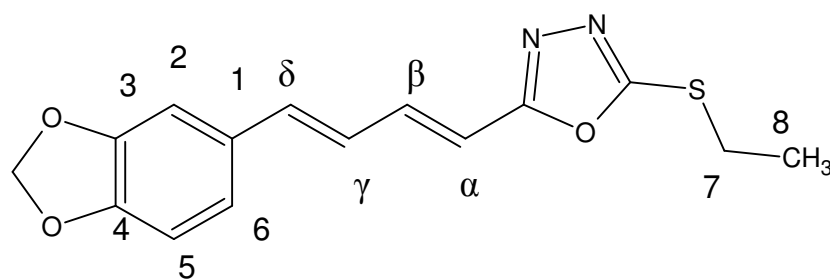
**Espectro 71.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107b**.



**Espectro 72.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107b**.

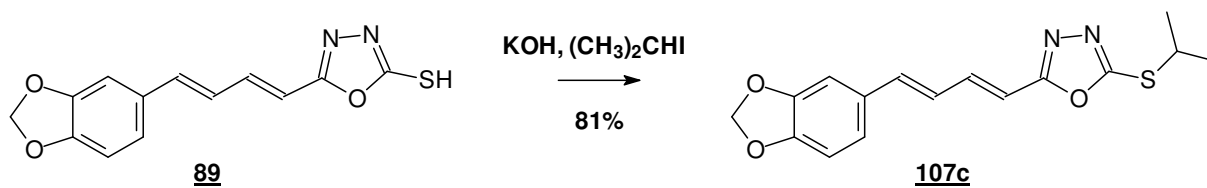
**Tabela 30.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107b**.

Posições	Derivado <b>107b</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,45
SC=N	-	163,67
<b>1</b>	-	130,64
<b>2</b>	7,02 (d; 1,6; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,33
<b>4</b>	-	148,47
<b>5</b>	6,81 (d; 7,8; 1H)	108,57
<b>6</b>	6,93 (dd; 8,2 e 1,6; 1H)	111,61
<b>7</b>	3,30 (q; 7,2; 2H)	26,94
<b>8</b>	1,52 (t; 7,2; 3H)	14,75
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	125,13
$\beta$	7,23 (ddd; 15; 6,6 e 3,5; 1H)	138,86
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	138,61
$\delta$	6,78 (m; 1H)	122,77
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,41



**107b**

### 6.12.3- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOISOPROPILA (**107c**)



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amorfo castanho com 81% de rendimento.

PF: 90-92 °C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):

$\nu\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 3049$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-H (Csp}^3\text{)} = 2922$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu\text{C=N (Csp}^2\text{)} = 1597$  (vibrações do heterociclo)

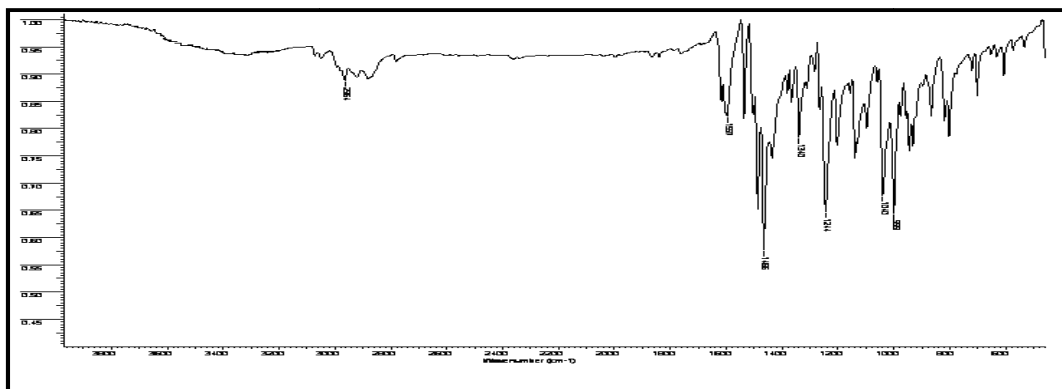
$\nu\text{C=C (Csp}^2\text{)} = 1489$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2\text{)} = 1466$  (vibrações do heterociclo)

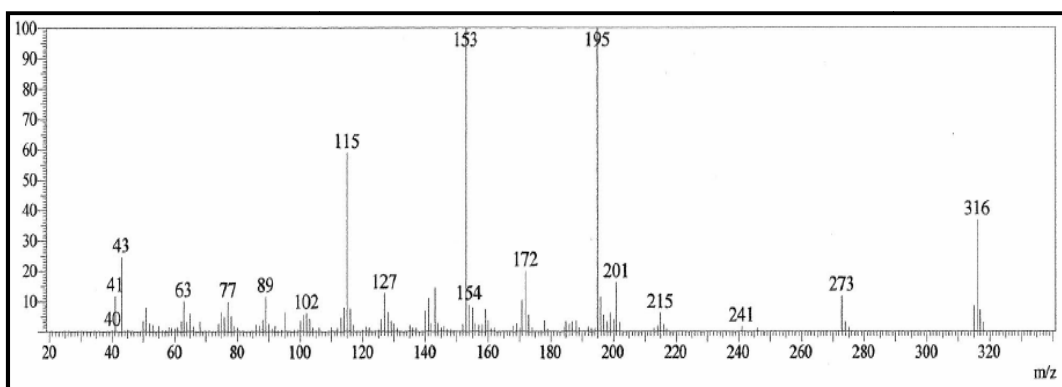
$\nu\text{C-O-C} = 1244$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 925$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 832$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

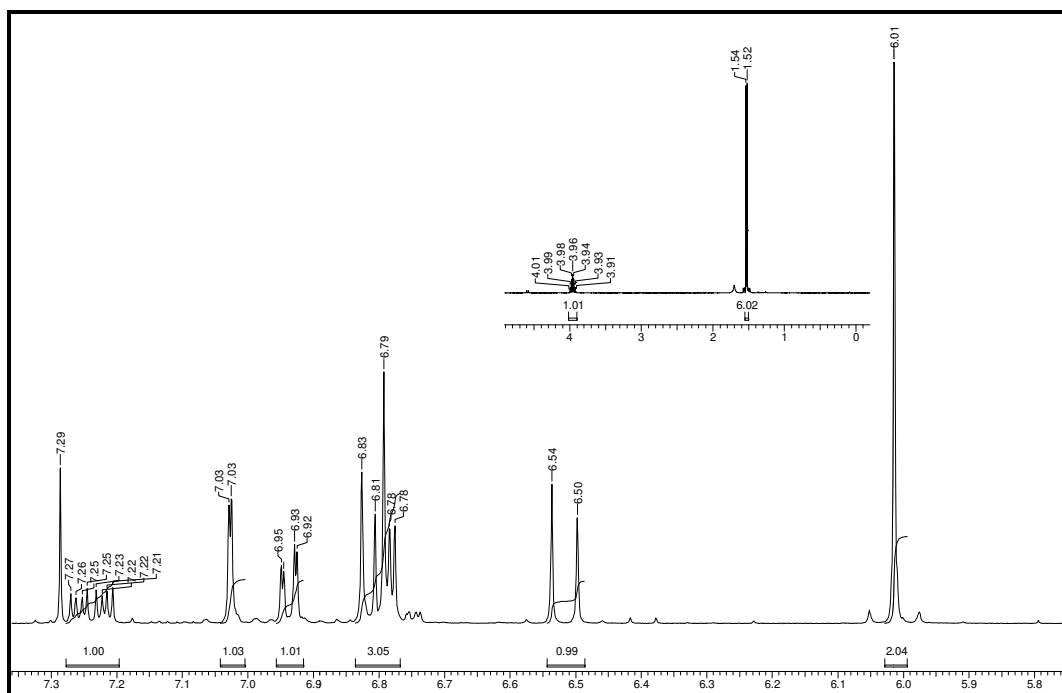


**Espectro 73.** Espectro de IV do derivado **107c**.

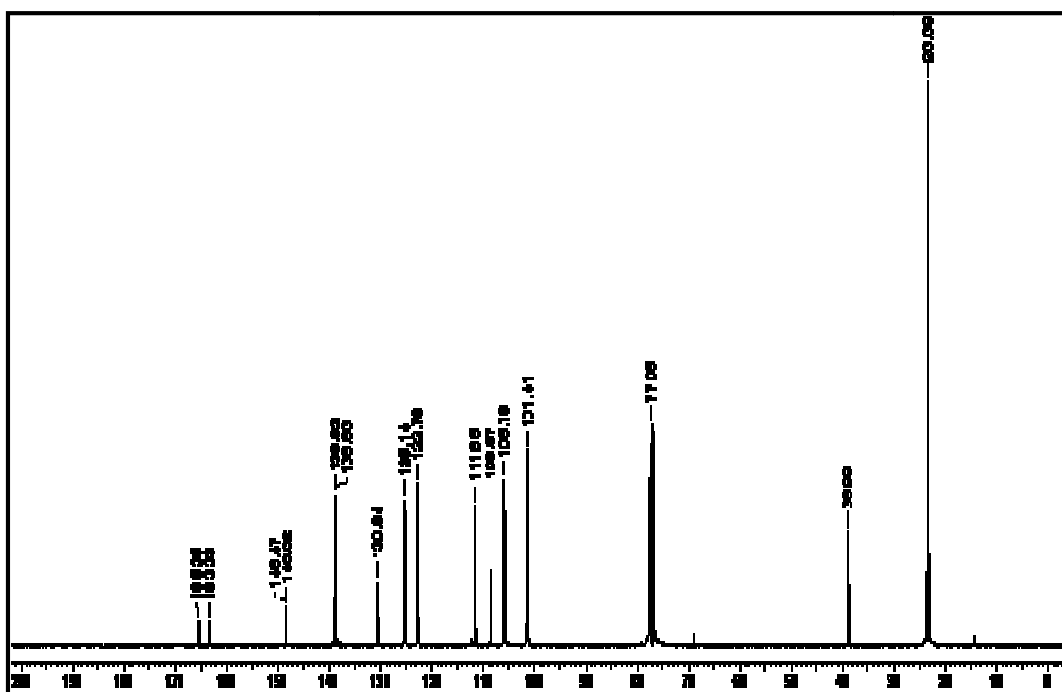


**Espectro 74.** Espectro de massas do derivado **107c**.





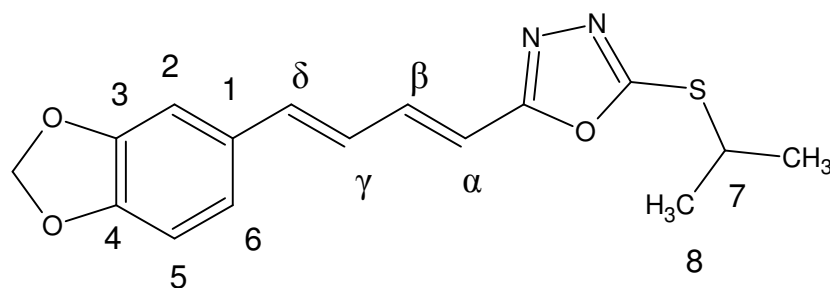
**Espectro 75.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107c**.



**Espectro 76.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107c**.

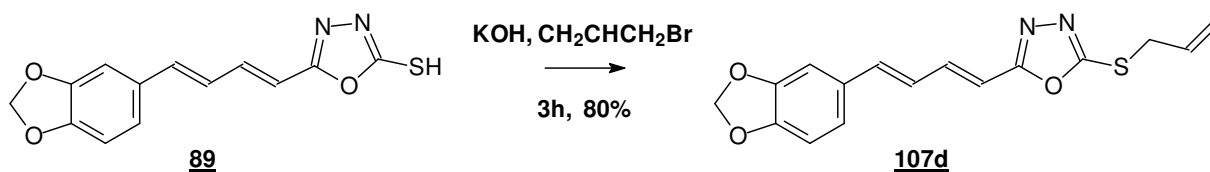
**Tabela 31.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107c**.

Posições	Derivado <b>107c</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,35
SC=N	-	163,33
<b>1</b>	-	130,64
<b>2</b>	6,79 (sl; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,32
<b>4</b>	-	148,47
<b>5</b>	7,03 (d; 1,5; 1H)	108,57
<b>6</b>	6,82 (d; 8,0; 1H)	111,65
<b>7</b>	3,96 (m; 1H)	38,99
<b>8</b>	1,53 (d; 6,7; 6H)	23,39
$\alpha$	6,52 (d; 15; 1H)	122,78
$\beta$	7,24 (ddd; 15; 6,5 e 3,7; 1H)	138,92
$\gamma$	6,78 (d; 3,5; 1H)	138,63
$\delta$	6,94 (dd; 8,0 e 1,5; 1H)	125,14
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,41



**107c**

#### 6.12.4- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOVINILA (**107d**)



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amorfo amarelo mostarda com 80% de rendimento.

PF: 84-86 °C.

#### Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>):

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3026$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2918$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1614$  (vibrações do heterociclo)

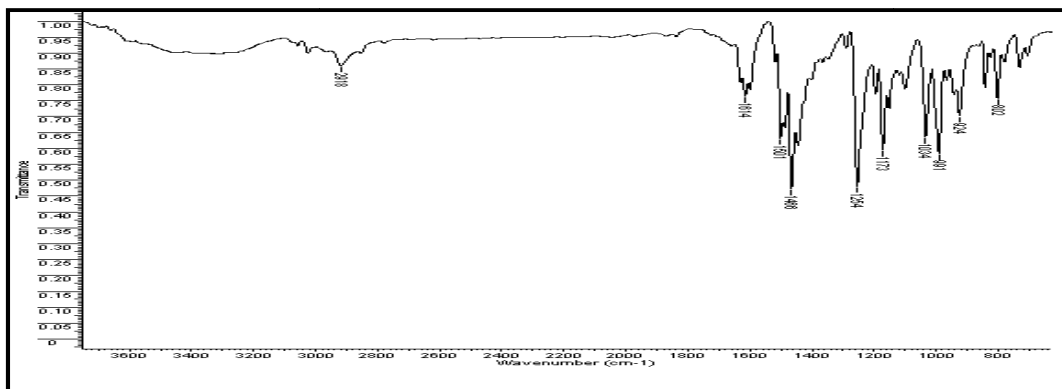
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1501$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1466$  (vibrações do heterociclo)

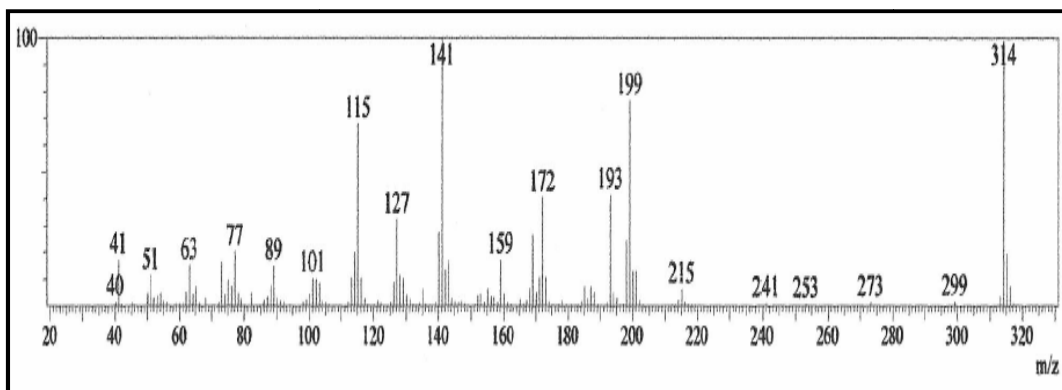
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1256$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 931$  (dobramento de 1H<sub>arom.</sub> isolado)

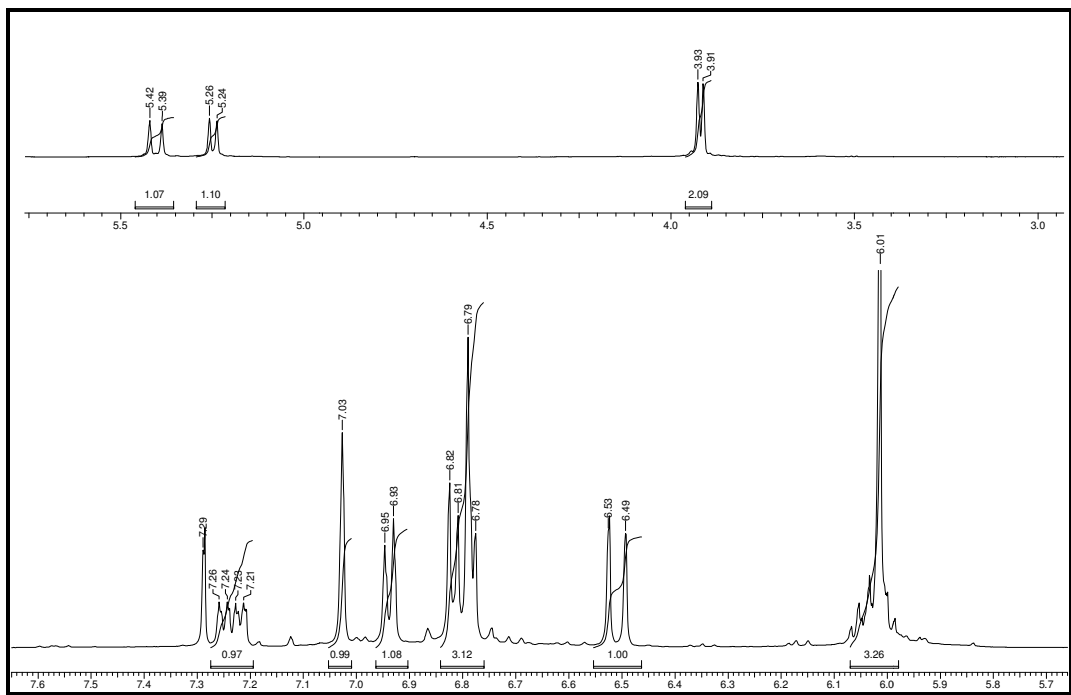
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 823$  (dobramento de 2H<sub>arom.</sub> vizinhos)



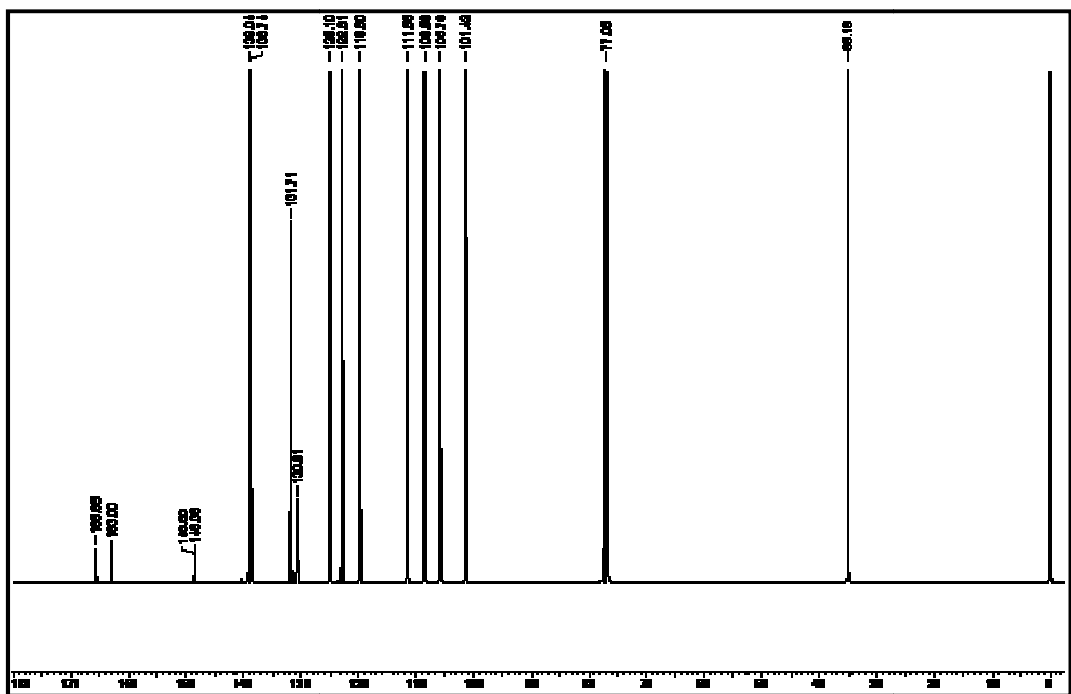
**Espectro 77.** Espectro de IV do derivado **107d**.



**Espectro 78.** Espectro de massas do derivado **107d**.



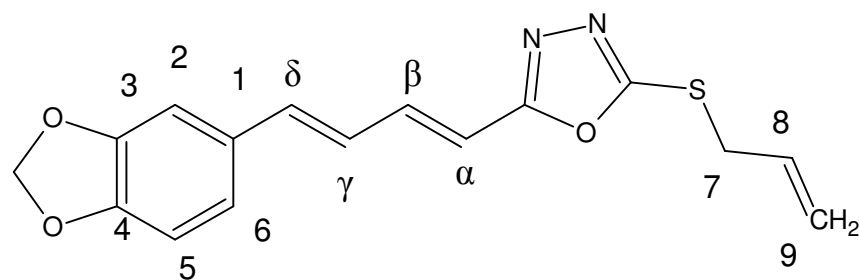
**Espectro 79.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107d**.



**Espectro 80.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107d**.

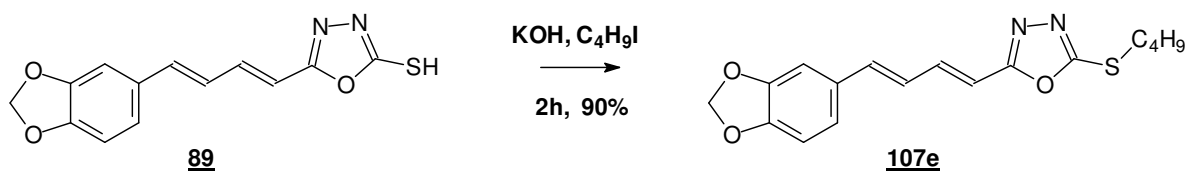
**Tabela 32.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107d**.

Posições	Derivado <b>107d</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,65
SC=N	-	163
1	-	130,61
2	6,79 (sl; 1H)	105,79
3	-	148,33
4	-	148,5
5	7,03 (sl; 1H)	108,58
6	6,82 (d; 7,8; 1H)	111,55
7	3,92 (d; 6,9; 2H)	35,18
8	6,01 (m; 1H)	131,71
9	5,41 (d; 17; 1H) e 5,25 (d; 10; 1H)	119,8
$\alpha$	6,51 (d; 16; 1H)	125,1
$\beta$	7,24 (dd; 15 e 7,2; 1H)	139,04
$\gamma$	6,78 (d; 7,2; 1H)	138,74
$\delta$	6,94 (d; 7,8; 1H)	122,81
OCH <sub>2</sub> O	6,01 (sl; 2H)	101,42



**107d**

### 6.12.5- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOBUTILA (**107e**)



O produto obtido foi recristalizado em metanol na forma de um sólido amorfo bege com 90% de rendimento.

PF: 85-86 °C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2921$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

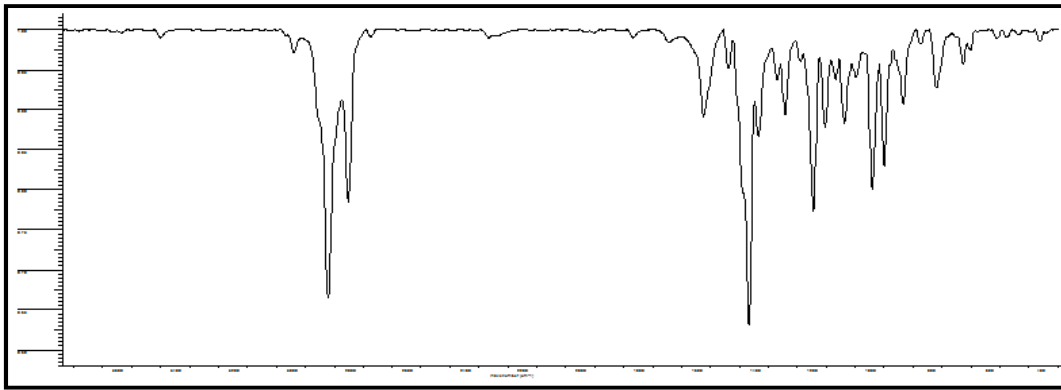
$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1623$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1464$  (vibrações do heterociclo)

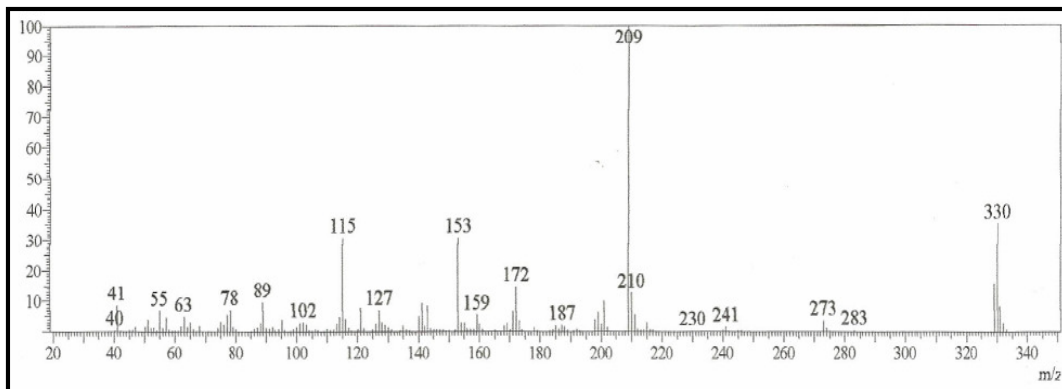
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1245$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 933$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 814$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

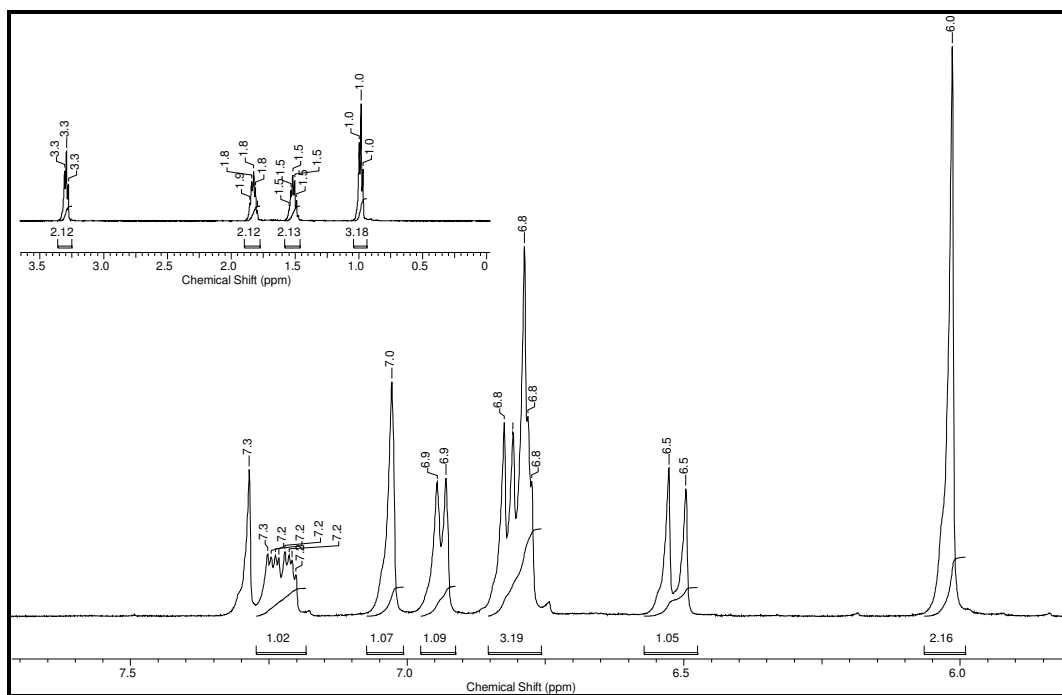


**Espectro 81.** Espectro de IV do derivado **107e**.

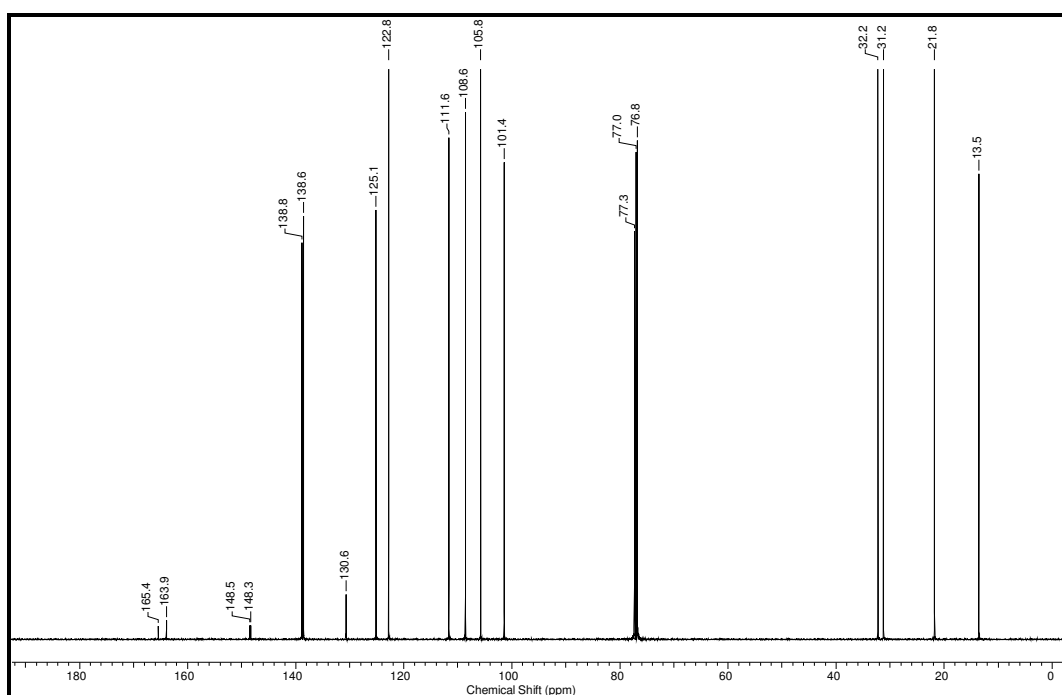


**Espectro 82.** Espectro de massas do derivado **107e**.





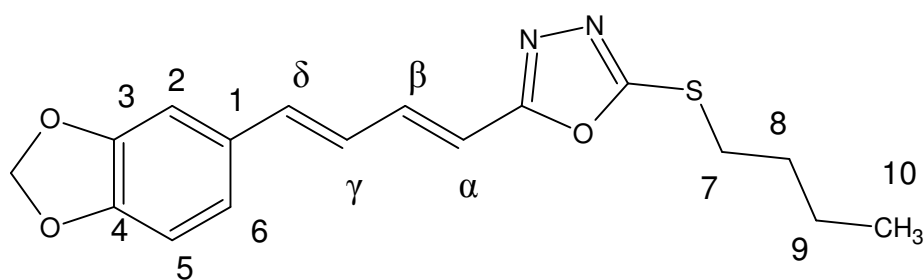
**Espectro 83.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107e**.



**Espectro 84.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107e**.

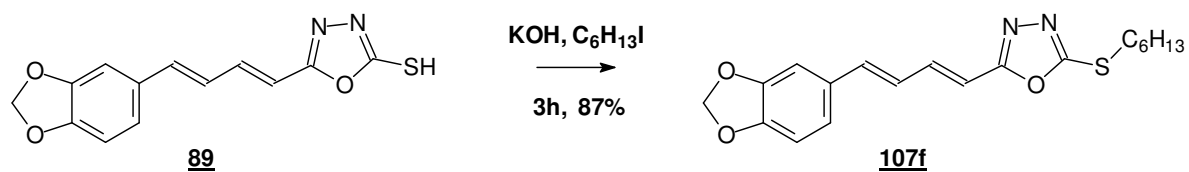
**Tabela 33.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107e**.

Posições	Derivado <b>107e</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,4
SC=N	-	163,9
<b>1</b>	-	130,6
<b>2</b>	7,02 (sl; 1H)	105,8
<b>3</b>	-	148,3
<b>4</b>	-	148,8
<b>5</b>	6,81 (d; 7,8; 1H)	108,6
<b>6</b>	6,93 (d; 7,8; 1H)	111,6
<b>7</b>	3,29 (t; 7,4; 2H)	32,2
<b>8</b>	1,82 (m; 2H)	31,2
<b>9</b>	1,51 (m; 2H)	21,8
<b>10</b>	0,98 (t; 7,4; 3H)	13,5
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	122,8
$\beta$	7,22 (m; 1H)	138,8
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	138,6
$\delta$	6,78 (m; 1H)	125,2
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,4



**107e**

**6.12.6- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOEXILA (107f)**



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amorfo bege com 87% de rendimento.

PF: 76-78 °C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2928$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

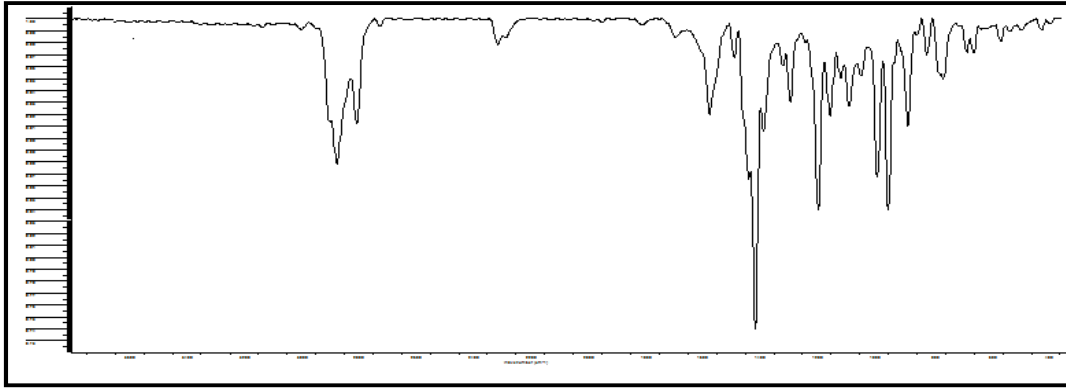
$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1623$  (vibrações do heterociclo)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1466$  (vibrações do heterociclo)

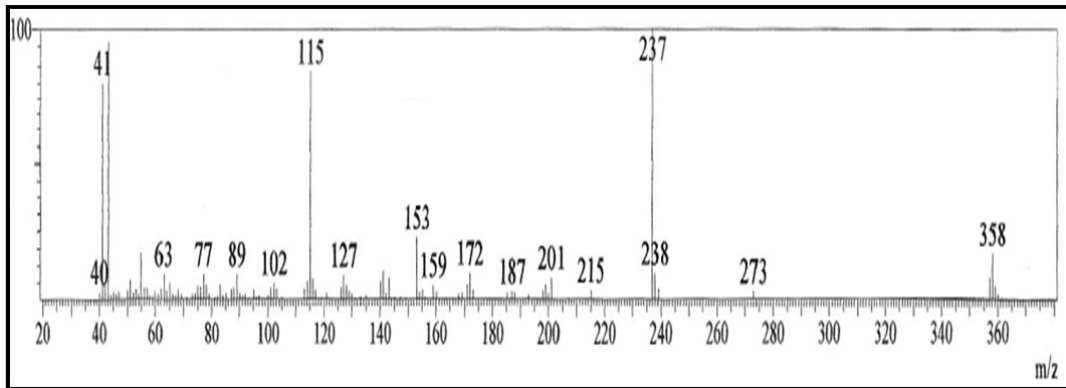
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1244$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 931$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

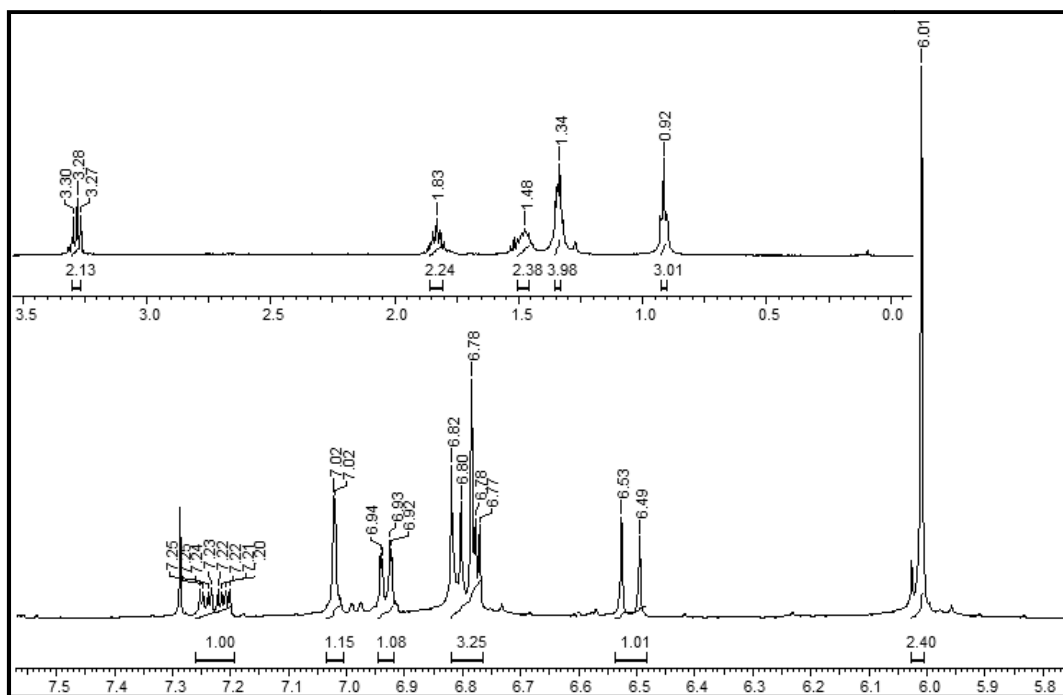
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 812$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



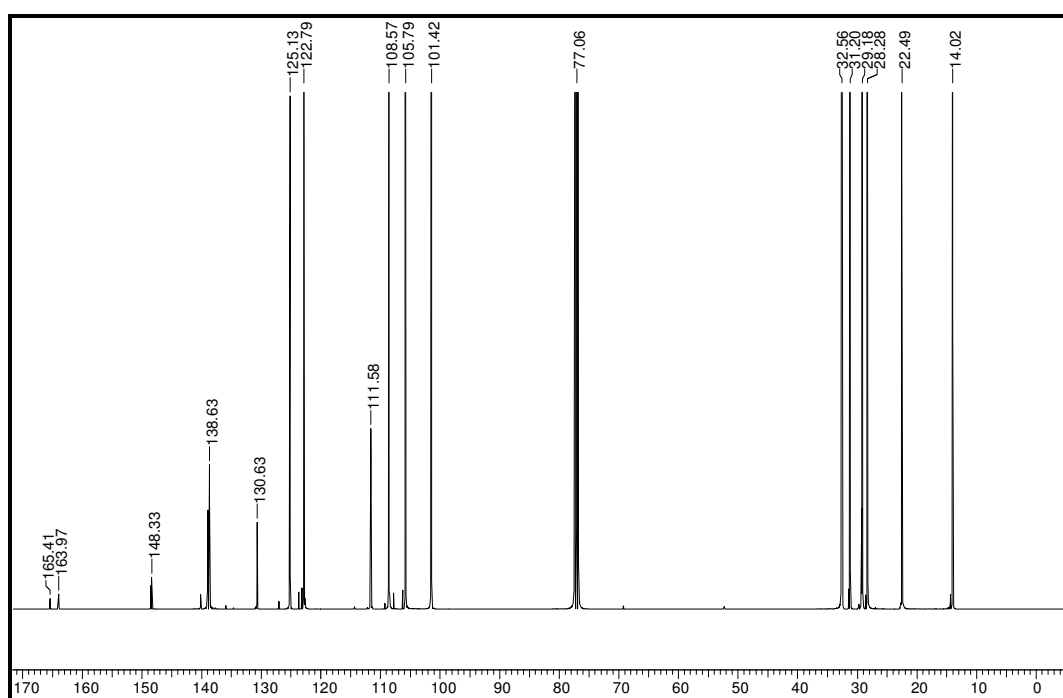
**Espectro 85.** Espectro de IV do derivado **107f**.



**Espectro 86.** Espectro de massas do derivado **107f**.



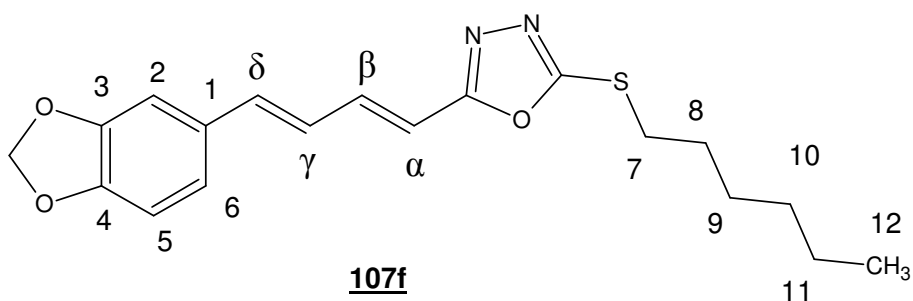
**Espectro 87.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107f**.



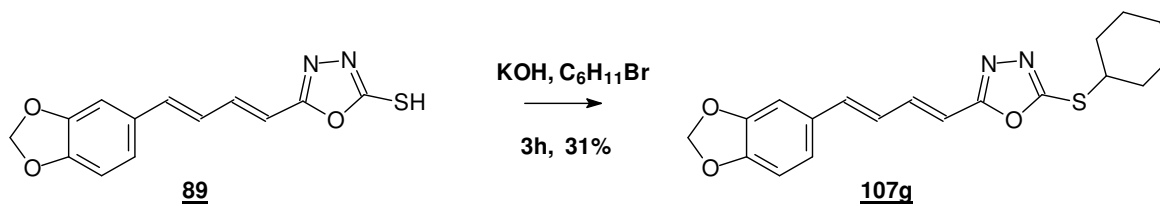
**Espectro 88.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107f**.

**Tabela 34.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107f**.

Derivado <b>107f</b> (400MHz, $\text{CDCl}_3$ )		
Posições	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,41
SC=N	-	163,97
<b>1</b>	-	130,63
<b>2</b>	7,02 (sl; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,33
<b>4</b>	-	148,33
<b>5</b>	6,81 (m; 1H)	108,57
<b>6</b>	6,93 (d; 7,8; 1H)	111,58
<b>7</b>	3,28 (m; 2H)	32,56
<b>8</b>	1,83 (m; 2H)	31,21
<b>9</b>	1,48 (m; 2H)	29,18
<b>10</b>	1,34 (m; 2H)	28,28
<b>11</b>	1,34 (m; 2H)	22,49
<b>12</b>	0,92 (m; 3H)	14,02
$\alpha$	6,51 (d; 16; 1H)	122,79
$\beta$	7,23 (m; 1H)	138,63
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	138,63
$\delta$	6,82 (m; 1H)	125,13
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,42



**6.12.7- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOCICLOEXILA (107g)**



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amarelo com 31% de rendimento.

PF: 108-110 °C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2926$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1614$  (vibrações do heterociclo)

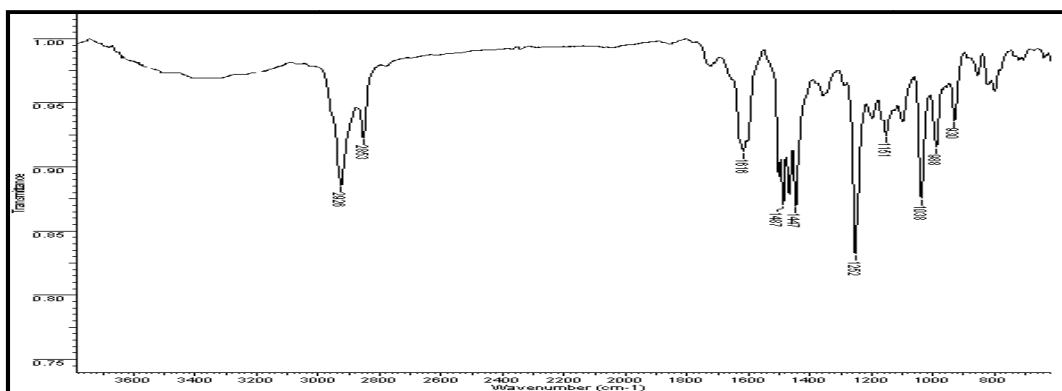
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1487$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1447$  (vibrações do heterociclo)

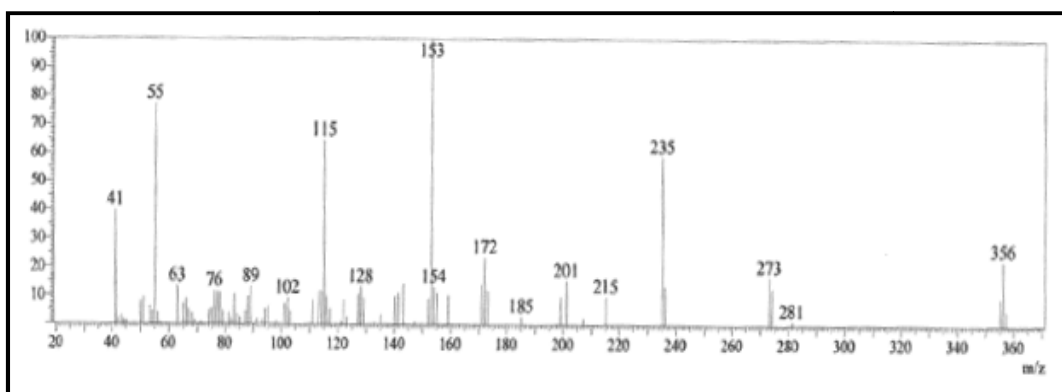
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1254$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 930$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 825$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

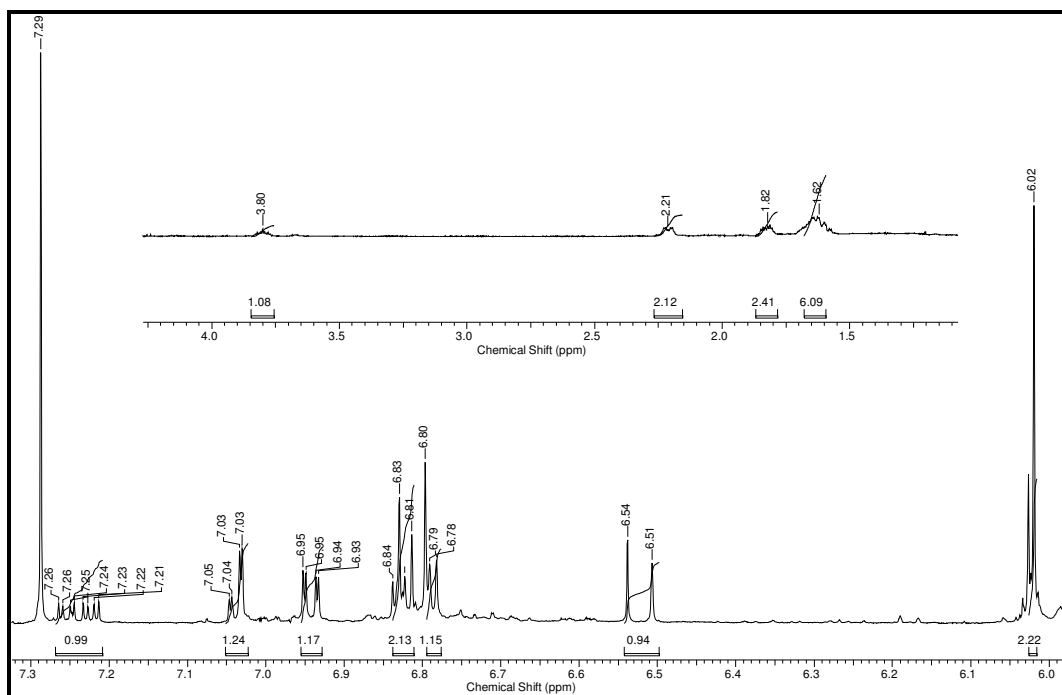


**Espectro 89.** Espectro de IV do derivado **107g**.

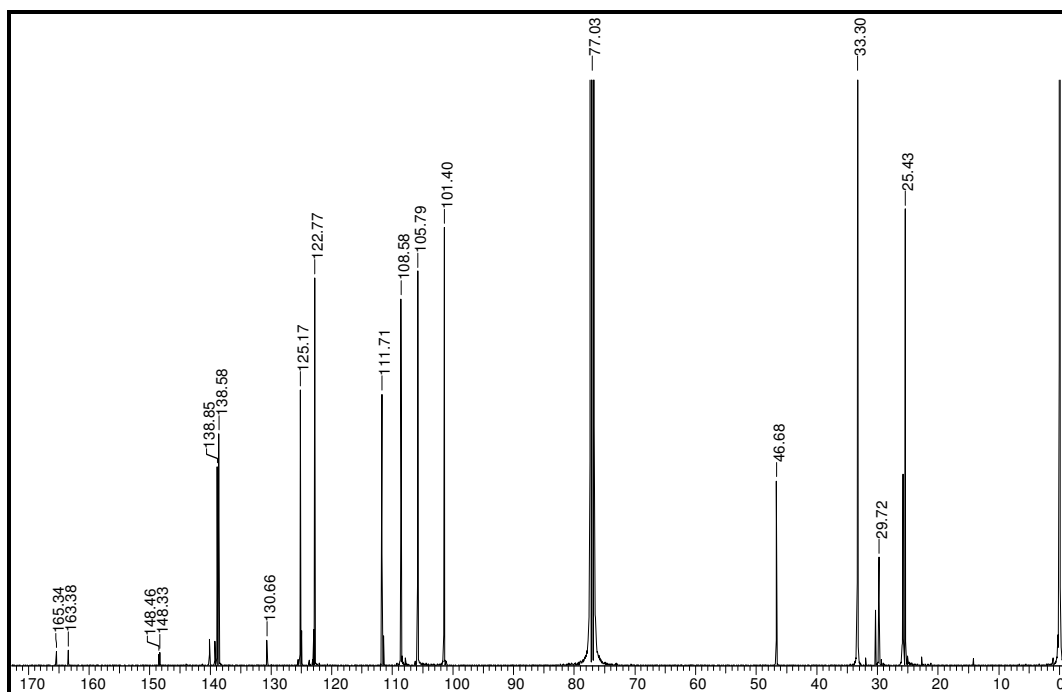


**Espectro 90.** Espectro de massas do derivado **107g**.





**Espectro 91.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107g**.

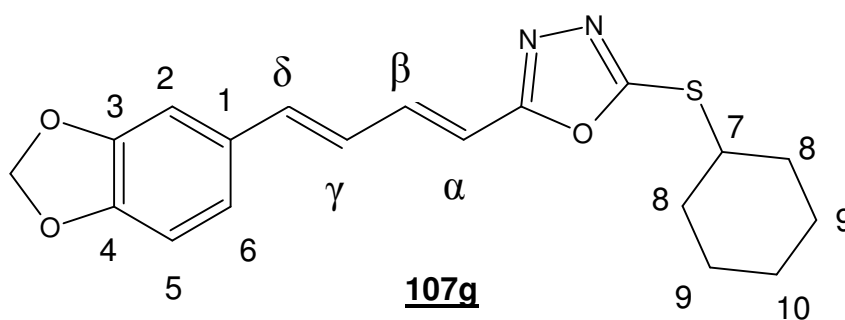


**Espectro 92.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107g**.

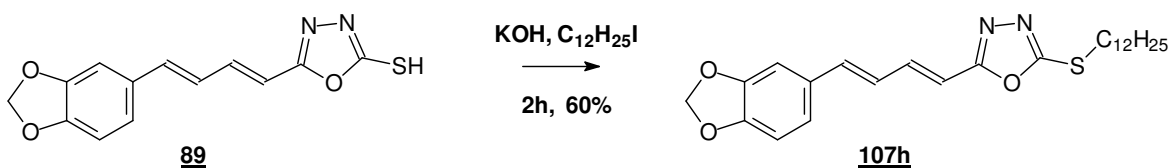
**Tabela 35.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107g**.

Posições	Derivado <b>107g</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,34
SC=N	-	163,38
<b>1</b>	-	130,66
<b>2</b>	6,80 (m; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,33
<b>4</b>	-	148,46
<b>5</b>	7,03 (dd; 7,8 e 1,5; 1H)	108,58
<b>6</b>	6,82 (m; 1H)	111,71
<b>7</b>	3,80 (m; 1H)	46,48
<b>8</b>	2,21 (m; 2H)* e 1,82 (m; 2H)**	33,30
<b>9</b>	1,62 (m; 4H)	25,43
<b>10</b>	1,62 (m; 2H)	29,72
$\alpha$	6,52 (d; 16; 1H)	122,77
$\beta$	7,24 (m; 1H)	138,85
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	138,58
$\delta$	6,94 (dd; 7,8 e 1,6; 1H)	125,17
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,02 (sl; 2H)	101,4

\*H<sub>equatorial</sub> e \*\*H<sub>axial</sub>



**6.12.8- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIODODECILA (107h)**



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido bege com 60% de rendimento.

PF: 78-80°C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu\text{C-H (Csp}^3\text{)} = 2935$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu\text{C=N (Csp}^2\text{)} = 1616$  (vibrações do heterociclo)

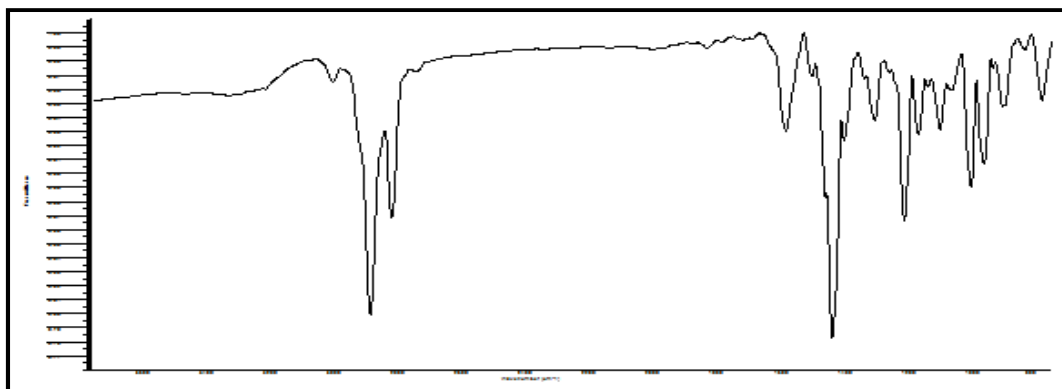
$\nu\text{C=C (Csp}^2\text{)} = 1477$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2\text{)} = 1445$  (vibrações do heterociclo)

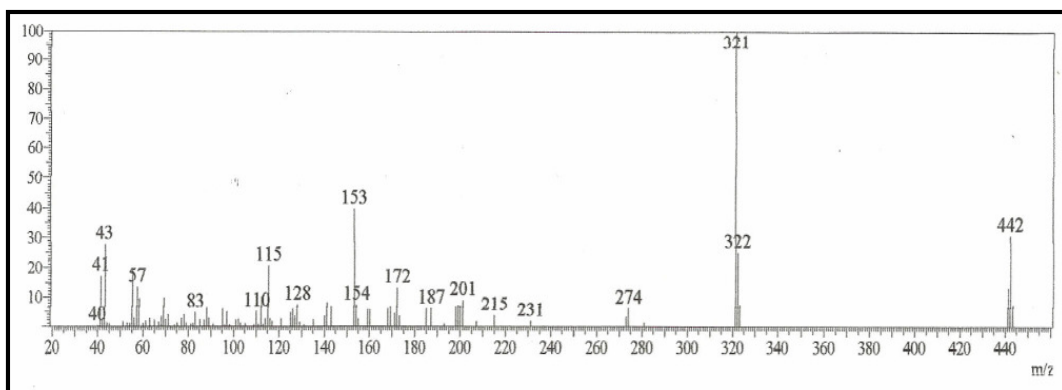
$\nu\text{C-O-C} = 1245$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 932$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

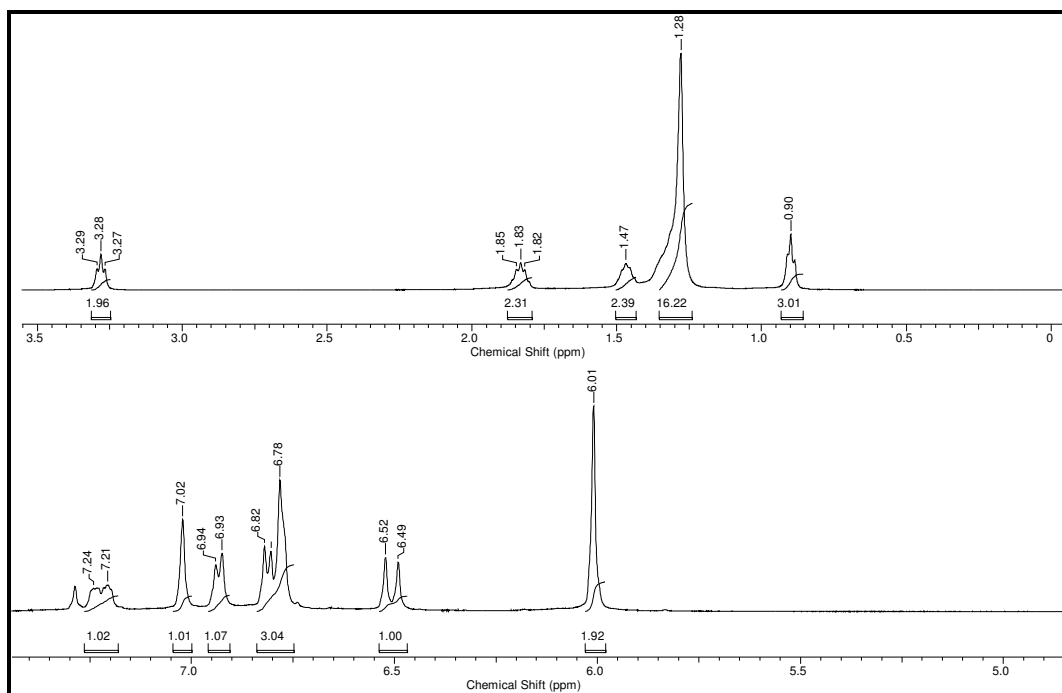
$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 822$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



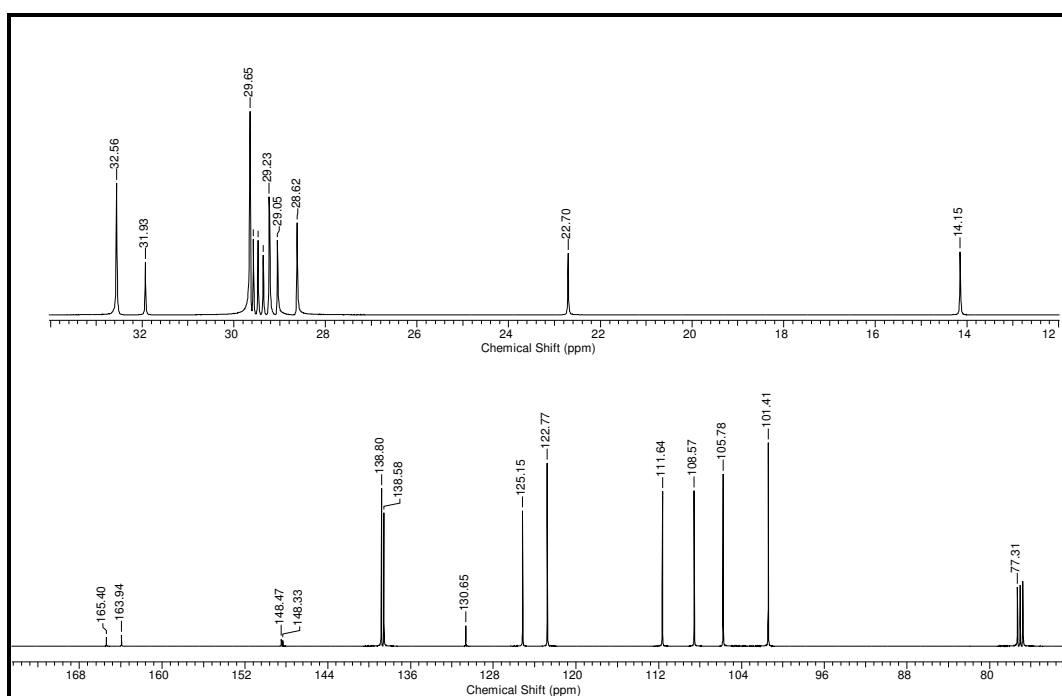
**Espectro 93.** Espectro de IV do derivado **107h**.



**Espectro 94.** Espectro de massas do derivado **107h**.



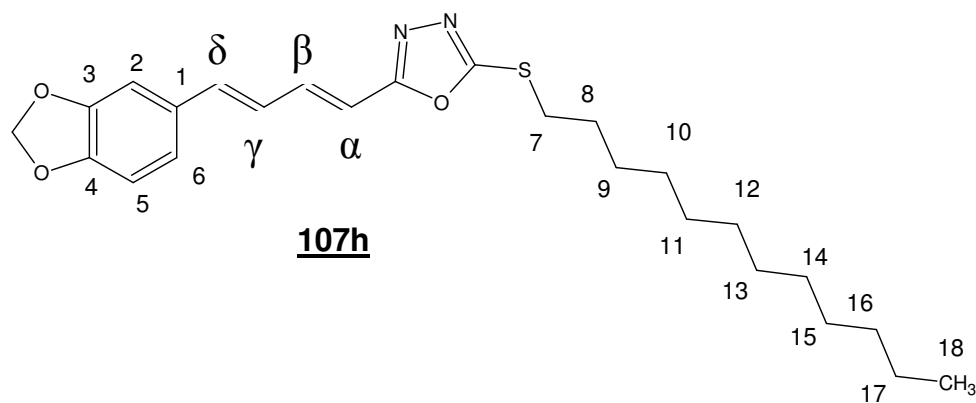
**Espectro 95.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107h**.



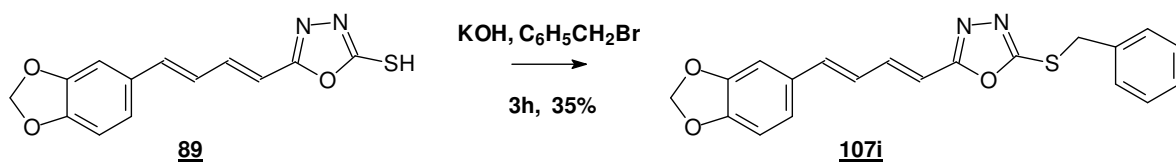
**Espectro 96.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) do derivado **107h**.

**Tabela 36.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107h**.

Posições	Derivado <b>107h</b> (400MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,4
SC=N	-	163,94
<b>1</b>	-	130,65
<b>2</b>	7,02 (sl; 1H)	105,78
<b>3</b>	-	148,47
<b>4</b>	-	148,33
<b>5</b>	6,81 (d; 8,0; 1H)	108,57
<b>6</b>	6,93 (d; 7,8; 1H)	111,64
<b>7</b>	3,28 (m; 2H)	32,56
<b>8</b>	1,83 (m; 2H)	31,93
<b>9</b>	1,47 (m; 2H)	28-29
<b>10</b>	1,28 (m; 2H)	28-29
<b>11</b>	1,28 (m; 2H)	28-29
<b>12</b>	1,28 (m; 2H)	28-29
<b>13-18</b>	0,9 e 1,28 (m; 16H)	14-29
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	122,77
$\beta$	7,23 (m; 1H)	138,80
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	138,58
$\delta$	6,78 (m; 1H)	125,15
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,41



### 6.12.9- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIOBENZILA (**107i**)



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido castanho com 35% de rendimento.

PF: 151-152°C.

#### Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ):

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3028$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2909$  (vibrações alifáticas e do metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1616$  (vibrações do heterociclo)

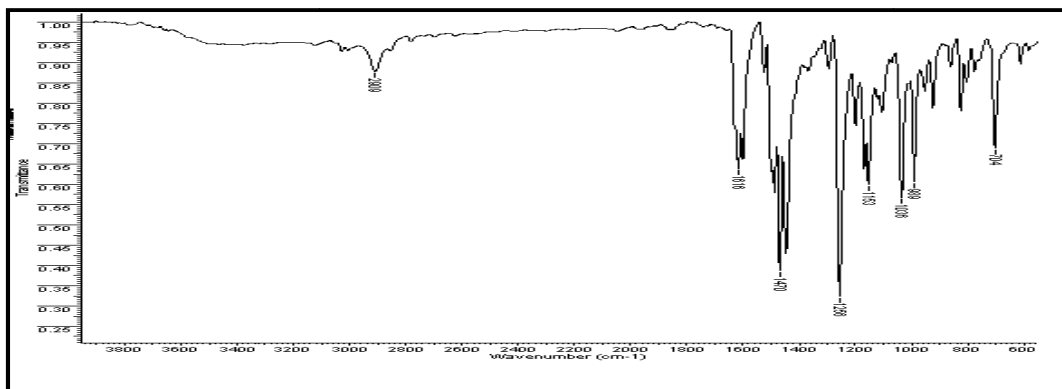
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1470$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1448$  (vibrações do heterociclo)

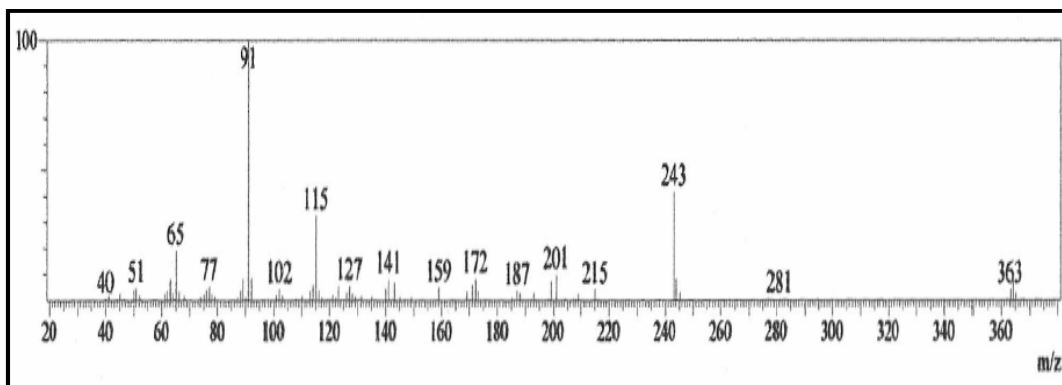
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1256$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 928$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 825$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

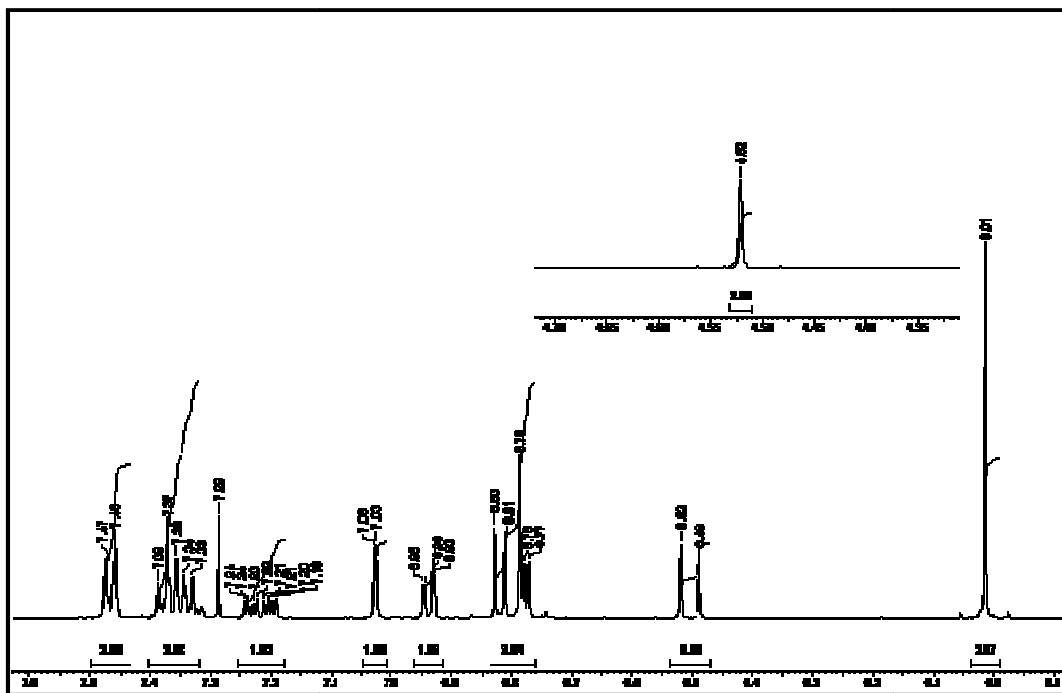


**Espectro 97.** Espectro de IV do derivado **107i**.

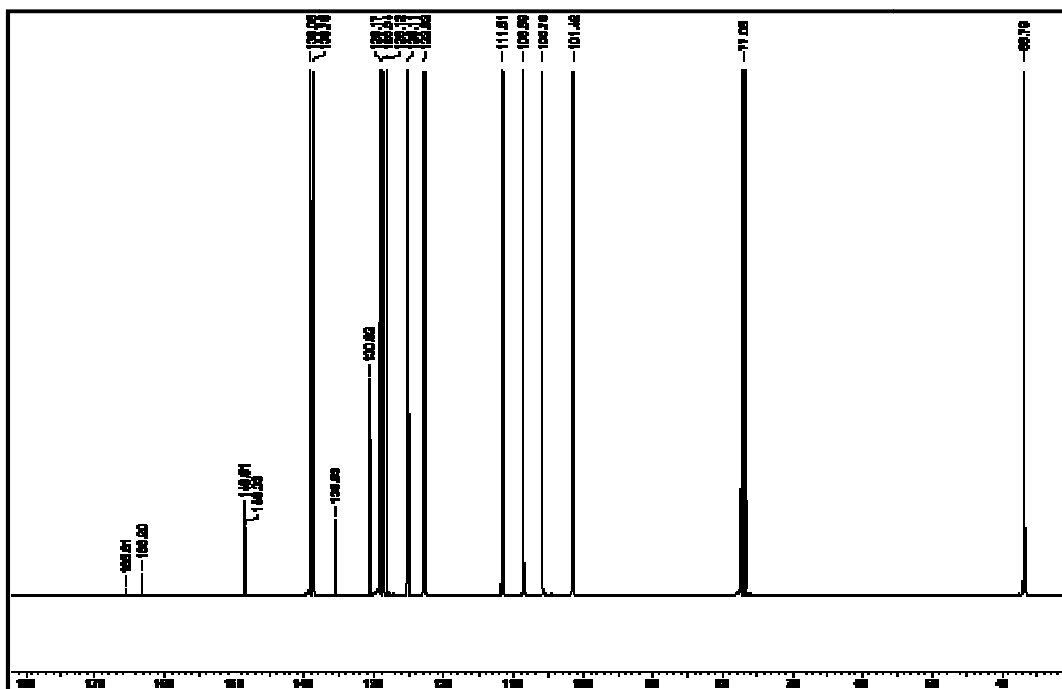


**Espectro 98.** Espectro de massas do derivado **107i**.





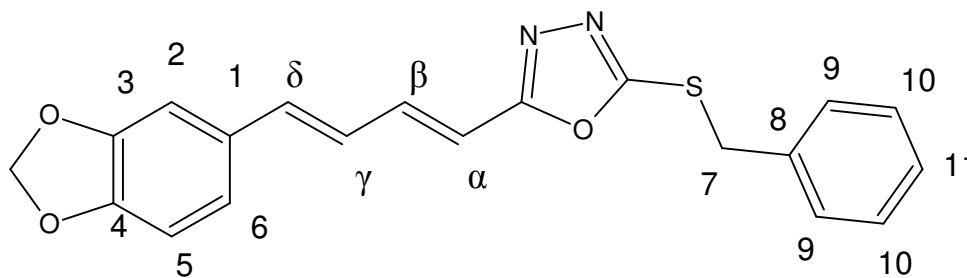
**Espectro 99.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107i**.



**Espectro 100.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107i**.

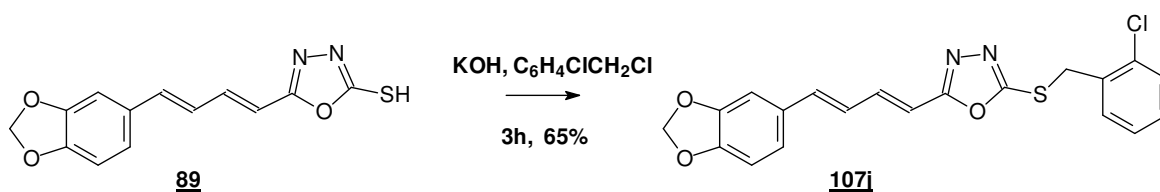
**Tabela 37.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107i**.

Posições	Derivado <b>107i</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,6
SC=N	-	163,2
<b>1</b>	-	130,62
<b>2</b>	6,79 (sl; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,33
<b>4</b>	-	148,51
<b>5</b>	7,03 (d; 1,5; 1H)	108,59
<b>6</b>	6,82 (d; 7,8; 1H)	111,51
<b>7</b>	4,52 (sl; 2H)	36,79
<b>8</b>	-	135,53
<b>9</b>	7,47 (d; 6,9; 2H)	128,84
<b>10</b>	7,36 (m; 2H)	129,17
<b>11</b>	7,36 (m; 1H)	128,12
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	125,11
$\beta$	7,22 (ddd; 15; 6,9 e 3,5; 1H)	139,05
$\gamma$	6,78 (d; 3,7; 1H)	138,75
$\delta$	6,94 (dd; 7,8 e 1,5; 1H)	122,82
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,42



**107i**

**6.12.10- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIO(O-CLORO-BENZILA) (107i)**



O produto obtido foi recristalizado em etanol na forma de um sólido amarelo com 65% de rendimento.

PF: 115-117°C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ):**

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 2916$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1622$  (vibrações do heterociclo)

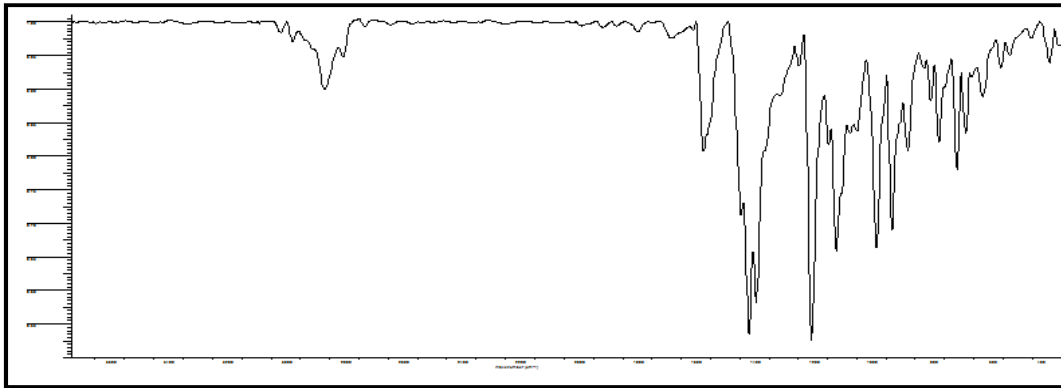
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1470$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1448$  (vibrações do heterociclo)

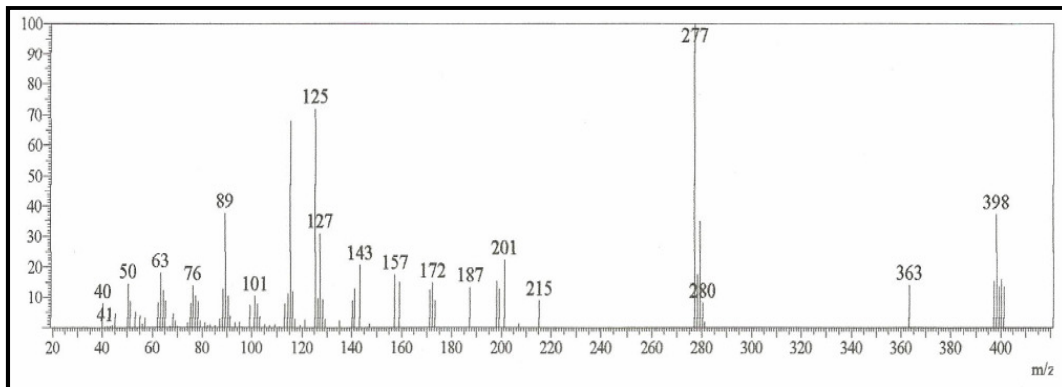
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1256$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 923$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

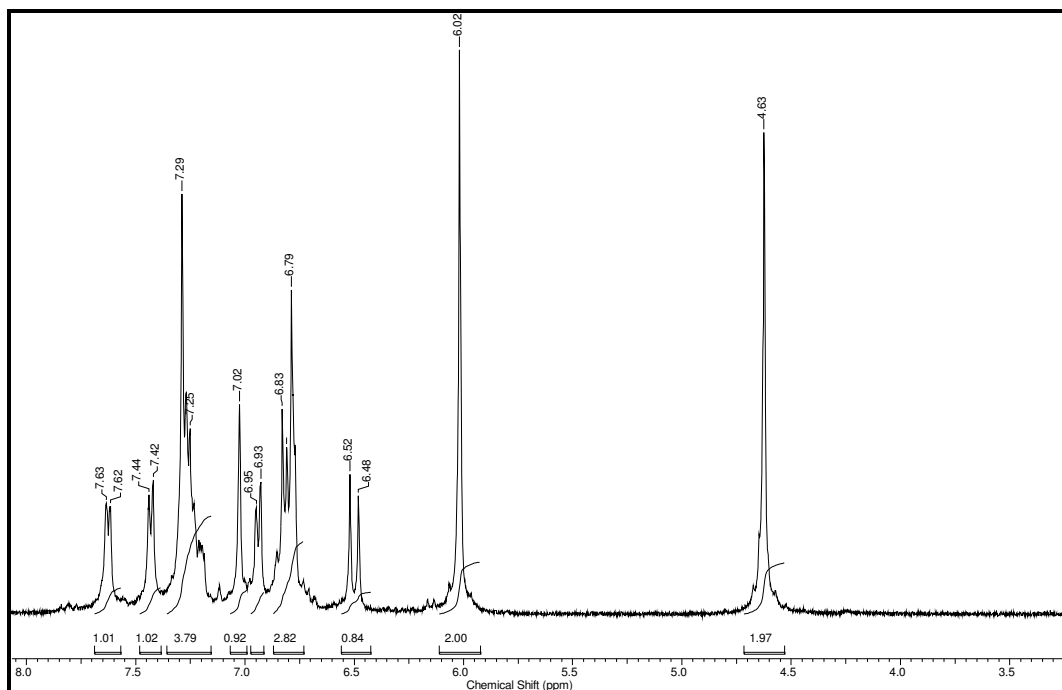
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 812$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



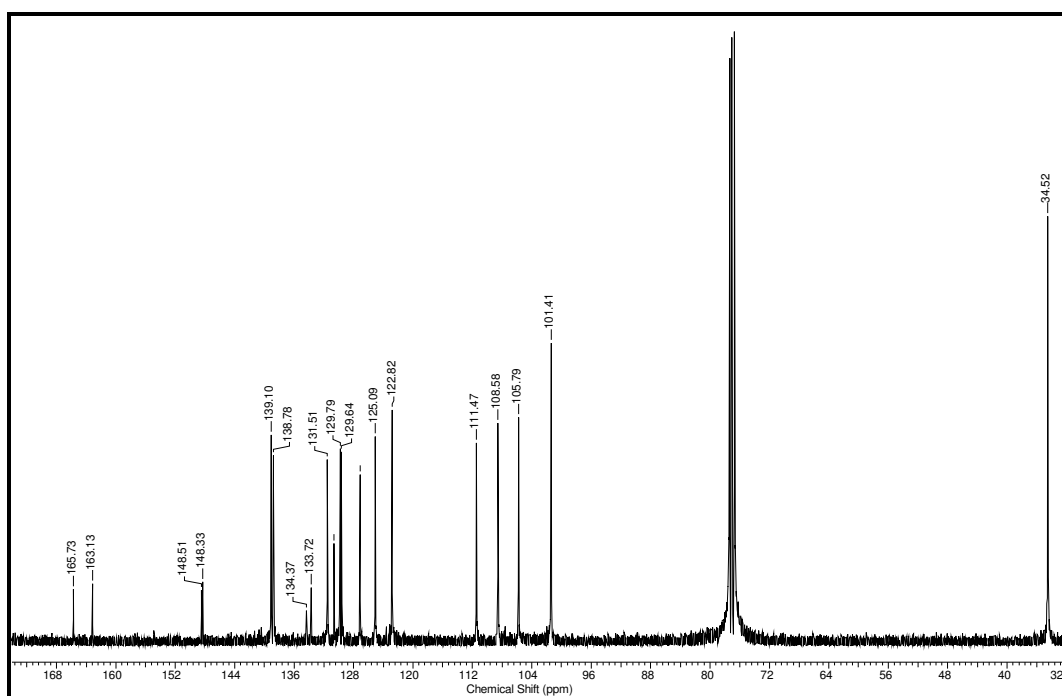
**Espectro 101.** Espectro de IV do derivado **107j**.



**Espectro 102.** Espectro de massas do derivado **107j**.



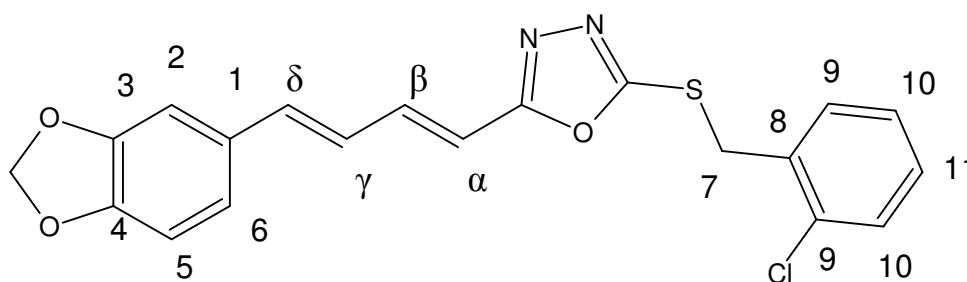
**Espectro 103.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107j**.



**Espectro 104.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **107j**.

**Tabela 38.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **107i**.

Posições	Derivado <b>107i</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=N	-	165,73
SC=N	-	163,13
<b>1</b>	-	130,61
<b>2</b>	7,02 (sl; 1H)	105,79
<b>3</b>	-	148,51
<b>4</b>	-	148,33
<b>5</b>	6,82 (d; 8; 1H)	108,58
<b>6</b>	6,94 (dd; 7,8 e 1,5; 1H)	111,47
<b>7</b>	4,63 (sl; 2H)	34,52
<b>8</b>	-	133,72
<b>9</b>	-	134,37
<b>10</b>	7,63 (d; 7,2; 1H)	131,51
<b>11</b>	7,25 (m; 1H)	129,79
<b>12</b>	7,25 (m; 1H)	127,13
<b>13</b>	7,43 (d; 7,3; 1H)	129,64
$\alpha$	6,51 (d; 15; 1H)	122,82
$\beta$	7,23 (m; 1H)	139,1
$\gamma$	6,79 (m; 1H)	138,78
$\delta$	6,79 (m; 1H)	125,09
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,02 (sl; 2H)	101,41

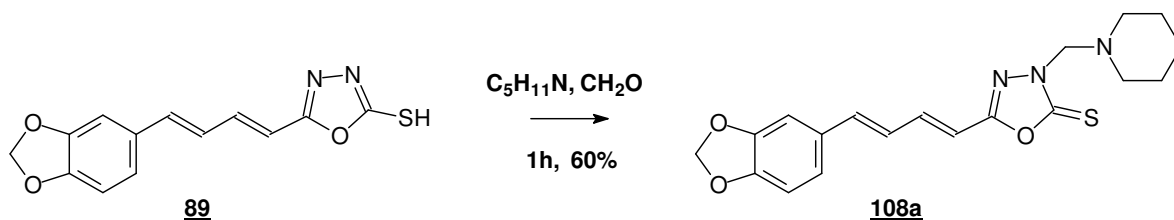


**107i**

### 6.13- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL GERAL, DE PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS *N*-SUBSTITUIDOS (**108a-d**) (REAÇÃO DE MANNICH)

Em um balão de 10 mL de capacidade, equipado com condensador de refluxo e agitação magnética, prepara-se uma solução de 100 mg (0,364 mmols) do oxadiazol (**89**) em 3 mL de etanol absoluto, a mistura é aquecida por 10 minutos a temperatura abaixo a de ebulição, em seguida, adiciona-se um equivalente da amina correspondente (piperidina, *N*-etil-piperazina ou isobutilamina) e um equivalente de formaldeído em solução aquosa a 37% (BLICKE, 1942; SIEGER, 1971). Após 60 minutos de reação, a temperatura ambiente, a mesma é deixada por 12 horas em refrigerador. Após este tempo, o solvente é evaporado, havendo formação de precipitado. O sólido é filtrado a vácuo e lavado com água gelada. Seguindo esta metodologia foi preparada uma série de derivados, descritos a seguir:

#### 6.13.1- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(*E*),3(*E*)-BUTADIENÓICO]-3-(METILENOPIPERIDINIL)- 1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (**108a**)



Para purificação do derivado **108a** foi realizada uma recristalização tendo etanol como solvente. O produto foi obtido em 60% de rendimento, sob a forma de um sólido amorfo de cor marrom.

PF: 132-134°C.

## Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ )

$\nu\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 3030$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-H (Csp}^3\text{)} = 2934$  (vibrações do anel piperidínico e metilenodióxi)

$\nu\text{C=N (Csp}^2\text{)} = 1601$  (vibrações do heterociclo)

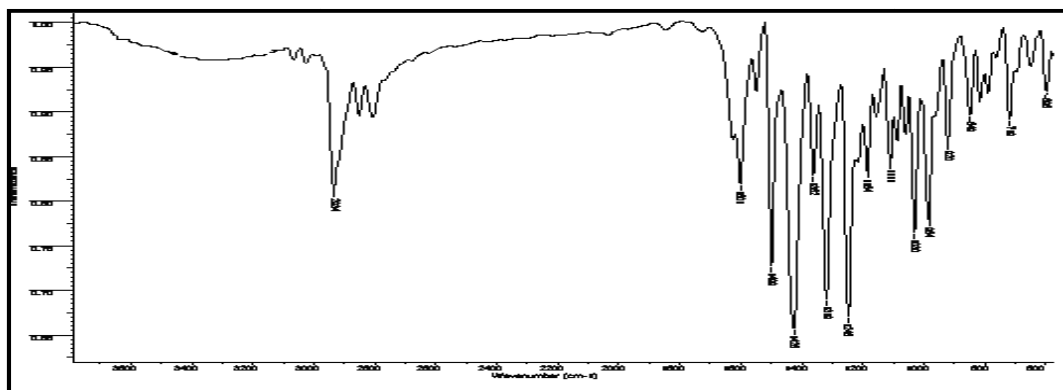
$\nu\text{C=C (Csp}^2\text{)} = 1499$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2\text{)} = 1425$  (vibrações do heterociclo)

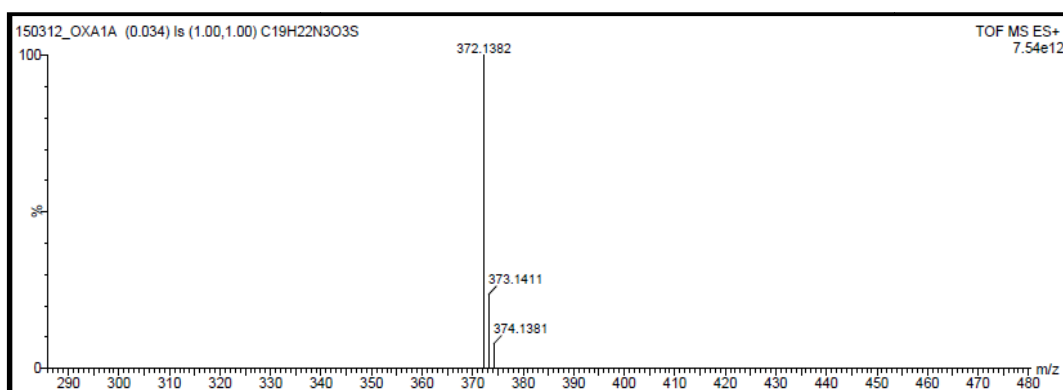
$\nu\text{C-O-C} = 1248$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 930$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 850$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

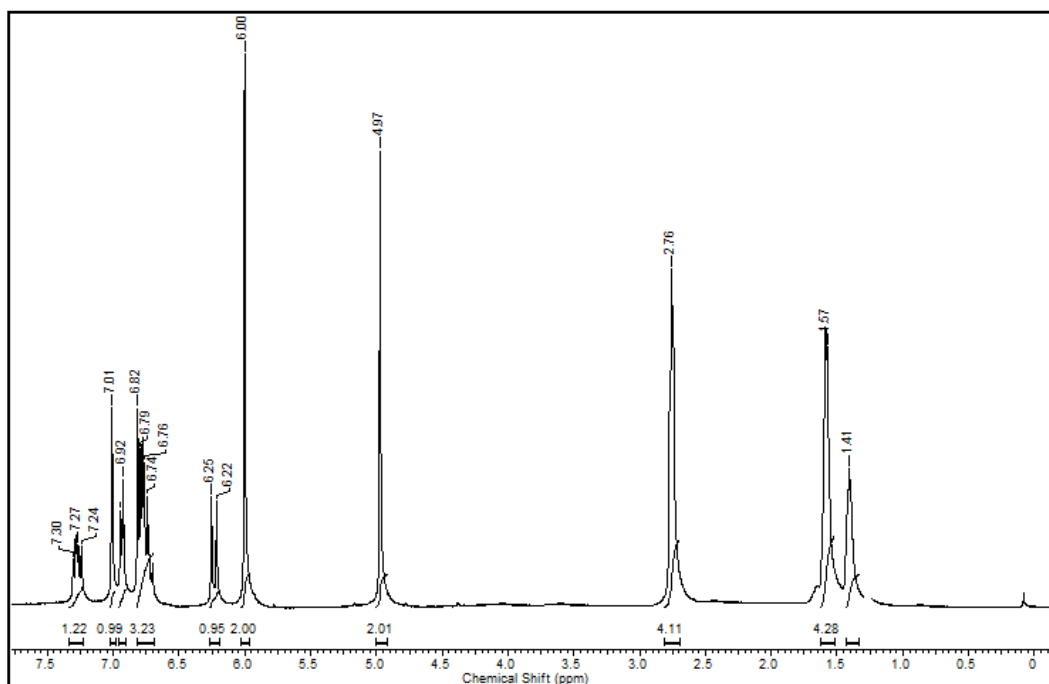


**Espectro 105.** Espectro de IV do derivado **108a**.

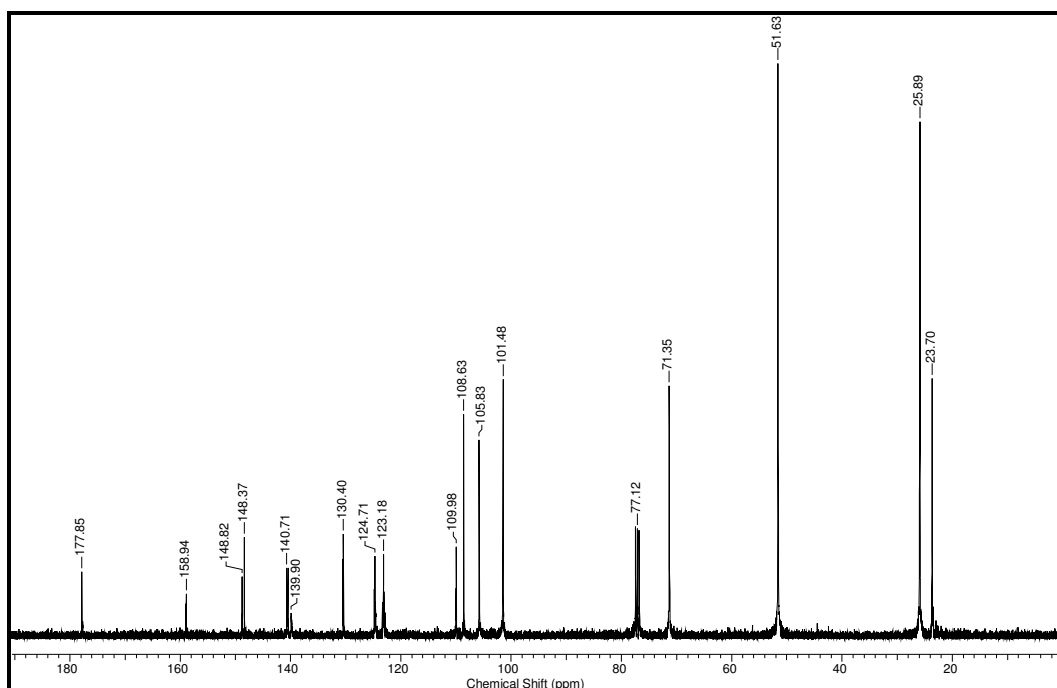


**Espectro 106.** Espectro de massas do derivado **108a**.





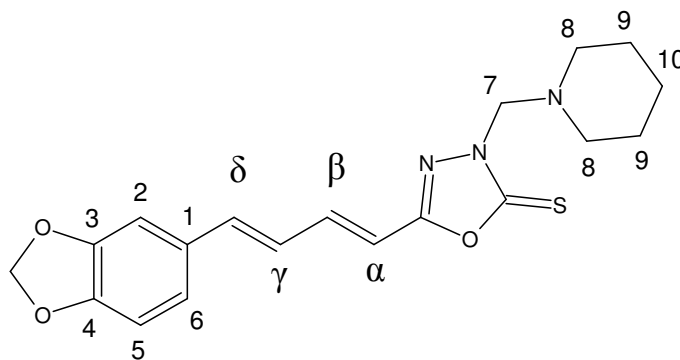
**Espectro 107.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108a**.



**Espectro 108.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108a**.

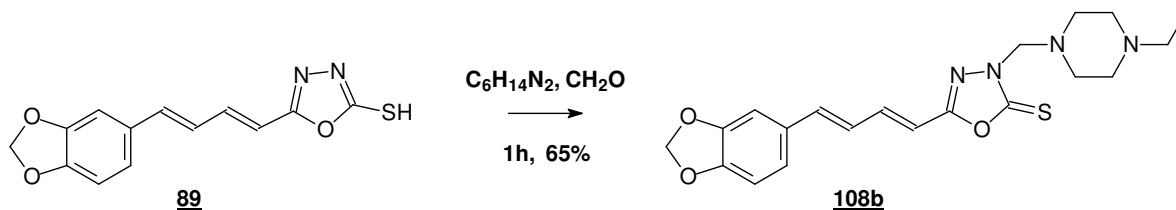
**Tabela 39.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **108a**.

Posições	Derivado <b>108a</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=S	-	177,85
C=N	-	158,94
1	-	130,4
2	7,01 (sl; 1H)	105,83
3	-	148,5
4	-	148,5
5	6,82 (m; 1H)	108,63
6	6,92 (m; 1H)	109,98
7	4,97 (s; 2H)	71,35
8	2,76 (sl; 4H)	51,63
9	1,57 (sl; 4H)	25,89
10	1,41 (sl; 2H)	23,7
$\alpha$	6,23 (d; 15; 1H)	123,18
$\beta$	7,26 (m; 1H)	140,71
$\gamma$	6,82 (m; 1H)	139,9
$\delta$	6,92 (m; 1H)	124,71
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,00 (sl; 2H)	101,48



**108a**

**6.13.2- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-  
BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-4-ETIL-PIPERAZINIL)- 1,3,4-  
OXADIAZOL-2-TIONA (108b)**



Para purificação do derivado 108b foi realizada uma recristalização tendo etanol como solvente. O produto foi obtido em 65% de rendimento, sob a forma de um sólido amorfo de cor amarelo mostarda.

PF: 137-139°C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ )**

$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2921 (vibrações do anel N-etil-piperazínico e metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1612 (vibrações do heterociclo)

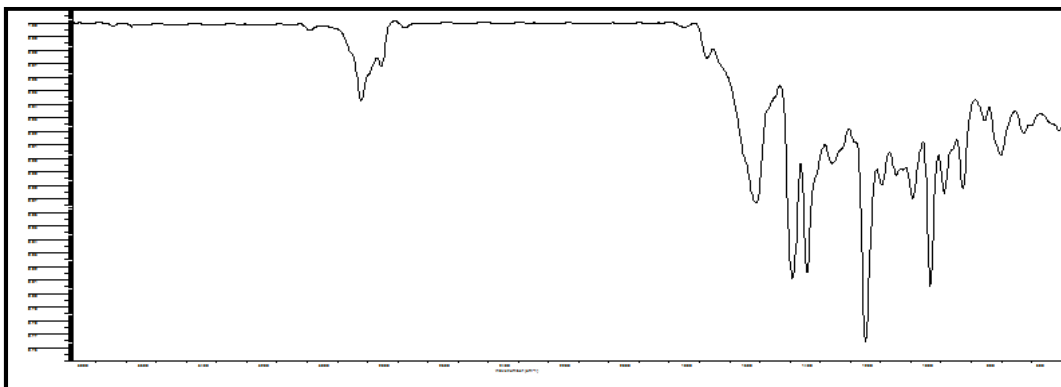
$\nu_{\text{C=C}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1491 (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1444 (vibrações do heterociclo)

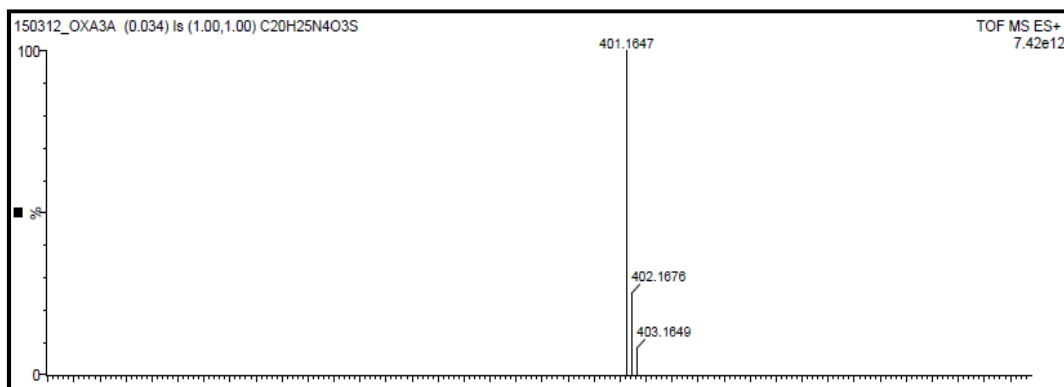
$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1246 (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 925 (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

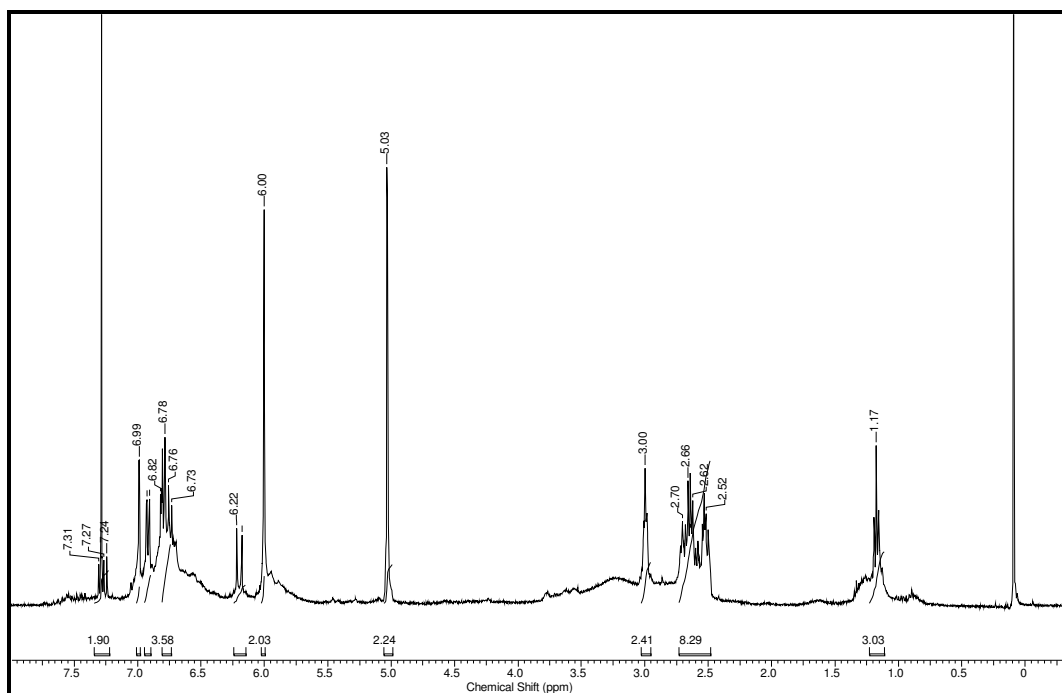
$\sigma_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 850 (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



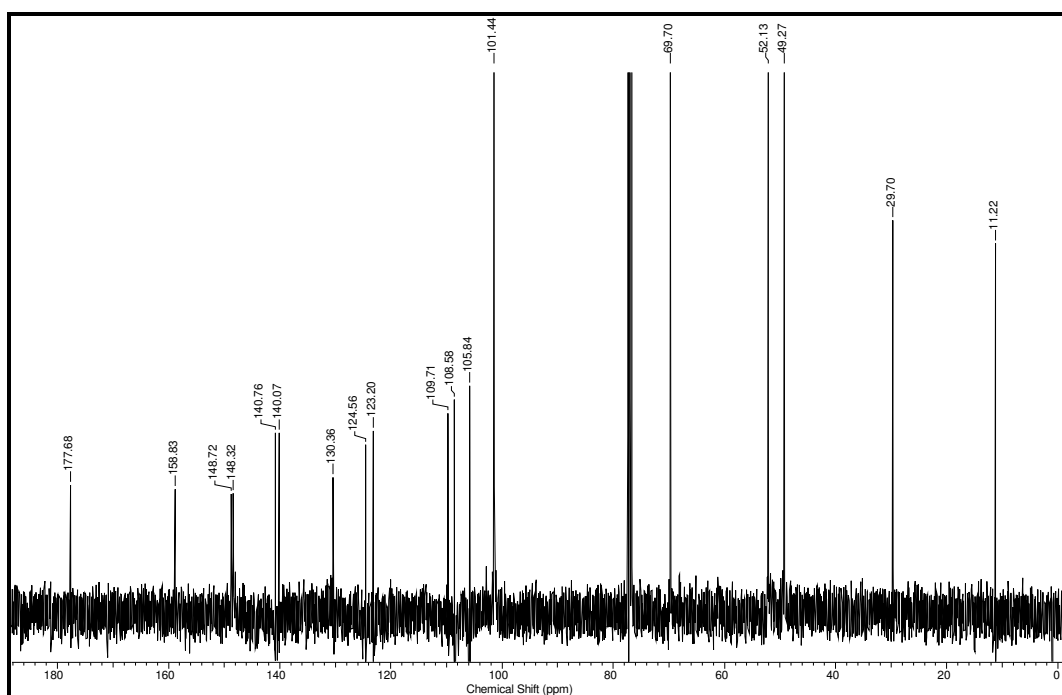
**Espectro 109.** Espectro de IV do derivado **108b**.



**Espectro 110.** Espectro de massas do derivado **108b**.



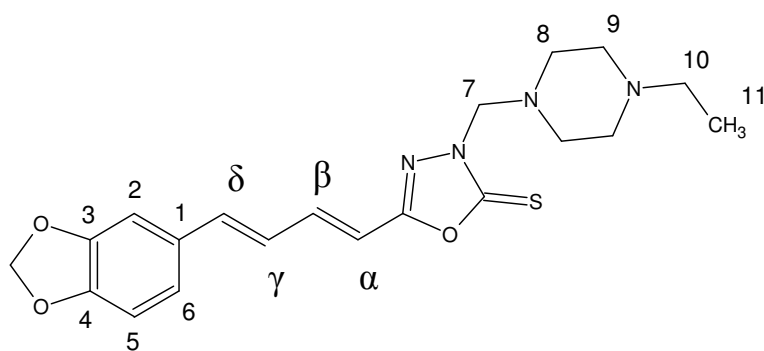
**Espectro 111.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108b**.



**Espectro 112.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108b**.

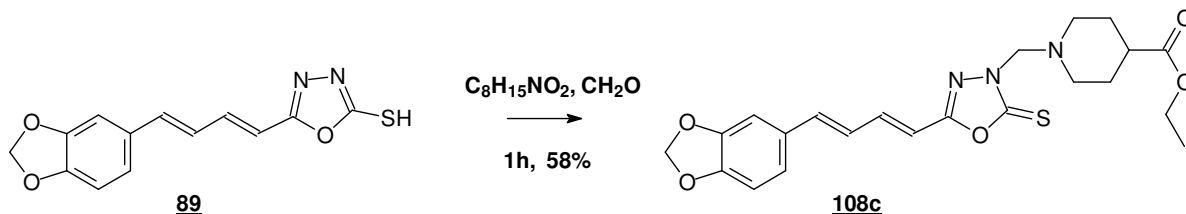
**Tabela 40.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **108b**.

Posições	Derivado <b>108b</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=S	-	177,68
C=N	-	158,83
<b>1</b>	-	130,36
<b>2</b>	6,99 (sl; 1H)	105,84
<b>3</b>	-	148,72
<b>4</b>	-	148,32
<b>5</b>	6,78 (m; 1H)	108,58
<b>6</b>	6,94 (m; 1H)	109,71
<b>7</b>	5,03 (sl; 2H)	69,7
<b>8</b>	2,62 (m; 4H)	52,13
<b>9</b>	2,62 (m; 4H)	49,27
<b>10</b>	3,00 (m; 2H)	29,69
<b>11</b>	1,17 (m; 3H)	11,22
$\alpha$	6,22 (d; 15; 1H)	123,2
$\beta$	7,27 (m; 1H)	140,76
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	140,07
$\delta$	6,78 (m; 1H)	124,56
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,00 (sl; 2H)	101,44



**108b**

**6.13.3- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-4-CARBOXIETIL-PIPERIDINIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (108c)**



Para purificação do derivado **108c** foi realizada uma recristalização tendo etanol como solvente. O produto foi obtido em 58% de rendimento, sob a forma de um sólido amarelo amorfo.

PF: 135-137°C.

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ )**

$\nu\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 3025$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-H (Csp}^3\text{)} = 2928$  (vibrações do metilenodióxi)

$\nu\text{C=O (Csp}^2\text{)} = 1726$  (vibrações da carbonila do éster)

$\nu\text{C=N (Csp}^2\text{)} = 1612$  (vibrações do heterociclo)

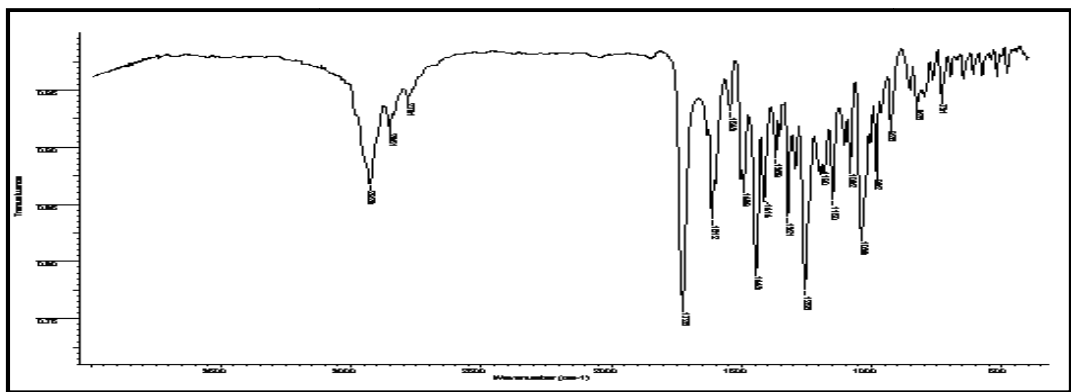
$\nu\text{C=C (Csp}^2\text{)} = 1489$  (vibrações do anel aromático)

$\nu\text{C-N (Csp}^2\text{)} = 1443$  (vibrações do heterociclo)

$\nu\text{C-O-C} = 1256$  (vibrações do metilenodióxi)

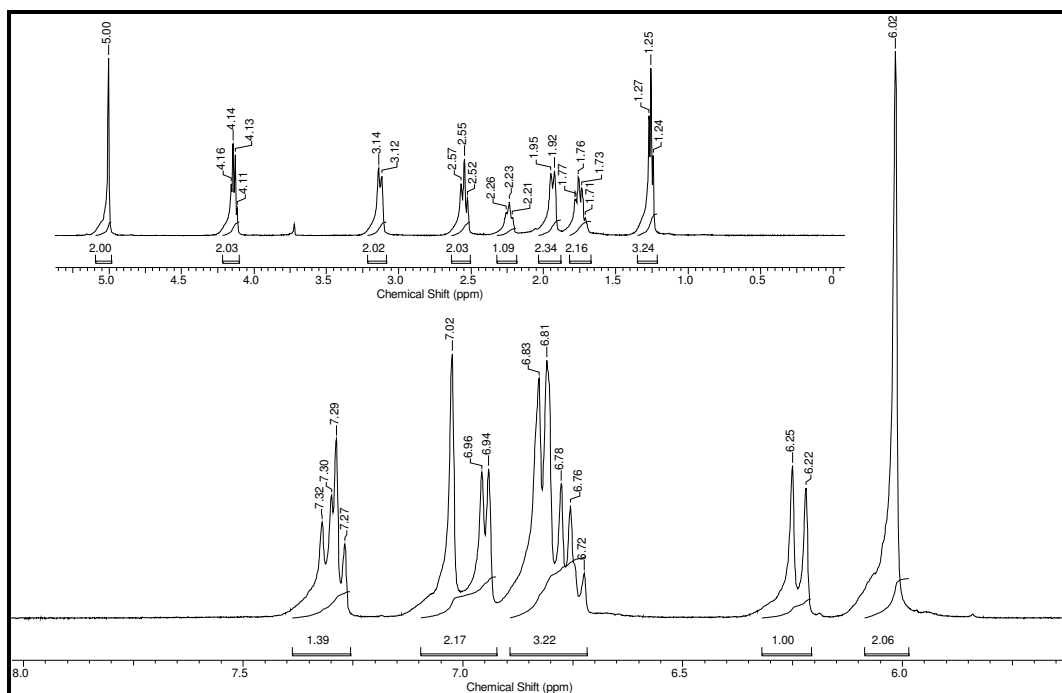
$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 926$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 826$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)

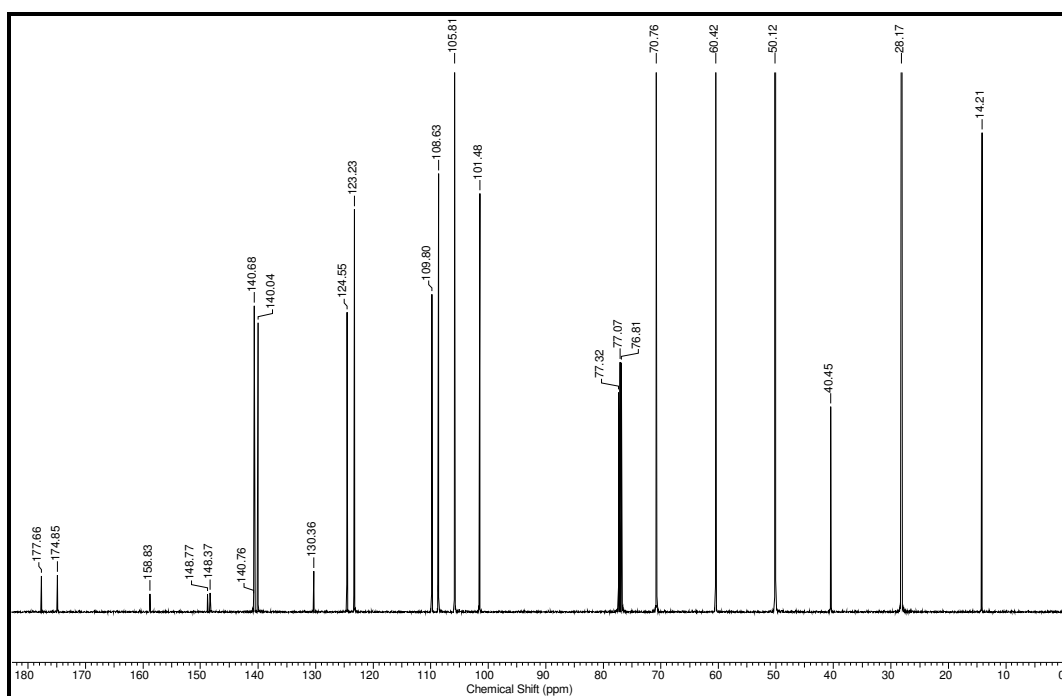


**Espectro 113.** Espectro de IV do derivado **108c**.





**Espectro 114.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108c**.

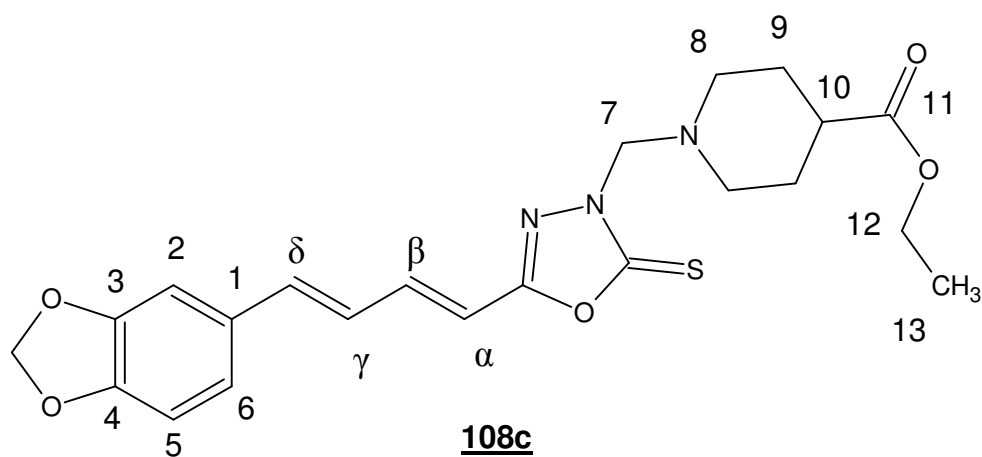


**Espectro 115.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108c**.

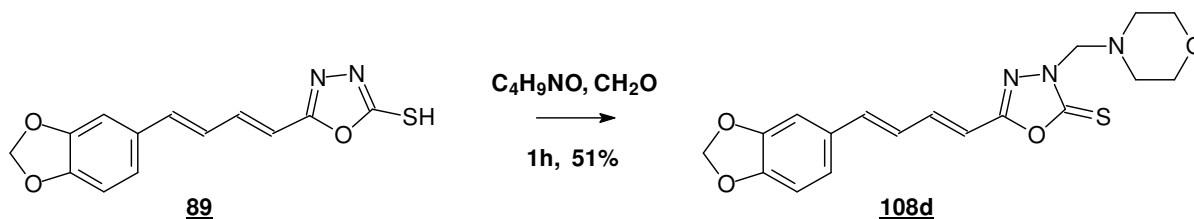
**Tabela 41.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **108c**.

Posições	Derivado <b>108c</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=S	-	177,66
C=N	-	158,83
<b>1</b>	-	130,37
<b>2</b>	7,02 (sl; 1H)	105,81
<b>3</b>	-	148,37
<b>4</b>	-	148,77
<b>5</b>	6,78 (m; 1H)	108,63
<b>6</b>	6,94 (d; 7,8; 1H)	109,8
<b>7</b>	5,0 (sl; 2H)	70,76
<b>8</b>	3,12 (d; 11; 2H)* e 2,54 (t; 11; 2H)**	60,42
<b>9</b>	1,93 (d; 12; 2H)* e 1,75 (m; 2H)**	28,17
<b>10</b>	2,23 (t; 10; 1H)	40,46
<b>11</b>	-	174,85
<b>12</b>	4,13 (q; 6,8; 2H)	50,12
<b>13</b>	1,25 (t; 6,9; 3H)	14,21
$\alpha$	6,23 (d; 15; 1H)	123,23
$\beta$	7,29 (m; 1H)	140,68
$\gamma$	6,82 (m; 1H)	140,04
$\delta$	6,76 (m; 1H)	124,55
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,02 (sl; 2H)	101,48

\* H<sub>equatorial</sub> e \*\* H<sub>axial</sub>



**6.13.4- PREPARAÇÃO DO 5-[4-(3,4-METILENODIOXIFENIL)-1(E),3(E)-BUTADIENÓICO]-3-(METILENO-N-MORFOLIL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-TIONA (**108d**)**



Para purificação do derivado **108d** fez-se uma recristalização tendo etanol como solvente. O mesmo foi obtido em 51% de rendimento sob a forma de um sólido de coloração amarelo claro.

PF: 156-158°C

**Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ )**

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2924$  (vibrações do N-morfolil e metilenodióxi)

$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1646$  (vibrações do heterociclo)

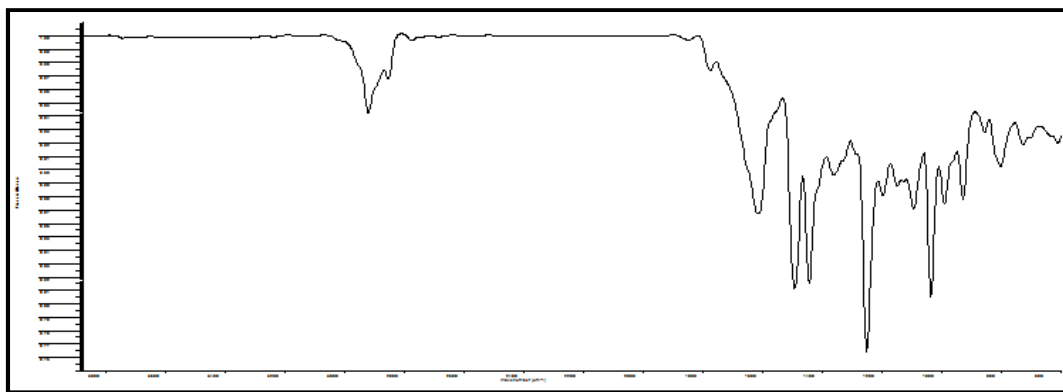
$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1491$  (vibrações do anel aromático)

$\nu_{\text{C-N}} (\text{Csp}^2) = 1440$  (vibrações do heterociclo)

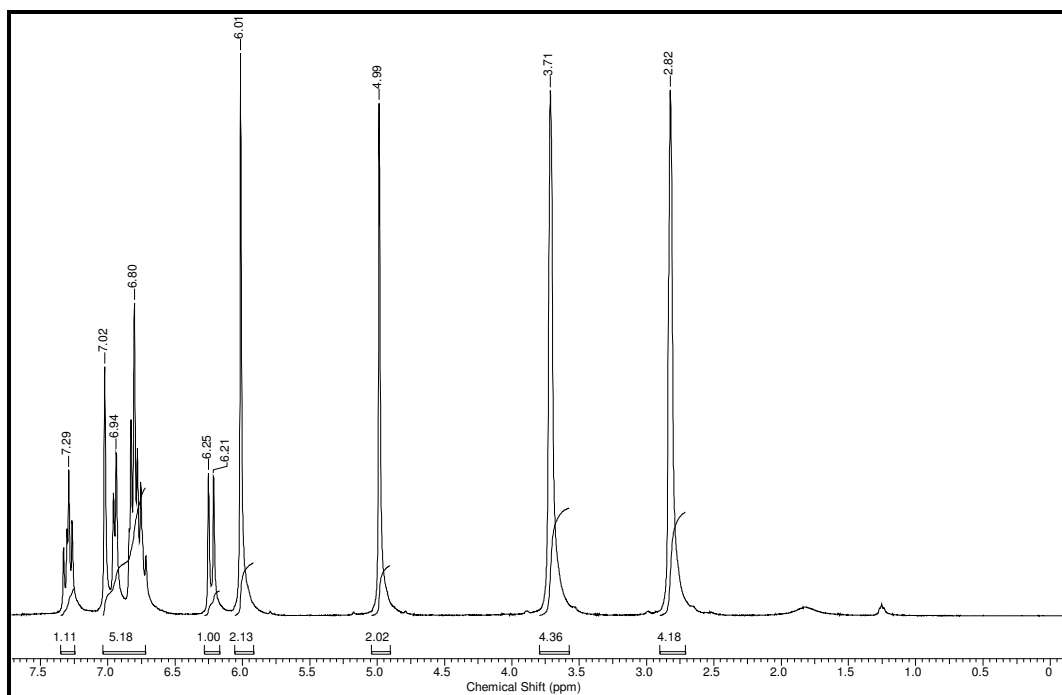
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1246$  (vibrações do metilenodióxi)

$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 927$  (dobramento de  $1\text{H}_{\text{arom.}}$  isolado)

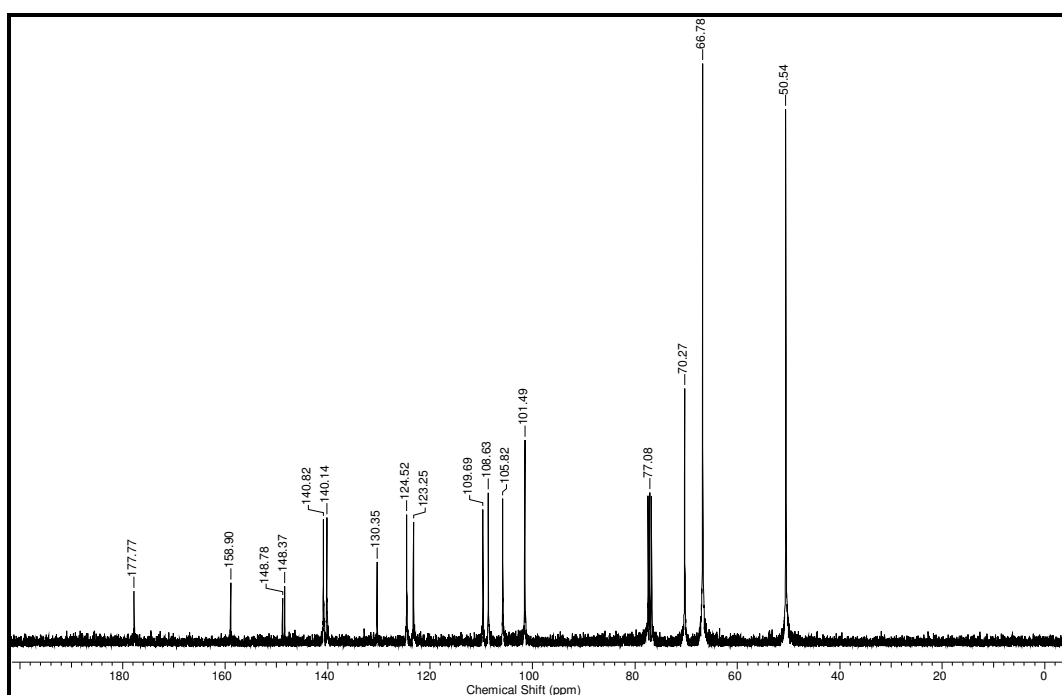
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 856$  (dobramento de  $2\text{H}_{\text{arom.}}$  vizinhos)



**Espectro 116.** Espectro de IV do derivado **108d**.



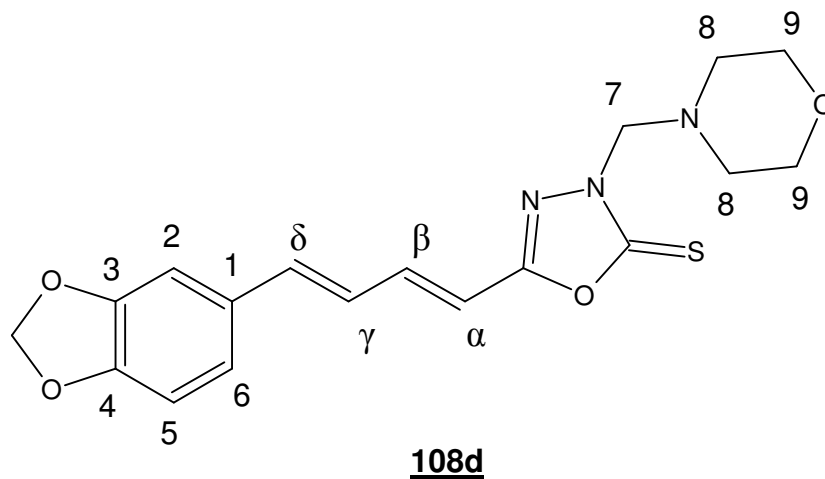
**Espectro 117.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108d**.



**Espectro 118.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) do derivado **108d**.

**Tabela 42.** Deslocamentos químicos de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  para o derivado **108d**.

Posições	Derivado <b>108d</b> (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ )	
	RMN $^1\text{H}$ $\delta$ (ppm), <i>J</i> (Hertz)	RMN $^{13}\text{C}$ $\delta$ (ppm)
C=S	-	177,77
C=N	-	158,9
<b>1</b>	-	130,35
<b>2</b>	7,02 (m; 1H)	105,82
<b>3</b>	-	148,37
<b>4</b>	-	148,78
<b>5</b>	6,80 (m; 1H)	108,63
<b>6</b>	6,94 (m; 1H)	109,69
<b>7</b>	4,99 (s; 2H)	70,27
<b>8</b>	3,71 (sl; 4H)	66,78
<b>9</b>	2,82 (sl; 4H)	50,54
$\alpha$	6,23 (d; 15; 1H)	123,25
$\beta$	7,29 (m; 1H)	140,82
$\gamma$	6,80 (m; 1H)	140,14
$\delta$	6,80 (m; 1H)	124,52
<b>OCH<sub>2</sub>O</b>	6,01 (sl; 2H)	101,49



## **6.14- AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA**

### **6.14.1- ATIVIDADE TRIPANOCIDA**

A avaliação da atividade tripanocida das moléculas obtidas neste trabalho foram realizadas no Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Laboratório de Glicobiologia, UFRJ, em colaboração do Dr. Leonardo Freire de Lima e os professores José Osvaldo Previato e Lúcia Mendonça Previato.

#### **6.14.1.1- PARASITOS**

#### **6.14.1.2- FORMAS EPIMASTIGOTAS**

Formas epimastigotas de *T. cruzi*, (amostra Y) foram mantidas a 28°C em meio composto por BHI(37g/L), hemina (0,01g/L) e ácido fólico (0,02g/L), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB). Os parasitos foram sub-cultivados no meio de cultura descrito acima a cada 5 dias com inóculos de 10%.

#### **6.14.1.3 - ATIVIDADE ANTI-EPIMASTIGOTA**

A inibição do crescimento das formas epimastigotas foi avaliada com o híbrido piperínico (**89**) e seus análogos (**90**, **104-106**) em concentrações crescentes (0,1 – 50µg/mL). Os parasitos ( $2,0 \times 10^5$  células/mL) foram cultivadas durante 7 dias em placas de 24 poços a 28°C e o crescimento avaliado por contagem direta em Câmara de Neubauer no sétimo dia de cultivo. Todos os experimentos foram realizados três repetidas vezes utilizando DMSO 0,005%, concentração final, como controle negativo. A **Tabela 43** mostra os valores das concentrações inibitórias (CI<sub>50</sub>) expressos em micromolar (µM) para as respectivas substâncias testadas.

**Tabela 43:** Valores das concentrações inibitórias (CI<sub>50%</sub>) da amida natural **69** e dos derivados **89**, **90**, **104**, **105** e **106** frente às formas epimastigotas do *T. cruzi*.

Substâncias	CI <sub>50</sub> (μM)
	Epimastigotas
<b>69</b>	7,3
<b>89</b>	11,4
<b>90</b>	8,4
<b>104</b>	49,5
<b>105</b>	25,2
<b>106</b>	37,5
<b>Benzonidazol*</b>	2,2

\*Fármaco de referência

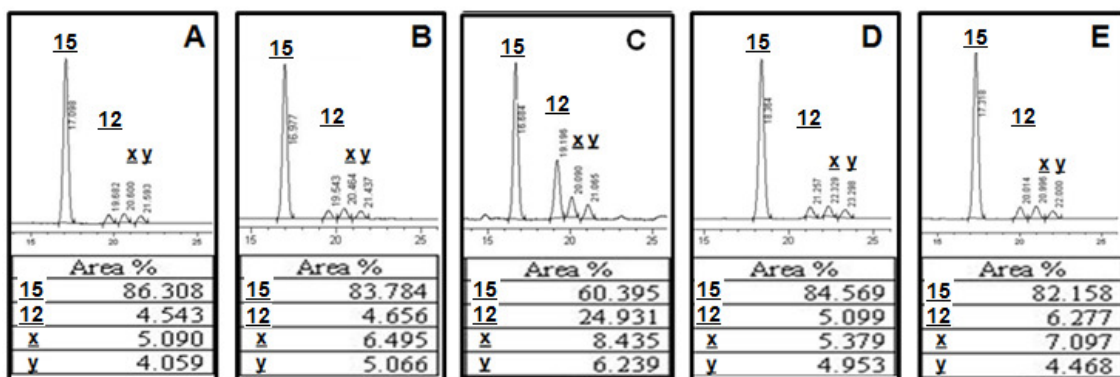
#### 6.14.1.4 – METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DA INTERFERÊNCIA NOS LIPÍDEOS DE MEMBRANA DE *T. cruzi*.

Formas epimastigotas de *T. cruzi* (cepa Dm28c,  $2 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>) foram cultivadas em tubos plásticos, contendo 30mL de meio de cultura BHI suplementado com hemina, ácido fólico e SFB10%. Foram preparados cinco tubos (A-E), contendo o inoculo de células, tratadas em diferentes condições: apenas células (A); com o solvente DMSO, utilizado na solubilização das substâncias-teste, na concentração final de 0,002% (B); com o posaconazol (**19**, **Figura 19**, página 19) (C), na concentração de 25nM, que é o valor de CI<sub>50</sub> para este fármaco de referência, descrito frente a epimastigotas de *T. cruzi* (VEIGA-SANTOS, 2012); com o oxadiazol **89**, na concentração 5μM (D); e **89**, na concentração 10μM (E). Depois de realizados os tratamentos, os tubos foram lacrados e acondicionados sob agitação constante durante uma semana. Em seguida, os tubos foram submetidos à centrifugação (10.000 rpm, 6 minutos, t.a.). O sobrenadante foi descartado e o *pellet* formado foi congelado para posterior tratamento.

A extração dos lipídeos de membrana foi realizada em procedimento adaptado do trabalho de PINTO e colaboradores (2011), onde o *pellet* obtido em cada tratamento foi suspenso em 3mL de solução de KOH em etanol (25%) e transferido para um frasco de vidro limpo e seco. A suspensão foi agitada vigorosamente por um minuto e em seguida, mantida sob agitação constante a 80°C por uma hora. Após resfriamento, os



esteróides de membrana foram extraídos com a adição de 1mL de água destilada e 3mL de *n*-hexano, seguidos de uma agitação vigorosa por 3 minutos. O processo de extração foi repetido mais uma vez e as fases orgânicas foram agrupadas em um frasco âmbar, onde o solvente foi removido por fluxo de nitrogênio. O resíduo foi resolubilizado em *n*-hexano e injetado em um equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), para quantificação dos lipídeos de membrana.



**Condições dos tratamentos:** A) Controle sem tratamento; B) Controle do solvente (DMSO 0,02%); C) Posaconazol (**19**) em 25nM; D) **89** em 5µM e E) **89** em 10µM.

**Figura 31.** Cromatogramas realizados em HPLC, referentes aos lipídeos extraídos de epimastigotas de *T. cruzi*, tratados em diferentes condições e a área relativa dos esteróis ergosterol (**15**), lanosterol (**12**), determinados por comparação com padrões comerciais, além dos lipídeos desconhecidos (**x** e **y**).

## 6.14.2- ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

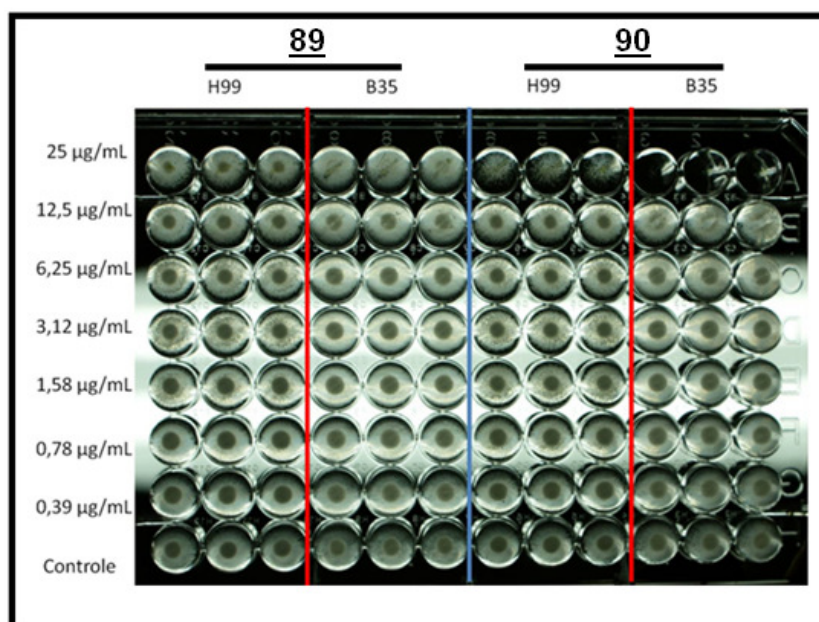
### 6.14.2.1- DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (CIM)

Os ensaios de inibição de crescimento fúngico foram realizados com duas cepas de *C. neoformans*: B3501(mais sensível) e H99 (mais resistente). A metodologia empregada foi descrita por ZARAGOZA (2011).

As cepas de *C. neoformans*, depois de descongeladas, foram inoculadas em meio Sabouraud. Após 72 horas de proliferação dos fungos, os mesmos foram transferidos

para o meio Ágar-Sabouraud. Após 48 horas os fungos foram recolhidos das placas de Petri e colocados em água destilada estéril e contados em câmara de Neubauer. O volume foi ajustado a conter  $2 \times 10^5$  células/mL – que foram adicionados a cada poço da placa de microdiluição (96 poços com fundo em forma de “U”).

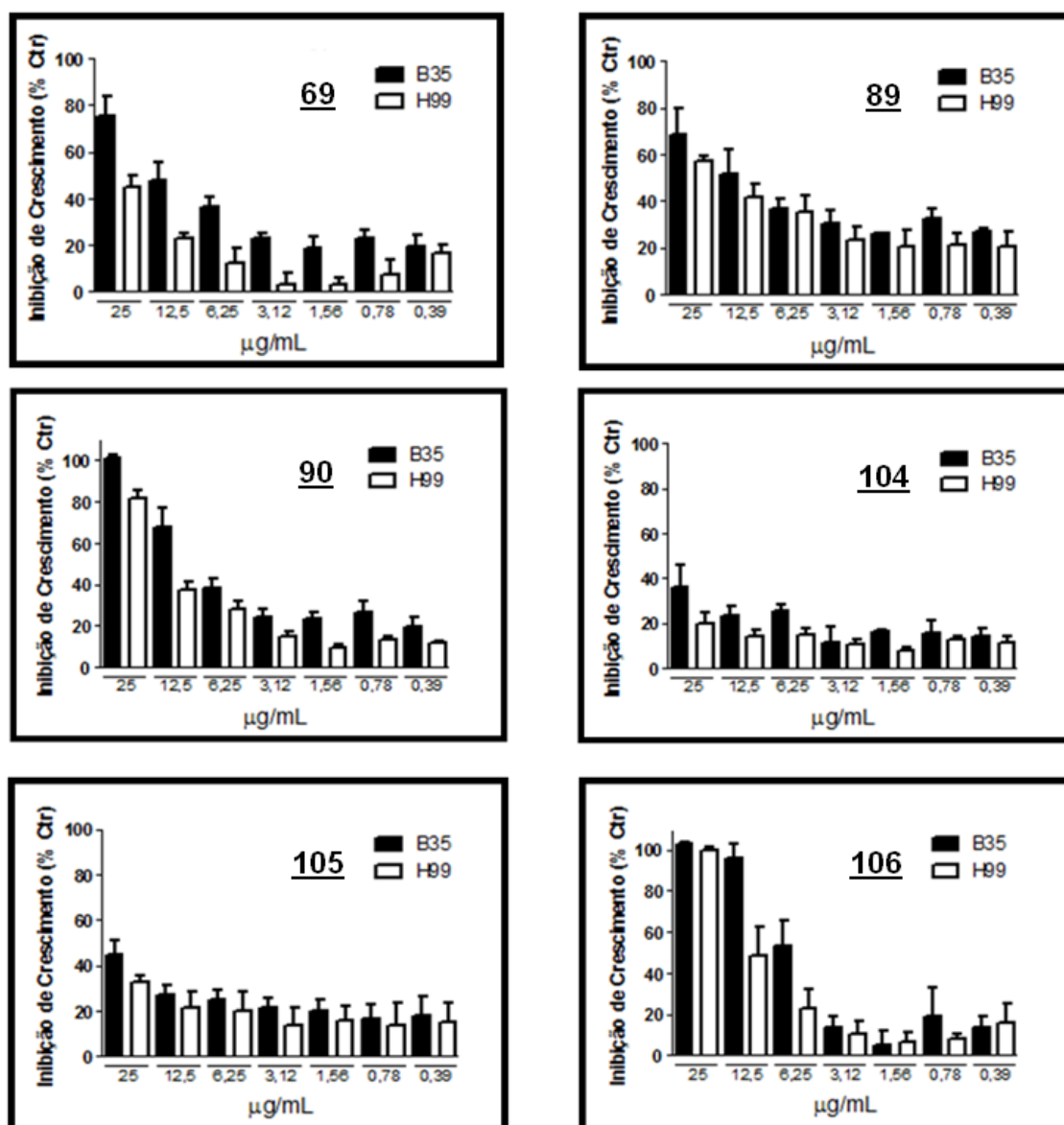
A piperina (**69**), os derivados (**89**, **90**, **104-108**) e o solvente (DMSO 1%) foram diluídos em meio de cultura YNB 2x (Nitrogênio Levedura Base) ajustando as concentrações dos tratamentos para adicionar igual volume na suspensão de fungos (totalizando 100  $\mu$ L) contida nos poços da placa. Os fungos foram tratados em concentrações que variaram de 0,39 a 25  $\mu$ g/mL. Após 48 horas de incubação a temperatura ambiente, sob leve agitação as placas foram fotografadas (**Figura 32**) e os valores da densidade ótica dos poços foram obtidos em espectrofotômetro a 630 nm.

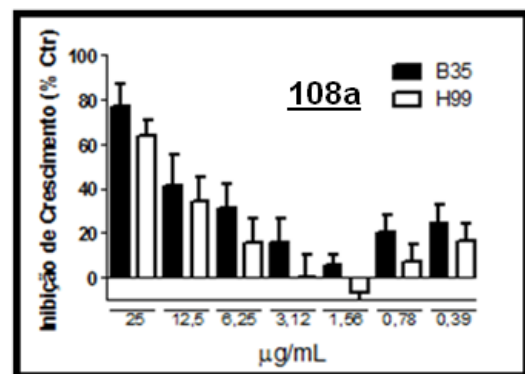
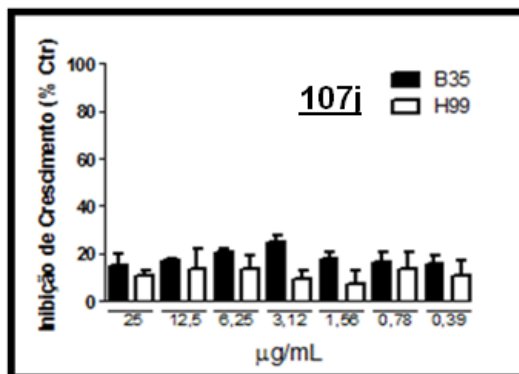
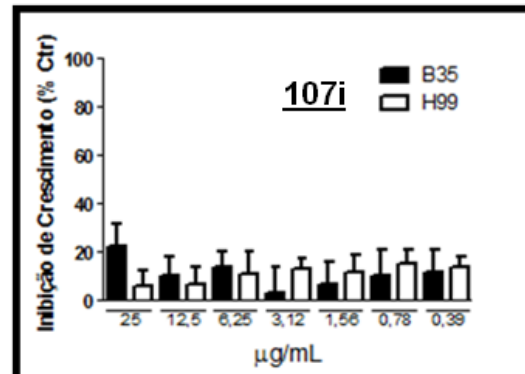
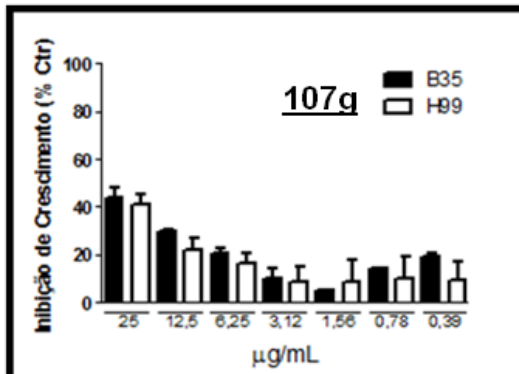
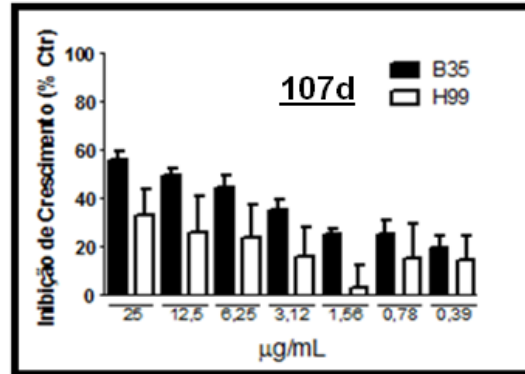
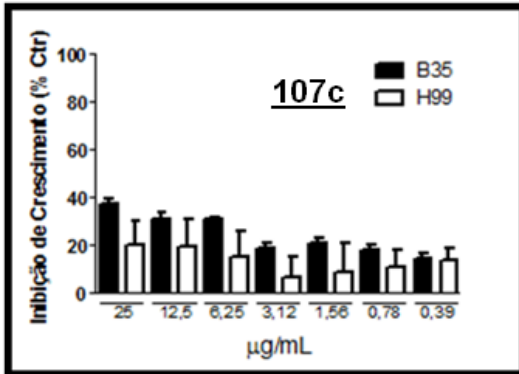
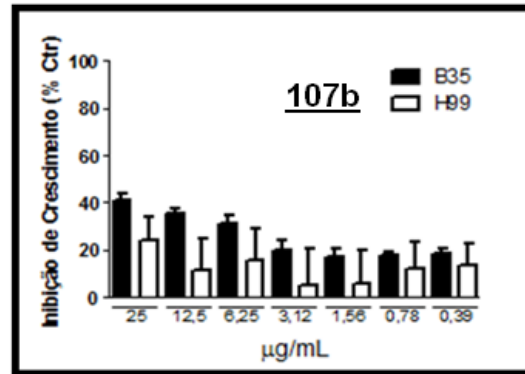
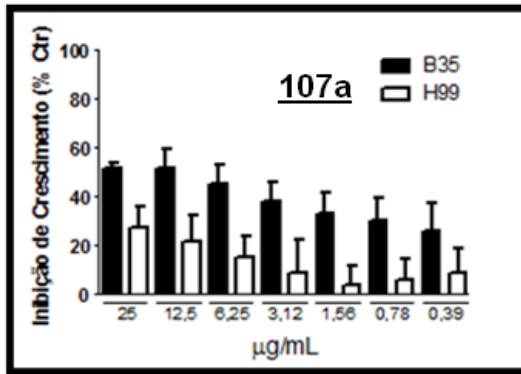


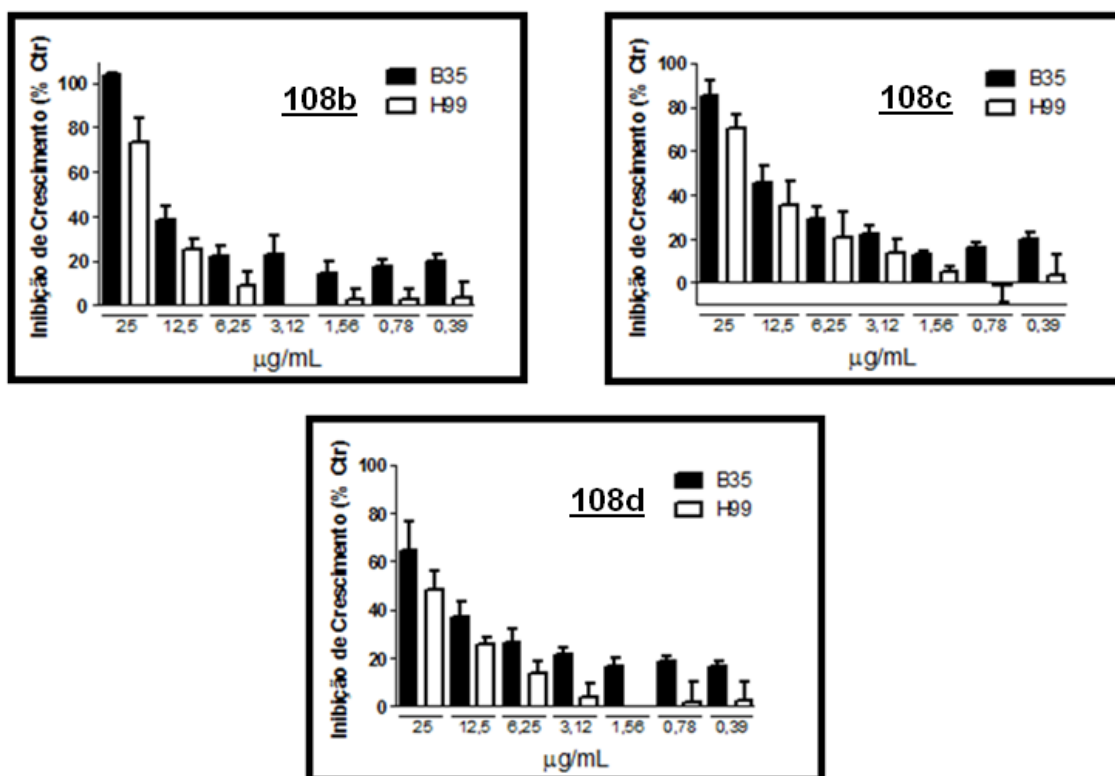
**Figura 32.** Exemplo fotográfico dos poços contendo fungos tratados após incubação de 48 horas com os analitos **89** e **90** em diferentes concentrações ( $\mu$ g/mL).

A quantificação dos resultados foi normalizada de modo que o grupo controle, células incubadas sem analito, apenas em meio YNB com DMSO, foi considerado como 0% de inibição de crescimento, já a leitura dos poços contendo apenas o meio YNB, sem células, foram considerados como 100% de inibição de crescimento, uma vez que não apresenta nenhuma turbidez de leveduras. Todos os tratamentos foram

realizados em triplicata e os resultados estão expressos em percentual de inibição (Figura 33) e as concentrações de inibição mínima de 50% dos fungos (CIM<sub>50</sub>) estão expressas em µM na Tabela 44 – com exceção dos derivados **107e**, **107f** e **107h** que precipitaram no meio de cultura após a incubação e os derivados **107i** e **107j** que não apresentaram perfil inibitório nas concentrações analisadas.







**Figura 33.** Gráficos referentes a inibição do crescimento de fungos em diferentes concentrações ( $\mu\text{g/mL}$ ) dos analitos.

**Tabela 44.** Valores de  $\text{CIM}_{50}$  ( $\mu\text{M}$ ) para a amida natural **69**, os derivados **89**, **90**, **104-108** e os fármacos de referência Anfotericina B (**9**) e Fluconazol (**16**) em duas cepas (B35 e H99) do fungo *C. neoformans*.

Substâncias	$\text{CIM}_{50}(\mu\text{M})$ <i>C. neoformans</i>		Substâncias	$\text{CIM}_{50}(\mu\text{M})$ <i>C. neoformans</i>	
	B35	H99		B35	H99
<b>69</b>	42,27	98,34	<b>107d</b>	43,59	88,08
<b>89</b>	47,33	62,44	<b>107g</b>	74,77	90,53
<b>90</b>	32,51	53,77	<b>107i</b>	211,76	*
<b>104</b>	141,66	394,27	<b>108a</b>	33,53	52,61
<b>105</b>	112,45	165,88	<b>108b</b>	25,57	44,12
<b>106</b>	32,24	45,28	<b>108c</b>	34,11	48,1
<b>107a</b>	46,28	149,65	<b>108d</b>	43,6	59,43
<b>107b</b>	102,45	237,35	<b>9**</b>	8,1	5,46
<b>107c</b>	102,52	270,06	<b>16**</b>	31,6	31,8

\*Não apresentou efeito inibitório; \*\*Fármacos de referência: Anfotericina B

(**9**) e Fluconazol (**16**).

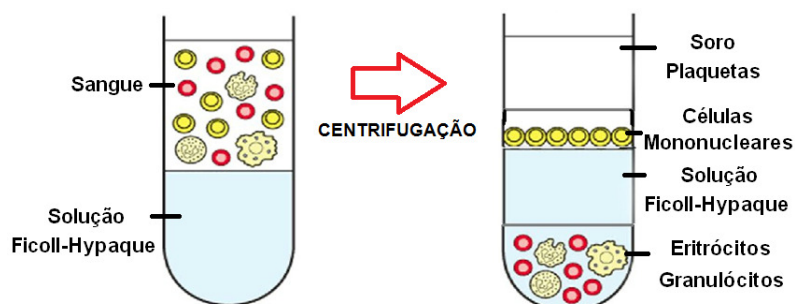
#### 6.14.2.2.- AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE

O ensaio de citotoxicidade, dos analitos selecionados, tem como objetivo verificar possíveis efeitos letais aos sistemas biológicos do hospedeiro (humano), a nível celular. O ensaio foi realizado com a amida natural 69 e alguns dos derivados (89, 90, 105, 106 e 108a-c). O derivado 104 não foi avaliado, pois não apresentou perfil inibitório considerável e o derivado 108d e a série 107a-j não foram avaliados até o momento.

#### 6.14.2.3- ISOLAMENTO DE CÉLULAS MONONUCLEARES DO SANGUE PERIFÉRICO (PBMC) HUMANO

Foi coletado o sangue venoso periférico (humano) de quatro voluntários sadios, do sexo masculino, e maiores de 18 anos para o isolamento das células mononucleares. As células mononucleares sanguíneas foram obtidas por centrifugação em gradiente de *Ficoll* (KATZ, 1980). Este método auxilia a separação dos constituintes sanguíneos de diferentes densidades. A solução de *Ficoll-Hypaque* é constituída por polissacarídeos neutros hidrofílicos de alta densidade solúveis em água.

Após centrifugar o sangue em solução de *Ficoll-Hypaque* as células mononucleares podem ser observadas como um anel amarelo claro e opaco entre o plasma (parte superior e menos densa – contendo soro e plasma) e a solução de *Ficoll-Hypaque* (parte inferior e mais densa – contendo eritrócitos e granulócitos), como pode ser visto na ilustração da **Figura 34**.



**Figura 34.** Representação ilustrativa da separação por densidade de células sanguíneas auxiliadas pela solução de Ficoll-Hypaque.

O sangue periférico (10 mL) previamente coletado em tubo contendo EDTA (anticoagulante) foi cuidadosamente transferido para tubos plásticos cônicos de 15 mL contendo 5 mL de solução *Ficoll-Hypaque*. Os tubos foram centrifugados a 400 g (força centrífuga relativa) por 40 minutos a 22°C. Ao final da centrifugação foi obtido um “anel de células” mononucleares entre o plasma e a solução de *Ficoll-Hypaque*. O plasma foi retirado cuidadosamente e o “anel de células” foi coletado com o auxílio de uma pipeta Pasteur e transferido para um tubo plástico cônico de 50 mL. O excesso de *Ficoll-Hypaque* foi removido por centrifugação lavando-se as células por três vezes com 30 mL de PBS a 22°C em 400 g por 10 minutos. As células foram ressuspensas em 5 mL de RPMI 10% de SFB (soro fetal bovino).

A contagem de células obtidas foi determinada em câmara de Neubauer e a viabilidade celular preliminar foi confirmada utilizando-se o teste do azul de Tripán – corante impermeável à célula íntegra.

#### **6.14.2.4 - ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR POR MTT**

A técnica que utiliza o reagente MTT [Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolina] é um ensaio que determina a viabilidade celular. O MTT, de coloração amarela, quando incubado com células vivas comporta-se como substrato de enzimas (succinato desidrogenase) mitocondriais produzindo um composto de coloração azul chamado formazan. A formação do formazan indica o funcionamento da cadeia respiratória, ou seja, a viabilidade celular (PERES, 2008; MOSMANN, 1983).

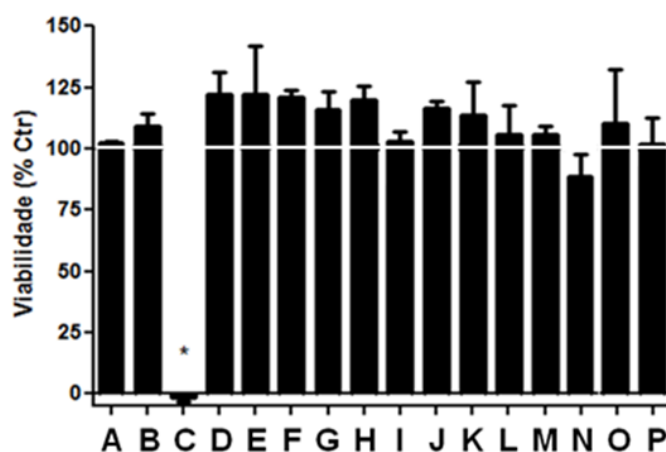
As células mononucleares (PBMC) foram incubadas em placas de 96 poços (1,2 x 10<sup>5</sup> células, em volume final de 200 µL/poço) com a amida natural (**69**) e os derivados **89**, **90**, **105**, **106**, **108a-c** nas maiores concentrações utilizadas nos ensaios de inibição de crescimento anteriores.

As células incubadas apenas com o meio de cultura RPMI 10% SFB foram classificadas como o controle negativo (CN). As células incubadas com o meio de cultura e Triton x-100 (detergente capaz de romper a membrana celular e liberar o material intracelular na forma solúvel) foram classificadas como o controle positivo (CP). Já as células incubadas com o meio de cultura em DMSO 1% foram classificadas como o controle do solvente (CS).

Após o período de incubação de 24 horas a temperatura de 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> a 5% foram adicionados a cada poço 50 µg de MTT diluído em RPMI - ajustando o volume total para 200 µL. Os poços foram incubados por mais 4 horas a 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> a 5% para o MTT sofrer metabolização e produzir o formazan.

Para solubilizar e revelar o formazan gerado foram adicionados 100 µL de solução de SDS 10% (dodecil-sulfato em água destilada) e após o período de incubação de 2 horas a temperatura de 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> 5% as placas foram lidas em espectrofotômetro (SpectraMax 190) a 570 nm. Os resultados foram expressos a partir da normalização dos dados de densidade ótica tomando como referência o grupo controle negativo (CN), que apresenta 100% de viabilidade celular.

Cada ensaio foi realizado em quintuplicata e repetido por três vezes (por doador). A média dos resultados de viabilidade celular encontra-se no gráfico contido na **Figura 35**. Todos os procedimentos foram realizados em condições estéreis utilizando-se capela de fluxo laminar, exceto para a contagem de células.



**Figura 35.** Gráfico da viabilidade de células mononucleares (PBMC) realizada pela técnica do MTT: A (Controle negativo, CN); B (Controle do solvente, CS); C (Controle positivo, CP); D (90µM, **69**); E (45µM, **69**); F (90µM, **89**); G (45µM, **89**); H (90µM, **90**); I (200µM, **105**); J (100µM, **106**); K (100µM, **108a**); L (50µM, **108a**); M (70µM, **108b**); N (35µM, **108b**); O (80µM, **108c**); P (40µM, **108c**).

#### 6.14.2.5 - EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS NEUTROS DE FUNGOS

A extração de lipídeos neutros das membranas celulares dos fungos *C. neoformans* tratados foi aplicada como descrito por FOLCH (1957) e RODRIGUES (2007), com algumas modificações. O objetivo principal desta técnica é verificar a

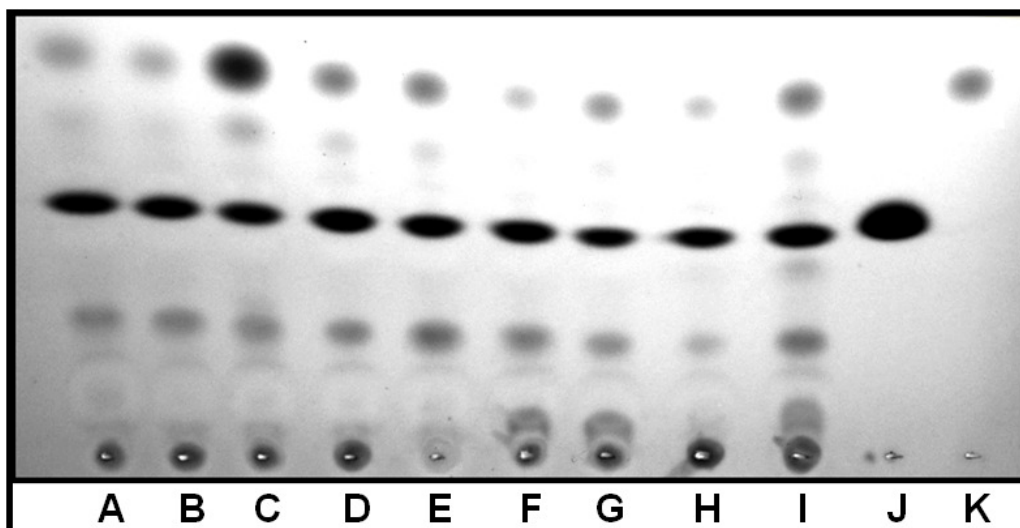


influencia dos analitos na biossíntese do ergosterol (**15**) a partir do lanosterol (**12**) contidos na membrana celular dos fungos.

Os fungos tratados foram lavados e centrifugados com solução de PBS por três vezes antes de iniciar a extração. Os mesmos foram suspensos em metanol e então o clorofórmio foi adicionado na proporção 1:2 (v/v). A mistura foi agitada por 2 horas e depois de centrifugado o sobrenadante foi retirado e os fungos novamente foram extraídos com mais duas outras misturas de solventes – clorofórmio:metanol 1:1 e 2:1 (v/v), respectivamente. Os sobrenadantes foram misturados e concentrados até a secura – em nitrogênio gasoso a temperatura ambiente. Já o precipitado, contendo os corpos celulares dos fungos, foi descartado.

Os extratos de cada tratamento foram submetidos à partição de acordo com o método de FOLCH (1957), que consiste em ressuspender a amostra em uma mistura de solvente composta por: clorofórmio: metanol: KCl(0,75%)(aq) na proporção 8:4:3 (v/v/v) (FOLCH, 1957). A fase inferior, mais densa (clorofórmio), contendo a maior parte dos lipídeos neutros, foi retirada com o auxílio de pipeta Pasteur e levada a secura com nitrogênio em outro tubo previamente esterilizado. O material resultante foi ressuspensionado em metanol e analisado por cromatografia em camada fina de alta performance (HPTLC) (Si 60 F<sub>254</sub>S; LiChrospher, Alemanha) conforme descrito, a seguir.

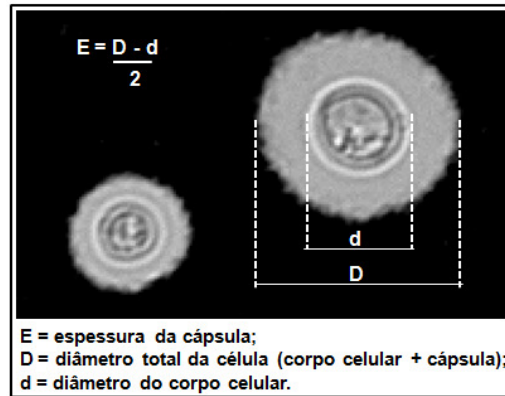
A identificação dos esteróides de membrana contidos nos extratos lipídicos resolvidos em placa de sílica (HPTLC) foi realizada como descrito por RODRIGUES (2007) utilizando soluções padrão de ergosterol (**15**) e lanosterol (**12**) identificados pelos seus respectivos fatores de retenção. A fase móvel utilizada foi a mistura de solventes: Hexano:éter etílico: ácido acético na seguinte proporção 80:40:2 (v/v/v). Após a corrida da fase móvel a placa foi borrifada com uma solução aquosa contendo 0,05%(m/v) de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>), 5%(v/v) de ácido acético (v/v) e 5%(v/v) de ácido sulfúrico. Em seguida a placa foi aquecida a 100°C por 3-5 minutos e os lipídeos foram identificados pelo fator de retenção das soluções padrão preparadas com ergosterol (**15**) e lanosterol (**12**). A identificação destes lipídeos nos analitos pode ser realizada pela comparação da densidade óptica de **15** e **12** (soluções padrão), em pixels, utilizando o software ImageJ (RODRIGUES, 2007). A **Figura 36** mostra a fotografia do experimento utilizando a placa HPTLC.



**Figura 36.** Fotografia da placa de sílica HPTLC resultante da extração de lipídeos dos fungos tratados em algumas condições: A (solvente DMSO 1%); B (Meio de cultura); C (**16**, Fluconazol 3 $\mu$ M); D (**105**, 25 $\mu$ M); E (**105**, 50 $\mu$ M); F (**106**, 25 $\mu$ M); G (**106**, 50 $\mu$ M); H (**90**, 25 $\mu$ M); I (**90**, 50 $\mu$ M); J (**15**, Padrão ergosterol); K (**12**, Padrão lanosterol – escurecido artificialmente).

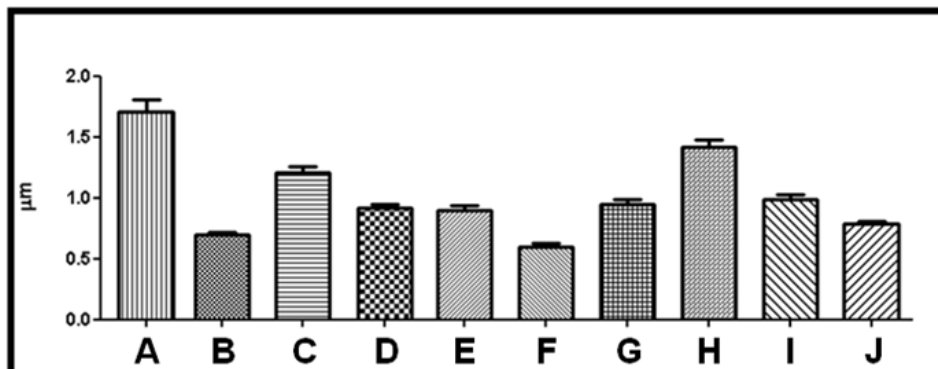
#### 6.14.2.6- DETERMINAÇÃO DA ESPESSURA DA CAPSULA POLISSACARÍDICA

A análise do tamanho das células e a influência na espessura das cápsulas do *C. neoformans* foram tratadas como descritas por ZARAGOZA (2004). As células previamente tratadas com os analitos foram fixadas com paraformaldeído 4%, lavadas com PBS, contra-coradas com uma suspensão de tinta nanquim e observadas no microscópio Axioplan 2 (Zeiss, Alemanha). Já as imagens foram obtidas usando a câmera digital color SX e processadas pelo software analySIS (Soft Image System). A espessura do polissacarídeo capsular de aproximadamente 200 células (cepa H99) foi definida como a diferença entre o diâmetro total da célula e o corpo celular utilizando o software ImageJ, como mostrado na **Figura 37**.

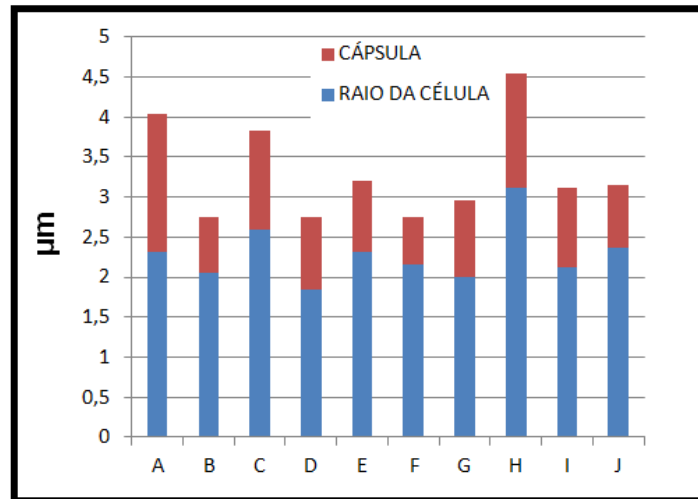


**Figura 37.** Fotografia de células de fungo *C. neoformans* contra-coradas com tinta nanquim e a expressão matemática usada para calcular a espessura da cápsula (E).

A **Figura 38** mostra o gráfico da média da espessura das cápsulas polissacarídicas, em  $\mu\text{m}$ , do *C. neoformans* em diferentes tratamentos, já a **Figura 39** mostra a relação entre o raio da célula (metade do diâmetro) e a espessura da cápsula.



**Figura 38.** Gráfico com a média das espessuras das cápsulas polissacarídicas das células de *C. neoformans* em diferentes tratamentos: A (solvente DMSO 1%); B (Sabouraud); C (Meio mínimo); D (16, Fluconazol  $3\mu\text{M}$ ); E (105,  $25\mu\text{M}$ ); F (105,  $50\mu\text{M}$ ); G (106,  $25\mu\text{M}$ ); H (106,  $50\mu\text{M}$ ); I (90,  $25\mu\text{M}$ ); J (90,  $50\mu\text{M}$ ).



**Figura 39.** Relação entre a média das espessuras das cápsulas polissacarídicas e o raio das células de *C. neoformans* em diferentes tratamentos: A (solvente DMSO 1%); B (Sabouraud); C (Meio mínimo); D (**16**, Fluconazol 3µM); E (**105**, 25µM); F (**105**, 50µM); G (**106**, 25µM); H (**106**, 50µM); I (**90**, 25µM); J (**90**, 50µM).

## 7- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, F.; NAGAFUJI, S.; OKAWA, M.; KINJO, J.; AKAHANE, H.; OGURA, T.; MARTINEZ-ALFARO, M. A.; REYES-CHILPA, R. Trypanocidal Constituents in Plants: Evaluation of some Mexican plants for their Trypanocidal activity and active constituents in the seeds of *Persea Americana*. *Biol. Pharm. Bull.* 28(7): 1314-1317, **2005**.

ABORAIA, A. S., ABDEL-RAHMAN, H. M. Novel 5-(2-hydroxyphenyl)-3-substituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives: Promising anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.* 14: 1236-1246, **2005**.

ABORAIA, A. S.; ABDEL-RAHMAN, H. M.; MAHFOUZ, N. M.; EL-GENDY, M. A. Novel 5-(2-hydroxyphenyl)-3-substituted-2,3-dihydro-1,3,4-oxadiazole-2-thione derivatives: Promising anticancer agents. *Bioorg. Med. Chem.* 14: 1236-1246, **2006**.

AGGARWAL, N.; KUMAR, R.; DUREJA, P.; KHURANA, J. M. Synthesis of novel nalidixic acid-based derivatives as potent antibacterial agents. *Chem. Biol. Drug. Des.* 79: 384-397, **2012**.

ALMASIRAD, A.; SHAFIEE, A.; ABDOLLAHI, M.; NOEPARAST, A.; SHAHROKHINEJAD, N.; VOUSOOGHI, N.; TABATABAI, S. A.; KHORASAMI, R. Synthesis and analgesic activity of new 1,3,4-oxadiazoles and 1,2,4-triazoles. *Med. Chem. Res.* 20: 435-442, **2011**.

ALMAZIRAD, A.; VOUSOOGHI, N.; TABATABAI, S. A. KEBRIAEEZADEH, A.; SHAFIEE, A. Synthesis, anticonvulsant and muscle relaxant activities of substituted 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole. *Acta. Chim. Slov.* 54: 317-324, **2007**.

AMIR, M.; SHIKHA, K. Synthesis and anti-inflammatory, analgesic, ulcerogenic and lipid peroxidation activities of some new 2-[(2,6-dichloroanilino)phenyl]acetic acid derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 39: 535-545, **2004**.

ANDERSON, T. M.; CLAY, M. C.; CIOFFI, A. G.; DIAZ, K. A.; HISAO, G. S.; TUTTLE, M. D.; NIEUWKOOP, A. J.; COMELLAS, G.; MARYUM, N.; WANG, S.; UNO, B. E.; WILDEMAN, E. L.; GONEN, T.; RIENSTRA, C. M.; BURKE, M. D. Amphotericin forms an extramembranous and fungicidal sterol sponge. *Nat. Chem. Biol.* 10: 400-406, **2014**.

ATAL, C. K.; ZUTSHI, U.; RAO, P. G. Scientific evidence on the role of ayurvedic herbals on bioavailability of drugs. *J. Ethnopharm.* 4(2): 229-232, **1981**.

BANO, G.; RAINA, R. K.; ZUTSHI, U.; BEDI, K. L.; JOHRI, R. K.; SHARMA, S. C. Effect of piperine on bioavailability and pharmacokinetics of propranolol and theophylline in healthy-volunteers. *Eur. J. Clin. Pharm.* 41(6): 615-617, **1991**.

BARCHIESI, F.; SCHIMIZZI, A. M.; NAJVAR, L. K.; BOCANEGRA, R.; CASELLI, F.; DI-CESARE, S.; GIANNINI, D.; DI-FRANCESCO, L. F.; GIACOMETTI, A.; CARLE, F.; SCALISE, G.; GRAYBILL, J. R. Interactions of posaconazole and flucytosine against *Cryptococcus neoformans*. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45(5): 1355-1359, **2001**.

BLICKE, F. F. The Mannich reactions. *Organic Reactions.* 1(10): 303-341, **1942**.

BRAMMER, K. W.; FARROW, P. R.; FAULKNER, J. K. Pharmacokinetics and tissue penetration of fluconazole in humans. *Rev. Infect. Dis.* 12(S3): 318-326, **1990**.

BRENER, Z., ANDRADE, Z. A. *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas. *Guanabara Koogan, Rio de Janeiro*, **1979**.

BUCHANAN, K. L.; MURPHY, J. W. What makes *Cryptococcus neoformans* a pathogen?. *Emerg. Infect. Dis.* 4(1): 71-83, **1998**.

BUSSE, O. Uber parasitare Zelleinschlusse und ihre Zuchtung. *Zentralbl. Bakteriol.* 16: 175-180, **1894**.

CASADEVALL, A.; CLEARE, W.; FELDMESSER, M.; GLATMAN-FREEDMAN, A.; GOLDMAN, D. L.; KOZEL, T. R.; LENDVAI, N.; MUKHERJEE, J. PIROFSKI, L. A.; RIVERA, J.; ROSAS, A. L.; SCHARFF, M. D. Characterization of murine monoclonal antibody to *Cryptococcus neoformans* polysaccharide that is a candidate for human therapeutic studies. *Antimicrob. Agents Chemother.* 42: 1437-1446, **1998**.

CASADEVALL, A.; PERFECT, J. R. *Cryptococcus Neoformans*. *ASM Press*. **1998**.

CASALINUOVO, I. A.; DI-FRANCESCO, P.; GARACI, E. Fluconazole resistance in *Candida albicans*: A review of mechanisms. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sc.* 8: 69-77, **2004**.

CHAGAS, C. Nova tripanozomíaze humana. “Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen. n. sp, agente etiológico de nova entidade mórbida do homem”. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1: 159-218, **1909**.

CHIOU, C.; GROLL, A.; WALSH, T. New drugs and novel targets for treatment of invasive fungal infections in patients with cancer. *Oncologist.* 5: 120-135, **2000**.

CHOI, J. Y.; PODUST, L. M.; ROUSH, W. R. Drug strategies targeting CYP51 in neglected tropical diseases. *Chem. Rev.* **2014** (no prelo; doi:10.1021/cr5003134)

COURA, J. R., VIÑAS, P. A. Chagas disease a new worldwide challenge. *Nature.* 465(7301): S6-7, **2010**.

COURNIA, Z.; ULLMANN, G. M.; SMITH, J. C. Differential effects of cholesterol, ergosterol and lanosterol on a dipalmitoyl phosphatidylcholine membrane: a molecular dynamics simulation study. *J. Phys. Chem.* 111: 1786-1801, **2007**.

DABIRI, M.; SALEHI, P.; BAGHBANZADEH, M.; BAHRAMNEJAD, M. A facile procedure for the one-pot synthesis of unsymmetrical 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazoles. *Tetrah. Lett.* 47(39): 6983-6986, **2006**.

DASH, S.; KUMAR, B. A.; SINGH, J.; MAITY, B. C.; MAITY, T. K. Synthesis of some novel 3,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazole derivatives and anticancer activity on EAC animal model. *Med. Chem. Res.* 20(8): 1206-1213, **2011**.

DE-SARRO, A.; LA-CAMERA, E.; FERA, M. T. New and investigational triazole agents for the treatment of invasive fungal infections. *J. Chemother.* 20: 661-671, **2008**.

DESAI, N. C.; DODIYA, A. M.; RAJPARA, K. M.; RUPALA, Y. M. Synthesis and antimicrobial screening of 1,3,4-oxadiazole and clubbed thiophene derivatives. *J. Sau. Chem. Soc.* 18: 255-261, **2014**.

DOCAMPO, R.; MORENO, S. N.; TURRENS, J. F.; KATZIN, A. M.; GONZALEZ-CAPPA, S. M.; STOPPANI, A. O. Biochemical and ultrastructural alterations produced by miconazole and econazole in *Trypanosoma cruzi*. *Mol. Biochem. Parasitol.* 3: 169-180, **1981**.

DONNICI, C. L.; NOGUEIRA, L. J.; ARAUJO, M. H.; OLIVEIRA, S. R. MAGALHÃES, T. F. F.; LOPES, M. T. P.; ARAUJO, A. C.; STOIANOFF, M. A. R. In vitro studies of the activity of dithiocarbamate organoruthenium complexes against clinically relevant fungal pathogens. *Molecules.* 19: 5402-5420, **2014**.

DUSCHAK, V.G.; COUTO, A. S. An Insight on Targets and Patented Drugs for Chemotherapy of Chagas Disease. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2: 19-51, **2007**.

EL-EMAM, A.; AL-DEEB, O.A.; AL-OMAR, M.; LEHMAN, J., Synthesis, antimicrobial, and anti-HIV activity of certain 5-(1-adamantyl)-3-substituted aminomethyl-1,3,4-oxadiazoline-2-thiones, *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 5107-5113, **2004**.

ELOY, F.; LENAERS, R. Synthèse d'amino-oxadiazoles-1,2,4. *Helv. Chim. Acta.* 49(4): 1430-1432, **1966**.



ESTRELA, J. L. V., GUEDES, R. N. C., MALTHA, C. R. A., FASOLIN, M. Toxicidade de amidas análogas à piperina a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart e *Spodoptera frugiperda*. *Neotrop. Entomol.* 32, 343, **2003**.

FAO. Food and Agriculture of the United Nations. Statistical Databases. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat>> Acesso em: 9 de janeiro de **2014**.

FERREIRA, C.; SOARES, D. C.; BARRETO-JUNIOR, C. B.; NASCIMENTO, M. T.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DELORENZI, J. C.; LIMA, M. E. F.; ATELLA, G. C.; FOLLY, E.; CARVALHO, T. M. Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on *Leishmania amazonensis*. *Phytochemistry.* 72: 2155-2164, **2011**.

FERREIRA, W. S., FRANKLIM, T. N., LOPES, N. D., DE LIMA, M. E. F. Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. *Rev. Vir. Quim.* 4(3): 208-224, **2012**.

FERREIRA, W. S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; SARAIVA, V. B.; ALISSON-SILVA, F.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O.; ECHEVARRIA, A.; LIMA, M. E. Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: chemical and biological studies. *Bioorg. Med. Chem.* 16(6): 2984-2991, **2008**.

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226: 497-509, **1957**.

FRANKLIM, T. N.; FREIRE-DE-LIMA, L.; DINIZ, J. N. S.; PREVIATO, J. O.; CASTRO, R. N.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; LIMA, M. E. F. Design, synthesis and trypanocidal evaluation of novel 1,2,4-triazoles-3-thiones derived from natural piperine. *Molecules.* 18: 6366-6382, **2013**.

FRASER, J. A.; GILES, S. S.; WENINK, E. C.; GEUNES-BOYER, S. G.; WRIGHT, J. R.; DIEZMANN, S.; ALLEN, A.; STAJICH, J. E.; DIETRICH, F. E.; PERFECT, J. R.; HEITMAN, J. Same-sex mating and origin of the Vancouver Island *Cryptococcus gattii* outbreak. *Nature.* 437: 1360-1364, **2005**.

FREITAS, J. J. R.; SILVA, E. E.; REGUEIRA, J. L. L. F.; DE-ALMEIDA, S. A.; CAVALCANTE, P. M. M.; OLIVEIRA, R. N.; FREITAS J. R. 1,2,4-oxadiazóis: Síntese e aplicações. *Rev. Vir. Quim.* 4(6): 670-691, **2012**.

FRIES, B. C.; GOLDMAN, D. L.; CHERNIAK, R.; JU, R.; CASADAVALL, A. Phenotypic Switching in *Cryptococcus neoformans*: Results in changes in cellular morphology and glucuronoxylomannan structure. *Infect. Immun.* 67(11): 6076-6083, **1999**.

GARCIA-HERMOSO, D.; JANBON, G.; DROMER, F. Epidemiological evidence for dormant *Cryptococcus neoformans* infection. *J. Clin. Microbiol.* 37: 3204-3209, **1999**.

GHANI, U.; ULLAH, N. New potent inhibitors of tyrosinase: Novel clues to binding of 1,3,4-oxadiazole-2(3*H*)-thiones, 1,3,4-oxadiazole-2-(3*H*)-thiones, 4-amino-1,2,4-triazole-5(4*H*)-thiones and substituted hydrazides to the dicopper active site. *Bioorg. Med. Chem.* 18: 4042-4048, **2010**.

GIRI, S.; SINGH, H.; YADAV, L. D. S. Studies in oxadiazoles: Synthesis of some 2-mercapto-1,3,4-oxadiazoles and related compounds as potential fungicides. *Agr. Biol. Chem.* 40(1): 17-21, **1976**.

GRECCO, S. S.; REIMÃO, J. Q.; TEMPONE, A. G.; SARTORELLI, P.; ROMOFF, P.; FERREIRA, M. J. P.; FAVERO, O. A.; LAGO, J. H. G. Isolation of an antileishmanial and antitrypanosomal flavanone from leaves of *Baccharis retusa*. *Prarasitol. Res.* 106: 1245-1248, **2010**.

GUIMARAES, C. R. W.; BOGER, D. L.; JORGENSEN, W. L. Elucidation of fatty acid amide hydrolase inhibition by potent  $\alpha$ -ketoheterocycle derivatives from Monte Carlo simulations. *J. Am. Chem. Soc.* 127(49): 17377-17384, **2005**.

GUPTA, S. K.; BANSAL, P.; BHARDWAJ, R. K.; VELPANDIAN, T. Comparative anti-nociceptive, anti-inflammatory and toxicity profile of nimesulide vs nimesulide and piperine combination. *Pharmacol. Res.* 41(6): 657-662, **2000**.

GURGEL-GONÇALVES, R., GALVÃO, C., COSTA, J., PETERSON, A. T. Geographic Distribution of Chagas Disease Vectors in Brazil Based on Ecological Niche Modeling. *J. Trop. Med.* 2012: 1-15, **2012**.

HAINES, T. H. Do sterols reduce proton and sodium leaks through lipid bilayers? *Prog. Lipid Res.* 40: 299-324, **2001**.

HARSANYI, K.; KISS, P.; KORBONITS, D.; MALYATA, I. R. The synthesis of an antitussive action derivative of 1,2,4-oxadiazole, 3-(2,2-diphenylethyl)-5-(2-piperidinoethyl)-1,2,4-oxadiazole. *Arzneim. Forsch.* 16 (5): 615-617, **1966**.

HULL, C. M.; HEITMAN, J. Genetics of *Cryptococcus neoformans*. *Annu. Rev. Genet.* 36: 557-615, **2002**.

IKAN, R. In: Natural Products: A Laboratory Guide, Academic Press, 2<sup>nd</sup> Edition: 233-238, **1991**.

IZUMI, E.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B. P.; VEIGA-JUNIOR, V. F.; NAKAMURA, C. V. Natural products and Chagas' disease: a review of plant compounds studied for activity against *Trypanosoma cruzi*. *Nat. Prod. Rep.* 28: 809-823, **2011**.

JAMES, N. D.; GROWCOTT, J. W. Zibotentan. *Drug. Fut.* 34(8): 624, **2009**.

KAPLANCIKLI, Z. A. Synthesis of some oxadiazole derivatives as new anticandidal agents. *Molecules.* 16: 7662-7671, **2011**.

JAYAKANTHAN, M.; CHANDRASEKAR, S.; MUTHUKUMARAN, J.; MATHUR, P. P. Analysis of CYP3A4-HIV-1 protease drugs interactions by computational methods for Highly Active Antiretroviral Therapy in HIV/AIDS. *J. Mol. Graphics Modell.* 28(5): 455-463, **2010**.

JOHRI, R. K.; THUSU, N.; KHAJURIA, A.; ZUTSHI, U. Piperine-mediated changes in the permeability of rat intestinal epithelial-cells the status of gamma-glutamyl transpeptidase activity, uptake of amino-acid and lipid-peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 43(7): 1401-1407, **1992**.

KANTHIAH, S.; KALUSALINGAM, A.; VELAYUTHAM, R.; VIMALA, A. T.; BEYATRICKS, J. 5-(2-aminophenyl)-1,3,4-oxadiazole-2(3H)-thione derivatives: synthesis, characterization and antimicrobial evaluation. *Int. J. Pharm. Sc. Rev. Res.* 6(1): 64-67, **2011**.

KAPIL, A. Piperine: a potent inhibitor of *Leishmania donovani* promastigotes *in vitro*, *Planta Medica.* 59: 474, **1993**.

KAPPE, C.O.; DALLINGER, D. Controlled microwave heating in modern organic synthesis: highlights from the 2004-2008 literature. *Molecular Diversity*, 13(2): 71-193, **2009**.

KATZ, R. L.; LUKEMAN, J. M. The comparative diagnostic accuracy of cancer-cell detection obtained with Ficoll-Hypaque gradient separation and standard centrifugation techniques on body-cavity fluids. *Amer. J. Clin. Pathol.* 74: 18-24, **1980**.

KOPARIR, M.; CETIN, A.; CANSIZ, A. 5-Furan-2yl[1,3,4]oxadiazole-2-thiol, 5-furan-2yl-4H[1,2,4]triazole-3-thiol and their thiol-thione tautomerism. *Molecules.* 10: 475-480, **2005**.

KOUL, S.; KOUL, J. L.; TANEJA, S. C.; DHAR, K. L.; JAMWAL, D. S.; SINGH, K.; REEN, R. R.; SINGH, J. Structure-activity relationship of piperine and its synthetic analogues for their inhibitory potentials of rat hepatic microsomal constitutive and inducible cytochrome P450 activities. *J. Bioorg. Med. Chem.* 8(1): 251-268, **2000**.

KUMAR, R.; KHOKARA, S. L. Chemistry and common synthetic route of 1,3,4-oxadiazole: Na important heterocyclic moiety in medicinal chemistry. *Int. J. Inst. Pharm. Life Sc.* 2(5): 126-143, **2012**.

LEPESHEVA, G. I.; VILLALTA, F.; WATERMAN, M. R. Targeting *Trypanosoma cruzi* Sterol 14 $\alpha$ -Demethylase (CYP51). *Advances in Parasitology*. 75: 65-87, **2011**.

LEPESHEVA, G. I.; WATERMAN, M. R. Sterol 14 $\alpha$ -Demethylase cytochrome P450 (CYP51), a P450 in all biological kingdoms. *Biochem. Biophys. Acta*. 1770: 467-477, **2007**.

LEPESHEVA, G. I.; ZAITSEYA, N. G.; NES, W. D.; ZHOU, W.; ARASE, M.; LIU, J. CYP51 from *Trypanosoma cruzi*: A phyla-specific residue in the B' helix defines substrate preferences of sterol 14- $\alpha$ -demethylase. *J. Biol. Chem.* 281: 3577-3585, **2006**.

LEUNG, D.; DU, W.; HARDOWIN, C.; CHENG, H.; HWANG, I.; CRAVATT, B. F.; BOGER, D. L. Discovery of an exceptionally potent and selective class of fatty acid amide hydrolase inhibitors enlisting proteome-wide selectivity screening: concurrent optimization of enzyme inhibitor potency and selectivity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15(5): 1423-1428, **2005**.

LIAO, J.; YANG, F.; ZHANG, L.; CHAI, X.; ZHAO, Q.; YU, S.; ZOU, Y.; MENG, Q.; WU, Q. Synthesis and biological evaluation of novel fluconazole analogues bearing 1,3,4-oxadiazole moiety as potent antifungal agents. *Arch. Pharm. Res.* 1-10, **2014**.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. *Curr. Med. Chem.* 12: 23-49, **2005**.

LIMA, J. S. S.; OLIVEIRA, R. B.; ROCHA, W.; OLIVEIRA, P. C.; UARTEZANI, W. Z. Análise espacial de atributos químicos do solo e da produção da cultura pimenta-do-reino (*Piper nigrum*). *Idesia* (Chile). 28(2): 31-39, **2010**.

LIN, Z. X.; HOULT, J. R. S.; BENNET, D. C.; RAMAN, A. Stimulation of mouse melanocyte proliferation by *Piper nigrum* fruit extract and its main alkaloid, piperine. *Planta Med.* 65(7): 600-603, **1999**.

LOURINHO, M. P.; COSTA, C. A. S.; SOUZA, L. C.; SOUZA, L. C.; NETOS, C. F. O. Conjuntura da pimenta do reino no mercado nacional e na região norte do Brasil. *Enc. Biosf.* 10(18): 1016-1031, **2014**.

LUIZE, P. S.; UEDA-NAKAMURA, T.; DIAS-FILHO, B. P.; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, C. V. Activity of Neolignans isolated from *Piper regnellii* (Miq.) C. DC. var. *pallescens* (C. DC.) YUNCK against *Trypanosoma cruzi*. *Biol. Pharm. Bull.* 29(10): 2126-2130, **2006**.

MA, H.; MAY, R. C. Virulence in *Cryptococcus* Species. *Adv. Appl. Microbiol.* 67: 131-190, **2009**.

MA, L.; XIAO, Y.; LI, C.; XIE, Z. L.; LI, D. D.; WANG, Y. T.; MA, H. T.; ZHU, H. L.; WANG, M. H.; YE, Y. H. Synthesis and antioxidant activity of novel Mannich base of 1,3,4-oxadiazole derivatives possessing 1,4-benzodioxan. *Bioorg. Med. Chem.* 21(21): 6763-6770, **2013**.

MACAEV, F.; RUSU, G.; POGREBNOI, S.; GUDIMA, A.; STINGACI, E.; VLAD, L.; SHVETS, N.; KANDEMIRLI, F.; DIMOGLO, A.; REYNOLDS, R. Synthesis of novel 5-aryl-2-thio-1,3,4-oxadiazoles and the study of their structure-anti mycobacterial activities. *Bioorg. Med. Chem.* 13: 4842-4850, **2005**.

MARCH, J. Advanced Organic Chemistry-Reactions, Mecanism and Structure. *John Willey and Sons*. 3<sup>o</sup>ed: 388, 437-8, 1099, 1100 e 1101, **1985**.

MAYEKAR, A. N.; YATHIRAJAN, H. S.; NARAYANA, B.; SAROJINI, B. K.; KUMARI, N. S. Synthesis and antimicrobial studies on new substituted 1,3,4-oxadiazole derivatives bearing 6-bromonaphthalene moiety. *Int. J. Chem.* 2(1): 38-54, **2010**.

MBWAMBO, Z. H.; KAPINGU, M. C.; MOSHI, M. J.; MACHUMI, F.; APERS, S.; COS, P.; FERREIRA, D.; MARAIS, J. P.; VANDEN-BERGHE, D.; MAES, L.; VLIETINCK, A.; PIETERS, L. A. Antiparasitic activity of some xanthenes and

biflavonoids from the root bark of *Garcinia livingstonei*. *J. Nat. Prod.* 69(3): 369-372, **2006**.

MCFADDEN, D. C.; CASADEVALL, A. Capsule and melanin synthesis in *Cryptococcus neoformans*. *Med. Mycol.* 39: 19-30, **2001**.

MEANWELL, N. A. Synopsis of some recent tactical application of bioisosteres in drug design. *J. Med. Chem.* 54: 2529-2591, **2011**.

MEGHWAL, M.; GOSWAMI, T. K. *Piper nigrum* and Piperine: An update. *Phytother. Res.* 27(8): 1121-1130, **2013**.

MELO, J. L. R.; ECHEVARRIA, A. Sistemas enzimáticos de Tripanossomatídeos como Potenciais alvos quimioterápicos. *Rev. Virt. Quim.* 4(4): 374-392, **2012**.

MENDOZA, D. T.; URENA-GONZALEZ, L. D.; ORTEGA-BARRIA, E.; CAPSON, T. L.; RIOS, L. C. Five new cassane diterpenes from *Myrospermum frutescens* with activity against *Trypanosoma cruzi*. *J. Nat. Prod.* 66(7): 928-932, **2003**.

MITCHELL, T. G.; PERFECTS, J. R. Cryptococcosis in the era of AIDS-100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. *Clin. Microbiol. Rev.* 8(4): 515-548, **1995**.

MORETTI, C.; SAUVAIN, M.; LAVAUD, C.; MASSIOT, G.; BRAVO, J. A.; MUÑOZ, V. A novel antiprotozoal aminosteroid from *Saracha punctata*. *J. Nat. Prod.* 61: 1390-1393, **1998**.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay. *J. Immun. Meth.* 65(1): 55-63, **1983**.

NAVEENA, C. S.; BOJA, P.; KUMARI, N. S. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of some disubstituted 1,3,4-oxadiazoles carrying 2-(aryloxymethyl)phenyl moiety. *Eur. J. Med. Chem.* 45: 4708-4719, **2010**.

NOBREGA, A. A.; GARCIA, M. H.; TATTOO, E.; OBARA, M. T.; COSTA, E.; SOBEL, J.; ARAUJO, W. N. Oral transmission of Chagas disease by consumption of açai palm fruit, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 15(4): 653-655, **2009**.

OGATA, M.; ATOBE, H.; KUSHIDA, H.; YAMAOTO, K. In vitro sensitivity of mycoplasmas isolated from various animals and sewage to antibiotics and nitrofurans. *J. Antibiot.* 24: 443-451, **1971**.

OLIVEIRA, C. S.; LIRA, B. F.; BARBOSA-FILHO, J. M.; LORENZO, J. G. F.; ATHAYDE-FILHO, P. F. Synthetic approaches and pharmacological activity of 1,3,4-oxadiazoles: A review of the literature from 2000-2012. *Molecules*. 17: 10192-10231, **2012**.

OLIVEIRA, R. G.; ALENCAR-FILHO, E. B.; VASCONCELLOS, M. L. A. A. A influencia da piperina na biodisponibilidade de fármacos: Uma abordagem molecular. *Quim. Nova*. 37(1): 69-73, **2014**.

PARMAR, V. S., JAIN, S. C., BISHT, K. S., JAIN., TANEJA, P., JHA, A., TYAGI, O. D., PRASAD, A. K., WENGEL, J., OLSEN, C. E., BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochem.* 46(4): 597-673, **1997**.

PASSOS L. A. C.; GUARALDO, A. M. A.; BARBOSA, R. L.; DIAS, V. L.; PEREIRA, K. S.; SCHMIDT. F. L.; FRANCO, R. M. B.; ALVES, D. P. Sobrevivência e infectividade do *Trypanosoma cruzi* na polpa de açai: estudo *in vitro* e *in vivo*. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 21(2): 223-232, **2012**.

PENA-DIAZ, J.; MONTALVETTI, A.; FLORES, C. L.; CONSTAN, A.; HURTADO-GUERRO, R.; DE SOLZA, W. Mitochondrial localization of the mevalonate pathway enzyme 3-Hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase in the Trypanosomatidae. *Mol. Biol. Cell*. 15: 1356-1363, **2004**.



PERES, L. A. B.; DELFINO, V. D. A.; MOCELIN, A. J.; TUTIDA, L. A.; FAVERO, M. E.; MATSUO, T. Padronização do teste do MTT em modelo de preservação a frio como instrumento de avaliação da viabilidade celular renal. *J. Bras. Nefrol.* 30(1): 48-53, **2008**.

PETRIKKOS, G.; SKIADA, A. Recent advances in anti-fungal chemotherapy. *Int. J. Anti-microb. Agents.* 30: 108-117, **2007**.

PINAZO, M. J.; ESPINOSA, G.; GALLEGO, M.; LOPES-CHEJADE, P. L.; URBINA, J. A.; GASCON, J. Successful treatment with posaconazol of a patient with chronic Chagas disease and systemic lupus erythematosus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82: 583-587, **2010**.

PINTO, E.; AFONSO, C.; DUARTE, S.; VALE-SILVA, L.; COSTA, E.; SOUSA, E.; PINTO, M. Antifungal activity of xanthenes: evaluation of their effect on ergosterol biosynthesis by high-performance liquid chromatography. *Chem. Biol. Drug. Des.* 77(3): 212-222, **2011**.

PLATEL, K.; SRINIVASAN, K. Influence of dietary spices or their active principles on pancreatic digestive enzymes in albino rats. *Nahrung.* 44(1): 42-46, **2000**.

RAAY, B.; MEDDA, S.; MUKHOPADHYAY, S. BASU, M. K. Targetin of piperine intercalated in mannose-coated liposomes in experimental leishmaniasis. *Indian J. Biochem. Biopharmacol.* 36(4): 248-251, **1999**.

RAJAPAKNE, H. A.; ZHU, H.; YOUNG, M. B.; MOTT, B. T. A mild and efficient one pot synthesis of 1,3,4-oxadiazoles from carboxylic acids and acyl hidrazides. *Tetrahedron Lett.* 47: 4827-4830, **2006**.

RAMAPRASAD, G. C.; KALLURAYA, B.; KUMAR, B. S.; HUNNUR, R. K. Synthesis and biological property of some novel 1,3,4-oxadiazoles. *Eur. J. Med. Chem.* 45: 4587-4593, **2010**.

RANE, R. A.; GUTTE, S. D.; SAHU, N. U. Synthesis and evaluation of novel 1,3,4-oxadiazole derivatives of marine bromopyrrole alkaloids as antimicrobial agent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 22: 6429-6432, **2012**.

REEN, R. K.; JAMWAL, D. S.; TANEJA, S. C.; KOUL, J. L.; DUBEY, R. K.; WIEBEL, F. J.; SINGH, J. Impairment of UDP-glucose dehydrogenase and glucuronidation activities in liver and small-intestine of rat and guinea-pig *in vivo* by piperine. *Biochem. Pharmacol.* 46(2): 229-238, **1993**.

RIBEIRO, T. S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; HEISE, N.; LIMA, M. E. F. Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigota and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 14: 3555-3558, **2004**.

RODIG, O. R., BELL-JR, D. E., CLARK, A. K. Organic Chemistry Laboratory, Standard and Microscale Experiments. *Saunders College Publishing.* 215, **1990**.

RODRIGUES, M. L.; NIMRICHTER, L.; OLIVEIRA, D. L.; FRASES, S.; MIRANDA, K.; ZARAGOZA, O.; ALVAREZ, M.; NAKOUZI, A.; FELDMESSER, M.; CASADEVALL, A. Vesicular polysaccharide export in *Cryptococcus neoformans* is a eukaryotic solution to the problem of fungal trans-cell wall transport. *Eukaryot Cell.* 6(1): 48-59, **2007**.

RUSSO, F and GHELARDONI, M. On various derivatives of 2-(o-ethoxy phenyl)-1,3,4-oxadiazole 5- mercapto-substituted. *Boll. Chim. Farm.* 106(12): 826-836, **1967**.

SABO, J. A.; ABDEL-RAHMAN, S. M. Voriconazole: A new triazole antifungal. *Ann. Pharmacother.* 34: 1032-1043, **2000**.

SAHIN, G.; PALASKA, E.; EKIZOGLU, M.; OZALP, M. Synthesis and antimicrobial activity of some 1,3,4-oxadiazole derivatives. *Il Farmaco.* 57: 539-542, **2002**.

SAITOH, M.; KUNITOMO, J.; KIMURA, E.; HAYASE, Y.; KOBAYASHI, H.; UCHIYAMA, N.; KAWAMOTO, T.; TANAKA, T.; MOL, C. D.; DOUGAN, D. R. Design, synthesis and structure-activity relationships of 1,3,4-oxadiazole derivatives as novel inhibitors of glycogen synthase kinase-3 $\beta$ . *Bioorg. Med. Chem.* 17: 2017-2029, **2009**.

SAVARIZ, F. C.; FORMAGIO, A. S. N.; BARBOSA, V. A.; FOGGIO, M. A.; CARVALHO, J. E.; DUARTE, M. C. T.; FILHO, B. P. D.; SARRAGIOTTO, M. H. Synthesis, antitumor and antimicrobial activity of novel 1-substituted phenyl-3-[3-alkylamino(methyl)-2-thioxo-1,3,4-oxadiazol-5-yl] $\beta$ -carboline derivatives. *J. Braz. Chem. Soc.* 21(2): 288-298, **2010**.

SCHELMAN, W. R.; LIU, G.; WILDING, G.; MORRIS, T.; PHUNG, D.; DREICER, R. A phase I study of Zibotentan (ZD4054) in patients with metastatic, castrate-resistant prostate cancer. *Invest. New Drugs.* 29(1): 118-125, **2011**.

SCHLECKER, R.; THIEME, P. C. The synthesis of antihypertensive 3-(1,3,4-oxadiazol-2-yl)-phenoxypropanolamines. *Tetrahedron.* 44: 3289-3294, **1988**.

SEMLER, U.; GROSS, G. G. Distribution of piperine in vegetative part of *Piper nigrum*. *Phytochem.* 27(5): 1566-1567, **1998**.

SHOBA, G.; JOY, D.; THANGAM, J.; MAJEED, M.; RAGENDRAN, R.; SRINIVAS, P. S. R. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica.* 64(4): 353-356, **1998**.

SIEGER, G.M.; BARRINGER, W.C.; KRUEGER, J.E.; Mannich Derivatives of Medicinals: Derivatives of Some Carbonic Anhydrase Inhibitors. *J. Med. Chem.* 14(2): 458-460, **1971**.

SILVA, E. F.; CANTO-CAVALHEIRO, M. M.; BRAZ, V. R.; CYSNE-FINKELSTEIN, L.; LEON, L. L.; ECHEVARRIA, A. Synthesis, and biological evaluation of new 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine derivatives against *Leishmania*

*amazonensis* promastigotes and amastigotes. *Eur. J. Med. Chem.* 37(12): 979-984, **2002**.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C.; Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. *Guanabara Koogan*. 5ªEd.: 3-39, **1994**.

SOUZA, W. Doenças negligenciadas. *Academia Brasileira de Ciências*. **2010**.

SRINIVASAN, K. Black pepper and its pungent principle-piperine: a review of diverse physiological effects. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 47(8): 735-48, **2007**.

STEENBERGEN, J. N.; CASADEVALL. A. The origin and maintenance for the human pathogenic fungus *Cryptococcus neoformans*. *Microbes Infect.* 5: 667-675, **2003**.

SUETH-SANTIAGO, V.; FRANKLIM. T. N.; DRUMOND, N. L.; LIMA, M. E. F. CYP51: Uma boa idéia? *Rer. Virt. Quim.* **2014 (aceito para publicação)**

TANOWITZ, H. B.; MONTGOMERY, S. P. Chagas disease has now gone global. *PLoS Neglected Tropical Diseases.* 5(4): e1136, **2011**.

TEMESGEN, Z. SIRAJ. D. S. Raltegravir: First in class HIV-integrase inhibitor. *Therap. Clin. Risk Manag.* 4: 493-500, **2008**.

TRAMONTINI, M. and ANGIOLINI, L. Further advances in the chemistry of mannich bases. *Tetrahedron.* 46(6): 1791-1837, **1990**.

URBINA, J. A. Chemotherapy of Chagas' disease: the how and the why. *J. Mol. Med.* 77:332-338, **1999**.

URBINA, J. A.; DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology.* 19(11): 495-501, **2003**.

VANDEPUTTE, P.; FERRARI, S.; COSTE, A. T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. *Int. J. Microbiol.* 2012: 1-26, **2012**.

VARDAN, S.; SMULYAN, H.; MOOKHERJEE, S.; EICH, R. Effects of tiodazosin, a new antihypertensive, hemodynamics and clinical variables. *Clin. Pharmacol. Ther.* 34 (3): 290-296, **1983**.

VEIGA-SANTOS, P.; BARRIAS, E. S.; SANTOS, J. F. C.; MOREIRA, T. L. B.; CARVALHO, T. M. U.; URBINA, J. A.; SOUZA W. Effects of aminodarone and posaconazole on the growth and ultrastructure of *Trypanosoma cruzi*. *Int. J. Antimic. Agents.* 40: 61-71, **2012**.

VENKATASAMY, R.; FAAS, L.; YOUNG, A. R.; RAMAN, A.; HIDER, R. C. Effects of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. *Bioorg. Med. Chem.* 12(8): 1905-1920, **2004**.

VIEGAS-JUNIOR, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. Molecular hybridization: A useful tool in the design of new drug prototypes. *Chem. Med. Chem.* 14(17): 1829-1852, **2007**.

VILCHEZ, R. A.; FUNG, J.; KUSNE, S. Cryptococcosis in organ transplant recipients: an overview. *Am. J. Transplant.* 2: 575-580, **2002**.

VOSOOGHI, M.; AKBARZADEH, T.; FALLAH, A.; FAZELI, M. R.; JAMALIFAR, H.; SHAFIEE, A. Synthesis of substituted 1,3,4-oxadiazole, 1,3,4-thiadiazole and 1,2,4-triazole derivatives as potential antimicrobial agents. *J. Sci. Islam. Repub. Iran.* 16: 145-151, **2005**.

XU, W.; HE, M.; HAN, F.; CHEN, X.; PAN, Z.; WANG, J.; TONG, M. Synthesis and antifungal activity of novel sulfone derivatives containing 1,3,4-oxadiazole moieties. *Molecules.* 16: 9129-9141, **2011**.

YOSHIDA, Y.; AOYAMA, Y.; NOSHIRO, M.; GOTOH, O. Sterol 14 $\alpha$ -Demethylase P450 (CYP51) provides a breakthrough for the discussion on the evolution of cytochrome P450 gene superfamily. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 273: 799-804, **2000**.

YOUNG, R. W.; WOOD, K. H. The cyclization of 3-acyldithiocarbamate Esters. *J. Am. Chem. Soc.* 77(2): 400-403, **1955**.

WANG, Y.; SAUER, D. R.; DJURIC, S. W. A simple and efficient one step synthesis of benzoxazoles and benzimidazoles from carboxylic acids. *Tetrahedron Lett.* 47: 105, **2006**.

WHO. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>. Acessado em 05/08/2014.

ZARAGOZA, O.; CASADEVALL, A. Experimental modulation of capsule size in *Cryptococcus neoformans*. *Biol. Proced. Online.* 6: 10-15, **2004**.

ZARAGOZA, O.; MIHU, C.; CASADEVALL, A.; NOSANCHUK, J. D. Effect of amphotericin B on capsule and cell size in *Cryptococcus neoformans* during murine infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 4358-4361, **2005**.

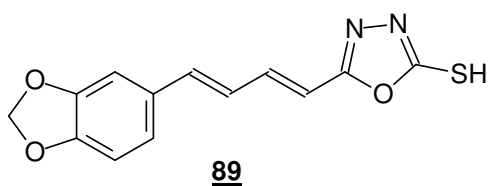
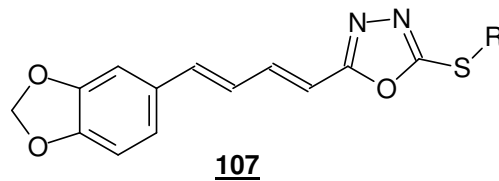
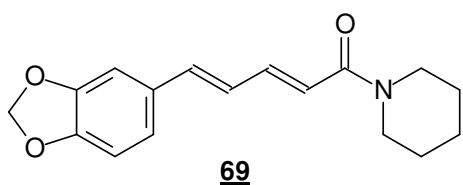
ZARAGOZA, O.; MES-ARANGO, A. C.; GOMES-LOPES, A.; BERNAL-MERTINEZ, L.; RODRIGUES-TUDELA, J. L.; CUENCA-ESTRELLA, M. Process analysis of variables for standardization of antifungal susceptibility testing of nonfermentative yeasts. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55(4): 1563-1570, **2011**.

ZHENG, Q. Z.; ZHANG, X. M.; XU, Y.; CHENG, K.; JIAO, Q. C. ZHU, H. L. Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of 2-chloropyridine derivatives possessing 1,3,4-oxadiazole moiety as potential antitumor agents. *Bioorg. Med. Chem.* 18(22): 7836-7841, **2010**.

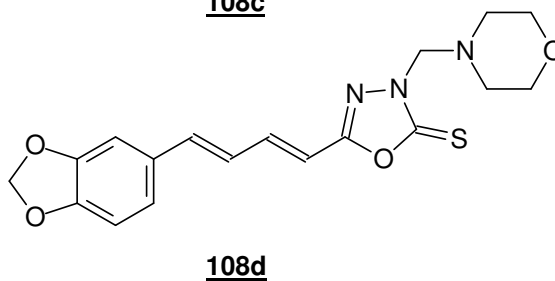
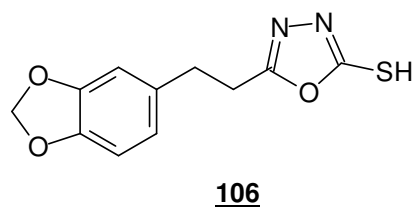
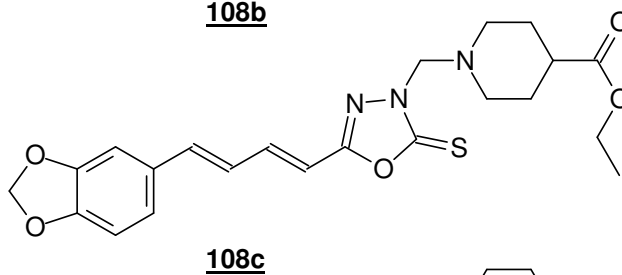
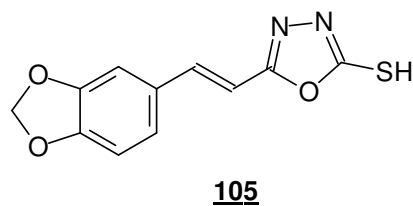
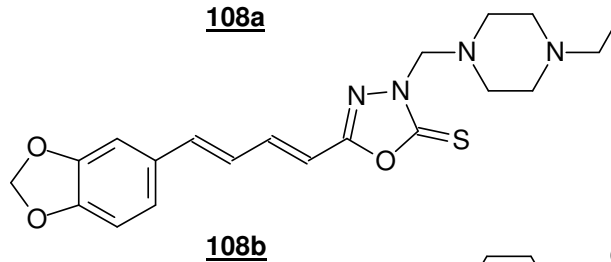
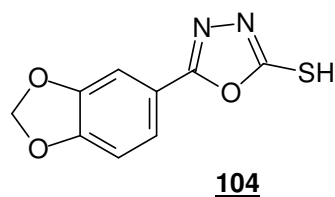
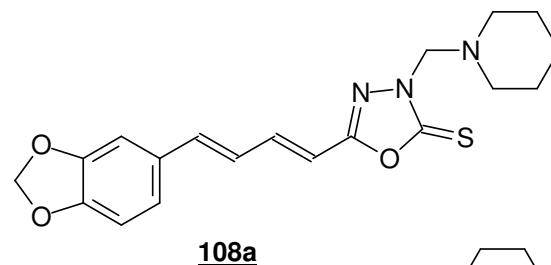
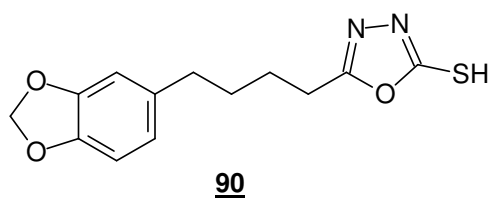
ZUGER, A.; LOUIE, E.; HOLZMAN, R. S.; SIMBERKOFF, M. S.; RAHAL, J. J. Cryptococcal disease in patients with AIDS: Diagnostic feature and outcome of treatment. *Ann. Int. Med.* 104: 240-244, **1986**.

## ANEXO 1: FÓRMULAS ESTRUTURAIS

### AMIDA NATURAL (**69**), DERIVADOS E ANÁLOGOS DA CLASSE DOS HETEROCICLOS 1,3,4-OXADIAZOL



**107a** = R = metil  
**107b** = R = etil  
**107c** = R = *i*-propil  
**107d** = R = alil  
**107e** = R = butil  
**107f** = R = hexil  
**107g** = R = ciclo-hexil  
**107h** = R = dodecil  
**107i** = R = benzil  
**107j** = R = *o*-cloro-benzil



## ANEXO 2: PRODUÇÃO CIENTÍFICA

### ANEXO 2.1: ARTIGO CIENTÍFICO (2012)



#### Artigo

### Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários

Ferreira, W. S.; Franklim, T. N.; Lopes, N. D.; de Lima, M. E. F.\*

Rev. Virtual Quim., 2012, 4 (3), 208-224. Data de publicação na Web: 2 de julho de 2012

<http://www.uff.br/rvq>

#### Piperine, its Analogues and Derivatives: Potencial as Antiparasitic Drugs

**Abstract:** This paper describes the importance and potentiality of natural piperine as precursor of new bioactive molecules. This natural product has the fruits of black pepper (*Piper nigrum*, Piperaceae) as its main source. We focused herein its potential antiparasitic activity against two important protozoa of the Trypanosomatidae family: *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas' disease; and *Leishmania sp.*, which involves a complex of protozoan responsible for leishmaniasis. These two diseases are responsible for different forms of severe clinical manifestations which can culminate in the death of affected patients. In addition, some aspects involving the accessibility of this natural product; extraction methods; as well as its biosynthesis are also discussed herein.

**Keywords:** Piperine; black pepper; Chagas' disease; leishmaniasis; natural products; antiparasitic drugs.

#### Resumo

Neste artigo encontram-se descritas a importância e a potencialidade da amida natural piperina, como precursora de novas moléculas com aplicação na modulação de fenômenos biológicos. A principal fonte de obtenção da piperina são os frutos da pimenta do reino (*Piper nigrum*, Piperaceae). Foi focalizado neste trabalho o potencial antiparasitário do produto natural, seus análogos e derivados frente a dois protozoários da família dos tripanossomatídeos, o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas; e a *Leishmania sp.*, que envolve um complexo de protozoários responsáveis pelas leishmanioses, que se apresentam em diferentes formas de manifestações clínicas severas, as quais podem culminar na morte dos pacientes infectados. Além disso, também são discutidos aqui aspectos envolvendo a acessibilidade ao produto natural, visto que o Brasil é um grande produtor de pimenta do reino; métodos de extração, bem como a sua biossíntese.

**Palavras-chave:** Piperina; pimenta do reino; doença de Chagas; leishmaniose; produtos naturais; fármacos antiparasitários.

\* Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas, BR 465 Km 07, CEP 23.890-000, Seropédica, RJ.

✉ [marco@ufrj.br](mailto:marco@ufrj.br)



ANEXO 2.2: CAPITULO DE LIVRO (2013)

**REVISTA VIRTUAL  
DE QUÍMICA:**  
DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

**SBQ** Sociedade Brasileira de Química

**FAPERJ**  
Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro

The cover features a hexagonal grid pattern. The central text is in a grey box. Below the title, there are several hexagonal images: a hand pointing to a chemical structure, a rack of test tubes, a hand holding a flask, a DNA helix, and a globe with viruses. The bottom of the cover has a blue background with chemical structures and a pen nib.

## SUMÁRIO

Atividade sinérgica entre terpenos obtidos do gênero <i>Copaifera</i> sobre o agente etiológico da Doença de Chagas.....	08
Atividade antileishmania e citotóxica in vitro de <i>Annona mucosa</i> .....	14
Estruturas-chaves na síntese de antirretrovirais.....	22
Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários.....	36
Sistemas enzimáticos de tripanossomatídeos como potenciais alvos quimioterápicos.....	52
Planejamento de fármacos na área de doença de Chagas: Avanços e desafios.....	68
A Hanseníase e a sua quimioterapia .....	90
Atividade antichagásica de lignanas e neolignanas.....	100
O uso de porfirinas em terapia fotodinâmica no tratamento da Leishmaniose Cutânea .....	108
A mata é sua farmácia .....	120
Toxoplasmose: perspectivas no estudo de novos alvos terapêuticos.....	130
Doença de Chagas: desafios no desenvolvimento de novas substâncias líderes tripanomicidas.....	148
A química medicinal de novas moléculas para o tratamento da Tuberculose.....	172

## Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários

Ferreira, W. S., Franklim, T. N., Lopes, N. D., e de Lima, M. E. F. \*

### Resumo

Neste artigo encontram-se descritas a importância e a potencialidade da amida natural piperina, como precursora de novas moléculas com aplicação na modulação de fenômenos biológicos. A principal fonte de obtenção da piperina são os frutos da pimenta do reino (*Piper nigrum*, Piperaceae). Foi focalizado neste trabalho o potencial antiparasitário do produto natural, seus análogos e derivados frente a dois protozoários da família dos tripanossomatídeos, o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas; e a *Leishmania* sp., que envolve um complexo de protozoários responsáveis pelas leishmanioses, que se apresentam em diferentes formas de manifestações clínicas severas, as quais podem culminar na morte dos pacientes infectados. Além disso, também são discutidos aqui aspectos envolvendo a acessibilidade ao produto natural, visto que o Brasil é um grande produtor de pimenta do reino; métodos de extração, bem como a sua biossíntese.

**Palavras-chave:** piperina; pimenta do reino; doença de Chagas; leishmaniose; produtos naturais; fármacos antiparasitários

### PIPERINE, ITS ANALOGUES AND DERIVATIVES: POTENTIAL AS ANTIPARASITIC DRUGS

### Abstract

This paper describes the importance and potentiality of natural piperine as precursor of new bioactive molecules. This natural product has the fruits of black pepper (*Piper nigrum*, Piperaceae) as its main source. We focused herein its potential antiparasitic activity against two important protozoa of the Trypanosomatidae family: *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas' disease; and *Leishmania* sp., which involves a complex of protozoan responsible for leishmaniasis. These two diseases are responsible for different forms of severe clinical manifestations which can culminate in the

death of affected patients. In addition, some aspects involving the accessibility of this natural product; extraction methods; as well as its biosynthesis are also discussed herein.

**Keywords:** piperine; black pepper; Chagas' disease; leishmaniasis; natural products, antiparasitic drugs

\* Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas. BR 465 Km 07 - 23.890-000 - Seropédica, RJ. (marco@ufrj.br).

### PIPERINA, SEUS ANÁLOGOS E DERIVADOS: POTENCIAL COMO ANTIPARASITÁRIOS

Welisson S. Ferreira,<sup>ab</sup> Tatiany N. Franklim,<sup>a</sup> Natália D. Lopes<sup>a</sup> e Marco Edilson F. de Lima<sup>ac</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Química, Instituto de Ciências Exatas. BR 465 Km 07 - 23.890-000 - Seropédica, RJ.

<sup>b</sup>Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, Unidade-sede. Av. Maracanã, 229 - 20271-110 - Maracanã, RJ.

<sup>c</sup>(marco@ufrj.br)

1. Introdução
2. Atividades biológicas da piperina
3. Metodologias de síntese para a piperina
4. Doenças negligenciadas
  - 4.1. Leishmaniose
  - 4.2. Doença de Chagas
5. Conclusões
6. Agradecimentos
7. Referências bibliográficas

