

**UFRRJ**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**DISSERTAÇÃO**

**SÍNTESE DE DERIVADOS DA AMIDA NATURAL PIPERINA  
E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA CONTRA  
LARVAS DE *Aedes aegypti***

**NATALIA DRUMOND LOPES**

**2011**



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

**SÍNTESE DE DERIVADOS DA AMIDA NATURAL PIPERINA E**  
**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INSETICIDA CONTRA LARVAS DE**  
*Aedes aegypti*

**NATALIA DRUMOND LOPES**

*Sob a orientação do professor*

**Dr. Marco Edilson Freire de Lima**

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências** em Química, na área de concentração de Química Orgânica

Seropédica, RJ

Agosto de 2011

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

**NATALIA DRUMOND LOPES**

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

Dissertação aprovada em 19 de agosto de 2011.

---

Prof<sup>o</sup> Dr. Marco Edilson Freire de Lima (Dep. de Química/ICE/UFRRJ)  
(Orientador e Presidente)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Rosane Nora Castro (Dep. de Química/ICE/UFRRJ)

---

Dr<sup>a</sup>. Denise Valle (IOC/FIOCRUZ)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Andressa E. de Souza dos Santos (Dep. de Química/ICE/UFRRJ)  
(Membro Suplente)

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico este trabalho a Deus; aos meus pais Heloiza e Miguel; aos meus irmãos Miguel Jr. e Ana Augusta; e ao meu filho João Pedro.**

*“O concurso científico é sempre útil,  
quando oriundo da consciência  
esclarecida e da sinceridade do  
coração.” Emmanuel*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder a vida e permitir que eu alcance mais um objetivo, completando mais uma etapa da minha vida acadêmica. Sem Ele, nada disso seria possível.

Agradeço a minha mãe que sempre me incentivou a estudar, assim como meu falecido pai, que para mim é o maior exemplo de esforço, dedicação, superação e conquista nos estudos.

Agradeço ao meu filho João Pedro por compreender minha ausência (se é que ele compreende) e por sempre conseguir arrancar um sorriso de mim, por mais que no momento pareça difícil.

Agradeço aos meus irmãos, tios, primos, amigos e demais familiares que sempre me apoiaram em todos os momentos de conflito pessoal e profissional.

Agradeço ao professor Marco Edilson, pela oportunidade concedida, por toda contribuição na minha formação científica, pela confiança depositada em mim, pela paciência, compreensão e amizade.

Agradeço aos professores da pós-graduação Rosane Nora, Carlos Maurício Sant'Anna, Victor Rumjaneck, Mário Geraldo de Carvalho, Cedric Gaebelin e Arthur Kummerlin, pelo conhecimento adquirido durante o curso de pós-graduação, por sempre me ajudarem, sem objeções, em todos os momentos que os solicitei.

Agradeço as amigas Juliana Torres e Tatiany Franklim, pelos longos momentos de convivência nos estudos ou no laboratório, pela compreensão, tolerância e enorme troca de conhecimentos e experiências. Construímos uma grande amizade.

Agradeço aos amigos do **LabQMed 48** e “agregados”, Welisson, Luiz Gustavo, Luiza, Fernanda, Aline, Fábio, Nilson, Fred, Paulo, Arthur Valbon, André Vinícius, por tornar os momentos no laboratório mais agradáveis, principalmente, ao alunos Thiago e Marco Aurélio que contribuíram na síntese das moléculas.

Agradeço a toda equipe do **Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores** da Fiocruz: Denise Valle, José Bento, Ademir Jr., Jutta, Diogo Bellinato, Gilberto, Simone, Mariana, Luciana Dias, Adriana Dias, Thiago Bellinato, Gabriela de Azambuja, Rafael Guedes, Luana Farnesi, Ignez e Sandrine pela oportunidade concedida para que eu realizasse os ensaios biológicos com as larvas de *Aedes aegypti*, pelo I Curso de Verão ministrado pelos alunos de pós-graduação, pela colaboração dos técnicos e alunos durante os ensaios realizados e por todo conhecimento adquirido sobre entomologia.

Agradeço aos amigos da **Prisma Química do Brasil**, antiga **Dye Chemical Solutions**: Dayana, Antônio Carlos (Toninho), Natália Monteiro, Diego, Oswaldo, Maurício, Sandra,

Jorge (Ginho) e todos os demais trabalhadores da produção pelo convívio, compreensão e incentivo para que eu completasse essa etapa.

Agradeço as amigas Luana, Andréia, Patrícia, Joana e agregados pela convivência na casa em que residimos.

Agradeço a todos técnicos e funcionários do PQ que contribuíram de alguma forma para este trabalho.

Agradeço aos amigos da pós-graduação pelo convívio.

Agradeço a **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro** por nos oferecer oportunidade de ensino, pesquisa e extensão, gratuitos e de qualidade. Além de oferecer também uma infra-estrutura com alojamento e “bandejão”, podendo incluir os alunos de baixa renda.

Agradeço a banca examinadora pelas críticas e sugestões dadas ao trabalho.

Agradeço a **CAPES** por conceder a bolsa.

Agradeço a todos que torcem pelo meu sucesso!

## RESUMO

LOPES, Natalia Drumond. **Síntese de derivados da amida natural piperina e avaliação da atividade inseticida contra larvas de *Aedes aegypti***. 2011. 89p. Dissertação (Mestrado em Química, Química Orgânica). Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Química. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2011.

Este trabalho está inserido numa linha de pesquisa que visa à utilização de produtos naturais abundantes e acessíveis como protótipo para síntese de novas moléculas com potencial atividade biológica. A piperina é a amida majoritária, extraída com altos rendimentos dos frutos secos de *Piper nigrum*. Estudos realizados pelo nosso grupo de pesquisa constataram atividade antiparasitária frente ao *Tripanosoma cruzi* para piperina e uma série de análogos (amidas, oxadiazólicos e mesiônicos) e atividade inseticida contra espécies de dípteros muscóides. Além disso, a literatura apresenta diversos análogos com atividade inseticida. Descrevemos aqui uma série de amidas derivadas da piperina substituindo o anel piperidínico por outras amidas cíclicas. Além de outra série com redução das insaturações da piperina e substituições no anel aromático. Todos os compostos foram caracterizados pelos métodos convencionais de análise IV, CG-EM e RMN e avaliados quanto à atividade inseticida frente a larvas de *Aedes aegypti* utilizando metodologia recomendada pela Organização Mundial de Saúde. Os resultados obtidos evidenciaram a tetraidropiperina (5-(benzo[d][1,3]dioxol-s-il)-1-(1-piperidinil)-pentamida) como a substância com melhor perfil de atividade. Os resultados são satisfatórios diante de outros produtos naturais com atividade larvicida encontrados na literatura.

**Palavras-chave:** piperina. inseticidas naturais. *Aedes aegypti*.



## ABSTRACT

LOPES, Natalia Drumond. **Synthesis of amide derivatives of natural piperine and evaluation of insecticidal activity against larvae of *Aedes aegypti***. 2011. 89p. Dissertação (Mestrado em Química, Química Orgânica). Instituto de Ciências Exatas. Departamento de Química. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2011.

This work is part of a research project which investigates the use of abundant and accessible natural products in the synthesis of new molecules with potential biological activity. Piperine is an amide extracted with high yields from the dry fruits of *Piper nigrum*. Recent studies, carried out in our laboratory, showed antiparasitic activity against *Trypanossoma cruzi* for piperine and for a series of its derivatives and analogues. Insecticidal activity against muscoid dipteran species was also observed, which had already been described in the literature for other piperine analogues. We describe the synthesis of a series of amide derivatives of piperine replacing the piperidine ring with other cyclic amides. We also describe another series developed by reduction of the double bonds of piperine together with reactions on the aromatic ring. All compounds were characterized by conventional methods of analysis (IR, NMR, GC-MS) and evaluated for their toxic effects against *Aedes aegypti* larvae through methodology recommended by the World Health Organization.

The results obtained show that tetrahydropiperine possesses the best activity profile. The results are satisfactory considering other natural products with larvicidal activity reported in the literature.

**Key-words:** piperine. Natural insectides. *Aedes aegypti*.

## LISTA DE ESPECTROS

<b>ESPECTRO 1:</b> Espectro no IV da piperina <b>1</b> .....	25
<b>ESPECTRO 2:</b> Espectro de massas da piperina <b>1</b> .....	25
<b>ESPECTRO 3:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da piperina <b>1</b> .....	26
<b>ESPECTRO 4:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da piperina <b>1</b> .....	26
<b>ESPECTRO 5:</b> Espectro no IV da amida 4-metil piperidinil <b>63</b> .....	29
<b>ESPECTRO 6:</b> Espectro de massas da amida 4-metil piperidinil <b>63</b> .....	30
<b>ESPECTRO 7:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida 4-metil piperidinil <b>63</b> ..	30
<b>ESPECTRO 8:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida 4-metil piperidinil <b>63</b> ..	31
<b>ESPECTRO 9:</b> Espectro no IV da amida 1-metil piperazinil <b>64</b> .....	32
<b>ESPECTRO 10:</b> Espectro de massas da amida 1-metil piperazinil <b>64</b> .....	33
<b>ESPECTRO 11:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida 1-metil piperazinil <b>64</b> ..	33
<b>ESPECTRO 12:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida 1-metil piperazinil <b>64</b> ..	34
<b>ESPECTRO 13:</b> Espectro no IV da amida pirrolidinil <b>65</b> .....	35
<b>ESPECTRO 14:</b> Espectro de massas da amida pirrolidinil <b>65</b> .....	36
<b>ESPECTRO 15:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida pirrolidinil <b>65</b> .....	36
<b>ESPECTRO 16:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, DMSO- <i>D</i> <sub>6</sub> ) da amida pirrolidinil <b>65</b> .....	37
<b>ESPECTRO 17:</b> Espectro no IV da amida hexametenaminil <b>66</b> .....	38
<b>ESPECTRO 18:</b> Espectro de massas da amida hexametenaminil <b>66</b> .....	39
<b>ESPECTRO 19:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida hexametenaminil <b>66</b> ..	39
<b>ESPECTRO 20:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida hexametenaminil <b>66</b> ..	40
<b>ESPECTRO 21:</b> Espectro no IV da amida morfolinil <b>67</b> .....	41
<b>ESPECTRO 22:</b> Espectro de massas da amida morfolinil <b>67</b> .....	42
<b>ESPECTRO 23:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida morfolinil <b>67</b> .....	42
<b>ESPECTRO 24:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida morfolinil <b>67</b> .....	43
<b>ESPECTRO 25:</b> Espectro no IV da amida tiomorfolinil <b>68</b> .....	44
<b>ESPECTRO 26:</b> Espectro de massas da amida tiomorfolinil <b>68</b> .....	45
<b>ESPECTRO 27:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida tiomorfolinil <b>68</b> .....	45
<b>ESPECTRO 28:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C (100 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) da amida tiomorfolinil <b>68</b> .....	46
<b>ESPECTRO 29:</b> Espectro no IV da anilida <b>69</b> .....	47
<b>ESPECTRO 30:</b> Espectro de massas da anilida <b>69</b> .....	48
<b>ESPECTRO 31:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, DMSO- <i>D</i> <sub>6</sub> ) da anilida <b>69</b> .....	48

<b>ESPECTRO 32:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, DMSO- $D_6$ ) da anilida <b>69</b> .....	<b>49</b>
<b>ESPECTRO 33:</b> Espectro no IV da amida <i>m</i> -anisidínil <b>70</b> .....	<b>50</b>
<b>ESPECTRO 34:</b> Espectro de massas da amida <i>m</i> -anisidínil <b>70</b> .....	<b>51</b>
<b>ESPECTRO 35:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da amida <i>m</i> -anisidínil <b>70</b> .....	<b>51</b>
<b>ESPECTRO 36:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da amida <i>m</i> -anisidínil <b>70</b> .....	<b>52</b>
<b>ESPECTRO 37:</b> Espectro no IV da amida fenil-piperazínil <b>71</b> .....	<b>53</b>
<b>ESPECTRO 38:</b> Espectro de massas da amida fenil-piperazínil <b>71</b> .....	<b>54</b>
<b>ESPECTRO 39:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da amida fenil-piperazínil <b>71</b> ....	<b>54</b>
<b>ESPECTRO 40:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da amida fenil-piperazínil <b>71</b> ...	<b>55</b>
<b>ESPECTRO 41:</b> Espectro no IV da tetraidropiperina <b>14</b> .....	<b>56</b>
<b>ESPECTRO 42:</b> Espectro de massas da tetraidropiperina <b>14</b> .....	<b>57</b>
<b>ESPECTRO 43:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da tetraidropiperina <b>14</b> .....	<b>57</b>
<b>ESPECTRO 44:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da tetraidropiperina <b>14</b> .....	<b>58</b>
<b>ESPECTRO 45:</b> Espectro no IV da 6-nitro-tetraidropiperina <b>18</b> .....	<b>60</b>
<b>ESPECTRO 46:</b> Espectro de massas da 6-nitro-tetraidropiperina <b>18</b> .....	<b>60</b>
<b>ESPECTRO 47:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da 6-nitro-tetraidropiperina <b>18</b> .	<b>61</b>
<b>ESPECTRO 48:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da 6-nitro-tetraidropiperina <b>18</b> .	<b>61</b>
<b>ESPECTRO 49:</b> Espectro no IV da 6-amino-tetraidropiperina <b>72</b> .....	<b>63</b>
<b>ESPECTRO 50:</b> Espectro de massas da 6-amino-tetraidropiperina <b>72</b> .....	<b>64</b>
<b>ESPECTRO 51:</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz, $\text{CDCl}_3$ ) da 6-amino-tetraidropiperina <b>72</b> .	<b>64</b>
<b>ESPECTRO 52:</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz, $\text{CDCl}_3$ )da 6-amino-tetraidropiperina <b>72</b> .	<b>65</b>

## LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1: Reação de produção do carbamato mundialmente conhecido como Sevin ....	13
ESQUEMA 2: Estratégia de síntese para preparação de novos derivados da série insaturada da piperina <u>1</u> .....	21
ESQUEMA 3: Estratégia de síntese para preparação de novos derivados da série saturada da piperina <u>1</u> .....	22
ESQUEMA 4: Reação de preparação do ácido piperínico <u>12</u> .....	27
ESQUEMA 5: Reação de preparação da amida 4-metil piperidinil <u>63</u> .....	29
ESQUEMA 6: Reação de preparação da amida 1-metil piperazinil <u>64</u> .....	32
ESQUEMA 7: Reação de preparação da amida pirrolidinil <u>65</u> .....	35
ESQUEMA 8: Reação de preparação da amida hexametilaminil <u>66</u> .....	38
ESQUEMA 9: Reação de preparação da amida morfolinil <u>67</u> .....	41
ESQUEMA 10: Reação de preparação da amida tiomorfolinil <u>68</u> .....	44
ESQUEMA 11: Reação de preparação da anilida <u>69</u> .....	47
ESQUEMA 12: Reação de preparação da amida <i>m</i> -anisidil <u>70</u> .....	50
ESQUEMA 13: Reação de preparação da amida fenil piperazinil <u>71</u> .....	53
ESQUEMA 14: Reação de preparação da tetraidropiperina <u>14</u> .....	56
ESQUEMA 15: Reação de preparação da 6-nitro-tetraidropiperina <u>18</u> .....	59
ESQUEMA 16: Reação de preparação da 6-amino-tetraidropiperina <u>72</u> .....	62
ESQUEMA 17: Proposta de fragmentação para a piperina <u>1</u> .....	70
ESQUEMA 18: Preparação das amidas da série insaturada .....	71
ESQUEMA 19: Proposta de mecanismo para metodologia do uso de Ph <sub>3</sub> P e TCICA .....	72
ESQUEMA 20: Mec. de formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila .....	72
ESQUEMA 21: Mecanismo de Substituição Nucleofílica Acíclica .....	73
ESQUEMA 22: Proposta de fragmentação para amida <u>66</u> .....	74
ESQUEMA 23: Proposta de fragmentação para tetraidropiperina <u>14</u> .....	75

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a piperina <b><u>1</u></b> .....	<b>27</b>
<b>TABELA 2:</b> Ponto de fusão e rendimento para amidas insaturadas sintetizadas.....	<b>28</b>
<b>TABELA 3:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>63</u></b> .....	<b>31</b>
<b>TABELA 4:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>64</u></b> .....	<b>34</b>
<b>TABELA 5:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>65</u></b> .....	<b>37</b>
<b>TABELA 6:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>66</u></b> .....	<b>40</b>
<b>TABELA 7:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>67</u></b> .....	<b>43</b>
<b>TABELA 8:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>68</u></b> .....	<b>46</b>
<b>TABELA 9:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>69</u></b> .....	<b>49</b>
<b>TABELA 10:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>70</u></b> .....	<b>52</b>
<b>TABELA 11:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para a amida <b><u>71</u></b> .....	<b>55</b>
<b>TABELA 12:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para <b><u>14</u></b> .....	<b>58</b>
<b>TABELA 13:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para <b><u>18</u></b> .....	<b>62</b>
<b>TABELA 14:</b> Deslocamento químico de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ para <b><u>72</u></b> .....	<b>65</b>
<b>TABELA 15:</b> Quantidades dos solventes das soluções-estoques das substâncias avaliadas no ensaio larvicida contra <i>Aedes aegypti</i> .....	<b>66</b>
<b>TABELA 16:</b> Resultados obtidos nos ensaios a 50 mg/L e 25 mg/L após 24h .....	<b>67</b>
<b>TABELA 17:</b> Dados obtidos de $\text{CL}_{50}$ e $\text{CL}_{90}$ para as substâncias <b><u>1</u></b> , <b><u>14</u></b> , <b><u>18</u></b> e <b><u>66</u></b> em larvas de <i>Aedes aegypti</i> após 24h.....	<b>77</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> Plantação de <i>Piper Nigrum L.</i> .....	<b>1</b>
<b>FIGURA 2:</b> Estrutura da piperina dividida por seus grupamentos funcionais .....	<b>2</b>
<b>FIGURA 3:</b> Estrutura das moléculas mais ativas contra cepa resistente de <i>S.aureus</i> .....	<b>3</b>
<b>FIGURA 4:</b> Estrutura dos ésteres de aminoácidos com atividade citotóxica contra linhagem de células de câncer humano.....	<b>4</b>
<b>FIGURA 5:</b> Amida do ácido piperínico com o éster metílico da valina .....	<b>4</b>
<b>FIGURA 6:</b> Piperina e derivados sintéticos avaliados contra <i>T.cruzi</i> .....	<b>5</b>
<b>FIGURA 7:</b> Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica contra o carcinoma de Ehrlich .....	<b>5</b>
<b>FIGURA 8:</b> Compostos mesiônico com atividade biológica contra <i>T.cruzi</i> .....	<b>6</b>
<b>FIGURA 9:</b> Substâncias avaliadas quanto a atividade inseticida contra <i>Lucilia cuprina</i> e <i>Musca domestica</i> .....	<b>6</b>
<b>FIGURA 10:</b> Amidas <i>N,N</i> -dissubstituídas que demonstraram maior atividade inseticida sobre <i>A.momste orseis L.</i> .....	<b>7</b>
<b>FIGURA 11:</b> Esquema da reação de obtenção das amidas avaliadas quanto atividade tóxica frente a larvas de <i>A.momste orseis L.</i> e <i>S.frugiperda</i> .....	<b>7</b>
<b>FIGURA 12:</b> <i>Aedes aegypti</i> , o mais importante vetor da dengue .....	<b>9</b>
<b>FIGURA 13:</b> Estrutura química do DDT .....	<b>11</b>
<b>FIGURA 14:</b> Estrutura química do Temephós .....	<b>12</b>
<b>FIGURA 15:</b> Estruturas químicas de compostos da classe dos organofosforados .....	<b>13</b>
<b>FIGURA 16:</b> Estrutura dos constituintes inseticidas do pireto .....	<b>15</b>
<b>FIGURA 17:</b> Comparação entre as estruturas da permetrina e deltametrina, ressaltando as diferenças estruturais .....	<b>15</b>
<b>FIGURA 18:</b> Novos piretróides da classe dos éteres de oxima com alta atividade inseticida	<b>16</b>
<b>FIGURA 19:</b> Estrutura química da nicotina, nornicotina e anabasina .....	<b>17</b>
<b>FIGURA 20:</b> Piperidinilamidas testadas contra fêmeas adultas de <i>Aedes aegypti</i> .....	<b>18</b>
<b>FIGURA 21:</b> Estruturas dos diterpenos isolados de <i>Pterodon polygalaeiflorus</i> .....	<b>18</b>
<b>FIGURA 22:</b> Aparelhagens de Soxhlet .....	<b>24</b>
<b>FIGURA 23:</b> Moléculas avaliadas quanto à atividade larvicida frente ao <i>Aedes aegypti</i> .....	<b>68</b>
<b>FIGURA 24:</b> Reator de microondas utilizado para síntese orgânica em laboratório .....	<b>71</b>

**FIGURA 25:** As curvas de regressão linear da mortalidade da cepa de *Rockfeller* de *Aedes aegypti* após 24h .....78

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BOD = *Biochemical Oxygen Demand*  
CCDA = Cromatografia de Camada Delgada Analítica  
CG-EM = Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectro de Massas  
CI<sub>50</sub> = Concentração Inibitória de 50%  
CL<sub>50</sub> = Concentração Letal de 50%  
d = duplete  
dd = duplo duplete  
DCM = Diclorometano  
DMSO = Dimetilsulfóxido  
Hz = Hertz  
IGF = Interconversão de Grupo Funcional  
IV = InfraVermelho  
J = constante de acoplamento  
m = multiplete  
m/z = razão massa-carga  
OMS = Organização Mundial da Saúde  
Pd/C = Paládio sobre Carbono  
Pf = Ponto de Fusão  
ppm = parte por milhão  
REA = Relação Estrutura-Atividade  
RMN <sup>1</sup>H = Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio  
RMN <sup>13</sup>C = Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13  
Rock = cepa suscetível *Rockefeller*  
s = sinpleto  
sl = sinpleto largo  
SNAc = Substituição Nucleofílica Acílica  
t = tripleto  
t.a. = temperatura ambiente  
THF = Tetrahydrofurano  
TMS = Tetrametilsilano  
UV = Ultra Violeta  
v = estiramento  
σ = dobramento  
δ = deslocamento químico



## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. O produto natural: Piperina.....	1
1.2. Estudos sobre atividades farmacológicas da piperina .....	2
1.3. Trabalhos envolvendo modificações estruturais na piperina .....	2
1.4. Atividade inseticida da piperina e derivados .....	6
1.5. A necessidade do uso de pesticidas .....	8
1.6. O dengue .....	8
1.7. <i>Aedes aegypti</i> .....	9
1.8. Controle de vetores .....	10
1.8.1. Controle por inseticidas químicos .....	10
1.8.1.1. Organoclorados .....	11
1.8.1.2. Organofosforados e Carbamatos .....	12
1.8.1.3. Inseticidas de origem vegetal .....	14
1.8.2. A busca por novos inseticidas naturais .....	16
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>20</b>
<b>3. ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE</b> .....	<b>21</b>
3.1. Estratégia de síntese para novas amidas da série insaturada, derivadas da piperina <b>1</b> .....	21
3.2. Estratégia de síntese para novas amidas da série saturada, derivadas da piperina <b>1</b> .....	22
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
4.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas .....	23
4.2. Nas análises, sínteses e purificações .....	23
4.3. Outros equipamentos .....	23
4.4. Isolamento da amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (piperina) ( <b>1</b> ) .....	24
4.5. Preparação das amidas da série insaturada .....	27
4.5.1. Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico (ácido piperínico) ( <b>12</b> ) .....	27
4.5.2. Metodologia geral para síntese das amidas <b>63</b> , <b>64</b> , <b>65</b> , <b>66</b> , <b>67</b> , <b>68</b> , <b>69</b> , <b>70</b> e <b>71</b> .....	28
4.5.2.1. Síntese da amida 4-metil piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>63</b> ) .....	29
4.5.2.2. Síntese da amida 1-metil piperazinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>64</b> ) .....	32

4.5.2.3. Síntese da amida pirrolidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>65</b> ) .....	35
4.5.2.4. Síntese da amida hexametilenaminil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>66</b> ) .....	38
4.5.2.5. Síntese da amida morfolinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>67</b> ) .....	41
4.5.2.6. Síntese da amida tiomorfolinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>68</b> ) .....	44
4.5.2.7. Síntese da anilida do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)pentadienóico( <b>69</b> ) .	47
4.5.2.8. Síntese da amida <i>meta</i> -anisidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>70</b> ) .....	50
4.5.2.9. Síntese da amida fenil-piperazinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico ( <b>71</b> ) .....	53
4.6. Preparação da série saturada .....	56
4.6.1. Preparação da tetraidropiperina (5-(benzo[d][1,3]dioxol-s-il)-1-(1-piperidinil)-pentamida ( <b>14</b> ) .....	56
4.6.2. Preparação da (6-nitro-5-(benzo[d][1,3]dioxol-s-il)-1-(1-piperidinil)-pentamida ( <b>18</b> ) .	59
4.6.3. Preparação da (6-amino-5-(benzo[d][1,3]dioxol-s-il)-1-(1-piperidinil)-pentamida( <b>72</b> ).62	
4.7. Ensaio inseticida contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	66
4.7.1. Preparo das soluções-estoques para ensaio larvicida.....	66
4.7.2. Montagem do ensaio.....	67
<b>5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS .....</b>	<b>69</b>
5.1. Isolamento da piperina dos frutos secos de <i>Piper nigrum</i> .....	69
5.2.Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E) pentadienóico (ácido piperínico) ( <b>12</b> ), intermediário na síntese das amidas, através da hidrólise alcalina da piperina .....	70
5.3. Síntese das amidas da série insaturada ( <b>63</b> , <b>64</b> , <b>65</b> , <b>66</b> , <b>67</b> , <b>68</b> , <b>69</b> , <b>70</b> e <b>71</b> ) .....	71
5.4. Síntese das amidas da série saturada ( <b>14</b> , <b>18</b> e <b>72</b> ) .....	75
5.4.1. Síntese da tetraidropiperina ( <b>14</b> ) .....	75
5.4.2. Síntese da nitropiperina hidrogenada ( <b>18</b> ) .....	75
5.4.3. Síntese da aminopiperina hidrogenada ( <b>72</b> ) .....	76
5.5. Ensaio inseticida contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> .....	77
<b>6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>79</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>80</b>

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. O produto natural: Piperina

A amida natural piperina **1** (*N*-piperidinil-5-(3,4-metilenodioxifenil)-2*E*-4*E*-pentadienamida) é o principal constituinte químico de *Piper nigrum* L. (Piperaceae), ocorrendo em maior proporção nos frutos da planta (Semler & Gross, 1988), e é conhecida popularmente como pimenta do reino. *Piper nigrum* L. (**Figura 1**) 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. Hoje, esta planta é cultivada em mais de 100 municípios nos Estados do Pará, Espírito Santo, Bahia, Maranhão, Ceará, Paraíba e, recentemente, no Estado do Amapá, alcançando o Brasil no ano de 2004 uma produção de 30.000 toneladas por hectare/ano (Duarte & Albuquerque, 2005).



**Figura 1:** Plantação de *Piper nigrum* L.

Outro ponto relevante em relação a este produto natural é a sua abundância, sendo extraído com rendimentos de cerca de 3-7%, a partir dos frutos secos da planta (Ikan, 1991). Além disso, devido à maior ocorrência da amida 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 no ano sem comprometer a planta.

No que diz respeito às propriedades físico-químicas da piperina, a molécula apresenta carbonos e hidrogênios, com duas funções éter e uma função amida *N,N*-di-substituída. Isso quer dizer que a molécula é quase apolar e, portanto, quase insolúvel em água. De fato, é solúvel em éter, álcool, clorofórmio e em solventes apolares. Para estruturas orgânicas complexas, é com frequência difícil prever a solubilidade, mas, de uma forma geral, quanto maior a cadeia carbônica e quanto menos grupos polares, menor é a sua solubilidade em solventes fortemente polares, como a água (Merck, 1996).

O estudo da piperina no meio científico, principalmente no que diz respeito às suas atividades biológicas é amplamente encontrado na literatura como podemos observar na revisão realizada por Singh & Duggal (2009).

## 1.2. Estudos sobre atividades farmacológicas da piperina

A piperina preenche os requisitos essenciais para utilização como molécula protótipo e/ou precursora para o desenvolvimento de novas drogas: abundância, presença em fonte renovável, fácil isolamento, variadas atividades biológicas constatadas, além de possuir funcionalidades possíveis de sofrerem variadas manipulações sintéticas (Ribeiro, 2004).

Existe um número extremamente vasto de trabalhos na literatura onde a piperina foi avaliada frente a diferentes modelos de atividade biológica. Alguns destes serão discutidos a seguir.

Em 2007, foi investigado o efeito antidepressivo da piperina em ratos expostos a um procedimento de estresse crônico suave. A administração da piperina foi repetida por 14 dias em doses de 2,5; 5 e 10 mg/Kg, sendo observada a inversão do estresse crônico induzido (Li *et al.*, 2007).

Outro trabalho encontrado na literatura trata do efeito anti-hipertensivo da piperina. Foi observado que a administração intravenosa de piperina em dosagens variando de 1 a 10 mg/Kg diminuiu a pressão arterial principal em ratos anestesiados a pressão normal. A dose elevada de 30 mg/Kg não causou nenhuma mudança da pressão arterial principal (Taqvi *et al.*, 2008).

Em 2009, foi induzida asma em ratos Balb/c por sensibilização com a ovalbumina. A piperina foi administrada oralmente (4,5 e 2,25 mg/Kg) cinco vezes por semana durante 8 semanas e verificou-se que os grupos tratados com piperina tinham suprimido a infiltração dos eosinófilos, inflamação das vias respiratórias alérgicas e estas ocorreram por supressão da produção de interleucina-4 e interleucina-5, imunoglobina E e histamina (Kim & Lee, 2009).

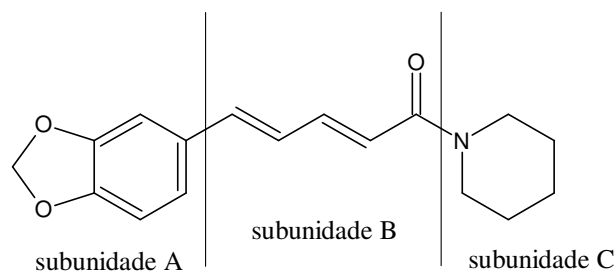
Encontram-se também na literatura trabalhos relacionados com a atividade antibacteriana desta amida natural, como por exemplo, o efeito inibitório da piperina em bactérias relacionadas à cárie e glucana na placa bacteriana *in vitro*. A piperina apresentou efeito inibitório maior que 40% sobre glucana solúvel (Li & Liu, 2008).

Em revisão recente descrita por Singh & Duggal (2009) encontram-se também trabalhos com atividade antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, hepatoprotetiva e inseticida.

## 1.3. Trabalhos envolvendo modificações estruturais na piperina

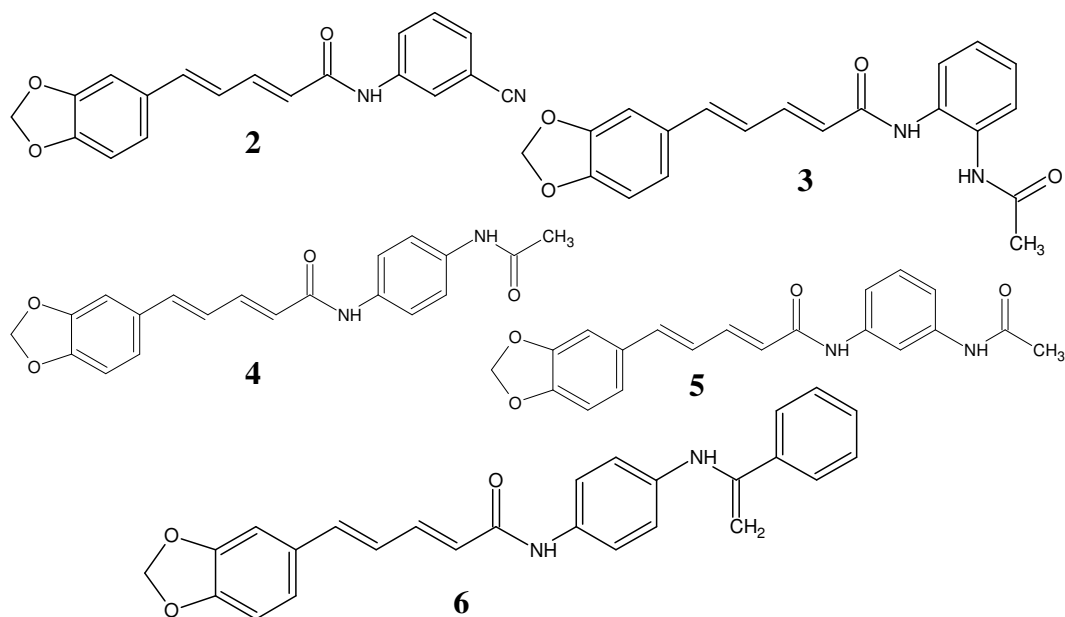
Além das diversas atividades biológicas associadas à piperina, entre estes trabalhos destacam-se alguns que, além de evidenciarem o efeito da piperina, mostraram também o efeito de derivados e análogos, visando traçar um perfil de relação estrutura-atividade (REA) para os modelos estudados.

A piperina é composta por um grupo 1,3-benzodioxol (subunidade A), ao lado de uma cadeia de ácido pentadienóico (subunidade B) e a porção amina piperidinil (subunidade C) (Figura 2).



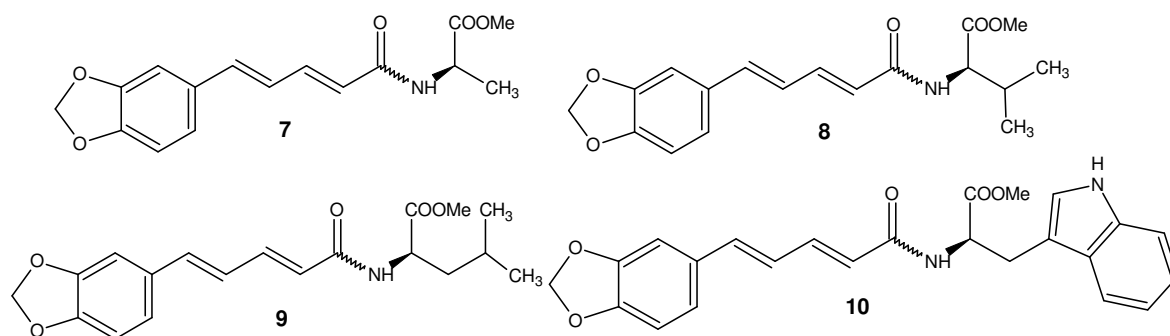
**Figura 2:** Estrutura da piperina dividida por seus grupamentos funcionais.

Em trabalho recente, foram realizadas modificações na subunidade C, substituindo o anel piperidínico por outras aminas alifáticas e aromáticas; avaliou-se a influência desses substituintes em co-administração com ciprofloxacina na atividade de bomba de efluxo global. Esta avaliação foi realizada frente à cepa resistente de *Staphylococcus aureus* 1199. As moléculas apresentadas na **Figura 3** reduziram a concentração inibitória mínima da ciprofloxacina em quatro vezes, com atividade comparável a outros inibidores da bomba de efluxo já descritos na literatura, por exemplo, reserpina, ácido cersônico e verapamil (Sangwan *et al.*, 2008).



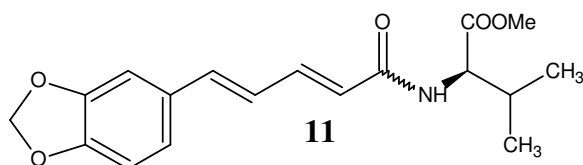
**Figura 3:** Estrutura das moléculas mais ativas contra a cepa resistente de *S. aureus* (Sangwan *et al.*, 2008).

Em 2010 também foram realizadas modificações estruturais na subunidade C (**Figura 2**), utilizando diversos ésteres de aminoácidos em acoplamento com a piperina; a atividade citotóxica destes novos derivados contra linhagens de células de câncer humano foi avaliada. Esses derivados sintetizados têm a vantagem de serem mais solúveis em água do que a piperina. Para os derivados que possuem metil **7**, isopropil **8** e isobutil **9** na cadeia lateral, como L-alanina, D-valina e L-leucina conjugados com a piperina, foi observada uma atividade citotóxica de 10-90%. Especialmente a molécula **10**, que possui um anel heterocíclico na cadeia lateral como a histidina, mostrou uma grande inibição de crescimento (91%) contra a linhagem de células de câncer de próstata DU-145; a  $CI_{50}$  foi de 21  $\mu$ M (Rao *et al.*, 2010) (**Figura 4**).



**Figura 4:** Estrutura dos ésteres de aminoácidos com atividade citotóxica contra linhagem e células de câncer humano (Rao *et al.*, 2010)

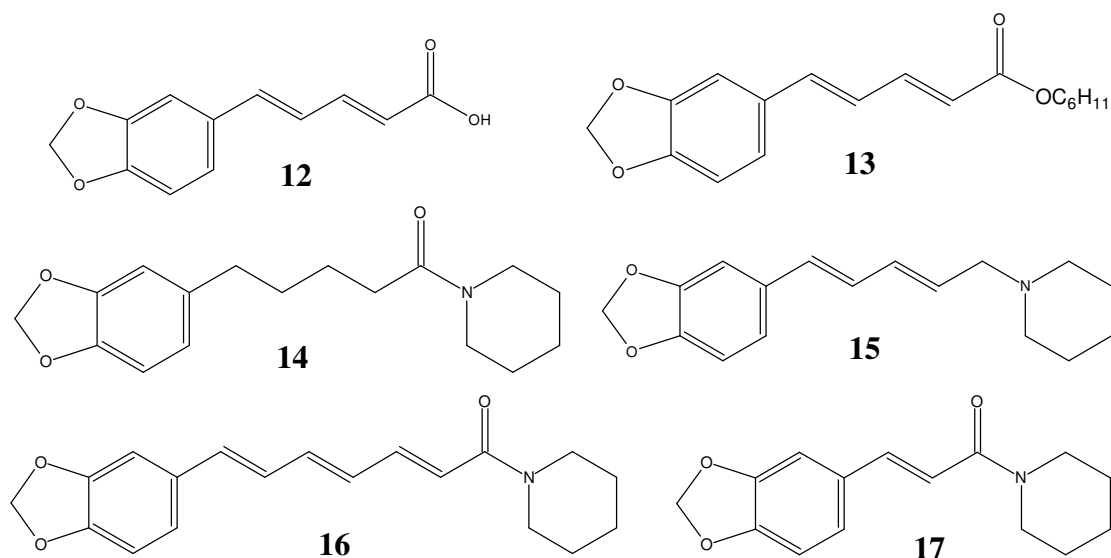
Em trabalho quimicamente similar ao descrito anteriormente foi sintetizada uma série de ésteres metílicos de aminoácidos acoplados à piperina, modificação na subunidade C, que foram avaliados quanto à atividade sobre formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania donovani*. Todos os compostos apresentaram maior atividade do que a piperina ou o éster de aminoácidos. Na **Figura 5** encontra-se a estrutura da amida do ácido piperínico com o éster metílico da valina **11**, que foi o composto mais ativo, apresentando  $CI_{50} = 0,075$  mM contra as formas amastigotas. Este composto foi posteriormente avaliado, *in vivo*, em hamsters (Singh *et al.*, 2010).



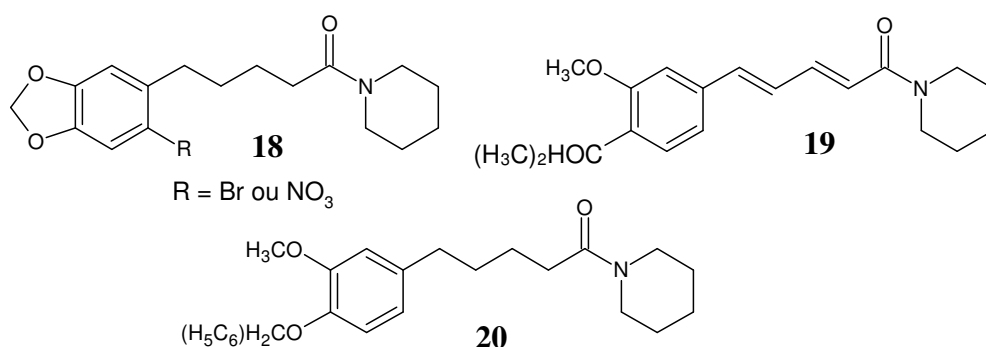
**Figura 5:** Amida do ácido piperínico com o éster metílico da valina (Singh *et al.*, 2010)

Em trabalho desenvolvido por nosso grupo em 2004, derivados da piperina **1**, alterando a subunidade C, foram sintetizados (**Figura 2, página 2**), gerando novas amidas; também foram introduzidas modificações na subunidade B, reduzindo as duplas ligações ou o grupamento carbonila e aumentando ou diminuindo a cadeia alifática. Esses derivados, apresentados na **Figura 6 (página 5)**, foram avaliados quanto à atividade antiparasitária contra *Trypanosoma cruzi*. A piperina **1** apresentou atividade antiparasitária contra formas epimastigotas com  $CI_{50} = 7,36$   $\mu$ M. Este resultado motivou a avaliação de outros derivados sintetizados. O ácido piperínico **12** e o éster derivado **13** não apresentaram atividade tóxica em dose máxima para formas epimastigotas, o que levou a concluir que a presença do nitrogênio é importante para atividade estudada (Ribeiro *et al.*, 2004).

Recentemente, nosso grupo de pesquisa, motivado por dados descritos na literatura, sobre a atividade antitumoral da piperina *in vitro* frente às culturas de células L929, linfoma de Dalton (DLA) e do carcinoma ascítico de Ehrlich (EAL) (Sunila & Kuttan, 2004), sintetizou uma série de análogos à amida natural, e investigou suas atividades citotóxicas frente ao carcinoma de Ehrlich. A **Figura 7 (página 5)** mostra as estruturas das amidas **18**, **19** e **20**, as mais ativas nas avaliações realizadas (Barreto-Junior, 2005; Pissinate, 2006).



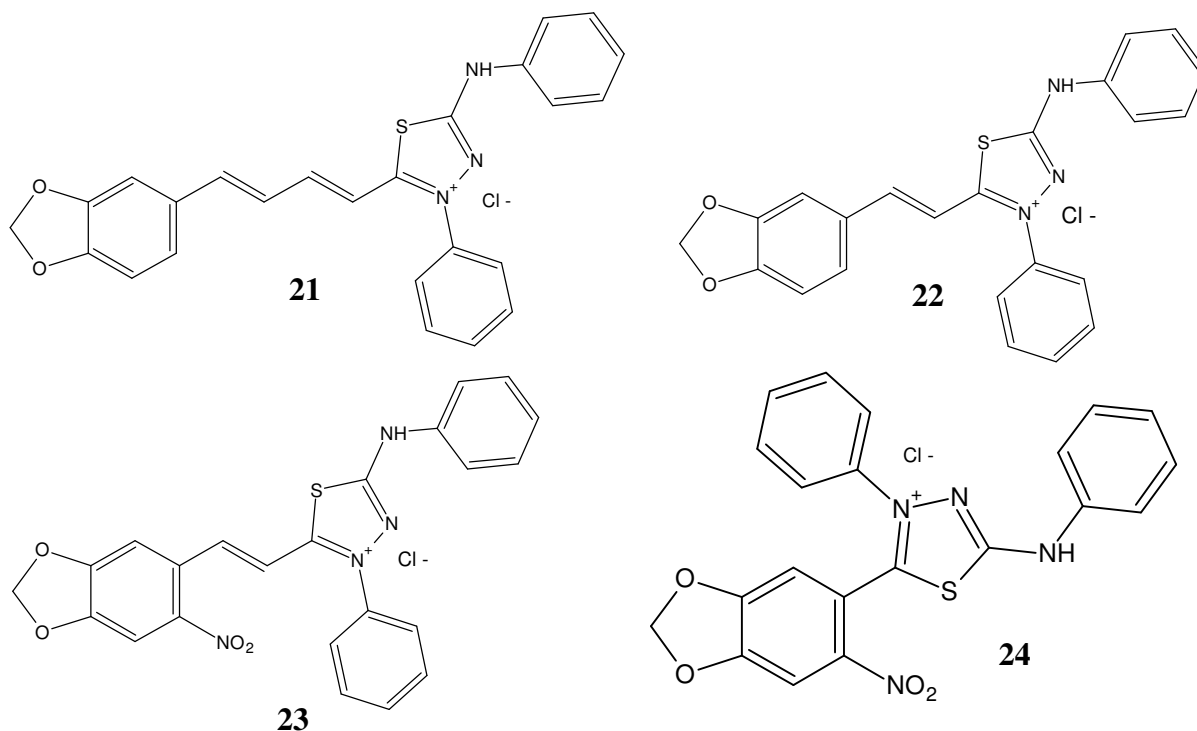
**Figura 6:** Piperina e derivados sintéticos avaliados contra *T.cruzi* (Ribeiro *et al.*, 2004)



**Figura 7:** Derivados e análogos da piperina que apresentaram maior atividade citotóxica contra o carcinoma de Ehrlich (Barreto-Junior, 2005; Pissinate, 2006).

Em trabalho recente, o provável mecanismo de ação antitumoral de amidas desta família foi descrito, agindo na inibição de histonas desacetilases (HDACs), enzimas que desempenham papel importante no processo de diferenciação celular (Luo *et al.*, 2011).

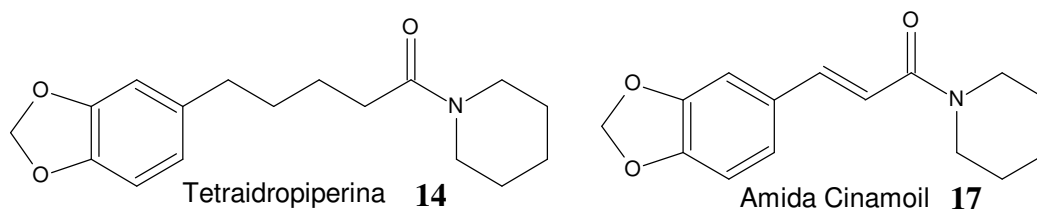
Ainda descrevendo trabalho desenvolvido por nosso grupo, em 2008 foi realizada a síntese de novos compostos mesiônicos do tipo cloretos de 1,3,4-tiodiazólico-2-fenilamina, derivados da piperina, combinando assim o mesiônico com a parte da amida natural, tendo em mente o conceito de hibridização molecular (Viegas-Júnior *et al.*, 2007), que é uma ferramenta útil na concepção de novos derivados bioativos. Os efeitos tóxicos desses compostos foram avaliados contra diferentes formas evolutivas de *Trypanosoma cruzi* e também contra células hospedeiras. Primeiramente, foi avaliado o efeito anti-proliferativo de nove derivados em formas epimastigotas de *T.cruzi*, tendo sido obtida  $CI_{50}$  entre 0,64 e 113,06  $\mu$ M. Os quatro derivados **21**, **22**, **23** e **24** que apresentaram melhores resultados foram avaliados contra macrófagos murinos; os resultados mostram um perfil mais seletivo para o derivado **24** (Figura 8) (Ferreira *et al.*, 2008).



**Figura 8:** Compostos mesiônicos com atividade biológica contra *T. cruzi*  
(Ferreira *et al.*, 2008)

#### 1.4. Atividade inseticida da piperina e derivados

A variedade de atividades biológicas exibidas pela piperina é bastante ampla. Tão antiga quanto a utilização de pimenta do reino como condimento é o conhecimento de suas propriedades inseticidas, que só foram cientificamente constatadas em 1924 (Scott & Mckibben, 1978). Desde então, várias pesquisas seguiram-se com o intuito de identificar as substâncias responsáveis por estas atividades. Em trabalho realizado por nosso grupo de pesquisa, foi avaliado o potencial da piperina **1**, da tetraidropiperina **14** e da amida cinamoil **17** (**Figura 9**) frente a duas espécies de dípteros muscóides, *Lucilia cuprina* e *Musca domestica*, apresentando atividade tóxica relevante para a tetraidropiperina, com  $CI_{50} = 16,25$  e  $7,65 \mu\text{g}/\text{mosca}$ , respectivamente, em 24 horas após o tratamento (Barbieri *et al.*, 2007).

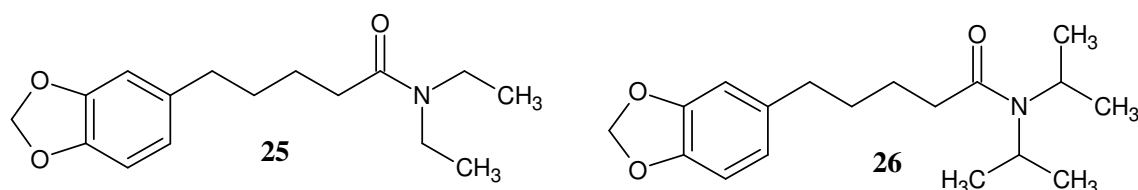


**Figura 9:** Substâncias avaliadas quanto à atividade inseticida contra *Lucilia cuprina* e *Musca domestica* (Barbieri *et al.*, 2007).

Em 2002, foi avaliada a atividade inibitória exibida por amidas isoladas de *Piper nigrum* contra larvas dos mosquitos *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti* e *Aedes togoi*, que são vetores de diversas doenças infecciosas, com resultados extremamente interessantes (Park *et al.*, 2002).

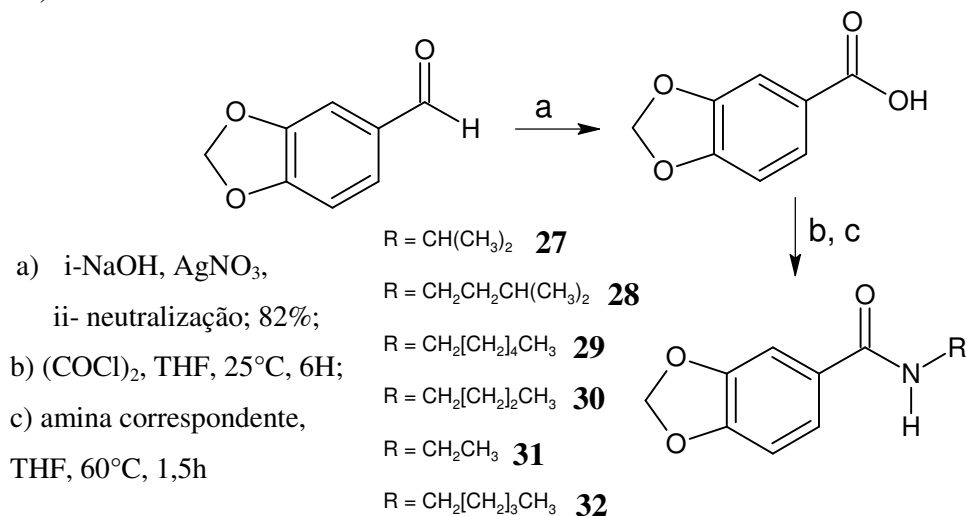


Em 2000, foi relatada a atividade inseticida da piperina **1** e de amidas análogas **25** e **26** (sintetizadas a partir da mesma) sobre diferentes espécies de insetos: *Ascia monuste orseis* Latr, *Acanthoscelides obstectus* Say, *Brevicoryne brassicae* L, *Protopolybia exigua* D e *Cornitermes cumulans* K. (**Figura 10**) (De Paula *et al.*, 2000).



**Figura 10:** Amidas *N,N*-dissubstituídas que demonstraram maior atividade inseticida sobre *A. monuste orseis* L. (De Paula *et al.*, 2000).

Em outro trabalho é apresentada a síntese e a avaliação da toxicidade das amidas **27**, **28**, **29**, **30**, **31** e **32**, análogas à piperina, frente a larvas de *Ascia monuste orseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (**Figura 11**). Nas faixas de concentração testadas para a amida *N*-isopropil (**27**), foram obtidos intervalos mais estreitos de resposta para *A. monuste orseis* variando de  $10^{-3}$  a 1 mg/ml; para *S. frugiperda* o intervalo de resposta variou de  $10^{-3}$  a 10 mg/ml. Dentre os compostos testados para ambas as espécies, a amida *N*-isopropil foi a que se mostrou mais promissora como inseticida, por ter se mostrado mais tóxica para as duas espécies avaliadas (Estrela *et al.*, 2003).



**Figura 11.** Esquema da reação de obtenção das amidas avaliadas quanto à atividade tóxica frente a larvas de *A. monuste orseis* e *S. frugiperda* (Estrela *et al.*, 2003).

A discussão a respeito dos inseticidas é de grande complexidade no meio científico, visto que homens e insetos competem, na maioria das vezes, pelos mesmos espaços e alimentos. O homem vem buscando formas de vencer esta competição. O meio mais utilizado tem sido o controle químico dos insetos, através do uso de substâncias de origem natural ou sintética, que apresentem efeitos tóxicos sobre o inseto. O grande perigo desta estratégia reside no fato de que, ao tentar envenenar seus adversários, o homem tem causado sérios danos a si próprio e ao planeta. Diante desta situação, pesquisadores acreditam que no futuro os inseticidas sintéticos serão substituídos pelos inseticidas originados de produtos naturais.

## 1.5. A necessidade do uso de pesticidas

A FAO (Food and Agriculture Organization), entidade que faz parte da estrutura da ONU (Organização das Nações Unidas) define os pesticidas como: “Qualquer substância ou mistura de substâncias destinadas a prevenir, destruir ou controlar pragas, incluindo vetores de enfermidades de animais e seres humanos que prejudiquem ou interfiram na produção, processamento, estocagem, transporte ou comercialização de alimentos, produtos agrícolas, madeira e produtos da madeira, ou rações para animais, ou aqueles que podem ser administrados em animais para controle de insetos, aracnídeos, ou outras pragas internas ou externas a seus corpos. O termo inclui substâncias destinadas ao uso como reguladores de crescimento de plantas, desfolhantes, dessecantes, agentes inibidores, ou agentes destinados a prevenir a queda prematura de frutas, e substâncias aplicadas a culturas, tanto antes como depois da colheita, para prevenir a deterioração durante a estocagem ou transporte” (Schneider & Moragas, 2003).

Ao longo de história, vários tipos de pragas, como insetos, ervas daninhas, bactérias, roedores, e outros organismos biológicos, aborreceram os humanos ou ameaçaram sua saúde. Pessoas têm usado pesticidas há milhares de anos tentando controlar estas pragas (Wheeler, 2002).

Os pesticidas são substâncias largamente utilizadas na agricultura e nos lares, pois à primeira vista pareceu ser a melhor solução, mas experiências mostraram que, ao longo do tempo, os insetos passaram a ser tolerantes ao tratamento intensivo com pesticidas. Podemos enumerar diversos fatores que têm servido de estímulo ao desenvolvimento de substâncias aplicáveis no controle químico dos insetos, dentre os quais destacam-se:

- A grande competição entre o homem e os insetos por alimentos, e as grandes perdas de produtividade em diversos tipos de culturas ao redor do mundo;
- As perdas de produtividade dos rebanhos devido à ação de insetos e outros parasitas hematófagos; a transmissão de inúmeras doenças e infecções tendo como vetores os insetos;
- O desenvolvimento de resistência por alguns insetos aos inseticidas disponíveis no mercado.

Deve-se destacar que o desenvolvimento e o uso de inseticidas representam gastos da ordem de bilhões de dólares num esforço de controlar os insetos (Hirata, 1995).

Dentre as doenças transmitidas por vetores, destacamos o dengue, transmitido pelo mosquito do gênero *Aedes*, que vem preocupando as autoridades sanitárias de todo mundo pela vasta distribuição nas regiões tropicais e subtropicais.

## 1.6. O dengue

O dengue caracteriza-se como uma doença febril aguda, que pode ser de curso benigno ou grave, dependendo da forma como se apresente: infecção inaparente, dengue clássico (DC), febre hemorrágica da dengue (FHD) ou síndrome do choque da dengue (SCD). Atualmente, é a mais importante arbovirose que afeta o ser humano e constitui sério problema de saúde pública no mundo (Guia de Vigilância Epidemiológica, Ministério da Saúde, 2005).

É uma doença transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo incriminadas várias espécies do subgênero *Stegomyia* (*Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Aedes polynesiensis*), nas quais o vírus foi encontrado *in natura* (Bancroft, 1906). O mais importante vetor de dengue, entretanto, é o *Aedes aegypti*. O *Aedes albopictus* é um vetor de importância secundária na Ásia (Braga & Valle, 2007). É uma infecção que vem preocupando as

autoridades sanitárias de todo o mundo, em virtude de sua circulação nos cinco continentes e grande potencial para assumir formas graves e letais.

No Brasil, há referências de epidemias de dengue em 1916, em São Paulo, e em 1923, em Niterói, sem diagnóstico laboratorial. A primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente ocorreu em 1981-1982, em Boa Vista - RR, causada pelos sorotipos 1 e 4. A partir de 1986, foram registradas epidemias em diversos estados, com a introdução do sorotipo 1. A introdução dos sorotipos 2 e 3 foi detectada no Rio de Janeiro, em 1990 e 2000, respectivamente. O sorotipo 3 apresentou rápida dispersão para 24 estados do país no período de 2001-2003. As maiores epidemias detectadas até o momento ocorreram nos anos de 1998 e 2002, com cerca de 530 mil e 800 mil casos notificados, respectivamente ([www.portal.saude.gov.br](http://www.portal.saude.gov.br)).

Segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde, até a semana epidemiológica 26 de 2011 (que corresponde ao período de 26/06 a 2/07/2011) foram notificados no Sistema Nacional de Agravos de Notificação-SINAN, 715.666 casos suspeitos de dengue. Nesse informe, são considerados como casos de dengue tanto as notificações já confirmadas como aquelas ainda sob investigação, por se tratarem de casos prováveis da doença ocorrida no Brasil ([www.portal.saude.gov.br](http://www.portal.saude.gov.br)).

Tanto *Ae. aegypti* quanto *Ae. albopictus* são importantes vetores de arbovírus para o homem. Ambas são espécies exóticas que chegaram ao continente americano após desenvolverem, em seus ambientes primários, grau significativo de sinantropia. Geralmente, a ocorrência de epidemias de dengue está diretamente relacionada com a presença e a densidade de seus vetores (Rodhain & Rosen, 1997).

### 1.7. *Aedes aegypti*

O *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) (**Figura 12**) é um mosquito originário da África, onde existem populações selvagens e domésticas. Originalmente descrito no Egito, o que lhe conferiu seu nome específico (*Aedes aegypti*), ele tem acompanhado o homem em sua permanente migração (Nelson, 1986).

O *Ae. aegypti* foi reconhecido como transmissor da febre amarela em 1881, por Carlos J. Finlay. Em 1906, Bancroft publicou as primeiras evidências de que o mosquito também era o vetor de dengue, fato posteriormente confirmado por Agramonte, em 1906, e por Simmons, em 1931 (Martinez, 1990). Provavelmente, esse vetor foi introduzido nas Américas a bordo de barcos vindos da Europa, que cruzavam o Atlântico durante as primeiras explorações e colonizações européias ao Novo Mundo (Bisset, 2002). Os primeiros registros de sua identificação em terras do Brasil foram em 1898, por Lutz, e em 1899, por Ribas (Franco, 1969).



**Figura 12.** *Aedes aegypti*, o mais importante vetor da dengue.

## 1.8. Controle de vetores

O controle do vetor é imprescindível para prevenir diversas doenças – entre as quais a dengue é o melhor exemplo – parte integrante de muitos programas de saúde, como os dirigidos à prevenção e controle da malária e das leishmanioses. O papel do controle de vetores em Saúde Pública é prevenir a infecção mediante o bloqueio ou redução da transmissão, sendo seus principais objetivos:

- Manejar os problemas existentes, como surtos, epidemias, alta mortalidade e alta morbidade.
- Prevenir epidemias ou a re-introdução de doenças.
- Reduzir os fatores de risco ambiental da transmissão.

Para que esses três objetivos sejam alcançados, é necessário contar com informações sobre o hospedeiro humano, a doença, o vetor e o ambiente; e dispor dos recursos necessários para aplicação oportuna (Braga *et al.*, 1999).

O controle efetivo dos vetores não pode depender de um só método. Ao contrário, deve-se dispor de várias alternativas, adequadas à realidade local, que permitam sua execução de forma integrada e seletiva.

O controle (ou manejo) integrado trata do planejamento unificado de controle, de acordo com as condições ambientais e a dinâmica populacional do vetor (Braga *et al.*, 1999).

São selecionados os métodos de controle apropriados se as populações do vetor são mantidas em níveis que não causam dano à saúde (Organización Panamericana de La Salud, 1995).

Os componentes do controle integrado de vetores incluem vigilância, redução da fonte (ou manejo ambiental), controle biológico, controle químico com uso de inseticidas e repelentes, armadilhas e manejo da resistência a inseticidas (Rose, 2001).

O manejo ambiental lança mão de medidas para eliminar o vetor ou seus focos, ou, ainda, para impedir o contato homem-vetor, como a eliminação de criadouros, a drenagem e a instalação de telas em portas e janelas. O controle biológico de mosquitos inclui o uso de vários predadores, invertebrados aquáticos (como *Toxorhynchites* ou copépodos) ou peixes (*Gambusia sp.* e outros) que comem larvas e pupas. Entre as medidas de controle biológico, também se encontram o uso de patógenos, como o fungo *Lagenidium giganteum*, e de parasitas, como os nemátodeos (*Romanomermis culicivorax* e *R. iyengari*) (Rose, 2001). Vários agentes de controle biológico apresentaram um bom potencial para suprimir populações de mosquitos, como o peixe predador *Gambusia affinis* (Hoy, 1985), as bactérias patogênicas *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti)(Mulla *et al.*, 1982) e *Bacillus sphaericus* (Bs)(Mulligan *et al.*, 1980) e o fungo patógeno *Metharizium anisopliae* (Scholte *et al.*, 2003)

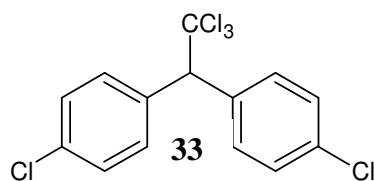
### 1.8.1. Controle por inseticidas químicos

O controle químico, com inseticidas de origem orgânica ou inorgânica, é uma das metodologias mais adotadas como parte do manejo sustentável e integrado para o controle de vetores em Saúde Pública (Rose, 2001).

O desenvolvimento de inseticidas que permanecem ativos por períodos longos foi um dos mais importantes avanços no controle de insetos acontecidos no século XX. O primeiro inseticida de efeito prolongado, ou propriedade residual, foi o [1,1,1-tricloro-2,2-bis-(p-clorofeniletano)] DDT **33**, (**Figura 13**), um organoclorado desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial que, quando aplicado em paredes e tetos de casas, permanecia ativo contra os insetos por vários meses (Lourenço-de-Oliveira *et al.*, 2003)

Sua produção foi incentivada pela indústria de álcalis (soda cáustica), que tinha como principal subproduto o gás cloro. Esse gás, quando livre na atmosfera, torna-se extremamente

indesejado, pois pode ser letal ao provocar asfixia e irritação das mucosas (Lara & Batista, 1992).



**Figura 13.** Estrutura química do DDT **33**.

Os outros compostos orgânicos pertencem, principalmente, aos grupos dos organofosforados, carbamatos ou piretróides. Todos esses grupos atuam sobre o sistema nervoso central dos insetos e têm sido usados nos programas de controle de doenças transmitidas por vetores (Palchick, 1996).

### 1.8.1.1. Organoclorados

Em 1940, Paul Mueller, da companhia suíça GEISY, observou que o DDT, sintetizado por Zeidler em 1874, era um potente inseticida. A sua pronunciada propriedade inseticida, aliada à baixa solubilidade em água, alta persistência e sua forma de ação, desconhecida até aquele momento, propiciou resultados verdadeiramente notáveis e seu uso rapidamente se expandiu. Durante a Segunda Guerra Mundial, na Itália, o DDT em pó foi pulverizado na pele da população para prevenir epidemias de tifo transmitidas por piolhos, que causavam alta mortalidade. Ele foi usado, também, em grandes áreas do globo terrestre para eliminar o mosquito vetor da malária (Flores *et al.*, 2004).

Em 1948, o entomologista suíço Paul Muller foi premiado com o Nobel de Medicina pela descoberta da utilidade do DDT no controle dos vetores de malária, febre amarela e muitas outras doenças ([ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm](http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm))

Mais tarde, o DDT foi utilizado no controle de pragas da agricultura, particularmente em colheitas com alto rendimento (Flores *et al.*, 2004).

Embora o modo de ação do inseticida nunca tenha sido claramente estabelecido, sabe-se que ele atua no canal de sódio, provavelmente mantendo-o aberto e destruindo o equilíbrio de íons sódio e potássio dos axônios, impedindo, assim, a transmissão normal de impulsos nervosos em insetos e mamíferos. Seu efeito é inversamente proporcional à temperatura: quanto mais baixa a temperatura, mais tóxico é o DDT para os insetos (Braga & Valle, 2007).

O problema surgiu quando o DDT, à semelhança de todos os organoclorados, teve sua eficácia reduzida, obrigando o uso de dosagens cada vez maiores. Por esse motivo, procurou-se desenvolver, em grandes laboratórios especializados, fórmulas que se caracterizassem por maior eficácia e maior biodegradabilidade (Flores *et al.*, 2004).

Embora o controle químico de pragas tenha reduzido o índice de doenças para homens e animais e incrementado a produção agrícola, estes agentes químicos podem permanecer ativos no meio ambiente por longos períodos, afetando os ecossistemas. Os efeitos desses agentes ao longo do tempo representam um grande risco para a saúde pública, sendo necessários o monitoramento e a vigilância desses produtos em águas, solos, alimentos e ar (Flores *et al.*, 2004).

A publicação de trabalhos relacionados ao DDT relatando a presença da substância no leite materno e sua associação com a ocorrência de câncer em humanos (Wolff *et al.*, 1993) fez com que a OMS encomendasse a um grupo de especialistas, reunidos em comitê, a revisão completa da literatura sobre o inseticida. As conclusões desse comitê, apresentadas em 1993,

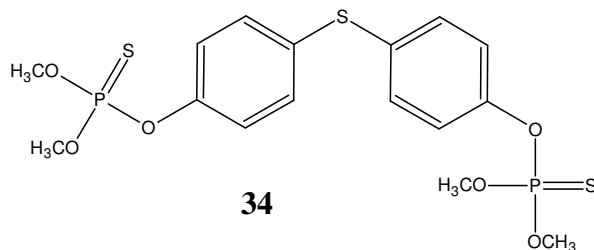
foram no sentido de que, “... em decorrência da falta de evidência suficiente e convincente acerca dos efeitos adversos da exposição ao DDT pelas aplicações residuais para controle de vetores, não existe justificativa toxicológica ou epidemiológica para alterar a política de uso do produto no controle da malária e leishmaniose” (WHO, 1995). O documento, entretanto, sugere que os países ainda usuários do DDT façam a substituição por outros inseticidas, deixando de considerá-lo como única possibilidade.

Atualmente, vários pesquisadores que trabalham no controle da malária advogam o uso do DDT em países com alta transmissão e que não dispõem de condições monetárias de adquirir outro produto com efeito similar (Roberts *et al.*, 2000). Durante a reunião do Comitê Intergovernamental em Contaminantes Orgânicos Persistentes (Cicop) na África do Sul, no final de 2000, cuja finalidade era estabelecer um acordo internacional que permitisse implementar ações relativas aos compostos orgânicos persistentes (COP), resolveu-se, dada sua importância para a Saúde Pública, pela não-inclusão do DDT na lista de COP aos quais haviam sido impostas restrições. Essas recomendações devem perdurar até que se estabeleça uma política de substituição do inseticida nos países usuários. Para tanto, foi discutida a necessidade da definição de prazos e apoio financeiro, visto que, geralmente, os países que continuam a usar o DDT não possuem recursos para arcar com os custos de sua substituição (Braga & Valle, 2007).

### 1.8.1.2. Organofosforados e Carbamatos

Os inseticidas carbamatos e organofosforados são compostos anticolinesterásicos, com variado grau de toxicidade para o ser humano. Estas substâncias vêm sendo amplamente utilizadas como inseticidas, fungicidas e parasiticidas na agricultura, desde a II Guerra Mundial (Murphy, 1996; Soares, 1998). São os inseticidas mais utilizados na agricultura e nos ambientes domésticos desde a década de 1990 até os dias atuais. Além do amplo emprego como pesticidas, alguns organofosforados têm potencial medicamentoso, com ações que os tornariam passíveis de serem utilizados no tratamento do glaucoma e da *miastenia gravis*, embora sejam subutilizados, por serem medicamentos de risco, tendo sua dose tóxica próxima à dose terapêutica. Estes compostos são ainda utilizados em saúde pública no controle do vetor da malária e de outras doenças, como a dengue (Namba, 1971; Carlton *et al.*, 1998).

O organofosforado temephos (**34**, **Figura 14**), registrado nos EUA em 1965, para utilização em agricultura e controle de mosquitos, é o larvicida desse grupo com uso generalizado no controle de larvas de mosquitos, recomendado pela OMS para uso em água potável (Chavasse & Yap, 1997).

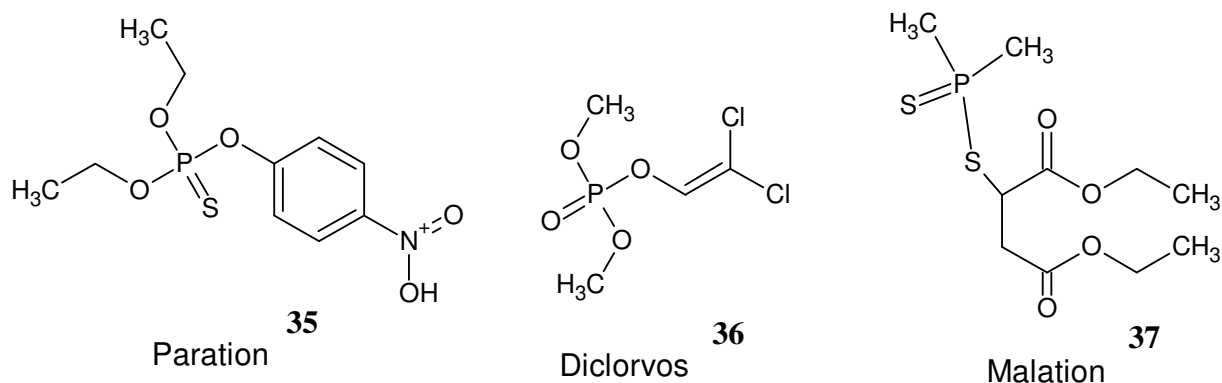


**Figura 14:** Estrutura química do temephos **34**

Os organoclorados eram, até 1957, os compostos mais usados como pesticidas. Entretanto, a partir daquele ano, levando-se em consideração sua persistência ambiental e, por outro lado, o reconhecido potencial inseticida e a menor persistência ambiental dos organofosforados (OF), os organoclorados foram sendo substituídos, inicialmente pelos

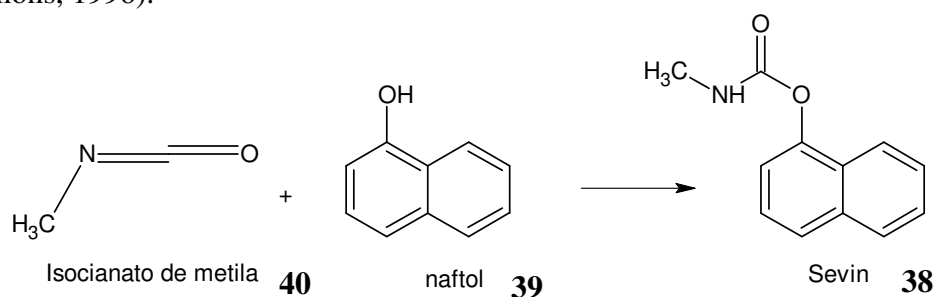
organofosforados e, posteriormente, em parte pelos carbamatos. Até a década de 90, mais de 200 compostos organofosforados e mais de 25 compostos carbamatos são produzidos e comercializados (Murphy, 1996), sendo as principais classes de pesticida utilizado nos Estados Unidos e em todo o mundo, movimentando bilhões de dólares anualmente (Carlton *et al.*, 1998). Atualmente, os carbamatos são pouco utilizados e a produção da maior parte foi descontinuada.

Dentre os inúmeros compostos da classe dos organofosforados, os que mais se destacam são: paration **35**, diclorvos **36** e malation **37** (Figura 15).



**Figura 15.** Estruturas químicas de compostos da classe dos organofosforados (Murphy, 1996)

Um carbamato de propriedades inseticidas conhecidas mundialmente é o Sevin **38** (Esquema 1). Este composto é obtido a partir da reação do  $\alpha$ -naftol **39** com isocianato de metila **40**, um gás muito tóxico, o qual fora responsável pela morte de 1.800 pessoas por envenenamento ocasionado por vazamento numa fábrica indiana de produção de Sevin (Solomons, 1996).



**Esquema 1.** Reação de produção do carbamato mundialmente conhecido como Sevin (Solomons, 1996)

Os organofosforados atuam inibindo a Acetilcolinesterase (AChE), importante enzima do sistema nervoso central. Essa enzima é fosforilada pelo inseticida, ficando irreversivelmente inativada. A inibição de AChE resulta no acúmulo de acetilcolina nas junções nervosas (ou sinapses), o que impede a interrupção da propagação do impulso elétrico. Conseqüentemente, o sistema nervoso central continuará sendo estimulado, desencadeando processo de paralisia, que pode culminar com a morte do inseto (Braga & Valle, 2007). Os Carbamatos atuam semelhante aos organofosforados, também inibem a Acetilcolinesterase, embora, nesse caso, a reação envolvida seja a carbamilação. Apesar de atuarem de forma muito similar nos sistemas biológicos, apresentam duas diferenças principais em relação aos organofosforados. Primeiramente, alguns carbamatos são potentes

inibidores da Aliesterase (uma Esterase alifática, cuja função exata é desconhecida) e apresentam seletividade pronunciada contra as AChE de certas espécies. A segunda diferença é que a inibição da AChE pelos carbamatos é reversível ([ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm](http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm)).

Embora inúmeros compostos organofosforados tenham sido descobertos no início do século passado, o conhecimento de seus efeitos deletérios só foi relatado em 1932, quando Lang e Kreuger observaram efeitos tóxicos em ratos. A descoberta resultou em um grande número de novos usos potenciais para os compostos organofosforados, incluindo o seu uso como gases neurotóxicos, chamados de "gases dos nervos", os conhecidos gases de guerra, Soman e Tabun, que foram usados na II Guerra Mundial. (Carlton *et al.*, 1998).

Os envenenamentos por carbamatos e organofosforados são, desta forma, um importante problema de saúde pública, especialmente nos países em desenvolvimento, nos quais ocorrem os maiores índices de morbidade e mortalidade relativa a estes produtos (Carlton *et al.*, 1998). Isso é consequência de que, mesmo com o desenvolvimento de novas classes de inseticidas (organofosforados e carbamatos) mais biodegradáveis, a toxicidade não foi tão seletiva. Tanto pragas eram eliminadas, quanto o homem e o meio ambiente eram seriamente contaminados. Essa realidade promoveu a contínua busca de novas classes químicas que preenchessem os requisitos mínimos necessários para atuar como um inseticida ecologicamente benigno:

- Biodegradabilidade;
- Alta seletividade para insetos.

### 1.8.1.3. Inseticidas de Origem Vegetal

Até a 2ª Guerra Mundial, o piretro, a rotenona e a nicotina eram os principais produtos de origem vegetal utilizados no controle de insetos (Hirata, 1995). Após a descoberta do inseticida DDT (Lara & Batista, 1992) e em 1942 do herbicida 2,4-D [ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético] (Coats, 1994) ocorreu uma grande revolução na agricultura, com os inseticidas sintéticos dominando completamente o mercado. Esta tendência foi gradativamente mudada, uma vez que anos depois foram feitas várias críticas aos pesticidas sintéticos, recomendando-se o uso de inseticidas naturais, principalmente o piretro, por serem praticamente atóxicos ao homem e com reduzido potencial de contaminação do meio ambiente.

Como exemplo de inseticida natural, destaca-se o piretro, extraído de flores de crisântemos. Este inseticida, também conhecido como pó da Pérsia, encontra-se presente em várias espécies do gênero *Chrysanthemum* da família *Asteraceae*. Segundo registros, o piretro foi amplamente utilizado no século XVII na região do Cáucaso e no norte do Irã. Os princípios ativos deste material são as piretrinas e cinerinas, sendo que atualmente o mesmo é utilizado como inseticida doméstico.

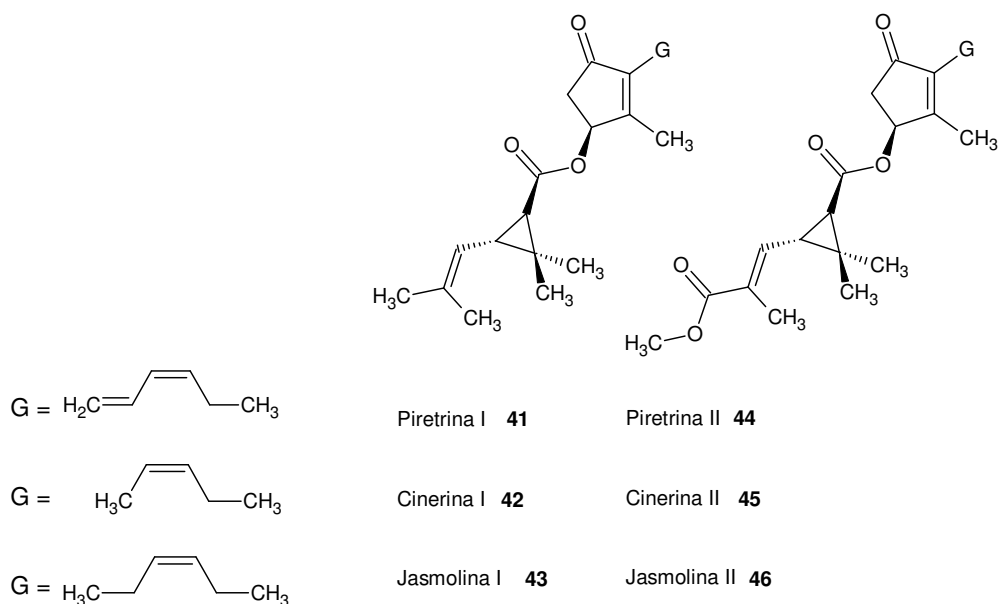
O extrato de piretro, uma vez livre de pigmentos, é denominado piretrina. Os componentes inseticidas das piretrinas naturais são ésteres dos ácidos crisantêmico e pirétrico com os álcoois piretrolona, cinerolona e jasmolona, derivados do tipo ciclopentenolonas. Os crisantematos compreendem a piretrina I **41**, a cinerina I **42** e a jasmolina I **43**, formando a fração de piretrinas I; ao passo que a fração de piretrinas II é composta pela piretrina II **44**, cinerina II **45** e a jasmolina II **46**, sendo estes últimos piretratos (**Figura 16**) (Hirata, 1995).

A observação da elevada atividade inseticida exibida por estas substâncias, aliada a uma baixa toxicidade a mamíferos, impulsionou as crescentes pesquisas das propriedades existentes na classe das piretrinas naturais, culminando com o advento dos análogos sintéticos das piretrinas, denominados piretróides, como veremos mais adiante (Zito, 1983).



Atualmente, os piretróides dominam o mercado de inseticidas para fins residenciais, sendo comercializados sob diversas formas, sejam líquidos, aerossóis ou cartuchos empregados em pequenos aquecedores elétricos.

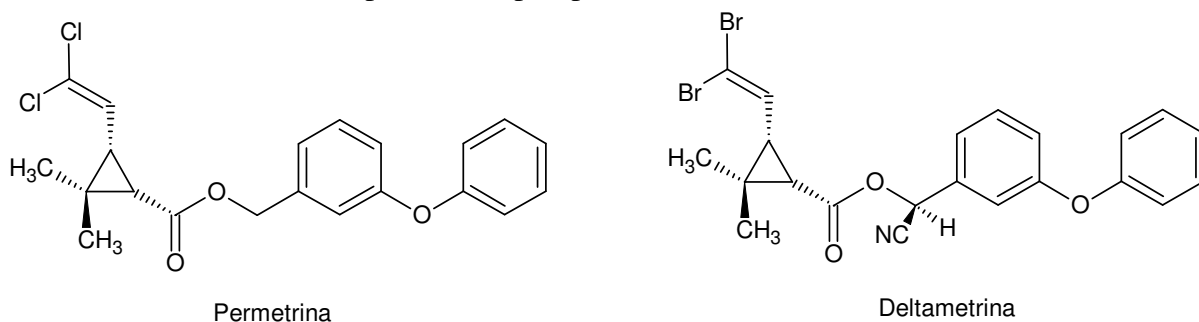
A grande desvantagem da utilização das piretrinas naturais reside na facilidade com que são degradadas quando expostas ao ar e à luz solar, o que limita a sua eficácia. No vegetal, as piretrinas são estabilizadas por antioxidantes naturais, como o ácido tânico e a hidroquinona (Galeffi & Marini-Bettolo, 1988).



**Figura 16.** Estrutura dos constituintes inseticidas do piretro (Hirata, 1995)

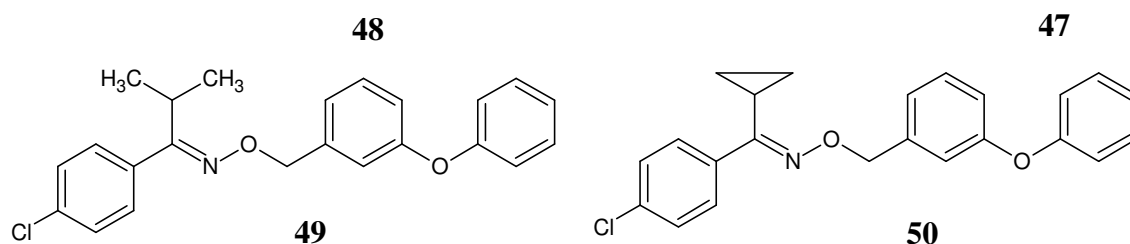
A elaboração de novos análogos sintéticos das piretrinas deveria relacionar, então, uma atividade inseticida crescente com o aumento da estabilidade, mantendo a baixa toxicidade a outras espécies (Coats, 1994).

Um avanço notável na química dos piretróides fotoestáveis foi a preparação da deltametrina **47** (Figura 17), inseticida usado no Brasil no controle de *Aedes aegypti*, um dos oito possíveis isômeros do 3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilciclopropanocarboxilato de  $\alpha$ -ciano-3-fenoxibenzila (Elliott *et al.*, 1974). Uma diferença marcante na estrutura da deltametrina é a presença do grupo ciano, na subunidade 3-fenoxibenzil, bem como a substituição dos átomos de cloro por bromo no grupo vinila. A configuração (1*R*, cis) do isômero mais potente da permetrina **48** foi mantida na deltametrina, sendo que esta é cerca de dez vezes mais potente que a permetrina, e mil vezes mais do que a piretrina I (o protótipo natural), frente a diversas espécies de lepidópteros (Elliott & Janes, 1978).



**Figura 17.** Comparação entre as estruturas da permetrina e da deltametrina, ressaltando as diferenças estruturais (Elliott & Janes, 1978).

Em 1980 foi sintetizada uma nova classe química, tendo como principal grupo um éter de oxima (**49** e **50**, **Figura 18**). A principal característica destas substâncias foi a simplicidade estrutural, confirmando a tese de que os piretróides mais ativos deveriam se relacionar mais com a forma estrutural do que com presença de certos grupos funcionais (Bull *et al.*, 1980).



**Figura 18.** Novos piretróides da classe dos éteres de oxima com alta atividade inseticida (Bull *et al.*, 1980)

Os piretróides apresentam modo de ação similar ao do DDT. Atuam, aparentemente, mantendo abertos os canais de sódio das membranas dos neurônios. Há dois tipos de piretróides: aqueles que, entre outras respostas fisiológicas, têm um coeficiente de temperatura negativo, assemelhando-se ao DDT (tipo 1); e os que apresentam coeficiente de temperatura positivo (tipo 2), ou seja, a mortalidade dos insetos a eles expostos varia diretamente com o aumento de temperatura. Os piretróides afetam o sistema nervoso periférico e central do inseto: estimulam as células nervosas a produzir descargas repetitivas e, eventualmente, causam paralisia. O efeito estimulante dos piretróides é muito mais pronunciado que o do DDT ([ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm](http://ipmworld.umn.edu/chapters/ware.htm)).

Apesar de sua baixa toxicidade para mamíferos e pássaros, os piretróides são tóxicos para peixes, invertebrados aquáticos e abelhas (Mian & Mulla, 1992; Reddy & Philip, 1994).

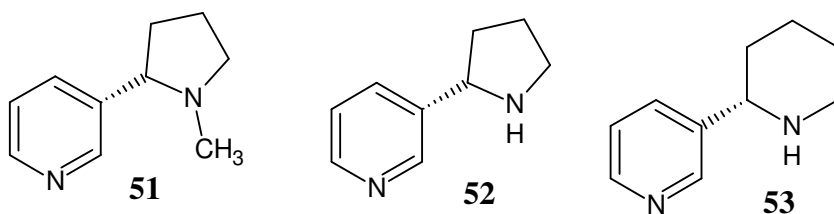
### 1.8.2. A busca por novos inseticidas naturais

Atualmente, um dos principais incentivos à busca de novos inseticidas de origem natural tem sido a suposição da opinião pública de que, inerentemente, os produtos naturais são mais seguros que os sintéticos. Apesar desta afirmação não ser sempre cientificamente comprovada, o mercado permite preços especiais para produtos chamados “orgânicos” ou “naturalmente produzidos”. De uma forma geral, os inseticidas naturais não são persistentes, ou seja, degradam-se com maior velocidade que os sintéticos, não deixando resíduos no alimento ou no meio-ambiente. Esta tendência econômica, aliada ao panorama político global, tem criado grandes oportunidades para o desenvolvimento de inseticidas naturais nos laboratórios de pesquisa em universidades e indústrias em todo mundo. Para um inseticida natural ser comercialmente viável, ele não deve apenas ser eficaz, mas preencher uma série de requisitos, tais como: seletividade contra inimigos naturais, baixa toxicidade ambiental, reduzida toxicidade para mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade.

Entre os critérios práticos que devem ser preenchidos estão: fonte de matéria-prima abundante, baixo custo, facilidade para padronização dos compostos ativos em variedades naturais da planta, fonte potencial para patentear a tecnologia da obtenção dos compostos inseticidas.

Como foi mostrado até aqui, as piretrinas naturais serviram como compostos protótipos para o desenvolvimento de uma série de substâncias com elevada atividade inseticida e reduzida toxicidade. Seguindo esta mesma estratégia, muitos pesquisadores da área de produtos naturais têm demonstrado especial interesse na avaliação da atividade inseticida de diversas moléculas isoladas de fontes naturais. Estas, uma vez tendo confirmadas as suas atividades inseticidas, mesmo sendo isoladas em quantidades reduzidas, podem servir de inspiração para a descoberta de novas famílias de substâncias inseticidas de origem sintética (Pachlatko, 1998; Crombie, 1999).

Inseticidas derivados de produtos naturais foram muito utilizados até 1940, principalmente a nicotina, um alcalóide extraído das folhas de *Nicotina tabacum* e *Nicotina rústica* **51**, pertencentes à família das *Solanaceae*, associado à nornicotina **52** e à anabasina **53** (**Figura 19**) (Pachlatko, 1998).



**Figura 19.** Estrutura química da nicotina, nornicotina e anabasina (Pachlatko, 1998).

O ressurgimento dos inseticidas naturais nos últimos anos é devido, em parte, ao uso indiscriminado de compostos clorados e fosforados. O processo de seleção escolhia insetos resistentes e com a reprodução destes, novas variedades mais resistentes eram geradas, e em resposta a esse processo, um novo inseticida era introduzido. Porém, a simples introdução de novos produtos, com potencial de toxidez cada vez mais elevado, não garantia o controle a médio nem mesmo a curto prazo, pois a natureza, através de seus próprios mecanismos, acaba se adaptando e daí advém a resistência.

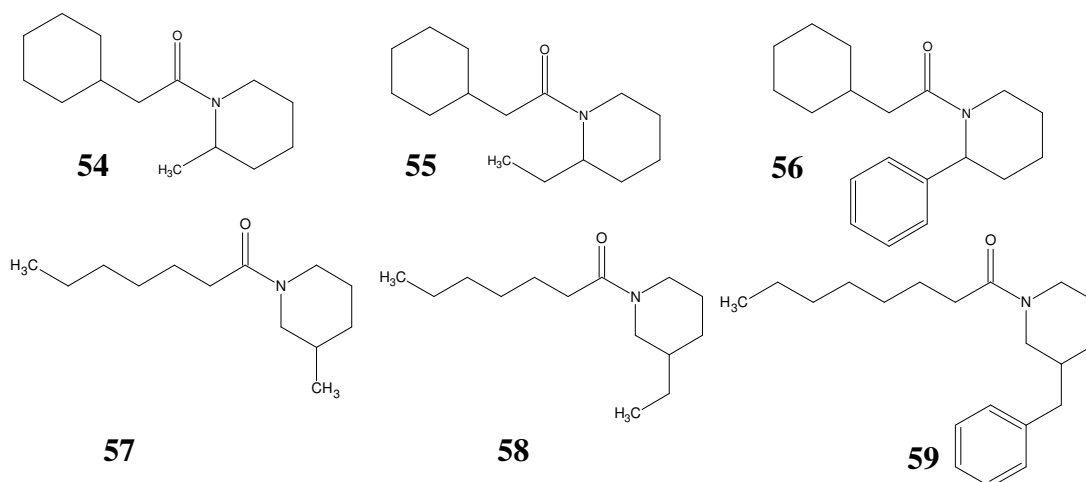
Os novos inseticidas sintéticos começaram a ser desenvolvidos com foco na seletividade, atacando pragas específicas, e não destruindo inimigos naturais dos insetos, e em sua natureza biodegradável.

A persistência deixou de ser uma vantagem, pois seria preferível reduzir a população de insetos no período de maior incidência a erradicá-los por completo, o que geralmente resultava em contaminação dos alimentos, solo e porventura dos próprios agricultores.

A incorporação de substâncias alelopáticas tem sido outra abordagem de grande valia no manejo agrícola, por reduzir o uso de herbicidas, fungicidas e inseticidas, e, por conseguinte, a deterioração ambiental. Compostos voláteis como os terpenóides são liberados de plantas em regiões secas, ao passo que fitotoxinas, como compostos fenólicos, flavonóides ou alcalóides, são liberados de plantas em zonas úmidas (Chou, 1989). Com base nessa tendência, vêm sendo pesquisados e descobertos diversos óleos essenciais e extratos de plantas como potentes agentes de controle em produtos estocados (*Tribolium castaneum* *Herbst*, *Sistophilus orizae* *L.*, entre outros), agindo como inseticidas por contato (Shaaya *et al.*, 1997).

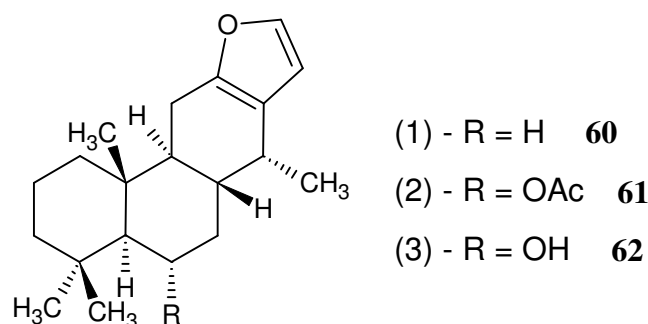
Entre os diversos compostos de origem natural com comprovada atividade inseticida, destacam-se os rotenóides, limonóides, alcalóides, terpenóides, cumarinas e rocaglamidas.

Recentemente, o grupo de Pridgeon descreveu a síntese e a avaliação da atividade tóxica de uma série de análogos saturados de piperidinilamidas (**54**, **55**, **56**, **57**, **58** e **59**) frente ao mosquito adulto *Aedes aegypti*, vetor do vírus da dengue. Algumas dessas moléculas encontram-se na **Figura 20** (Pridgeon *et al.*, 2007).



**Figura 20.** Piperidinilamidas testadas contra fêmeas adultas de *Ae. aegypti* (Pridgeon *et al.*, 2007).

Em 2006, um estudo fitoquímico avaliou a atividade larvicida dos extratos hexânicos e metanólico dos frutos de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti*. O estudo fitoquímico resultou em três diterpenos furânicos: vouacapano **60**, 6-D-acetoxivouacapano **61** e 6-D-hidroxivouacapano **62** (Figura 21), sendo o último relatado pela primeira vez como produto natural. Apenas o extrato hexânico apresentou boa atividade, com  $CL_{50}$  23,99  $\mu\text{g/mL}$ , podendo ser considerado um agente larvicida (Pimenta *et al.*, 2006).



**Figura 21.** Estruturas dos diterpenos isolados de *Pterodon polygalaeflorus* (Pimenta *et al.*, 2006).

Em 2005 foi realizado, pelo grupo de Costa, o estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*; foram constatados valores respectivos de  $CL_{50}$  de 21,4; 19,5 e 18,5 ppm e, frente ao *Culex quinquefasciatus*, 14,5, 16,6 e 27,5 ppm, respectivamente.

Neste trabalho foram identificados cerca de 90% dos principais constituintes químicos dos três óleos extraídos, e caracterizados para cada óleo essencial seus constituintes majoritários: eugenol, 1,8-cineol, e timol, respectivamente. Diante dos resultados, estão sendo realizados novos estudos na elaboração de formulações que possam funcionar como uma alternativa natural ao combate de larvas de mosquitos vetores de parasitos (Costa *et al.*, 2005).

Um trabalho foi publicado em 2004 sobre a atividade larvívica de *Myroxylon balsamum*, de terpenóides e fenilpropanóides frente ao *Aedes aegypti*. O sesquiterpeno isolado foi menos ativo do que a fração hexânica geradora. Do ponto de vista comercial esta informação é importante, pois a viabilidade econômica para a obtenção de um extrato é muito maior quando comparada a uma substância pura (Simas *et al.*, 2004).

Em trabalho de revisão, Shaalan e colaboradores (2005) descreveram um extenso levantamento sobre produtos naturais de origem vegetal com potencial atividade mosquitocida.

## 2.OBJETIVOS

### OBJETIVO GERAL:

Isolar a amida natural piperina em quantidade suficiente para produzir uma série de derivados amídico que serão caracterizados através de técnicas espectrométricas e avaliados quanto a suas atividades inseticidas sobre *Aedes aegypti*.

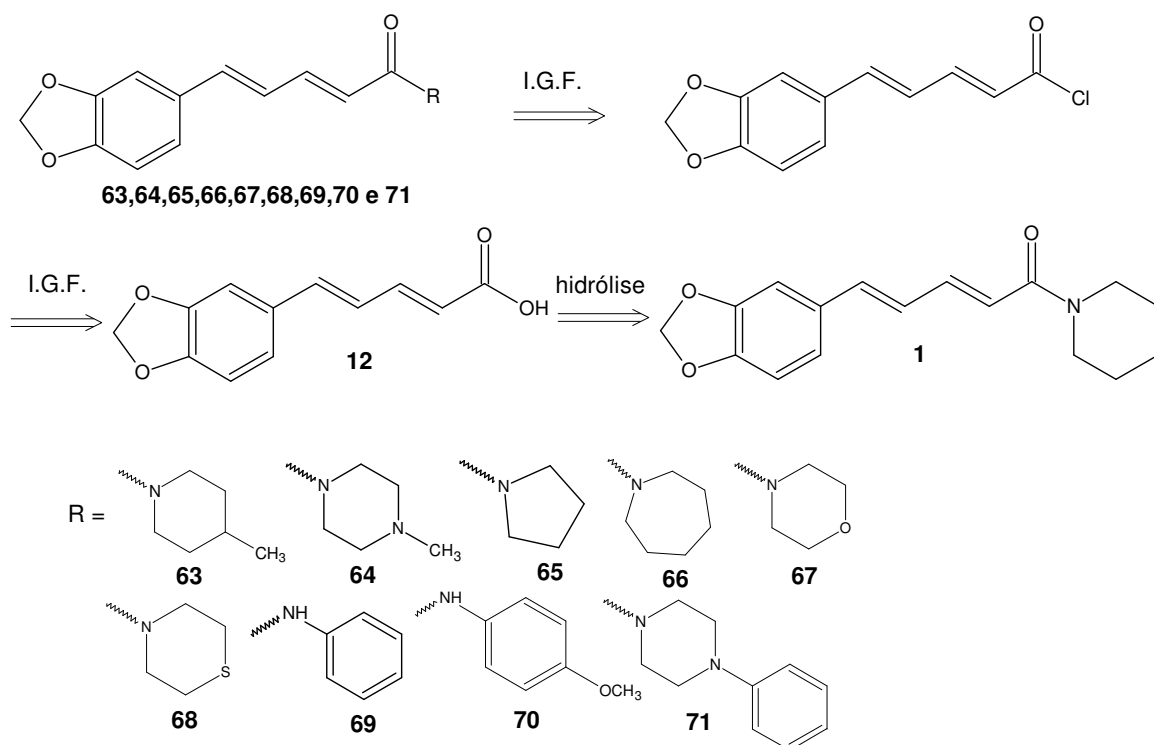
### OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Extrair a piperina através de *Piper nigrum L.* em quantidades adequadas;
- Preparar piperamidas da série insaturada, variando o grupamento piperidinil presente na estrutura da piperina por outros grupamentos cíclicos;
- Preparar piperamidas da série saturada, a partir de tetraidropiperina, variando posteriormente as substituições no anel aromático, mantendo o grupamento metilenodioxi contido na amida natural;
- Caracterizar devidamente os compostos obtidos, bem como seus intermediários, através das técnicas convencionais de análise (IV, RMN <sup>1</sup>H, RMN <sup>13</sup>C e EM);
- Avaliar atividade larvícida frente ao *Aedes aegypti* através dos métodos recomendados pela OMS, comparando os dados observados com temephos, larvícida amplamente utilizado no Brasil.

### 3. ESTRATÉGIAS DE SÍNTESE

#### 3.1. Estratégia de síntese para novas amidas da série insaturada, derivadas da piperina 1

Como descrito na análise retrossintética (**Esquema 2**), para a síntese das amidas da série insaturada derivadas da piperina é necessário a formação do ácido, ácido piperínico **12** correspondente, para a formação do intermediário cloreto de ácido com a consequente reação de interconversão de grupo funcional (IGF) com cada amina. Isso se deve ao fato de que derivados de acila menos reativos podem ser sintetizados a partir dos mais ativos, pois o inverso, em geral, é difícil e exige condições especiais (Solomons, 1996).

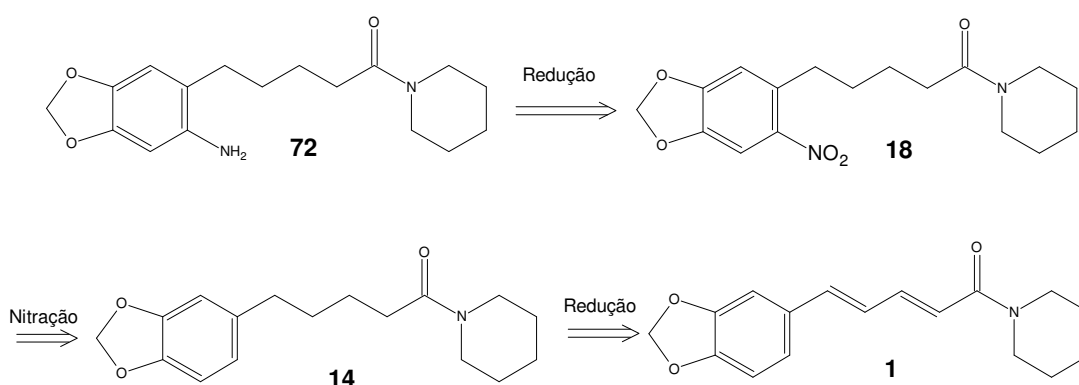


**Esquema 2:** Estratégia de síntese para preparação de novos derivados da série insaturada da piperina 1.

As amidas da série insaturada **63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **68**, **69**, **70** e **71** foram preparadas a partir do cloreto de ácido que é o mais reativo dentre os derivados de ácido. Por sua vez o cloreto de ácido pode ser obtido por interconversão de grupo funcional (I.G.F) tendo o ácido piperínico **12** como seu precursor. Diversas metodologias podem ser empregadas para obtenção do intermediário, dentre elas destacamos o uso de cloreto de tionila ( $\text{SOCl}_2$ ) e cloreto de oxalila ( $\text{C}_2\text{O}_2\text{Cl}_2$ ) (March, 1985). O ácido **12** pode ser facilmente preparado a partir da amida natural **1**, através de uma reação de hidrólise básica seguida de neutralização do meio.

### 3.2. Estratégia de síntese para novas amidas da série saturada, derivadas da piperina(1)

Através de uma redução catalítica utilizando Pd/C em atmosfera de hidrogênio, as insaturações da piperina **1** foram hidrogenadas para formação da tetraidropiperina **14** (Venkatasamy *et al.*, 2004). Através de uma reação de Substituição Eletrofílica Aromática podemos realizar uma nitração catalisada por ácido em **14**, formando a nitropiperina hidrogenada **18** (Rascado, 1997). Conseqüentemente, **18** foi reduzida a aminopiperina hidrogenada **72**, conforme mostrado no **Esquema 3**.



**Esquema 3:** Estratégia de síntese para a preparação de novos derivados da série saturada da piperina **1**.



## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas:

- Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) foram obtidos em espectrômetros de marca Bruker, modelo AC400 (PPGQ – UFRRJ). Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e os solventes: clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ) e dimetilsulfóxido (DMSO- $D_6$ ) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz).
- Os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos nos espectrômetros Bruker 1600 FT (PPGQ-UFRRJ), amostras sólidas foram pulverizadas em pastilhas de KBr e amostras líquidas depositadas como filme.
- Os espectros de massa foram obtidos no cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrofotômetro de massas GCMS-QP2010 Plus da Shimadzu ou Varian Saturn 2000 por impacto de elétrons a 70 eV (PPGQ-UFRRJ). Condições de análise: Coluna: vf-5MS (30Mx0,25x0,25mm); Temperatura: 200°C/1' - 10 °C – 290°C/10 min; Injetor: 270°C.

### 4.2. Nas análises, sínteses e purificações

- Cromatofolhas de sílica gel 60 F254 (camada de 0,2 mm), da marca Merck para o acompanhamento por CCDA (Cromatografia de Camada Delgada Analítica) das reações.
- Solventes: ácido acético glacial, acetato de etila, acetona, clorofórmio, diclorometano e metanol, fornecidos pela Vetec. Todos os solventes utilizados nas reações e nos métodos de purificação foram previamente destilados e secos, quando necessário (Vogel, 1978).
- Reagentes: ácido clorídrico concentrado, ácido nítrico concentrado, cloreto de oxalila, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, anilina, *m*-anisidina, 4-metil piperidina, 1-metil-piperazina, fenil-piperazida, pirrolidina, hexametilenamina, morfolina, tiomorfolina, Pd/C, hidrazina, cloreto férrico, ácido nítrico e ácido acético, fornecidos pela Aldrich, Vetec e Merck.
- Pimenta-do-reino moída.

### 4.3. Outros equipamentos

- Reator de microndas – Modelo Discover – CEM Inc.
- Aparelho Melt-Temp II para medição dos pontos de fusão.
- Evaporador rotatório da Fisaton -Modelo 802.
- Câmara de revelação para CCDA equipada com lâmpada UV com comprimento de onda de 254 e 365 nm.

- Placas de aquecimento e agitação magnética da Corning e Fisatom.

#### 4.4. Isolamento da amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (piperina) (1)

Em uma aparelhagem de Soxhlet (**Figura 22**) foram colocados 250 g de pimenta-do-reino num cartucho de papel de filtro e no balão de fundo redondo de 500 mL, foram adicionados 350 mL de etanol a 95%. O sistema foi mantido sob refluxo por aproximadamente 10 horas. Após concentrar o extrato em evaporador rotatório, foi obtido um resíduo de aspecto viscoso e aroma adocicado, sendo então adicionado ao mesmo 100 mL de uma solução etanólica de KOH a 10% recentemente preparada, para que ocorresse a precipitação dos taninos e demais materiais fenólicos, contaminantes do meio, na forma dos respectivos sais de potássio. Após filtração, sob pressão reduzida, 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 uma semana em repouso, formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi lavado com uma pequena quantidade de água gelada, seguido de éter etílico gelado. Após a recristalização em etanol foram obtidos 7,5 g (3%) de piperina na forma de cristais amarelo-claro no formato de agulhas.

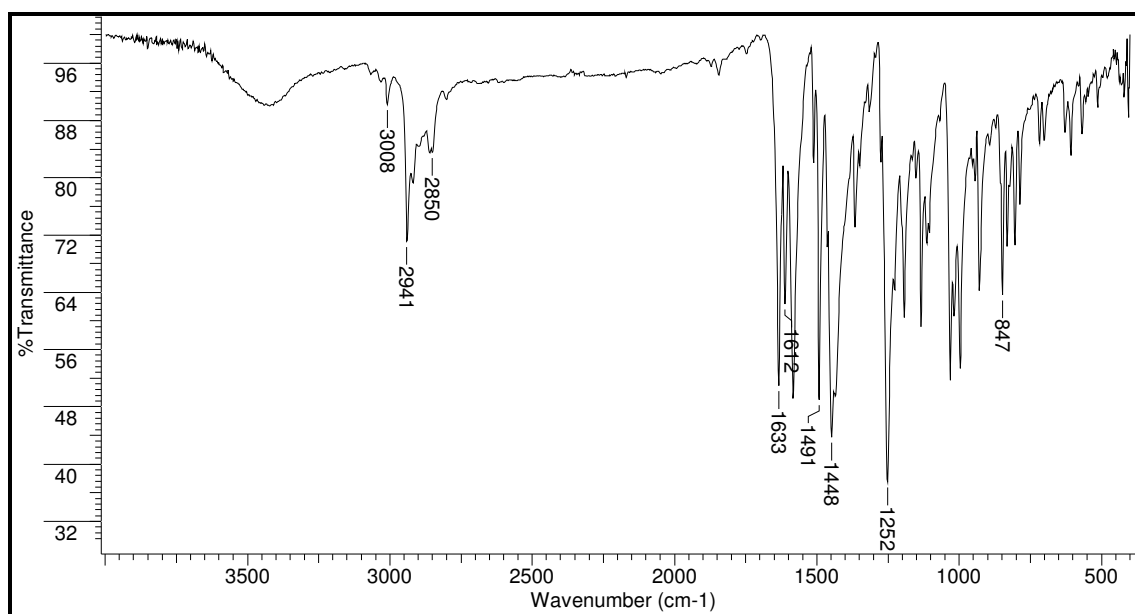


**Figura 22:** Aparelhagem de Soxhlet

Pf :126-127°C (Lit.: 125-127°C – Ikan, 1991)

**Dados de Infravermelho (pastilha em KBr, cm<sup>-1</sup>):**

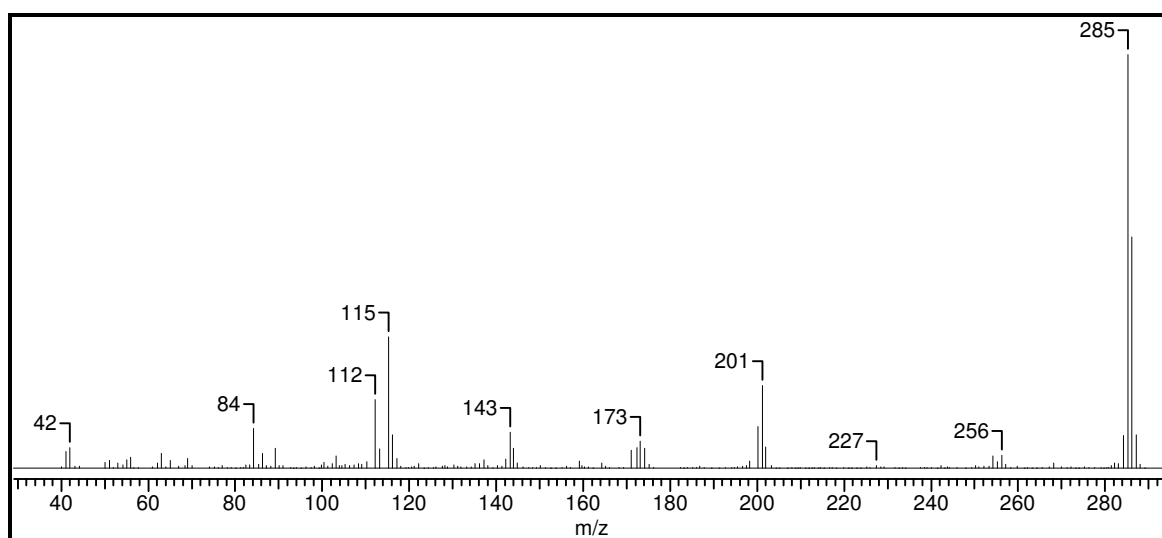
$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3008$  (sistema aromático)  
 $\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^3) = 2941\text{-}2850$  (estiramento de metilenos do anel piperidínico)  
 $\nu_{\text{C=O}} = 1633$  (estiramento da carbonila conjugada de amida)  
 $\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1616 - 1491 - 1448$  (vibração do esqueleto aromático)  
 $\nu_{\text{C-O-C}} = 1252$  (anel metilenodioxi)  
 $\delta_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 847$  (deformação angular de C-H para 2H do sistema aromático)



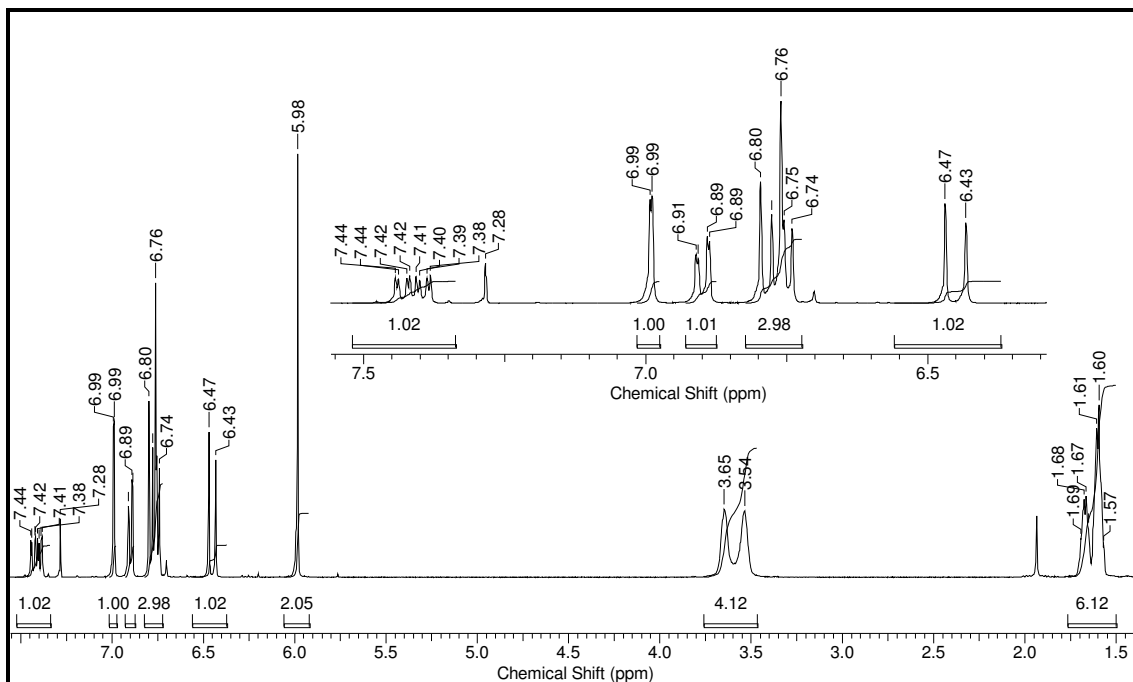
**Espectro 1:** Espectro no IV da piperina 1

**Dados do Espectro de Massas:**

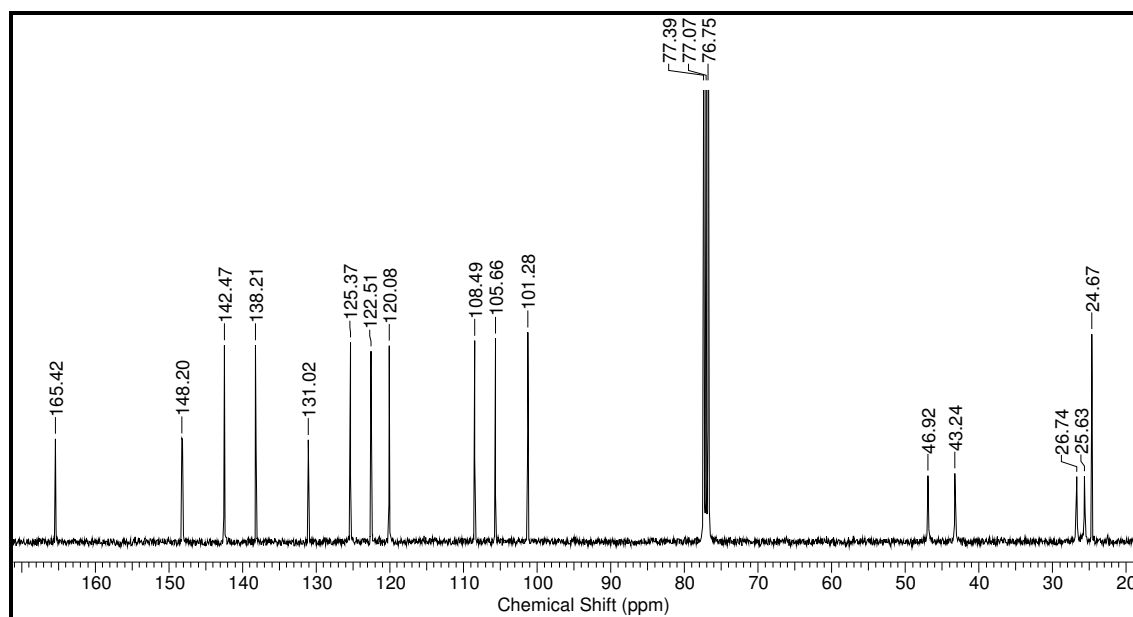
$m/z = 285$  (M<sup>+</sup>, 100%); 201 (20%); 173 (10%); 143 (10%); 115 (35%); 112 (15%); 84 (10%)  
 e 42 (5%).



**Espectro 2:** Espectro de massas da piperina 1.



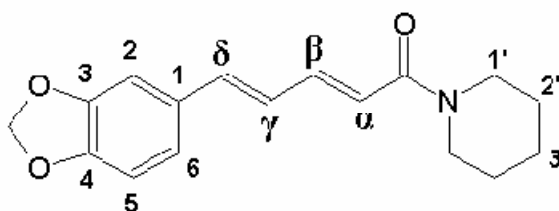
**Espectro 3:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da piperina **1**



**Espectro 4:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da piperina **1**

**Tabela 1:** Deslocamento químico de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C para a piperina **1**

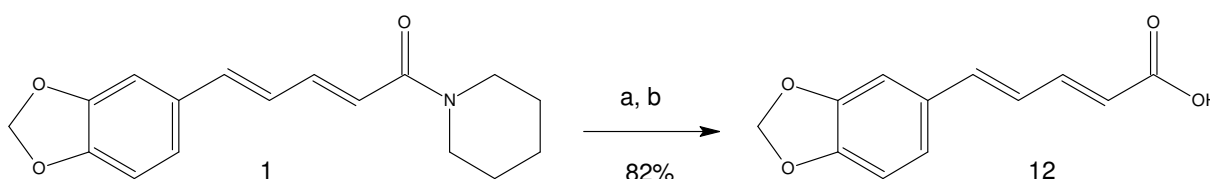
Posição	$\delta$ <sup>1</sup> H (ppm) ; <i>J</i> (Hz)	$\delta$ <sup>13</sup> C (ppm)
1'	3,54 (m, 2H)	43,2 (CH <sub>2</sub> )
2', 3' e 4'	1,57 – 1,69 (m, 6H)	24,6; 25,6; 26,7(CH <sub>2</sub> )
5'	3,65 (m, 2H)	46,9 (CH <sub>2</sub> )
C=O	-----	165,4 (C)
$\alpha$	6,45(d; 14,3; 1H)	120,0 (CH)
$\beta$	7,40 (ddd; 14,3; 7,1 e 2,9; 1H)	142,4 (CH)
$\gamma$	6,74 – 6,80(m, 1H)	125,3 (CH)
$\delta$	6,74 – 6,80 (m, 1H)	138,2 (CH)
1	-----	131,0 (C)
2	6,99 (d; 1,4; 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,2 (C)
5	6,74 – 6,80 (m, 1H)	108,4 (CH)
6	6,90 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	122,5 (CH)
OCH <sub>2</sub> O	5,98 (sl; 2H)	101,2 (CH <sub>2</sub> )



**Piperina 1**

#### 4.5. Preparação das amidas da série insaturada

##### 4.5.1 Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(*E*)-4(*E*) pentadienóico (ácido piperínico)(**12**)



Reagentes: a) KOH/EtOH, refluxo em MW, 1h; b) HCl 10%, até pH 3

#### **Esquema 4:** Reação de preparação do ácido piperínico **12**

Num balão de 50 mL de capacidade foi feita uma suspensão de 2,20 g (7,72 mmols) de piperina (**1**) em 22 mL de solução alcoólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 1 hora no reator de microondas (temperatura de 95°C e 35 W de potência). A reação foi acompanhada por CCDA, a solução passou de amarela para marrom-claro, com formação de um 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 solução aquosa do respectivo carboxilato resfriou-se e acrescentou-se solução de HCl 10% 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 1,37 g (82%) do ácido piperínico (**12**). Essa reação foi repetida algumas vezes, a fim de obter a quantidade necessária para as demais reações. O produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise e os dados obtidos estão de acordo com o descrito na literatura (Ferreira, 2006).

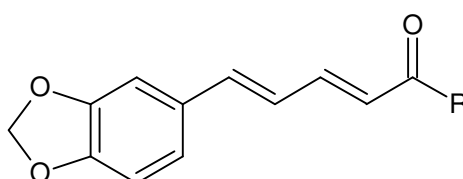
Pf: 218-219 °C (Lit. 216-217 °C) (Ikan, 1991).

#### 4.5.2. Metodologia geral para síntese das amidas **63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **68**, **69**, **70** e **71**

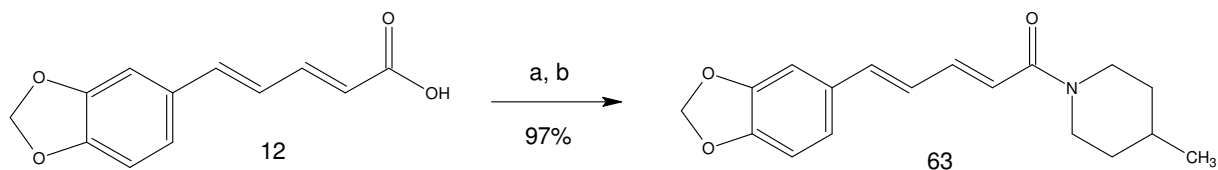
Em um balão de 25 mL acoplado a um borbulhador foram colocados 1,834 mmols de ácido piperínico sob atmosfera de N<sub>2</sub>. Em seguida foram adicionados 1,834 mmols de cloreto de oxalila (COCl)<sub>2</sub>. A reação foi mantida a temperatura ambiente e sob agitação constante. Após 2 horas a reação havia se completado, sendo verificada por CCDA (através da formação do éster metílico correspondente ao reagir instantaneamente com uma pequena alíquota de metanol). O excesso de (COCl)<sub>2</sub> foi removido no evaporador rotatório, restando apenas o cloreto de acila, que foi utilizado na etapa posterior sem tratamento prévio, devido a sua instabilidade em atmosfera úmida. A este intermediário foram adicionados 10 mL CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco e 3,668 mmols (2 equivalentes em relação ao ácido) de cada amina correspondente sob banho de gelo durante 30 minutos. Ao final da reação, o produto obtido foi particionado entre 50 mL de acetato de etila e 15 mL de solução de HCl 5% mL, seguido de 15 mL de solução de NaHCO<sub>3</sub> 10%. Em seguida, lavado com 15 mL de solução saturada de NaCl. A fase orgânica seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (agente dessecante) foi então evaporada em evaporador rotatório até secura. Todas as amidas foram caracterizadas pelo ponto de fusão, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, IV e EM. Na **Tabela 2** a seguir, encontram-se descritas as amidas sintetizadas com os respectivos rendimentos e pontos de fusão.

**Tabela 2:** Ponto de fusão e rendimento para amidas insaturadas sintetizadas

Amidas Sintetizadas	R	Ponto de Fusão	Rendimento
<b>63</b>	4-metil piperidinil	63-64 °C	97 %
<b>64</b>	1-metil piperazinil	69-70 °C	59 %
<b>65</b>	Pirrolidinil	137-138 °C	46 %
<b>66</b>	Hexametilenaminil	114-115 °C	95 %
<b>67</b>	Morfolinil	165-166 °C	93 %
<b>68</b>	Tiomorfolinil	119-120 °C	86 %
<b>69</b>	Anilinil	198-199 °C	60 %
<b>70</b>	<i>m</i> -anisidinil	144-145 °C	62 %
<b>71</b>	Fenil piperazinil	152-153 °C	63 %



#### 4.5.2.1. Síntese da amida 4-metil piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**63**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 4-metil piperidina, t.a., 30 min.

#### Esquema 5: Reação de preparação da amida 4-metil piperidinil **63**

Pf: 63-64°C

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

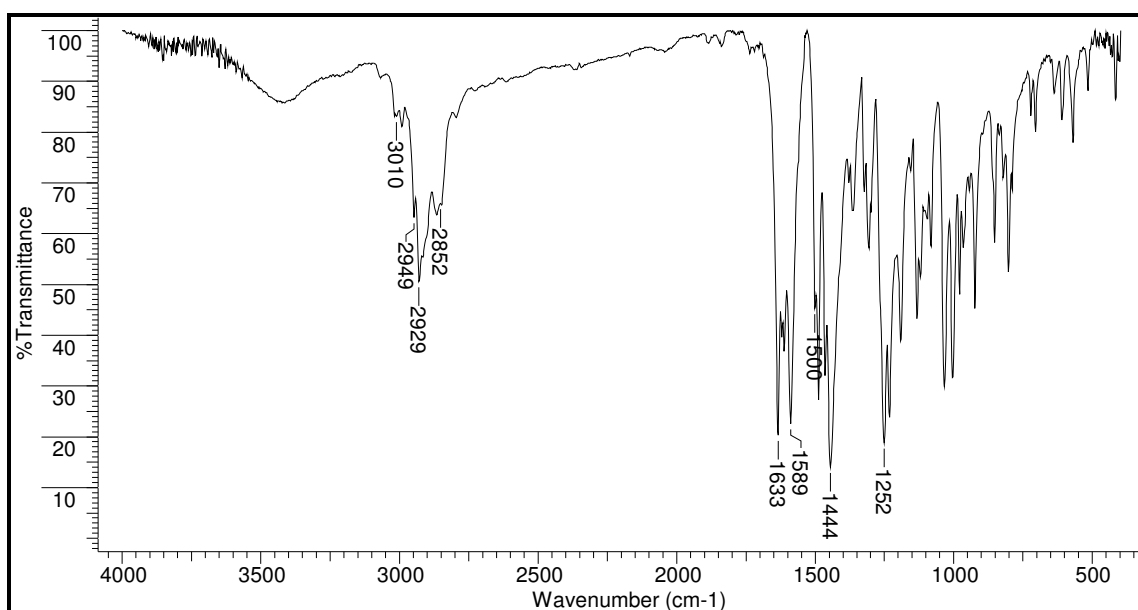
$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 3010 (sistema aromático)

$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2949 – 2852 (estiramento de metilenos do anel piperidínico)

$\nu_{\text{C=O}}$  = 1633 (estiramento da carbonila conjugada na amida)

$\nu_{\text{C=C}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1589 – 1500 – 1444 (vibração do esqueleto aromático)

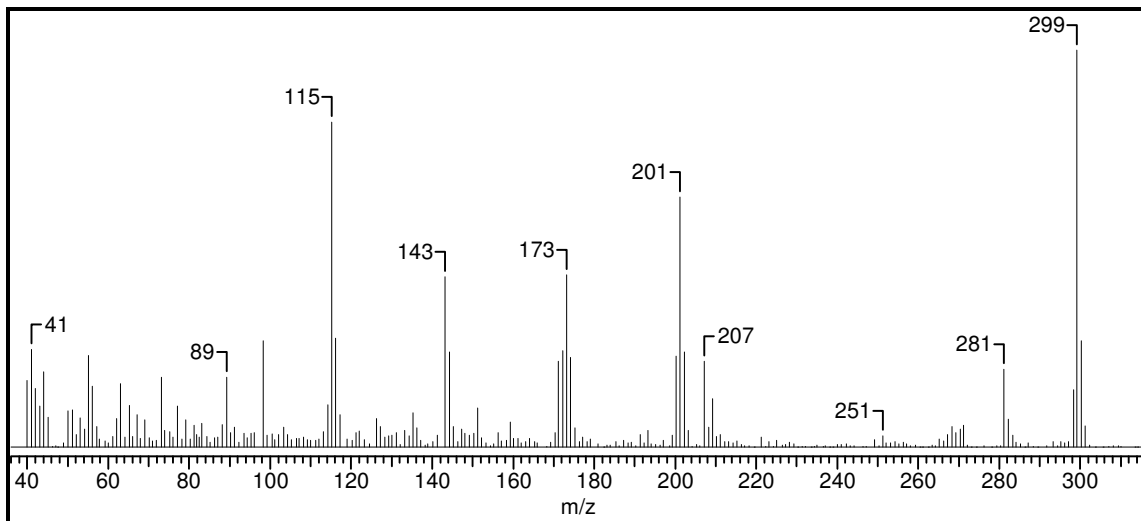
$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1252 (anel metilenodioxi)



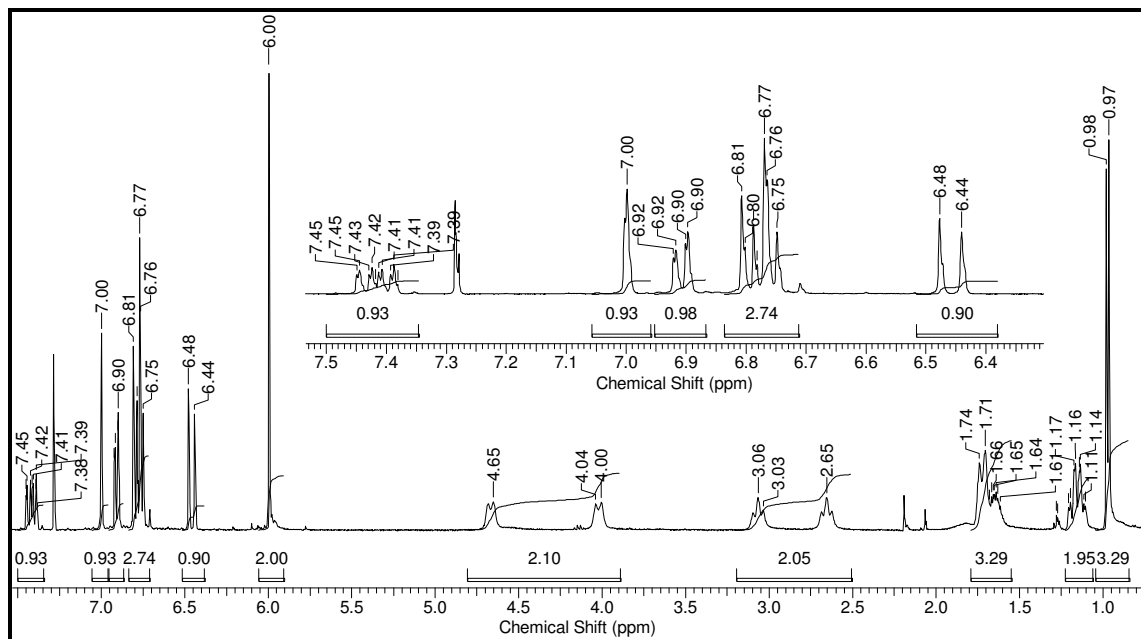
Espectro 5: Espectro no IV da amida 4-metil piperidinil **63**

### Dados do Espectro de Massas:

$m/z = 299$  ( $M+1$ , 100%);  $281$  (25%);  $207$  (25%);  $201$  (65%);  $173$  (45%);  $143$  (45%);  $115$  (85%);  $89$  (20%) e  $41$  (30%).

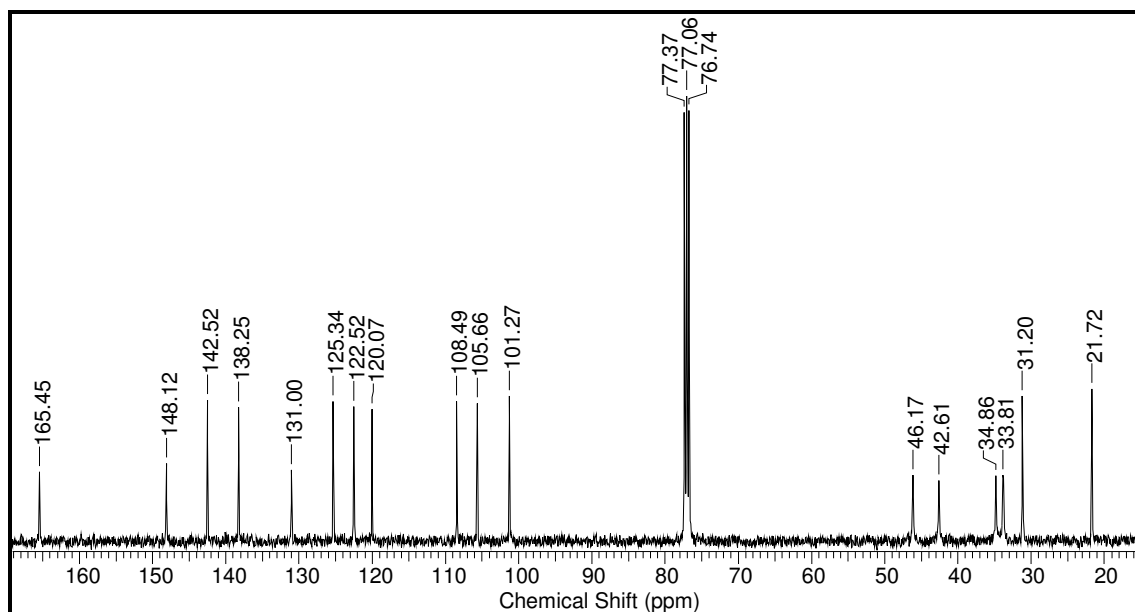


**Espectro 6:** Espectro de massas da amida 4-metil piperidiniil **63**



**Espectro 7:** Espectro de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida 4-metil piperidiniil **63**

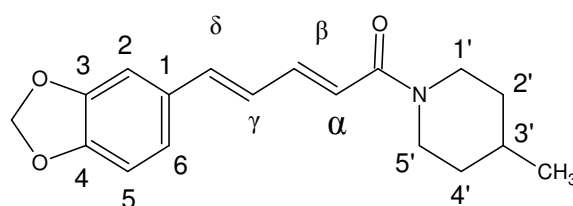




**Espectro 8:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida 4-metil piperidinil **63**

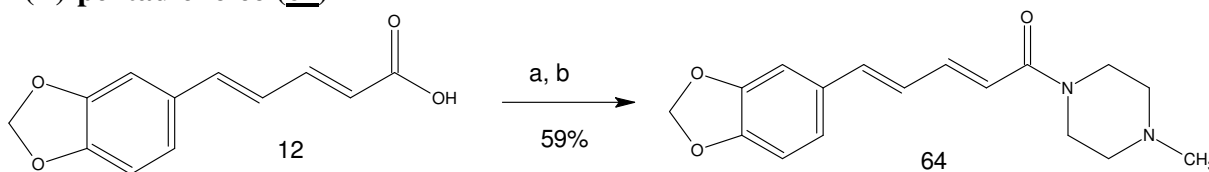
**Tabela 3:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a amida **63**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	2,65 e 3,02 (m, 2H)	42,6 ( $\text{CH}_2$ )
2' e 4'	1,15 e 1,69 (m, 4H)	34,8 e 33,8
3'	1,69 (m, 1H)	31,2 ( $\text{CH}_2$ )
5'	4,00 e 4,65 (m, 2H)	46,2 ( $\text{CH}_2$ )
$\text{CH}_3$	0,98 (m, 3H)	21,7 ( $\text{CH}_3$ )
$\text{C}=\text{O}$	-----	165,4 (C)
$\alpha$	6,46 (d; 14,8; 1H)	120,0 (CH)
$\beta$	7,42 (m; 1H)	142,5 (CH)
$\gamma$	6,78 (m, 1H)	125,3 (CH)
$\delta$	6,78 (m, 1H)	138,2 (CH)
1	-----	131,0 (C)
2	7,00 (sl; 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,1 (C)
5	6,78 (m, 1H)	108,5 (CH)
6	6,91 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	122,5 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	6,00 (sl; 2H)	101,3 ( $\text{CH}_2$ )



**4-metil piperamida 63**

#### 4.5.2.2. Síntese da amida 1-metil piperazinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**64**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 1-metil piperazina, t.a., 30 min.

#### Esquema 6: Reação de preparação da amida 1-metil piperazinil **64**

Pf: 69-70°C

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

$\nu_{\text{N-H}}$  = 3404 e 3213 (amina primária)

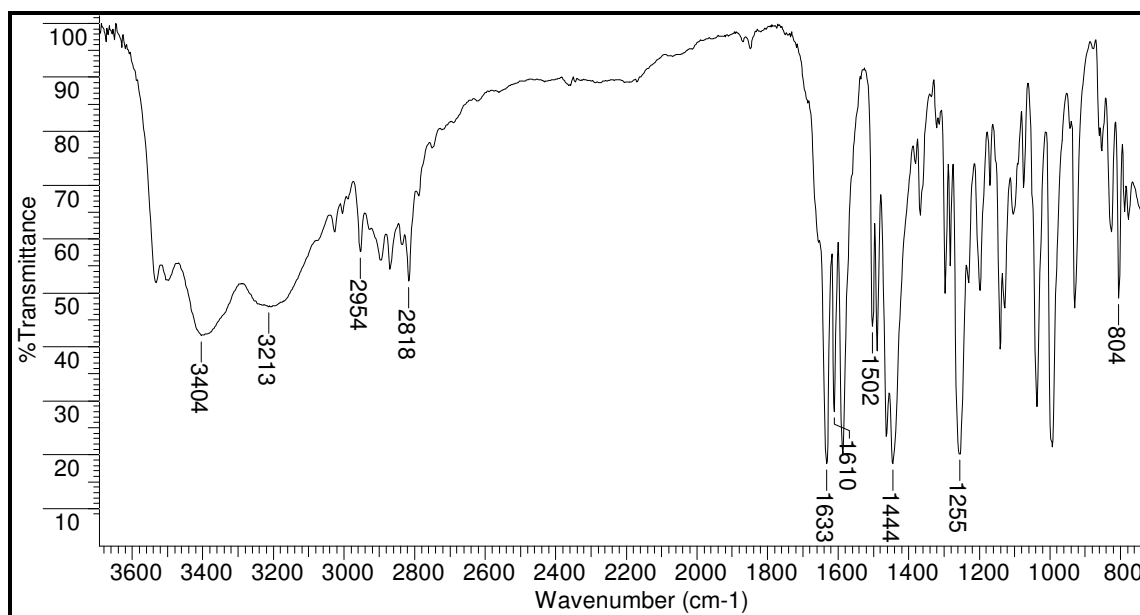
$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2954 – 2818 (estiramento de metilenos do anel piperazínico)

$\nu_{\text{C=O}}$  = 1633 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu_{\text{C=C}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1610 – 1502 – 1444 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1255 (anel metilenodioxi)

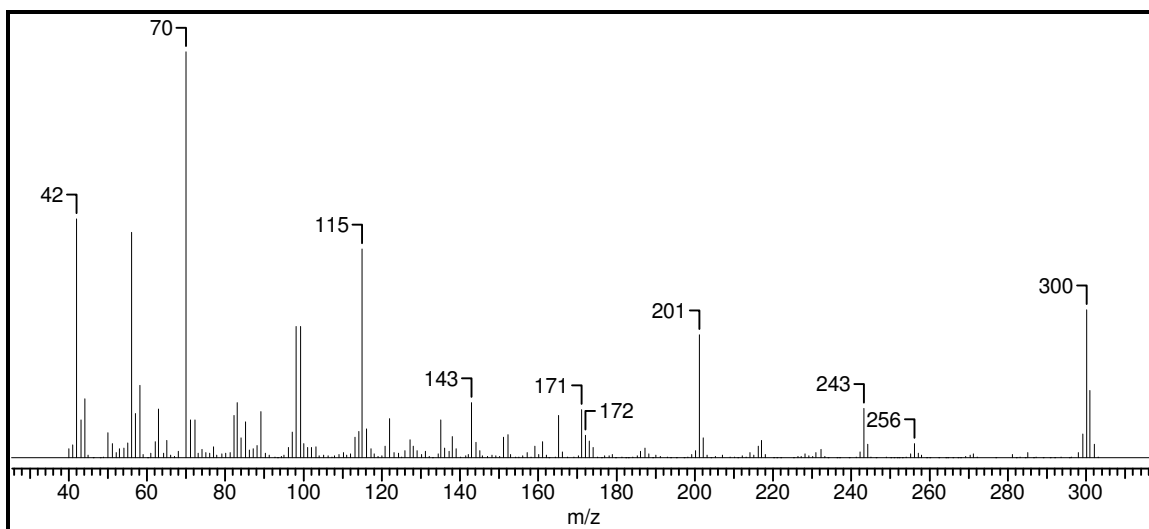
$\delta_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 804 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)



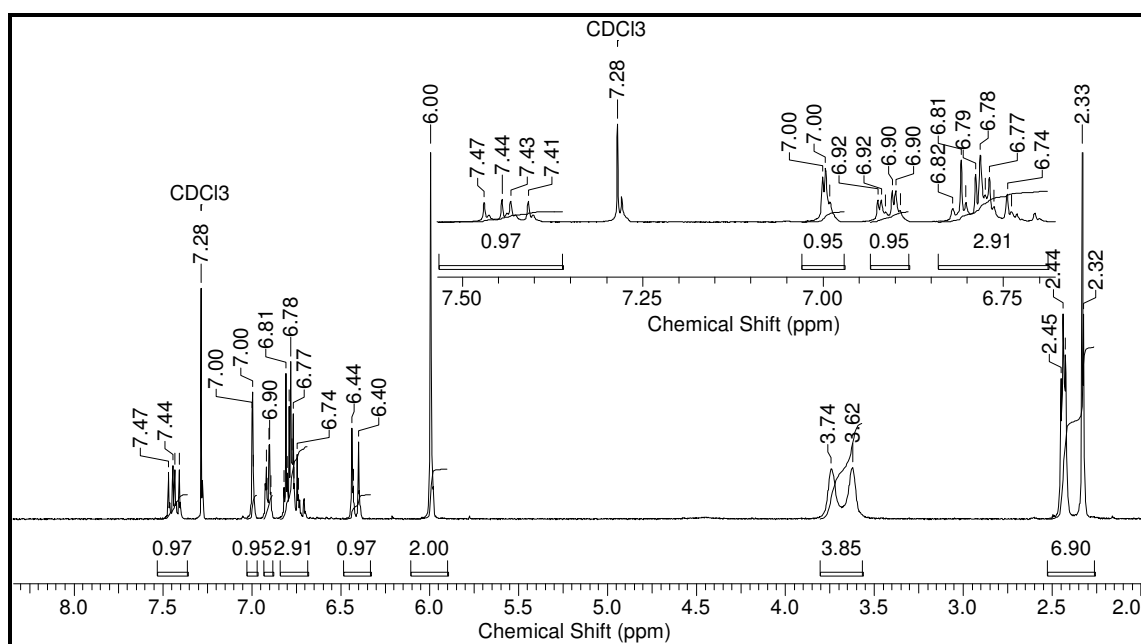
Espectro 9: Espectro de IV da amida 1-metil piperazinil **64**

### Dados do Espectro de Massas:

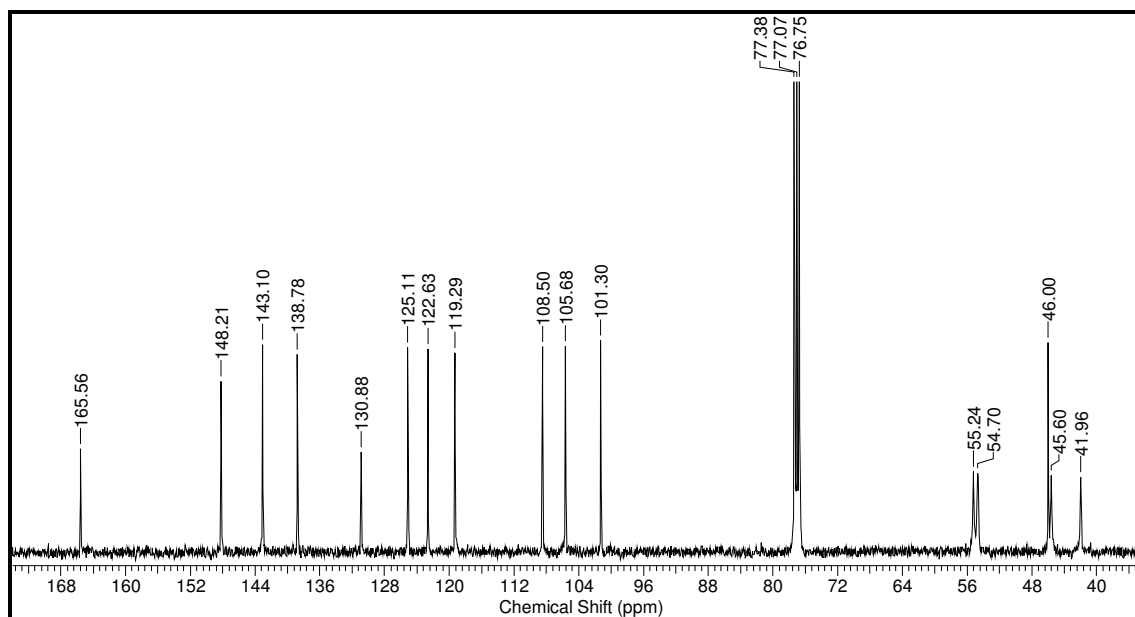
m/z = 300 (M+, 35%); 243 (15%); 201 (30%); 171 (15%); 143 (15%); 115 (55%); 70 (100%) e 42 (65%).



**Espectro 10:** Espectro de massas da amida 1-metil piperazínil **64**



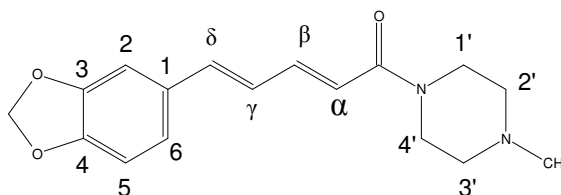
**Espectro 11:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida 1-metil piperazínil **64**



**Espectro 12:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida 1-metil piperazinil **64**

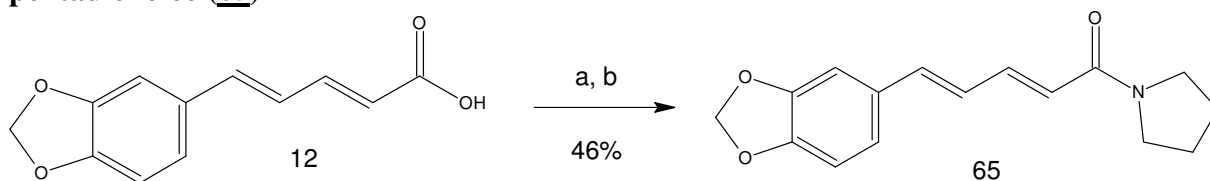
**Tabela 4:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para a amida **64**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1' e 4'	3,69 (d; 4H)	54,7 e 55,2 ( $\text{CH}_2$ )
2' e 3'	2,39 (m; 4H)	46,0 e 45,6 ( $\text{CH}_2$ )
$\text{CH}_3$	2,33 (s; 3H)	41,9 ( $\text{CH}_3$ )
$\text{C}=\text{O}$	-----	165,5 (C)
$\alpha$	6,42 (d; $J=14,7$ ; 1H)	119,3 (CH)
$\beta$	7,45 (dd; $J=14,7$ e $9,9$ ; 1H)	143,1 (CH)
$\gamma$	6,78 (m; 1H)	125,1 (CH)
$\delta$	7,00 (t; 2,13; 1H)	138,8 (CH)
1	-----	130,8 (C)
2	6,91 (m; 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,2 (C)
5	6,78 (m; 1H)	108,5 (CH)
6	6,78 (m; 1H)	122,6 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	6,00 (s; 2H)	101,3 ( $\text{CH}_2$ )



**1-metil piperazinil **64****

#### 4.5.2.3. Síntese da amida pirrolidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**65**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , pirrolidina, t.a., 30 min.

#### Esquema 7: Reação de preparação da amida pirrolidinil **65**

Pf: 137-138°C

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

$\nu\text{C-H (Csp}_2\text{)} = 3022$  (sistema aromático)

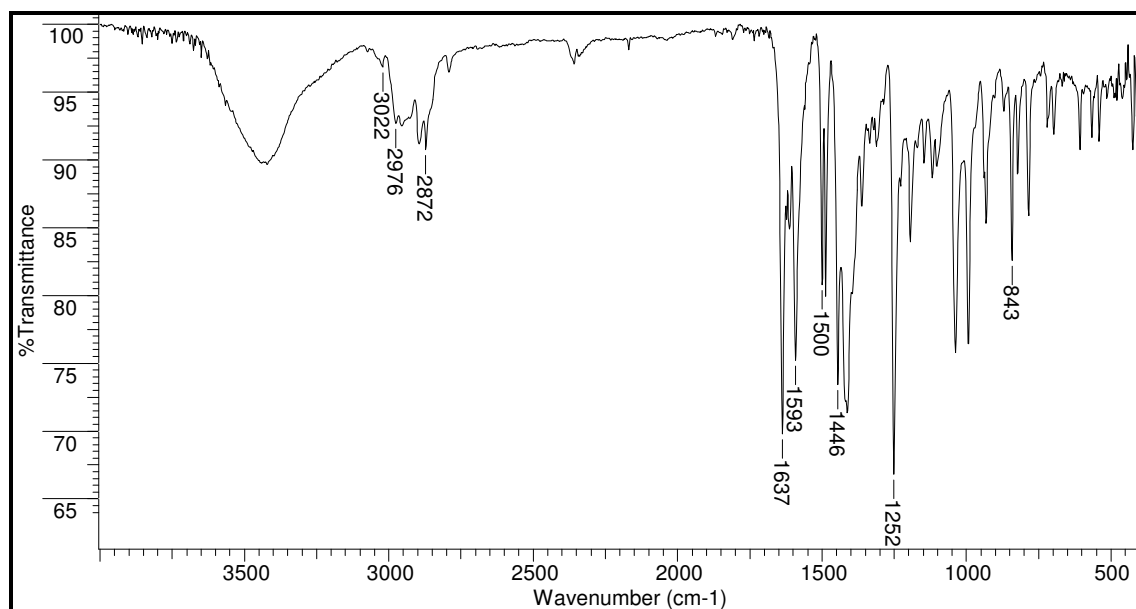
$\nu\text{C-H (Csp}_3\text{)} = 2976\text{-}2872$  (estiramento de metilenos do anel piperidínico)

$\nu\text{C=O} = 1637$  (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu\text{C=C (Csp}_2\text{)} = 1593 - 1500 - 1446$  (vibração do esqueleto aromático)

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

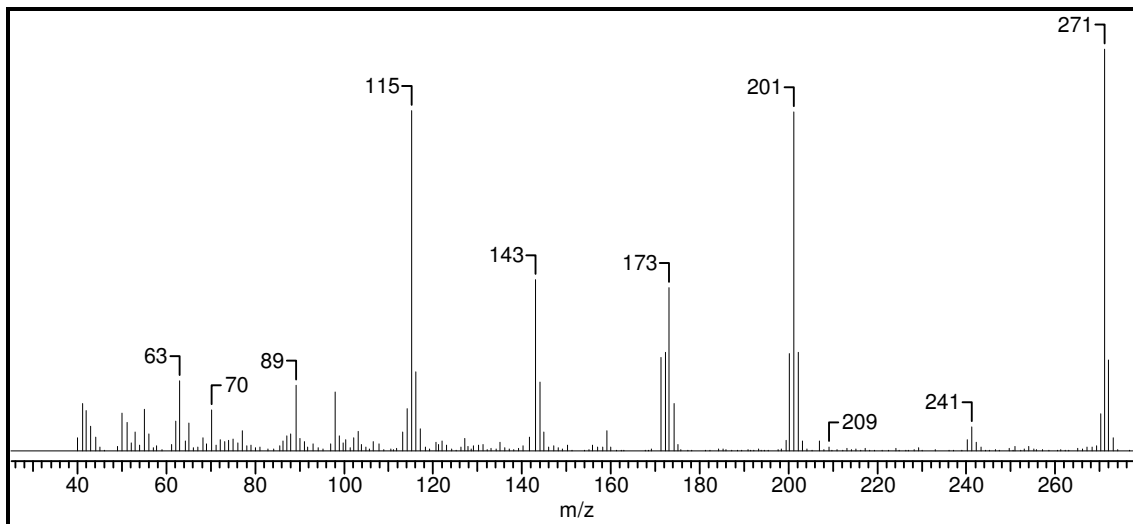
$\delta\text{C-H (Csp}_2\text{)} = 843$  (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)



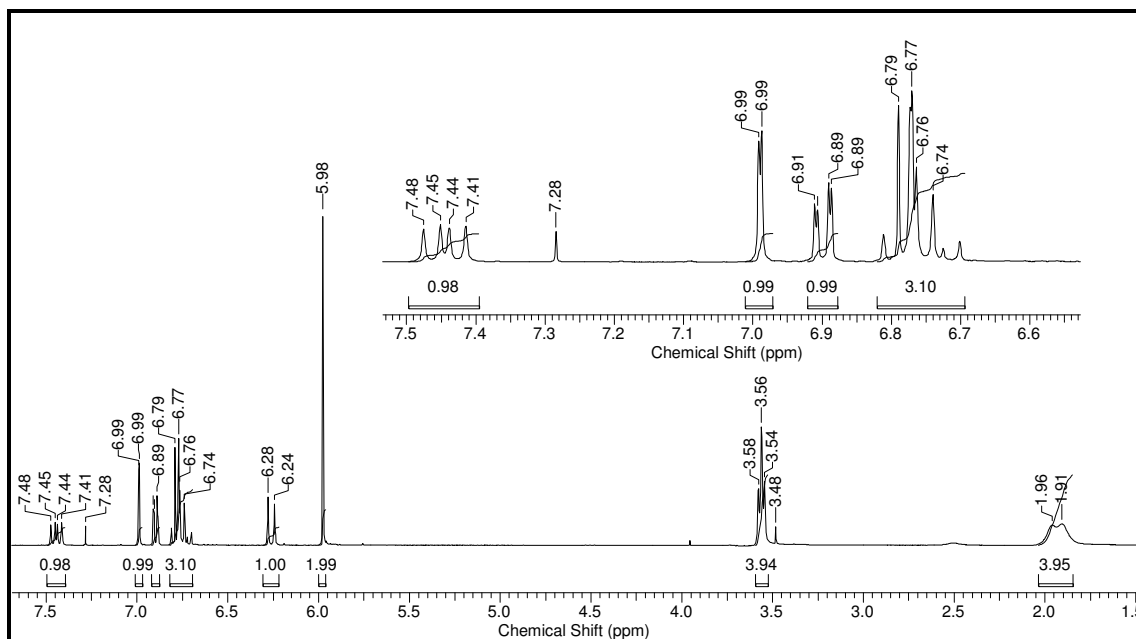
Espectro 13: Espectro de IV da amida pirrolidinil **65**

### Dados do Espectro de Massas:

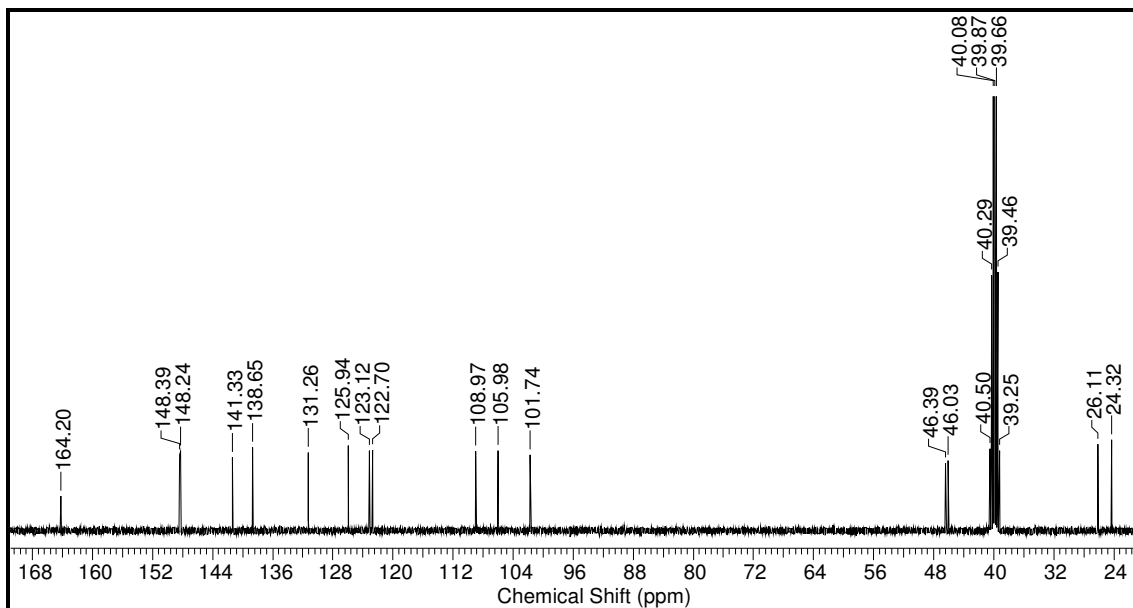
$m/z = 271$  (100%);  $241$  (5%);  $201$  (85%);  $173$  (40%);  $143$  (40%);  $115$  (85%);  $89$  (15%);  $70$  (10%) e  $63$  (20%).



**Espectro 14:** Espectro de massas da amida pirrolidinil **65**



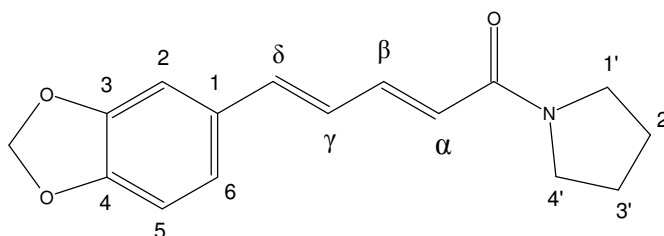
**Espectro 15:** Espectro de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida pirrolidinil **65**



**Espectro 16:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}D_6$ ) da amida pirrolidinil **65**

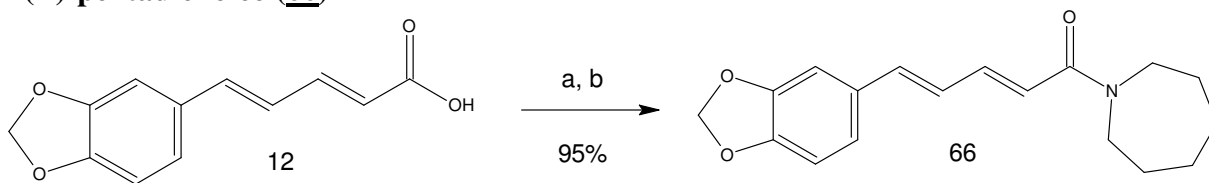
**Tabela 5:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para amida **65**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1' e 4'	3,56 (t; $J=6,78$ ; 4H)	46,4 e 46,0 ( $\text{CH}_2$ )
2' e 3'	1,95 (m; 4H)	26,1 e 24,3 ( $\text{CH}_2$ )
C=O	-----	164,2 (C)
$\alpha$	6,26(d; 14,5; 1H)	123,1 (CH)
$\beta$	7,44 (dd; 14,5 e 9,6; 1H)	141,3 (CH)
$\gamma$	6,75 (m, 1H)	125,9 (CH)
$\delta$	6,75 (m, 1H)	138,6 (CH)
1	-----	131,2 (C)
2	6,99 (d; 1,76; 1H)	105,9 (CH)
3 e 4	-----	148,4 e 148,2 (C)
5	6,75 (m, 1H)	108,9 (CH)
6	6,90 (dd; 1H)	122,7 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	5,98 (sl; 2H)	101,7 ( $\text{CH}_2$ )



**Pirrolidinil 65**

#### 4.5.2.4. Síntese da amida hexametilenaminil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**66**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , hexametilenamina, t.a., 30 min.

#### Esquema 8: Reação de preparação da hexametilenaminil **66**

Pf: 114-115°C

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

$\nu\text{C-H}$  (Csp<sup>2</sup>) = 3028 (sistema aromático)

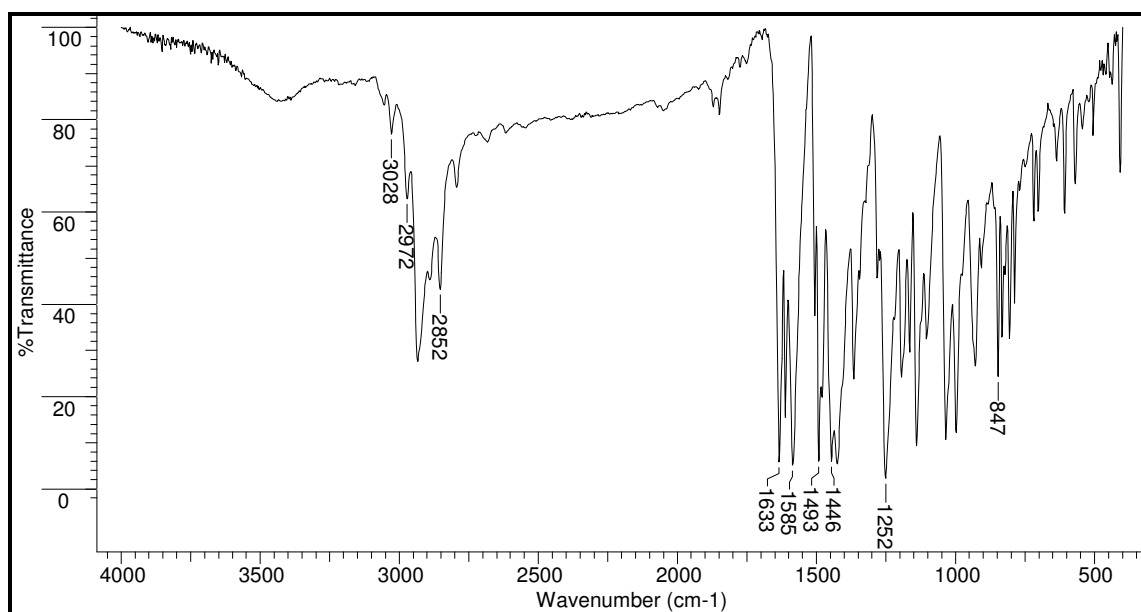
$\nu\text{C-H}$  (Csp<sup>3</sup>) = 2972-2852 (estiramento de metilenos do anel hexametilênico)

$\nu\text{C=O}$  = 1633 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu\text{C=C}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1585 – 1493 – 1446 (vibração do esqueleto aromático)

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

$\delta\text{C-H}$  (Csp<sup>2</sup>) = 847 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)

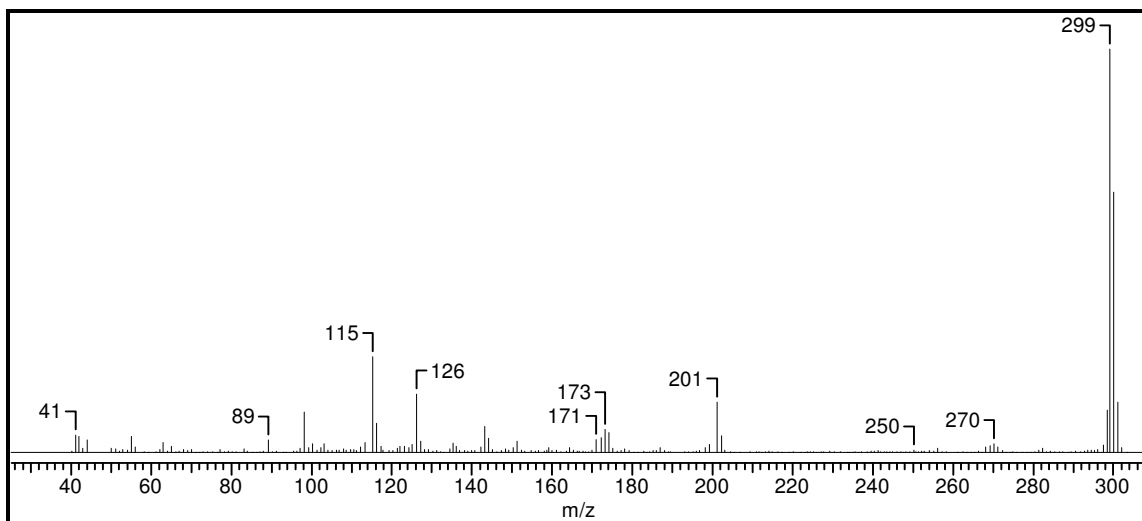


Espectro 17: Espectro de IV da amida hexametilenaminil **66**

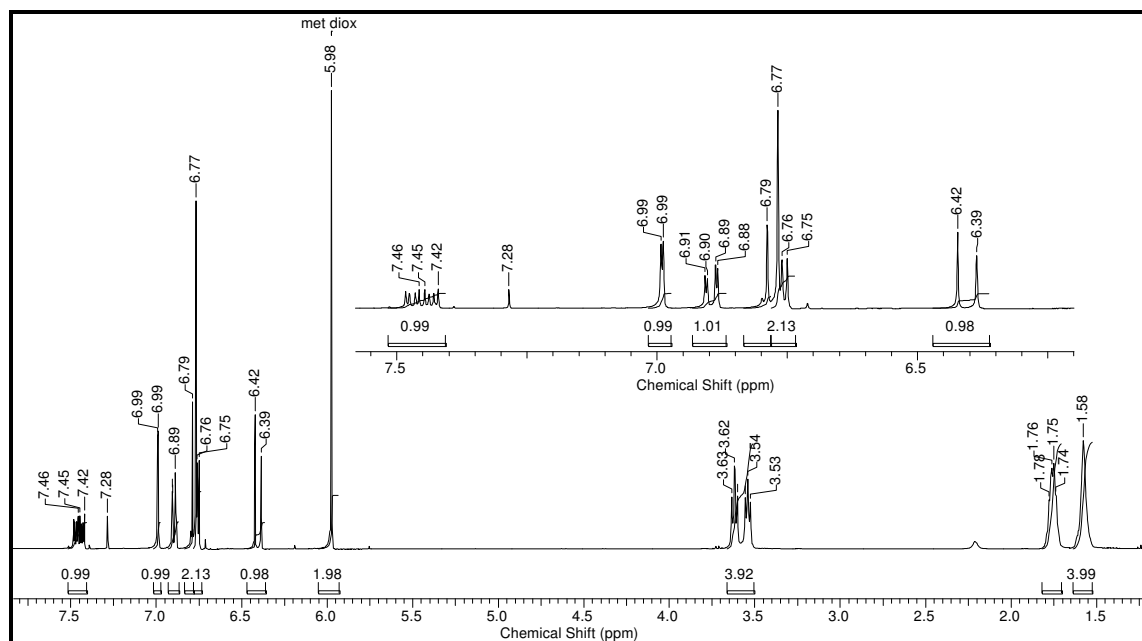


### Dados do Espectro de Massas:

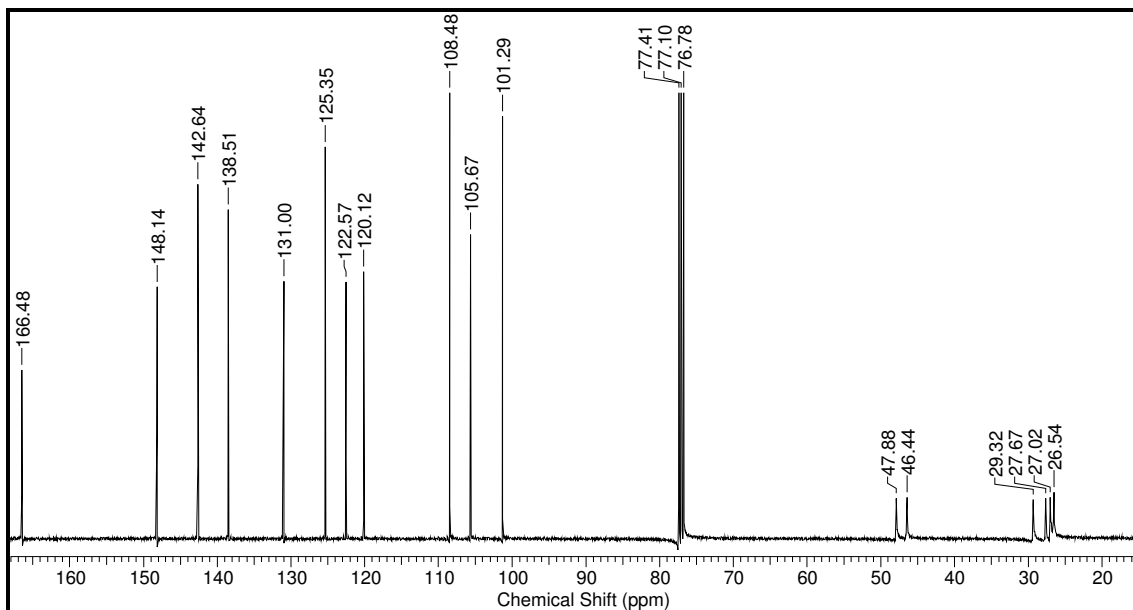
$m/z = 299$  (M+, 100%); 201 (15%); 173 (5%); 126 (15%); 115 (25%); 89 (5%) e 41 (5%).



**Espectro 18:** Espectro de massas da amida hexametilaminil **66**



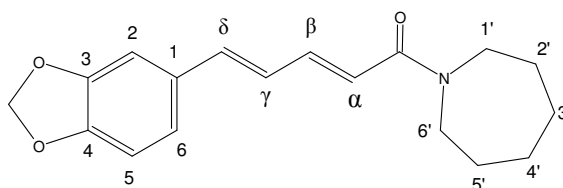
**Espectro 19:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida hexametilaminil **66**



**Espectro 20:** Espectro de RMN<sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da amida hexametilaminil **66**

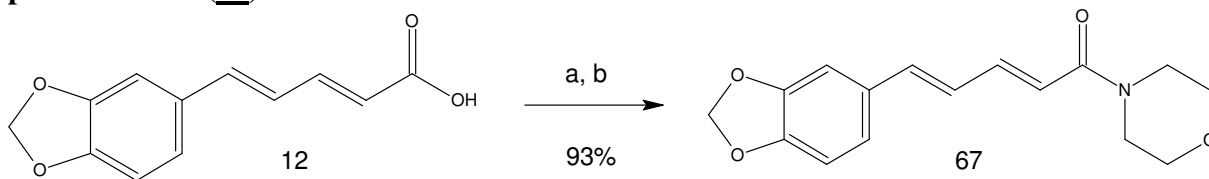
**Tabela 6:** Deslocamento químico de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C para **66**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	3,54 (t; J=6,15; 2H)	46,4 (CH <sub>2</sub> )
2' e 5'	1,75 (m; 4H)	29,3 e 27,7 (CH <sub>2</sub> )
3' e 4'	1,58 (m; 4H)	27,0 e 26,5 (CH <sub>2</sub> )
6'	3,62 (t; J=6,15; 2H)	47,8 (CH <sub>2</sub> )
C=O	-----	166,5 (C)
$\alpha$	6,40(d; 14,5; 1H)	122,5 (CH)
$\beta$	7,45 (dd; 14,5 e 9,6; 1H)	142,6 (CH)
$\gamma$	6,75 (d; J=4,02; 1H)	125,3 (CH)
$\delta$	6,99 (d; J=1,51; 1H)	138,5 (CH)
1	-----	131,0 (C)
2	6,79 (m; 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,1 (C)
5	6,78 (m, 1H)	108,5 (CH)
6	6,90 (dd; J=8,16 e 1,63; 1H)	120,1 (CH)
OCH <sub>2</sub> O	5,98 (sl; 2H)	101,3 (CH <sub>2</sub> )



**Amida hexametilaminil **66****

#### 4.5.2.5. Síntese da amida morfolinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**67**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , morfolina, t.a., 30 min.

#### Esquema 9: Reação de preparação da amida morfolinil **67**

Pf: 165-166°C (Lit. 167-168°C – Ribeiro, 2004)

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

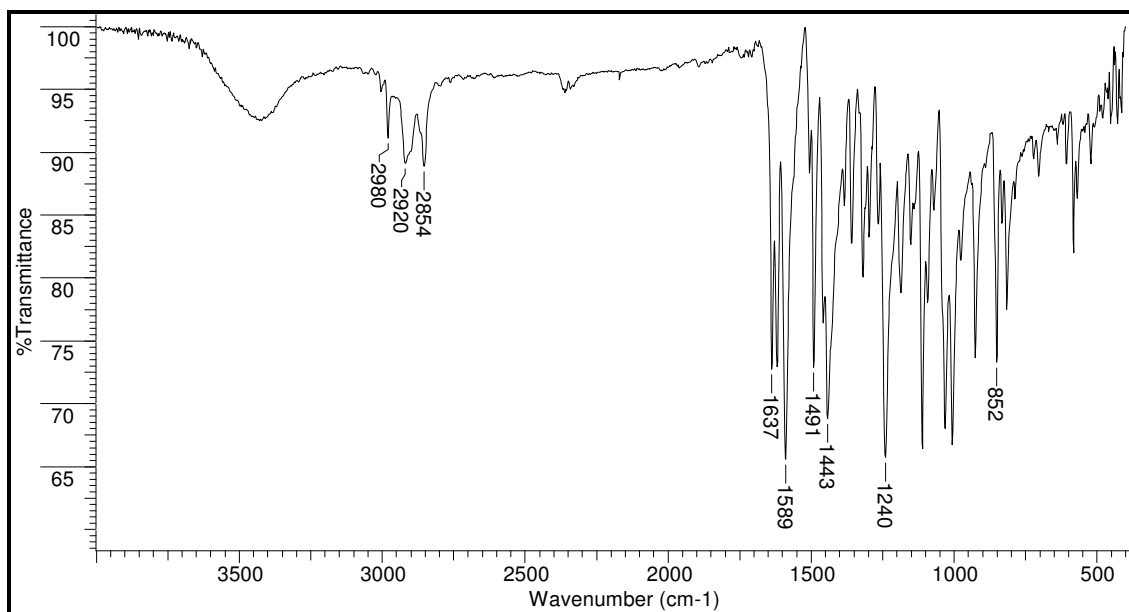
$\nu\text{C-H}$  (Csp3) = 2980-2920-2854 (estiramento de metilenos do anel morfolínico)

$\nu\text{C=O}$  = 1637 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu\text{C=C}$  (Csp2) = 1589 – 1491 – 1443 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu\text{C-O-C}$  = 1240 (anel metilenodioxi)

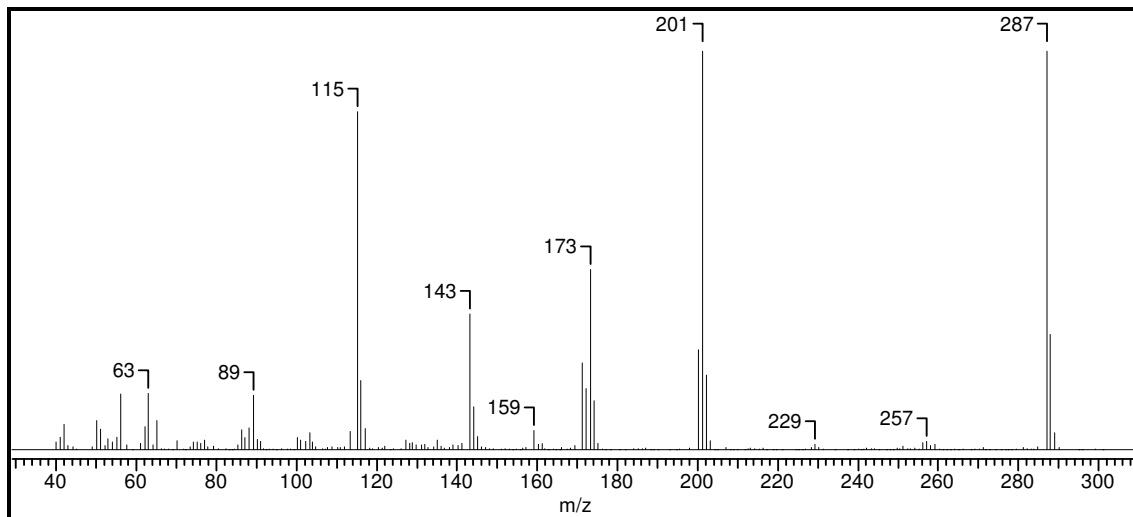
$\delta\text{C-H}$  (Csp2) = 852 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)



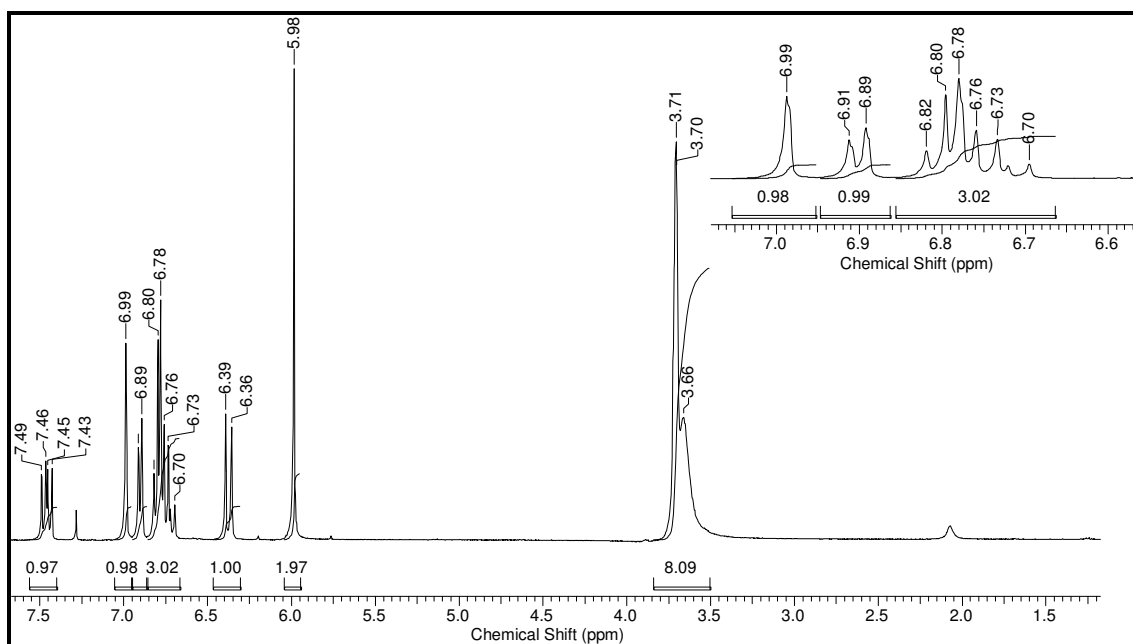
Espectro 21: Espectro de IV da amida morfolinil **67**

**Dados do Espectro de Massas:**

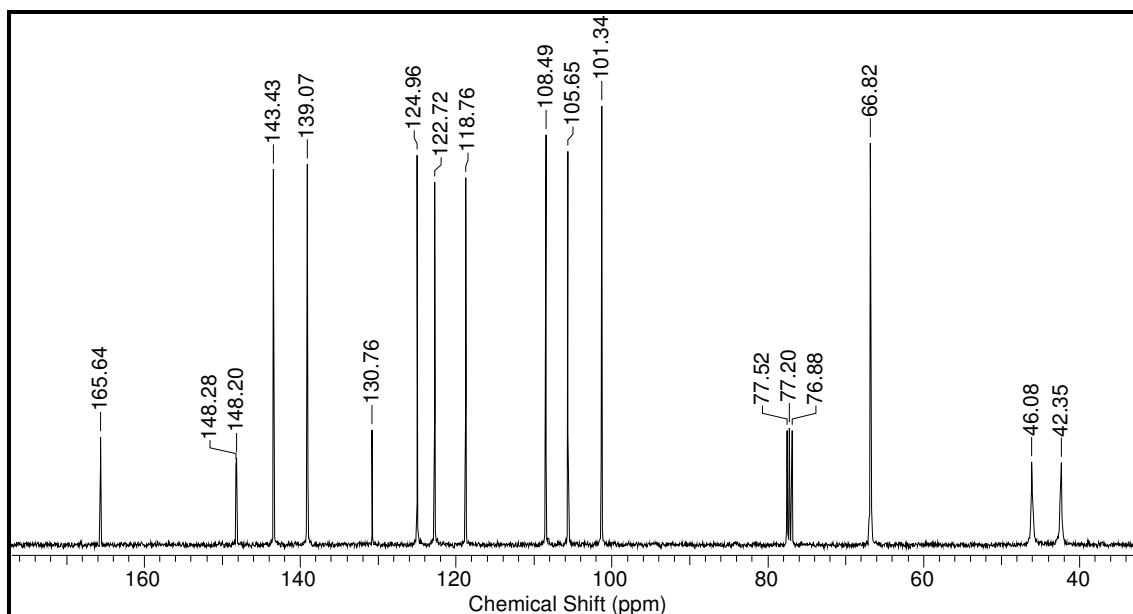
$m/z = 287$  ( $M^{+}$ , 100%); 201 (100%); 173 (45%); 143 (35%); 115 (75%); 89 (15%) e 63 (15%).



**Espectro 22:** Espectro de massas da amida morfolinil 67



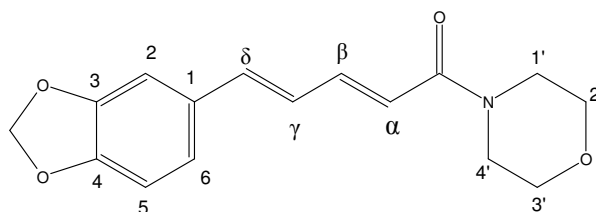
**Espectro 23:** Espectro de RMN  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) da amida morfolinil 67



**Espectro 24:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida morfolinil **67**

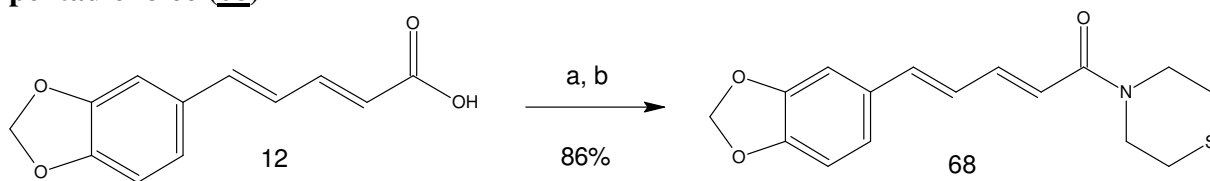
**Tabela 7:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **67**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1' e 4'	3,66 – 3,71 (m; 4H)	46,1 e 42,3 ( $\text{CH}_2$ )
2' e 3'	3,66 – 3,71 (m; 4H)	66,8 ( $\text{CH}_2$ )
C=O	-----	165,6 (C)
$\alpha$	6,37(d; 14,5; 1H)	122,7(CH)
$\beta$	7,45 (dd; 14,5 e 10,3; 1H)	143,4 (CH)
$\gamma$	6,74 (dd; $J=10,0$ ; 1H)	124,9 (CH)
$\delta$	6,99 (sl; 1H)	139,1 (CH)
1	-----	130,8 (C)
2	6,82 (s; 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,3 (C)
5	6,79 (d; $J=6,3$ ; 1H)	108,5 (CH)
6	6,90 (d; $J=8,0$ ; 1H)	118,7 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	5,98 (sl; 2H)	101,3 ( $\text{CH}_2$ )



**Amida morfolinil **67****

#### 4.5.2.6. Síntese da amida tiomorfolinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**68**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , tiomorfolina, t.a., 30 min.

#### Esquema 10: Reação de preparação da amida tiomorfolinil **68**

Pf: 119-120°C

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

$\nu_{\text{C-H}}$  (Csp<sup>2</sup>) = 3018 (sistema aromático)

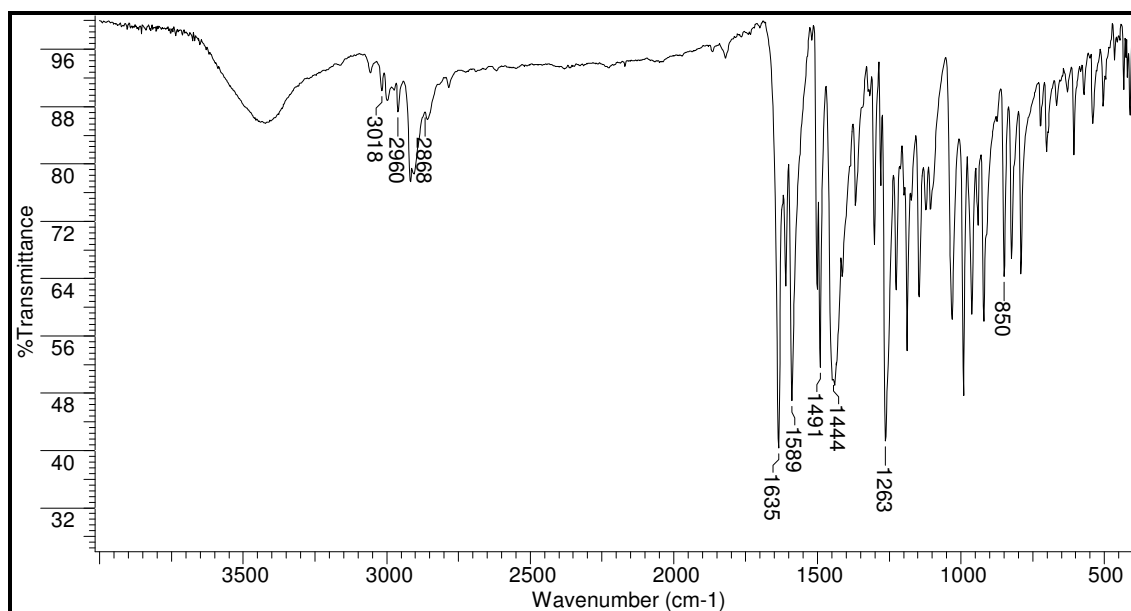
$\nu_{\text{C-H}}$  (Csp<sup>3</sup>) = 2960-2868 (estiramento de metilenos do anel tiomorfolínico)

$\nu_{\text{C=O}}$  = 1635 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu_{\text{C=C}}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1589 – 1491 – 1444 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1263 (anel metilenodioxi)

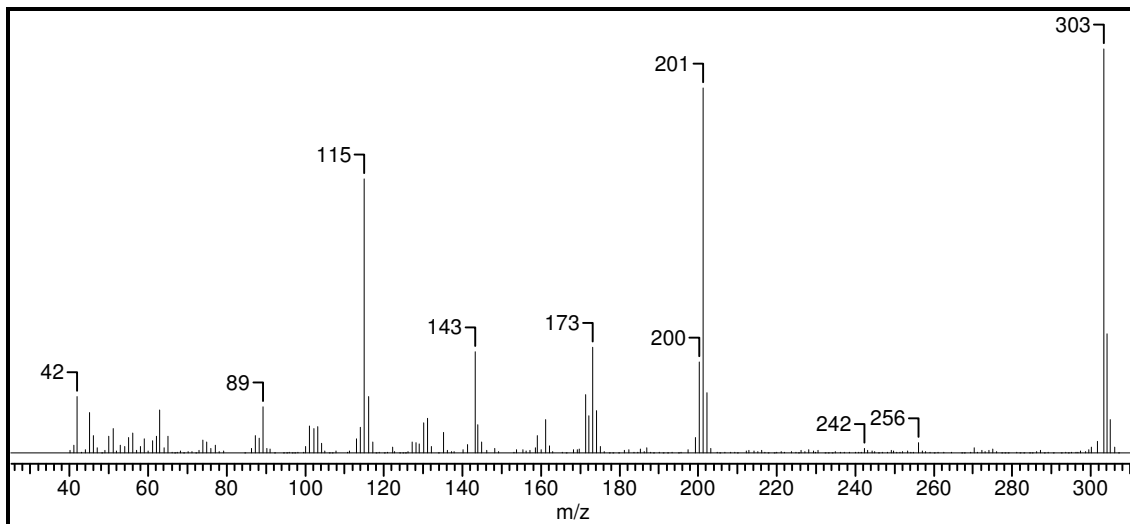
$\delta_{\text{C-H}}$  (Csp<sup>2</sup>) = 850 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)



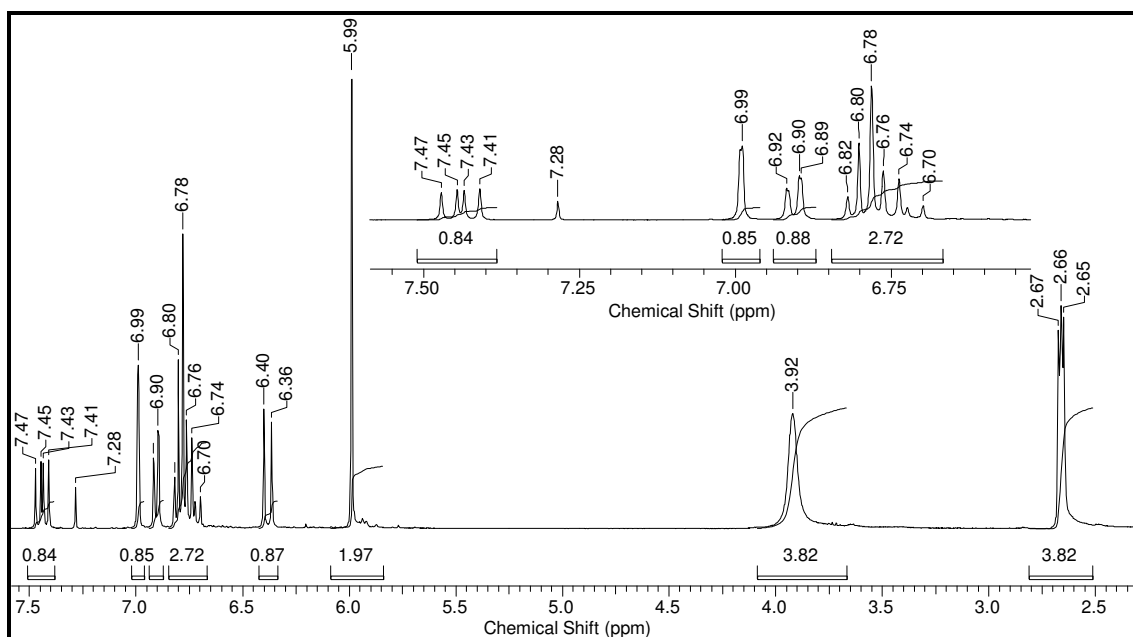
Espectro 25: Espectro de IV da amida tiomorfolinil **68**

**Dados do Espectro de Massas:**

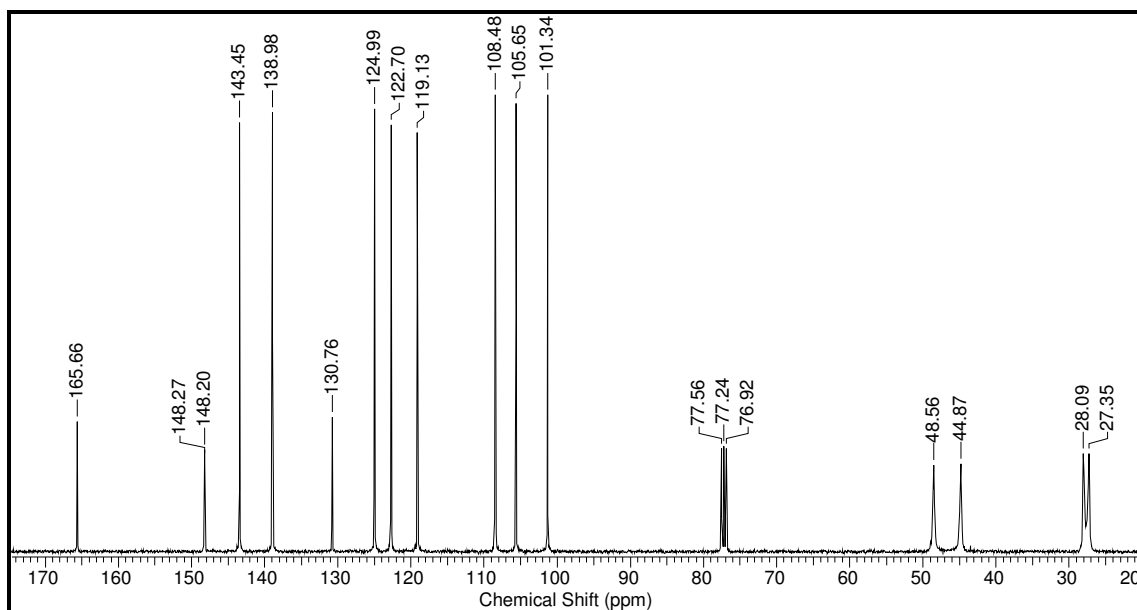
m/z = 303 (M+, 100%); 201 (95%); 200 (25%); 173 (30%); 143 (30%); 115 (70%); 89 (10%) e 42 (10%).



**Espectro 26:** Espectro de massas da amida tiomorfolinil **68**



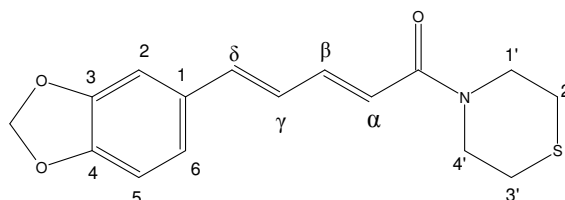
**Espectro 27:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da amida tiomorfolinil **68**



**Espectro 28:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida tiomorfolinil **68**

**Tabela 8:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **68**

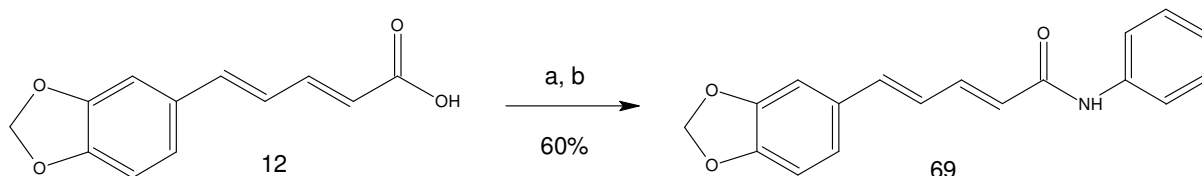
Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'e 4'	3,92 (m; 4H)	48,6 e 44,8 ( $\text{CH}_2$ )
2'e3'	2,66 (m; 2H)	28,1 e 27,3 ( $\text{CH}_2$ )
C=O	-----	165,7 (C)
$\alpha$	6,38(d; 14,5; 1H)	122,7(CH)
$\beta$	7,44 (dd; 14,5 e 10,6; 1H)	143,5 (CH)
$\gamma$	6,76 (m; 1H)	124,9 (CH)
$\delta$	6,76 (m; 1H)	139,0 (CH)
1	-----	130,8 (C)
2	6,99 (s; 1H)	105,7 (CH)
3 e 4	-----	148,3 e 148,2 (C)
5	6,76 (m; 1H)	108,5 (CH)
6	6,90 (dl; 1H)	119,1 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	5,98 (sl; 2H)	101,3 ( $\text{CH}_2$ )



**Amida tiomorfolinil 68**



#### 4.5.2.7. Síntese da anilida do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (69)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CHCl}_3$ , anilina, t.a., 30 min.

#### Esquema 11: Reação de preparação da anilida **69**

Pf: 198-199 °C

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

$\nu_{\text{N-H}}$  = 3253 (estiramento da amida secundária)

$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 3037 (sistema aromático)

$\nu_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2920 (anel metilenodioxi)

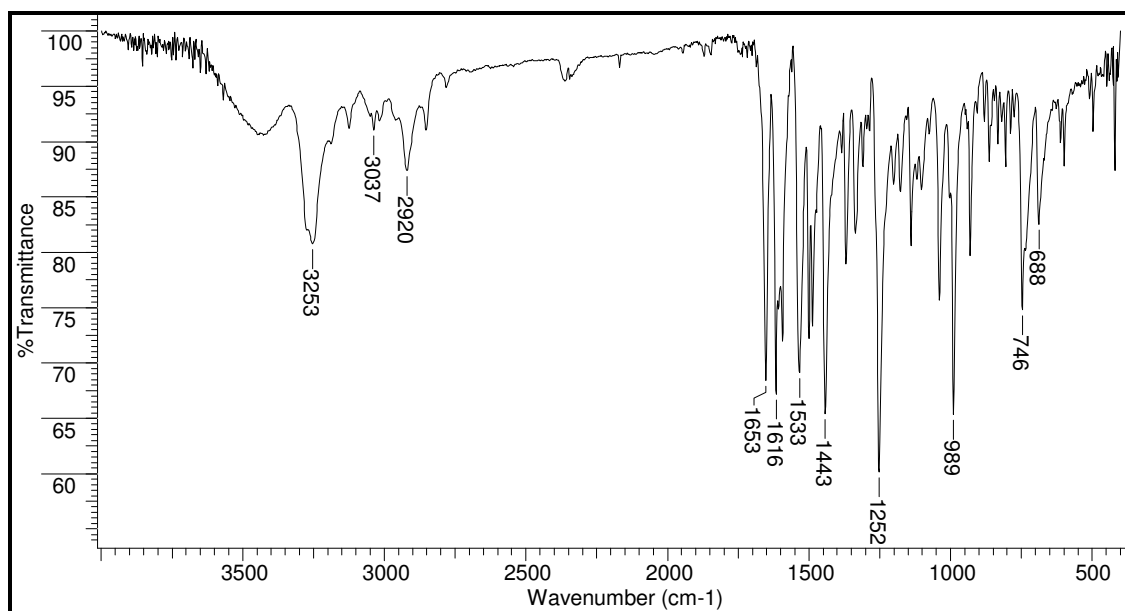
$\nu_{\text{C=O}}$  = 1653 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu_{\text{C=C}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1616 – 1533 – 1443 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1252 (metilenodioxi)

$\delta_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 989 (deformação angular de C-H para H isolado no sistema aromático)

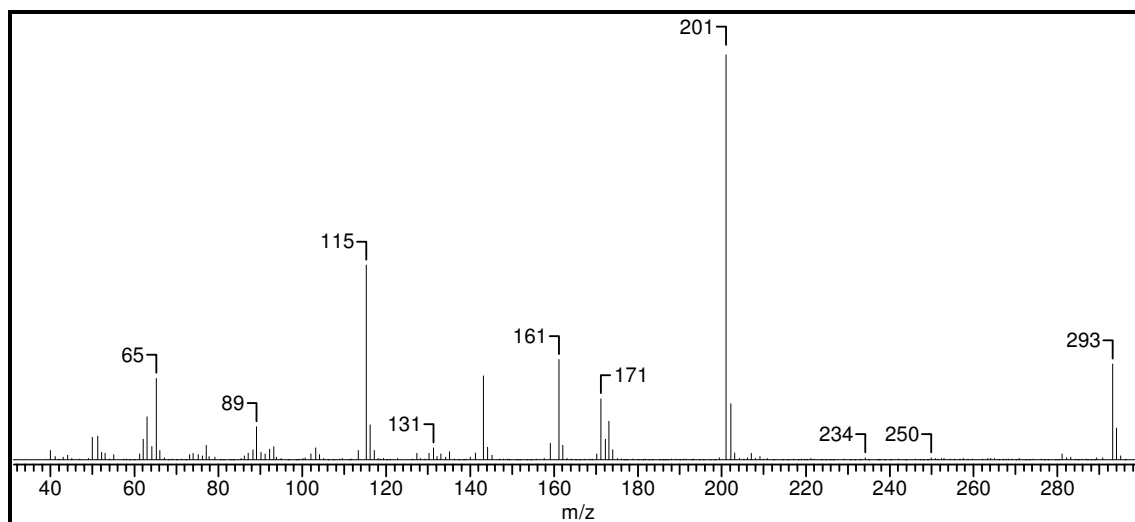
$\delta_{\text{C-H}}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 746 e 688 (deformação angular de C-H para 5H no sistema aromático)



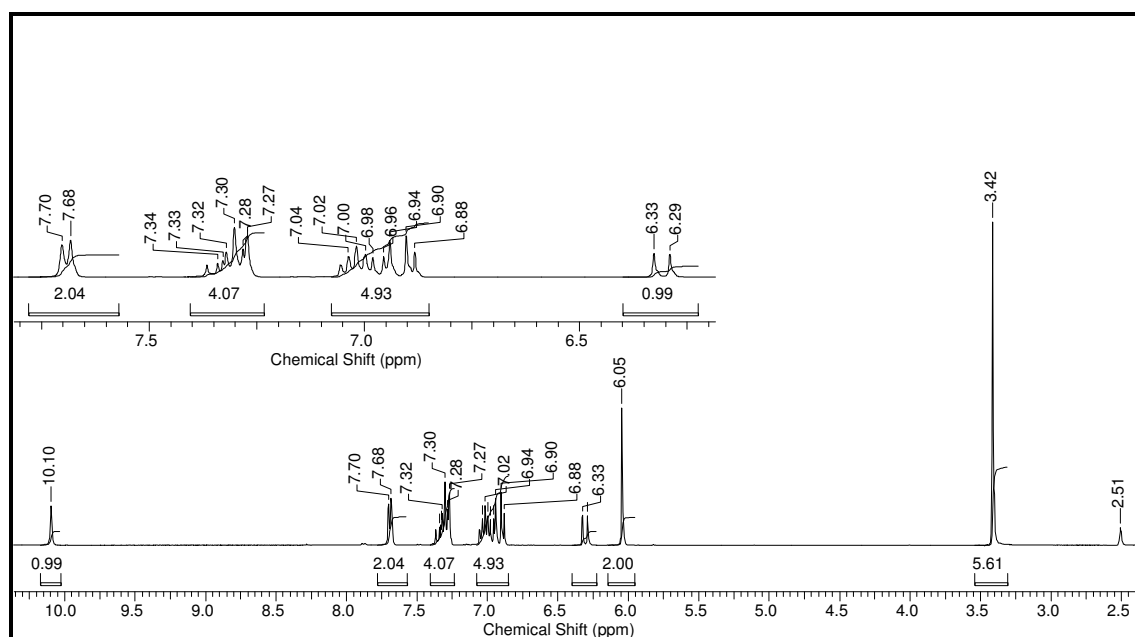
Espectro 29: Espectro de IV da anilida **69**

### Dados do Espectro de Massas:

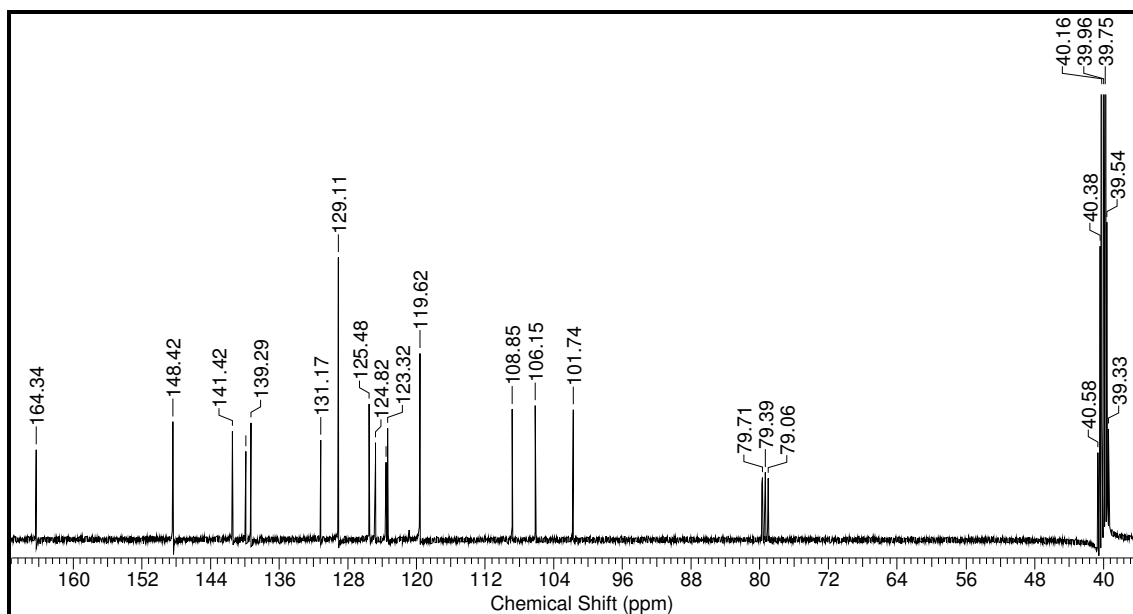
$m/z = 293$  (25%);  $201$  (100%);  $171$  (15%);  $161$  (25%);  $115$  (50%);  $89$  (10%) e  $65$  (20%).



**Espectro 30:** Espectro da amida anilida **69**



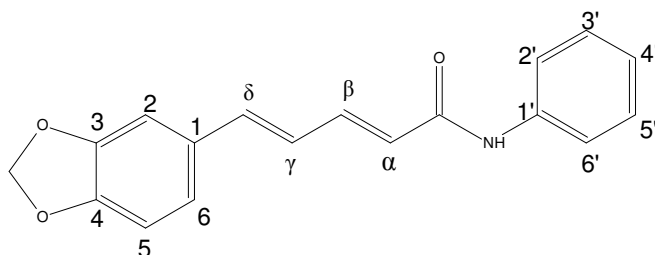
**Espectro 31:** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}D_6$ ) da anilida **69**



**Espectro 32:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da anilida **69**

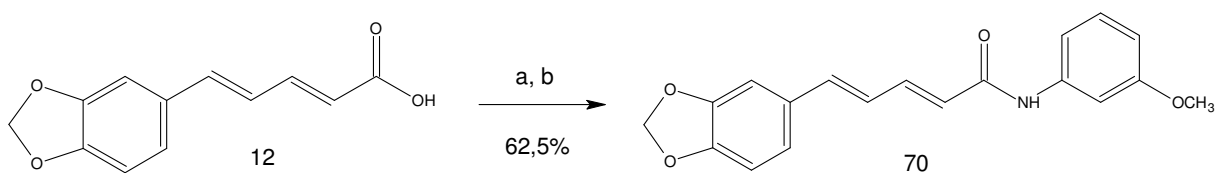
**Tabela 9:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **69**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	-----	139,9 (C)
2' e 6'	7,69 (d; 8,0; 2H)	129,1 (CH)
3' e 5'	7,30 (m; 2H)	119,6 (CH)
4'	7,30 (m; 1H)	125,5 (CH)
NH	10,10 (s; 1H)	-----
C=O	-----	164,3 (C)
$\alpha$	6,31(d; 14,8; 1H)	124,8 (CH)
$\beta$	7,30(m; 1H)	141,42 (CH)
$\gamma$	6,89 (m; 1H)	123,6 (CH)
$\delta$	7,00 (m; 1H)	139,3 (CH)
1	-----	131,1 (C)
2	7,02 (m; 1H)	108,8 (CH)
3 e 4	-----	148,3 e 148,4 (C)
5	6,94 (m; 1H)	106,1 (CH)
6	6,97 (m; 1H)	123,3 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	6,05 (sl; 2H)	101,7 ( $\text{CH}_2$ )



**Anilida 69**

#### 4.5.2.8. Síntese da amida *meta*-anisidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(*E*)-4(*E*)-pentadienóico (**70**)



Reagentes: a) (COCl)<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>, t.a., 2h b) CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, *m*-anisidina, t.a., 30 min.

#### Esquema 12: Reação de preparação da amida *m*-anisidinil **70**

Pf: 144-145 °C

#### Dados de Infravermelho (pastilha em KBr, cm<sup>-1</sup>):

$\nu$ C-H (Csp<sup>2</sup>) = 3074 - 3012 (sistema aromático)

$\nu$ C=O = 1651 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

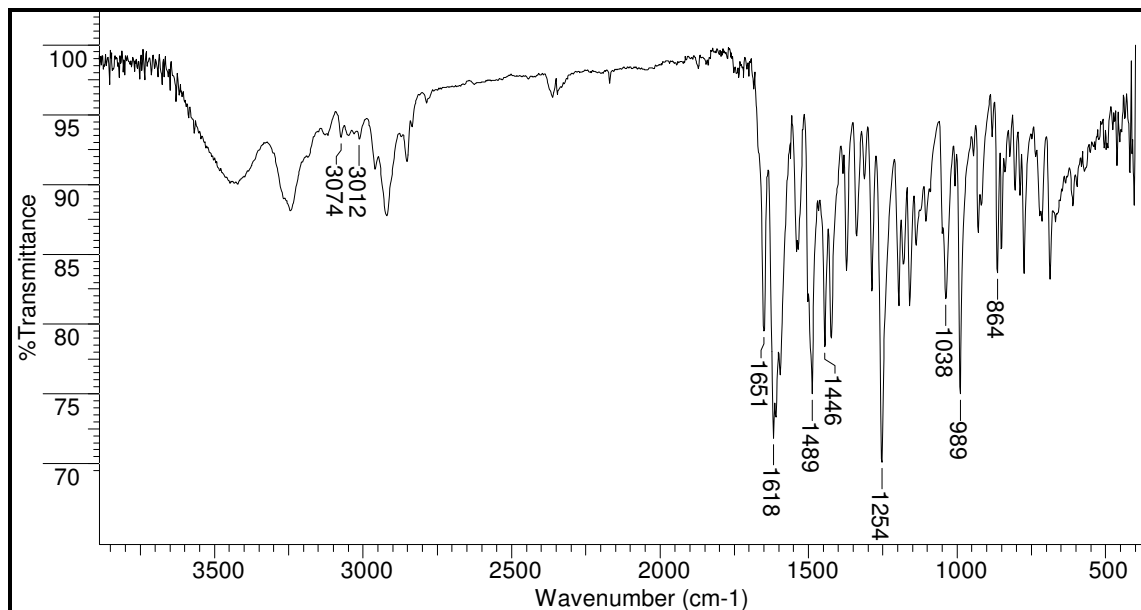
$\nu$ C=C (Csp<sup>2</sup>) = 1618 - 1489 - 1446 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu$ C-O-C = 1254 (anel metilenodioxi)

$\delta$ C-H (Csp<sup>2</sup>) = 989 (deformação angular de C-H para H isolado no sistema aromático)

$\delta$ C-H (Csp<sup>2</sup>) = 864 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)

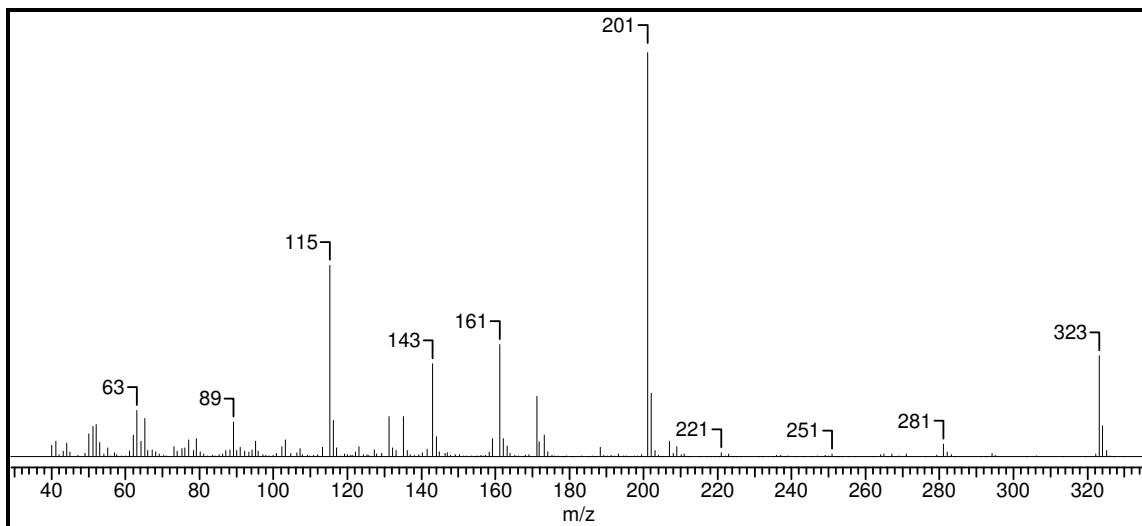
$\nu$ C-O-C = 1038 (metoxila)



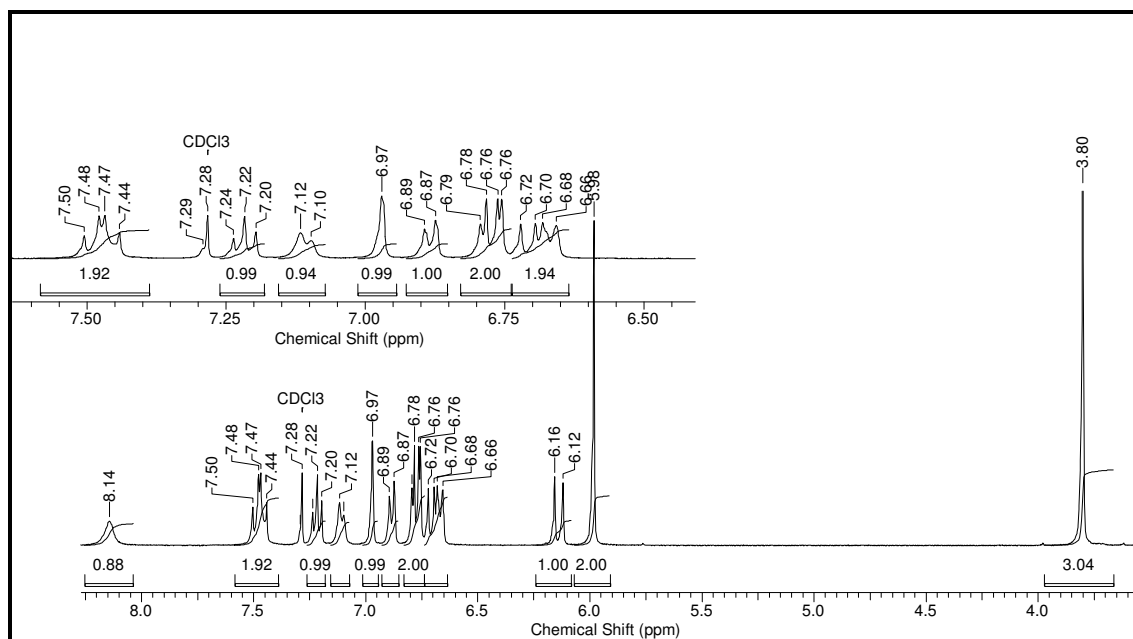
Espectro 33: Espectro de IV da amida *m*-anisidinil **70**

**Dados do Espectro de Massas:**

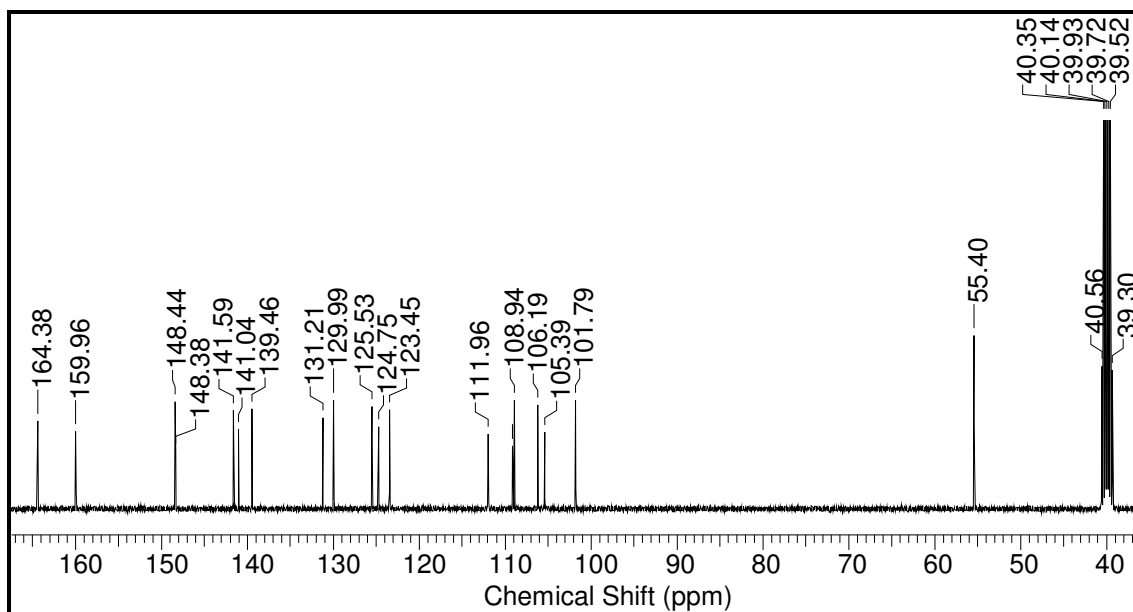
$m/z = 323$  (30%);  $201$  (100%);  $161$  (30%);  $143$  (20%);  $115$  (50%);  $89$  (10%) e  $63$  (10%).



**Espectro 34:** Espectro de massas da amida *m*-anisidini **70**



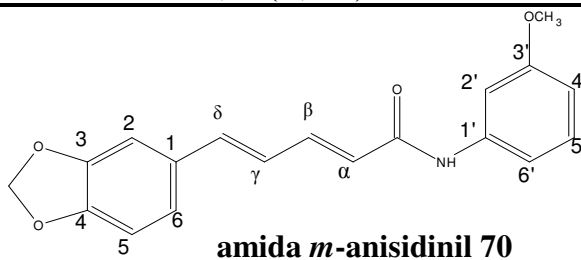
**Espectro 35:** Espectro de RMN de <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*D*<sub>6</sub>) da amida *m*-anisidini **70**



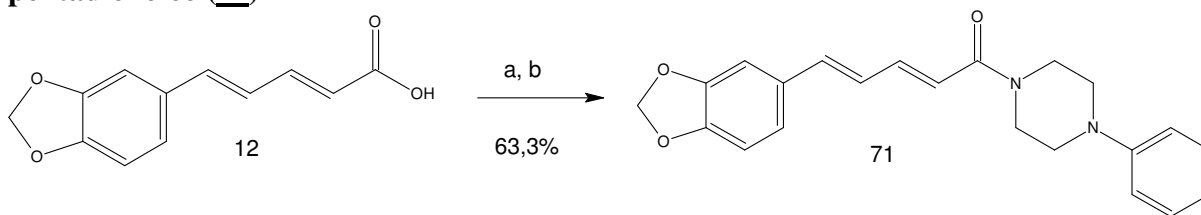
**Espectro 36:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da amida *m*-anisidinil **70**

**Tabela 10:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **70**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	-----	141,0 (C)
2'	6,69 (dd; 15,7 e 10,2; 1H)	109,1 (CH)
3'	-----	159,1 (C)
4'	7,22 (d; 8,6; 1H)	106,2 (CH)
5'	7,47 (m; 1H)	131,21 (CH)
6'	7,11 (d; 7,53; 1H)	111,9 (CH)
OCH <sub>3</sub>	3,8 (s; 3H)	55,4 (CH <sub>3</sub> )
NH	8,14 (s; 1H)	-----
C=O	-----	164,4 (C)
$\alpha$	6,11 (d; 14,8; 1H)	125,5 (CH)
$\beta$	7,47 (m; 1H)	141,6 (CH)
$\gamma$	6,69 (dd; 15,7 e 10,2; 1H)	124,7 (CH)
$\delta$	6,88 (d; 8,0; 1H)	139,4 (CH)
1	-----	129,9 (C)
2	6,97 (sl; 1H)	105,4 (CH)
3 e 4	-----	148,3 (C)
5	6,77 (m; 1H)	108,9 (CH)
6	6,77 (m; 1H)	123,4 (CH)
OCH <sub>2</sub> O	5,98 (sl; 2H)	101,8 (CH <sub>2</sub> )



#### 4.5.2.9. Síntese da amida fenil-piperazinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (**71**)



Reagentes: a)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h b)  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , fenil piperazina, t.a., 30 min.

#### Esquema 13: Reação de preparação da amida fenil piperazinil **71**

Pf: 152-153 °C

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

$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 3018 (sistema aromático)

$\nu\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^3$ ) = 2918 – 2806 (estiramento de metilenos do anel piperazínico)

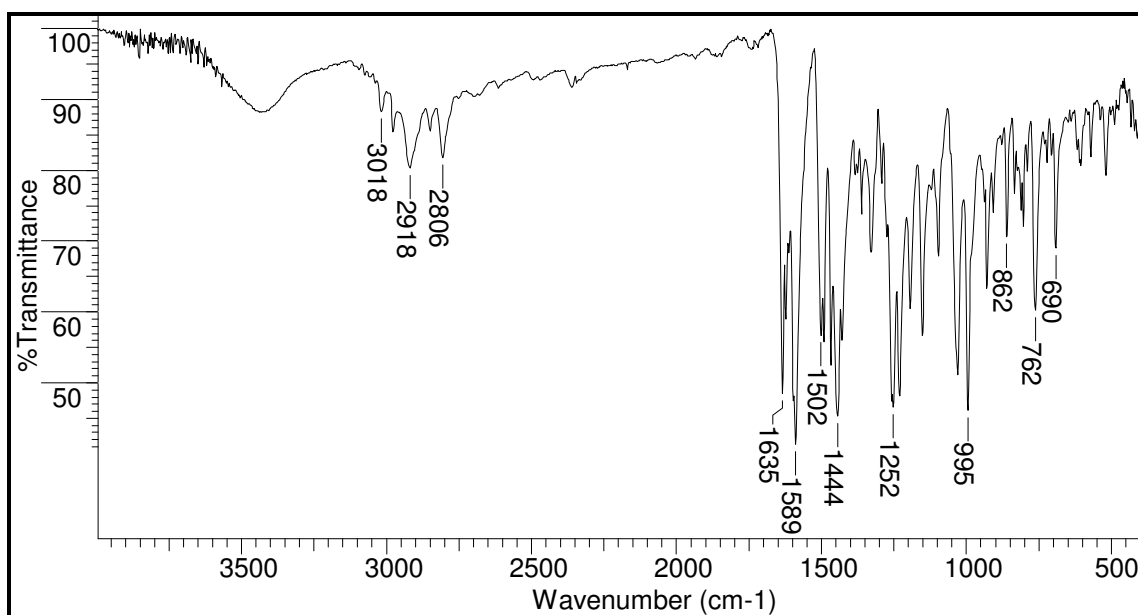
$\nu\text{C=O}$  = 1635 (estiramento da carbonila conjugada da amida)

$\nu\text{C=C}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 1589 – 1502 – 1444 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu\text{C-O-C}$  = 1252 (anel metilenodioxí)

$\delta\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 862 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)

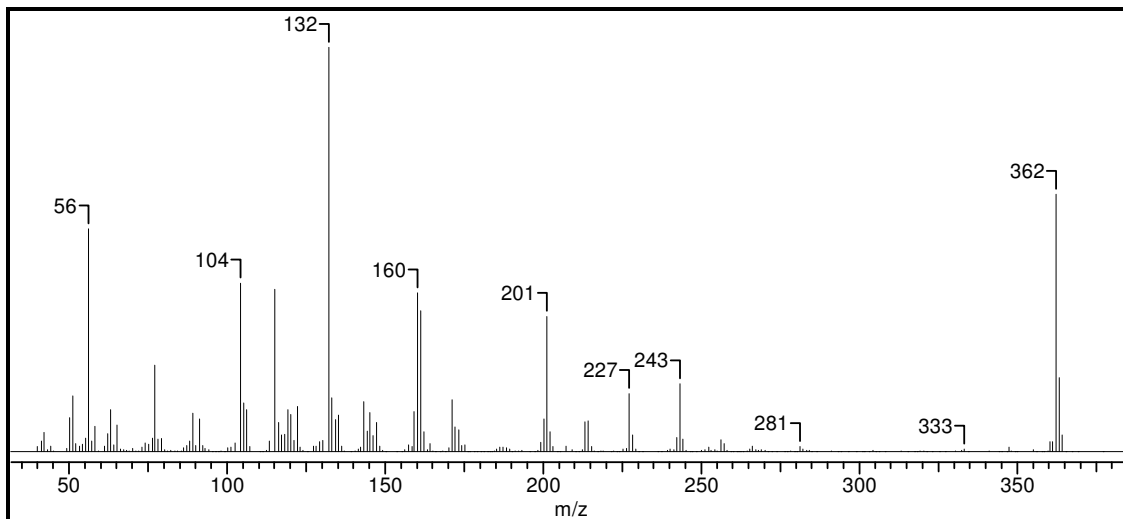
$\delta\text{C-H}$  ( $\text{Csp}^2$ ) = 762 e 690 (deformação angular de C-H para 5H no sistema aromático)



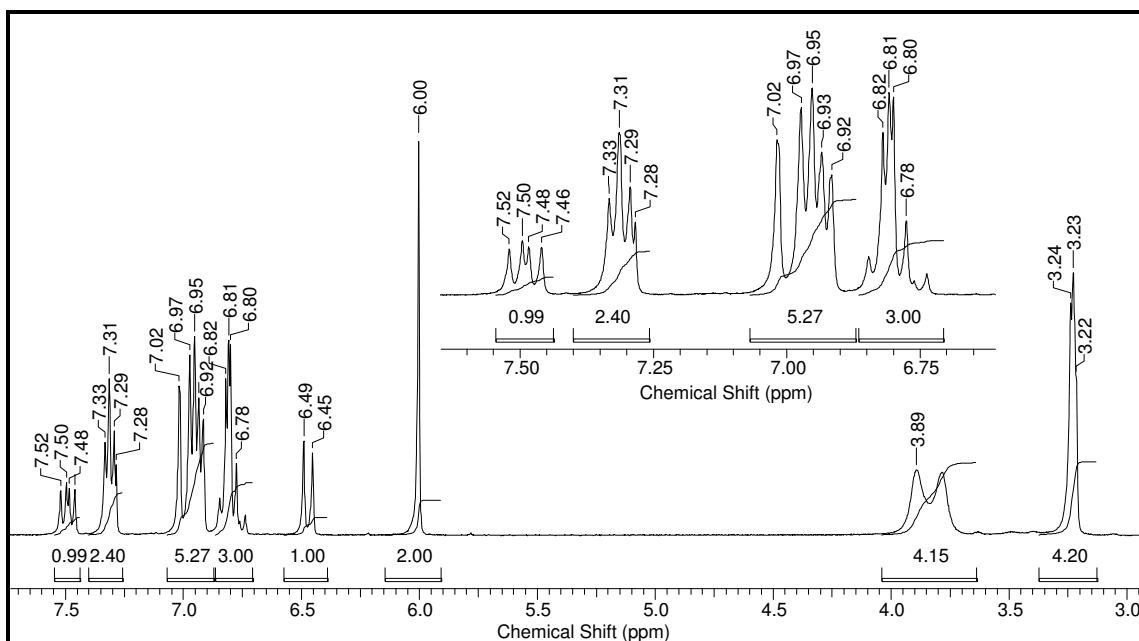
Espectro 37: Espectro de IV da amida fenil piperazinil **71**

### Dados do Espectro de Massas:

$m/z = 362$  ( $M^+$ , 75%); 243 (15%); 227 (15%); 201 (25%); 160 (50%); 132 (100%); 104 (55%) e 56 (65%).

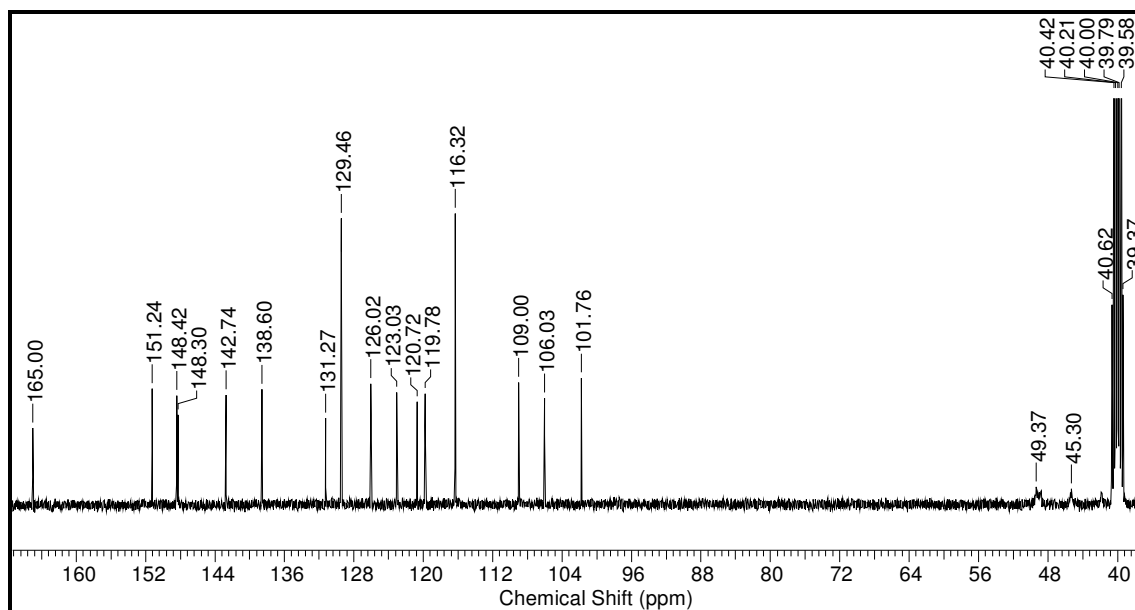


**Espectro 38:** Espectro de massas da amida fenil piperazinil **71**



**Espectro 39:** Espectro de RMN de  $^1H$  (400 MHz,  $CDCl_3$ ) da amida fenil piperazinil **71**

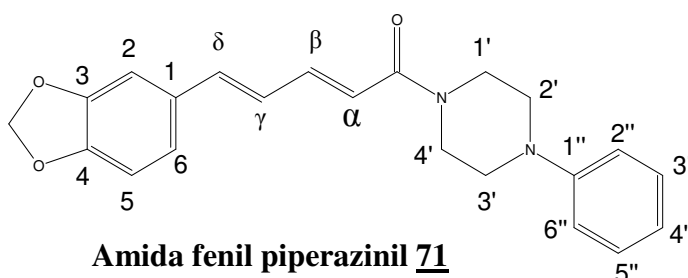




**Espectro 40:** Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-}D_6$ ) da amida fenil piperazínil **71**

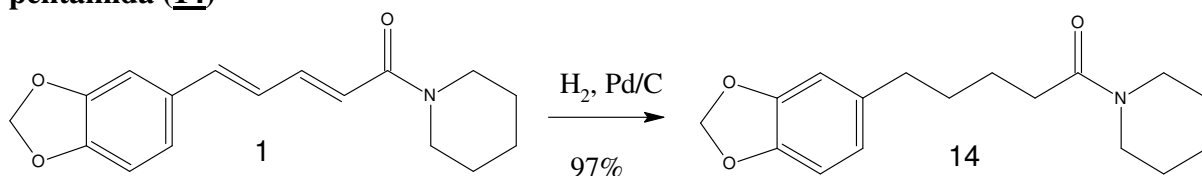
**Tabela 11:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **71**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1' e 4'	3,89 (m; 4H)	49,4 ( $\text{CH}_2$ )
2' e 3'	3,23 (m; 4H)	45,3 ( $\text{CH}_2$ )
1''	-----	151,2 (C)
2'' e 6''	6,97 (m; 2H)	116,3 (CH)
3'' e 5''	7,30 (m; 2H)	129,46 (CH)
4''	6,80 (m; 1H)	119,8 (CH)
C=O	-----	165,0 (C)
$\alpha$	6,47 (d; 14,5; 1H)	126,0 (CH)
$\beta$	7,49 (dd; 14,7 e 9,7; 1H)	142,74 (CH)
$\gamma$	6,90 (m; 1H)	123,0(CH)
$\delta$	6,97 (m; 1H)	138,6(CH)
1	-----	131,3 (C)
2	6,97 (m; 1H)	109,0(CH)
3 e 4	-----	148,4 (C)
5	6,90 (m; 1H)	106,0(CH)
6	6,97 (m; 1H)	120,7(CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	6,00 (sl; 2H)	101,8 ( $\text{CH}_2$ )



#### 4.6. Preparação da série saturada

##### 4.6.1. Preparação da tetraidropiperina (5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-(1-piperidinil)-pentamida (14))



**Esquema 14:** Reação de preparação da tetraidropiperina **14**

Em um balão de 125 mL foram dissolvidos 1,00 g (3,509 mmols) de piperina em 50 mL de acetato de etila, sobre o qual foi adicionado 0,05 g do catalisador Pd/C 10%. Esta suspensão foi mantida sob agitação, a temperatura ambiente, por alguns minutos. Selou-se o balão com um septo, retirando-se o ar por meio de sistema de vácuo acoplado a um balão contendo hidrogênio fixado ao septo. O sistema então permaneceu por 4 horas sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética. Após o término da reação (acompanhada por CCDA), o meio reacional foi filtrado numa seringa empacotada com sílica gel comercial (SPE), para retirar o catalisador. Após a evaporação do solvente, obteve-se 0,99 g de um óleo amarelado. O rendimento foi de 97%.

#### Dados de Infravermelho (filme, cm<sup>-1</sup>):

vC-H (Csp<sup>2</sup>) = 3005 (sistema aromático)

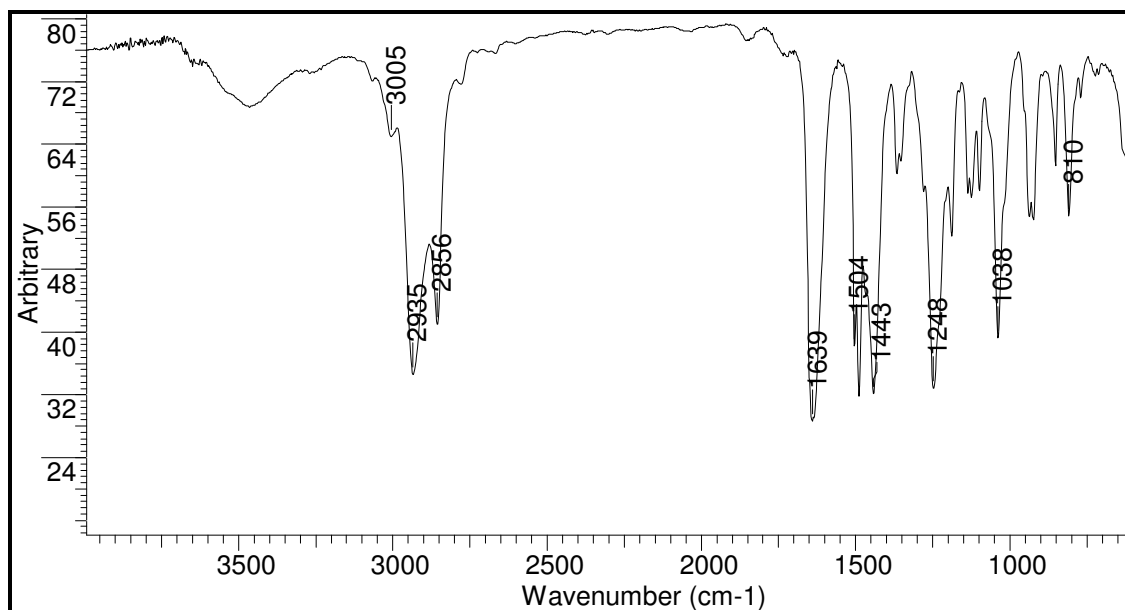
vC-H (Csp<sup>3</sup>) = 2935 – 2856 (estiramento de metilenos)

vC=O = 1639 (estiramento da carbonila amídica)

vC=C (Csp<sup>2</sup>) = 1504 – 1443 (vibração do esqueleto aromático)

vC-O-C = 1248 e 1038 (anel metilenodioxi)

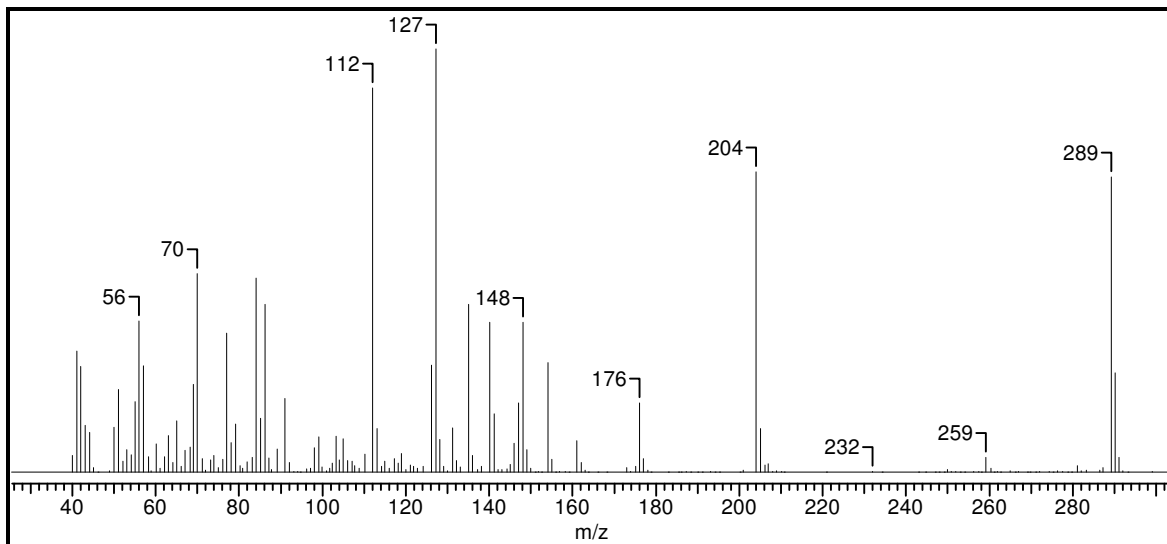
δC-H (Csp<sup>2</sup>) = 810 (deformação angular de C-H para 2H no sistema aromático)



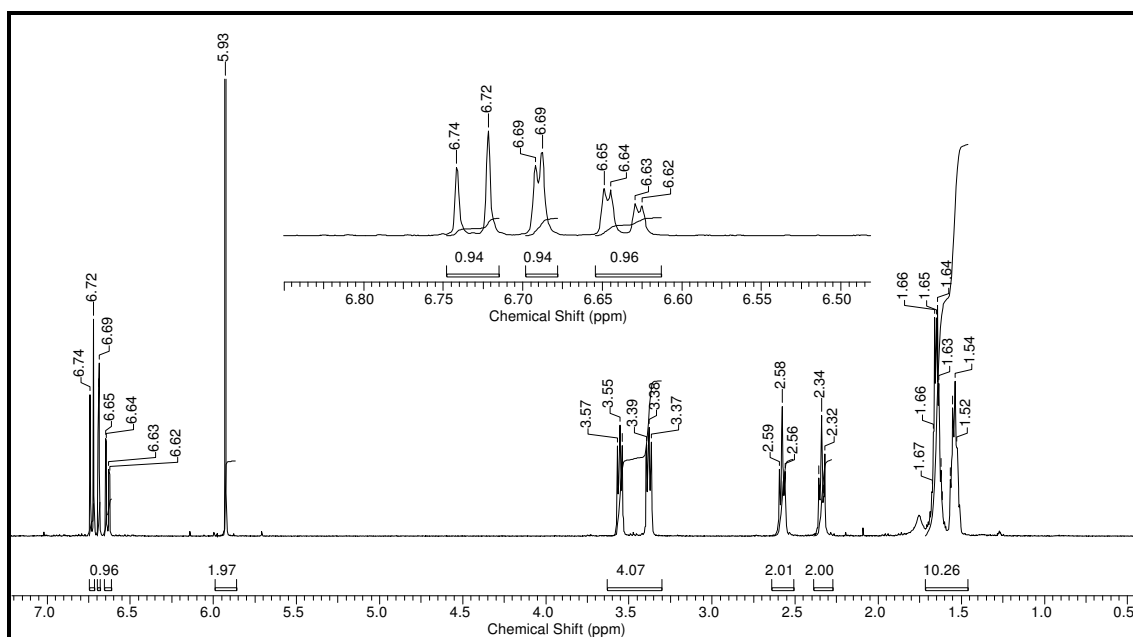
**Espectro 41:** Espectro de IV da tetraidropiperina **14**

### Dados do Espectro de Massas:

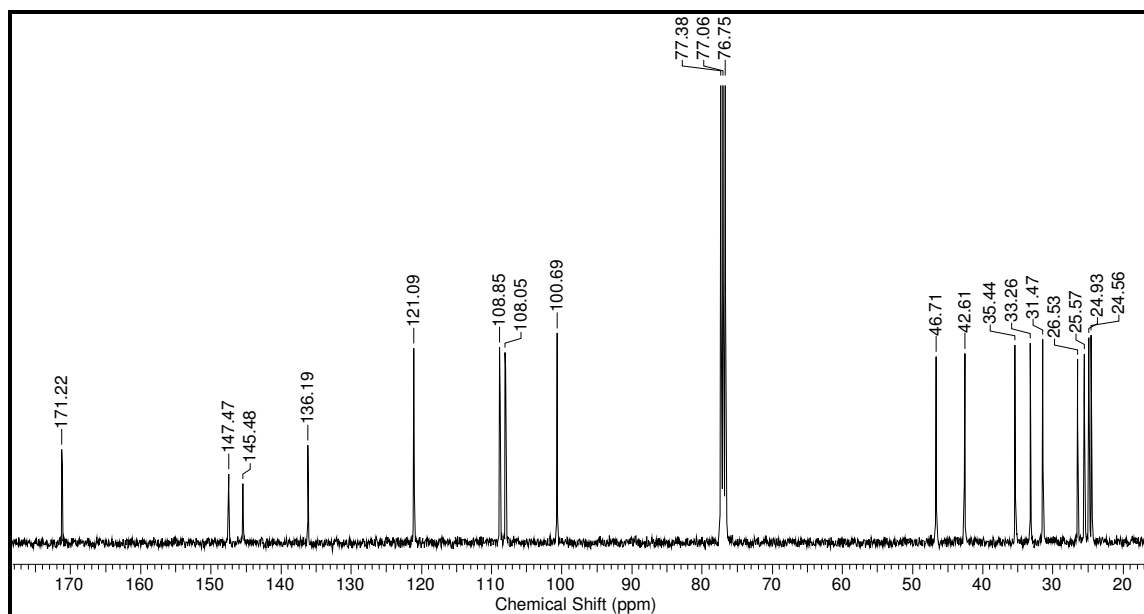
$m/z = 289$  (M+, 85%); 204 (85%); 176 (20%); 148 (40%); 127 (100%); 112 (95%); 70 (50%) e 56 (40%).



**Espectro 42:** Espectro de massas da tetraidropiperina **14**



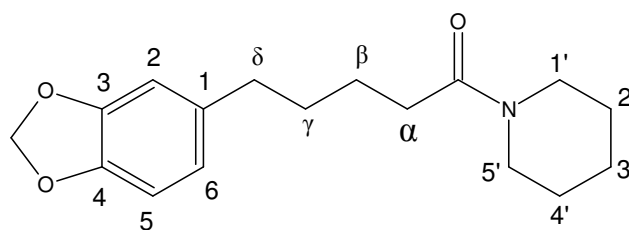
**Espectro 43:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da tetraidropiperina **14**



**Espectro 44:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da tetraidropiperina **14**

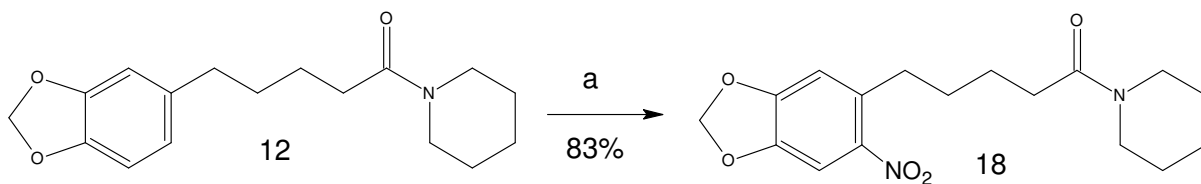
**Tabela 12:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **14**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	3,38 (t; 2H)	42,6 ( $\text{CH}_2$ )
2'; 3' e 4'	1,52 – 1,67 (m; 6H)	25,6; 24,6 e 24,9 ( $\text{CH}_2$ )
5'	3,56 (t; 2H)	46,7 ( $\text{CH}_2$ )
C=O	-----	171,2 (C)
$\alpha$	2,58(m; 2H)	35,4( $\text{CH}_2$ )
$\beta$	1,74 (m; 2H)	26,5 ( $\text{CH}_2$ )
$\gamma$	1,74 (m; 2H)	31,5 ( $\text{CH}_2$ )
$\delta$	2,34 (m; 1H)	33,2 ( $\text{CH}_2$ )
1	-----	136,2 (C)
2	6,73 (m; 1H)	108,0 (CH)
3	-----	147,5 (C)
5	6,69 (d; $J=1,63$ ; 1H)	108,8 (CH)
6	6,64 (dd; $J=7,91$ e $1,63$ ; 1H)	121,1 (CH)
$\text{OCH}_2\text{O}$	5,93 (sl; 2H)	100,7 ( $\text{CH}_2$ )



**Tetraidropiperina 14**

#### 4.6.2. Preparação da (6-nitro-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-(1-piperidinil) pentamida) (18)



Reagentes: a) AcOH/ HNO<sub>3</sub>, t.a. , 3h

#### Esquema 15: Reação de preparação da 6-nitro-tetraidropiperina **18**

Em um balão de 10 mL foi feita uma solução de 1 g de tetraidropiperina (3,460 mmols) em 4,5 mL de ácido acético glacial, formando uma solução amarelo claro. Sobre esta solução, mantida sob agitação magnética e a temperatura ambiente, foi adicionado 0,3 mL (4,44 mmols) de ácido nítrico concentrado, gota a gota. A reação foi acompanhada por CCDA e após 3 horas havia se completado, apresentando-se como uma solução vermelha, que foi transferida para um funil de decantação e particionada com acetato de etila (3x20 mL) e depois solução de NaHCO<sub>3</sub> (3x20mL). A fase orgânica foi seca com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (anidro), filtrada e evaporada, fornecendo o produto na forma de um sólido amarelo amorfo, com peso 0,962g. O rendimento foi de 83%.

Pf: 64-65°C

#### Dados de Infravermelho (pastilha em KBr, cm<sup>-1</sup>):

vC-H (Csp<sup>2</sup>) = 3076 (sistema aromático)

vC-H (Csp<sup>3</sup>) = 2953 – 2922 - 2850 (estiramento de metilenos)

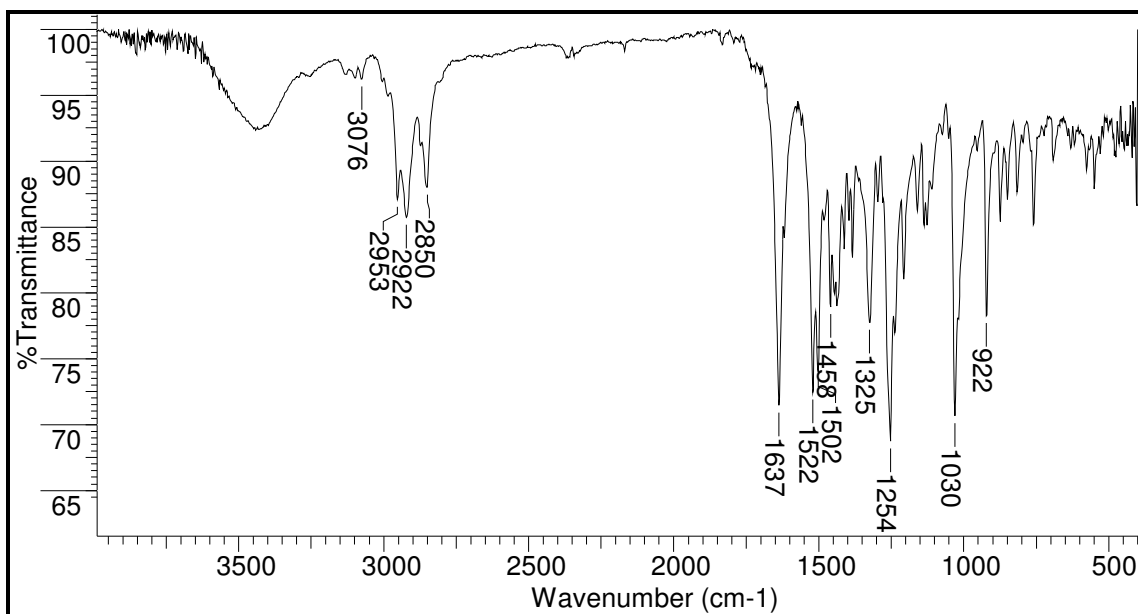
vC=O = 1637 (estiramento da carbonila amídica)

vC=C (Csp<sup>2</sup>) = 1502 – 1458 (vibração do esqueleto aromático)

vC-O-C = 1254 e 1030 (anel metilenodioxi)

δC-H (Csp<sup>2</sup>) = 922 (deformação angular de C-H para H isolado no sistema aromático)

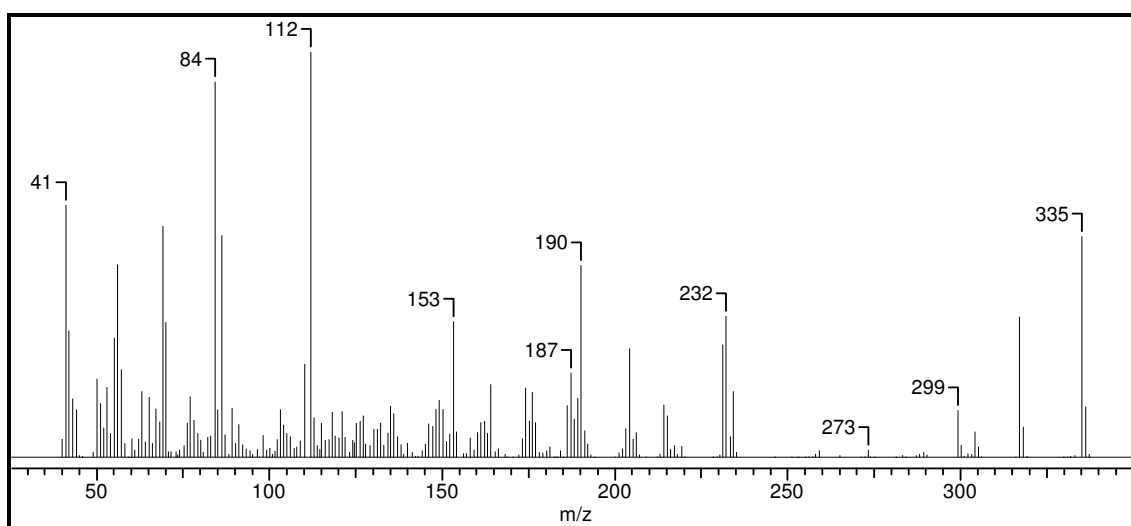
vC-NO<sub>2</sub> = 1522 e 1325 (estiramento de C-N para nitrocompostos)



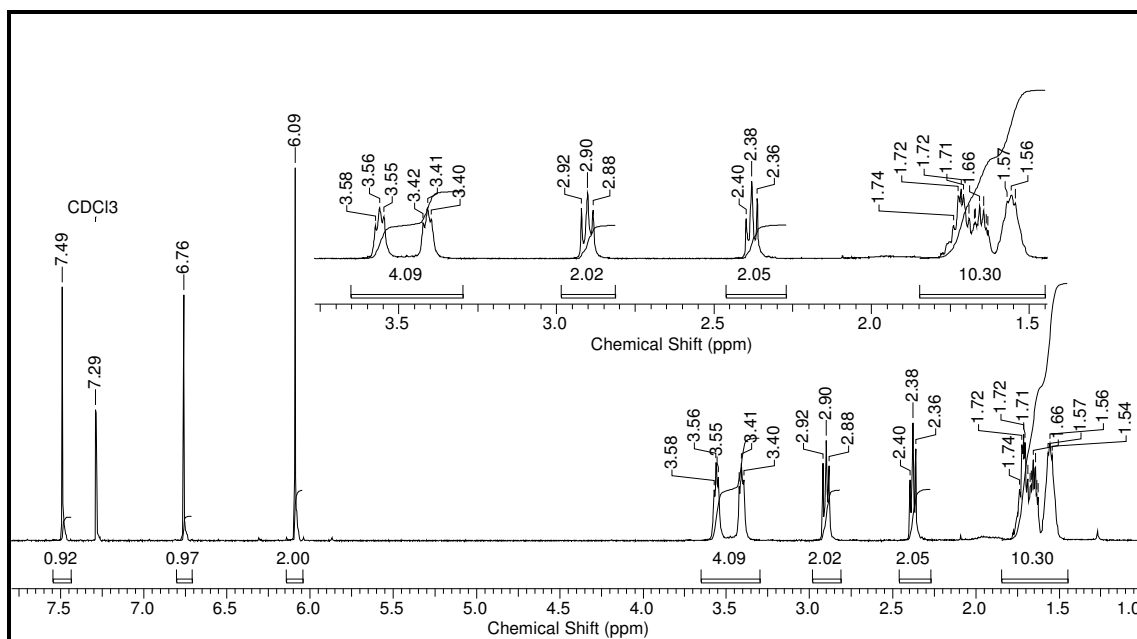
**Espectro 45:** Espectro de IV da 6-nitro-tetraidropiperina **18**

**Dados do Espectro de Massas:**

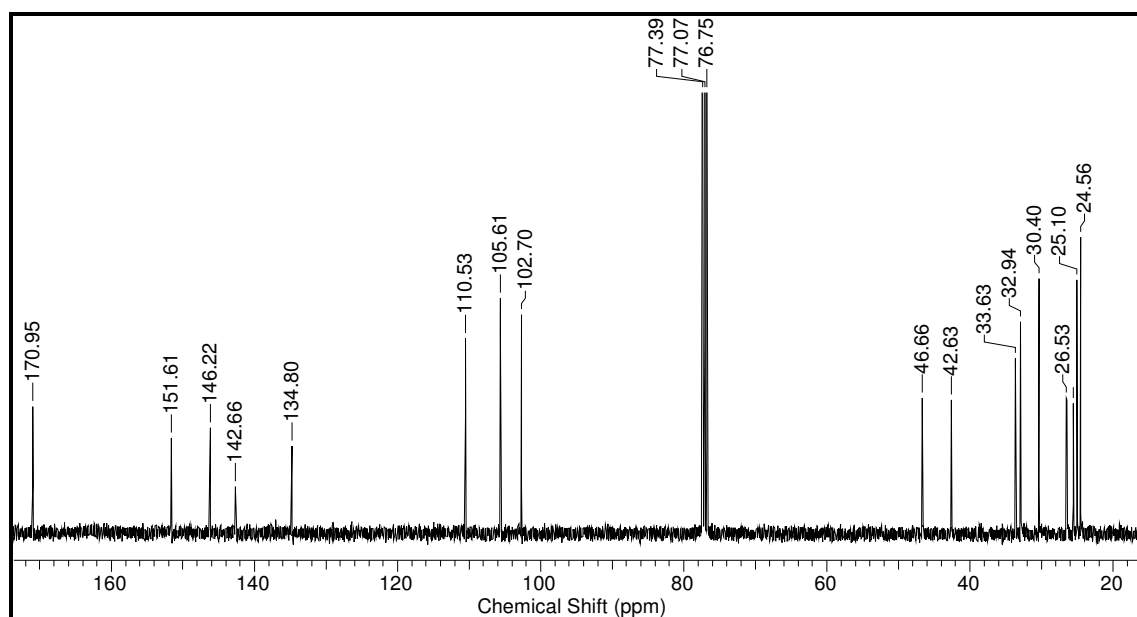
$m/z = 335$  (55%);  $299$  (15%);  $273$  (5%);  $232$  (35%);  $190$  (50%);  $187$  (25%);  $153$  (35%);  $112$  (100%);  $84$  (95%) e  $41$  (65%).



**Espectro 46:** Espectro de massas da 6-nitro-tetraidropiperina **18**



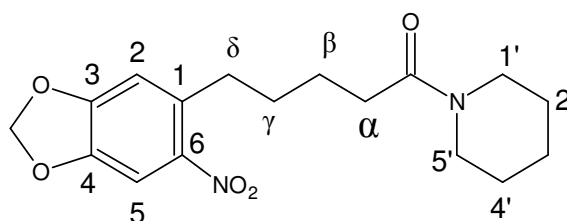
**Espectro 47:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 6-nitro-tetrahydropiperina **18**



**Espectro 48:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 6-nitro-tetrahydropiperina **18**

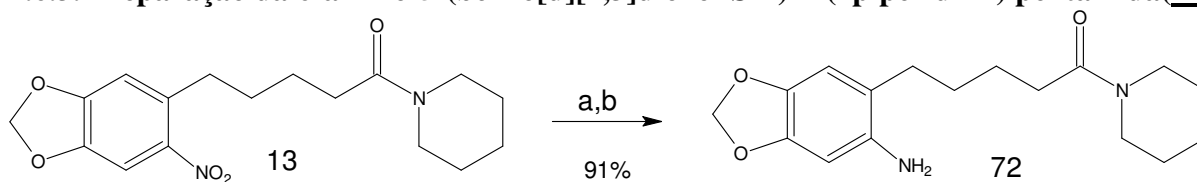
**Tabela 13:** Deslocamento químico de RMN <sup>1</sup>H e RMN <sup>13</sup>C para **18**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	3,49 (m; 2H)	42,6 (CH <sub>2</sub> )
2'	1,64 (m; 2H)	25,1 (CH <sub>2</sub> )
3'	1,64 (m; 2H)	24,6 (CH <sub>2</sub> )
4'	1,64 (m; 2H)	25,1 (CH <sub>2</sub> )
5'	3,49 (m; 2H)	46,7 (CH <sub>2</sub> )
C=O	-----	170,9 (C)
$\alpha$	2,90 (m; 2H)	33,7(CH <sub>2</sub> )
$\beta$	1,64 (m; 2H)	26,5 (CH <sub>2</sub> )
$\gamma$	2,38 (t; 7,0; 1H)	32,9 (CH <sub>2</sub> )
$\delta$	1,64 (m; 2H)	30,4 (CH <sub>2</sub> )
1	-----	134,8 (C)
2	6,76 (s; 1H)	110,5(CH)
3	-----	142,6 (C)
4	-----	146,2 (C)
5	7,49 (m; 1H)	105,6 (CH)
6	-----	151,6 (C)
OCH <sub>2</sub> O	6,09 (sl; 2H)	102,7 (CH <sub>2</sub> )



**6-nitro-tetraidropiperina 18**

#### 4.6.3. Preparação da 6-amino-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-(1piperidinil) pentamida(72)



Reagentes: a) FeCl<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O/MeOH b) NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, 6h

**Esquema 16:** Reação de preparação da 6-amino-tetraidropiperina **72**

Em um balão de duas bocas de 25 mL foram adicionados 0,300 g (0,8982 mmols) de nitropiperina saturada, juntamente com 1,3 mg (0,0048 mmols) de FeCl<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O, 89 mg de carvão ativo e 10 mL de metanol como solvente. A reação foi mantida sob refluxo e agitação magnética. Posteriormente, foram adicionados 1,3 mL (0,260 mmols) de hidrazina (gota a gota). Manteve-se a reação por 6 horas, após esse período, a mistura reacional foi resfriada até a temperatura ambiente, filtrada e concentrada. Formou-se um resíduo branco que foi solubilizado em CHCl<sub>3</sub>, lavado com solução saturada de NaCl, secado com Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrado e



concentrado novamente. Ao final, obteve-se 0,250 g de produto na forma de um sólido perolado, correspondendo a um rendimento de 91%.

Pf: 89-90°C

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

$\nu_{\text{N-H}}$  = 3467 e 3363 (estiramento N-H de amina primária)

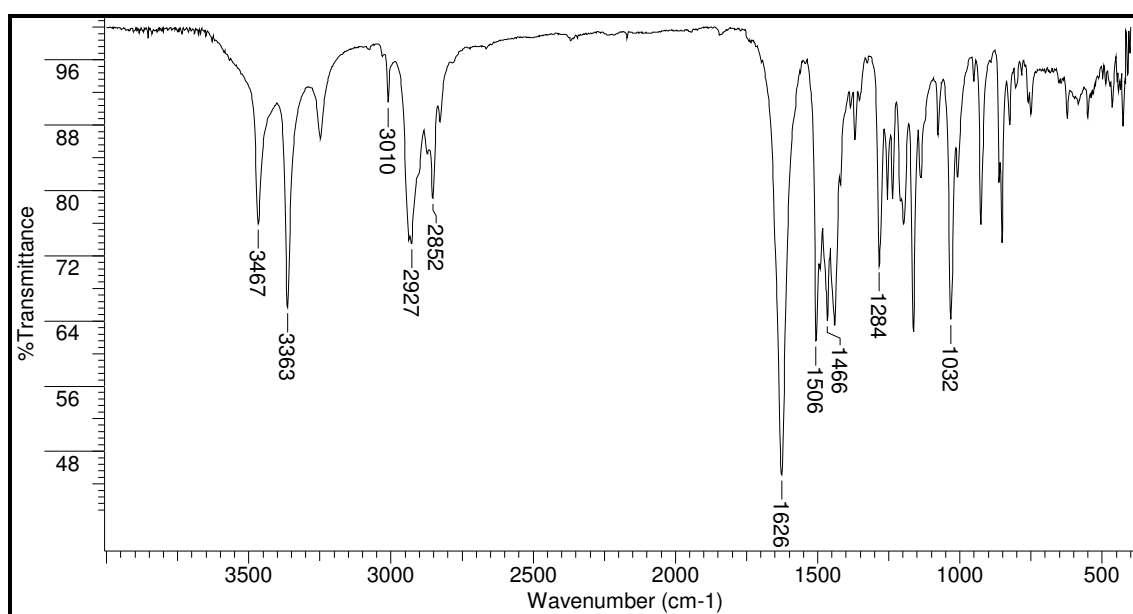
$\nu_{\text{C-H}}$  (Csp<sup>2</sup>) = 3010 (estiramento do sistema aromático)

$\nu_{\text{C-H}}$  (Csp<sup>3</sup>) = 2927 - 2852 (estiramento de metilenos)

$\nu_{\text{C=O}}$  = 1625 (estiramento da carbonila amídica)

$\nu_{\text{C=C}}$  (Csp<sup>2</sup>) = 1506 – 1466 (vibração do esqueleto aromático)

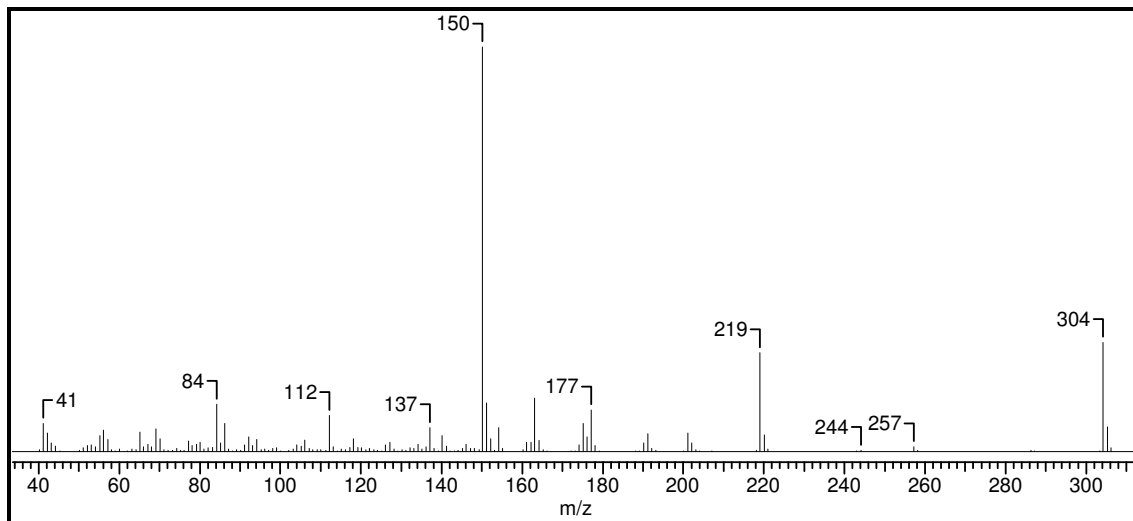
$\nu_{\text{C-O-C}}$  = 1284 e 1032 (anel metilenodioxi)



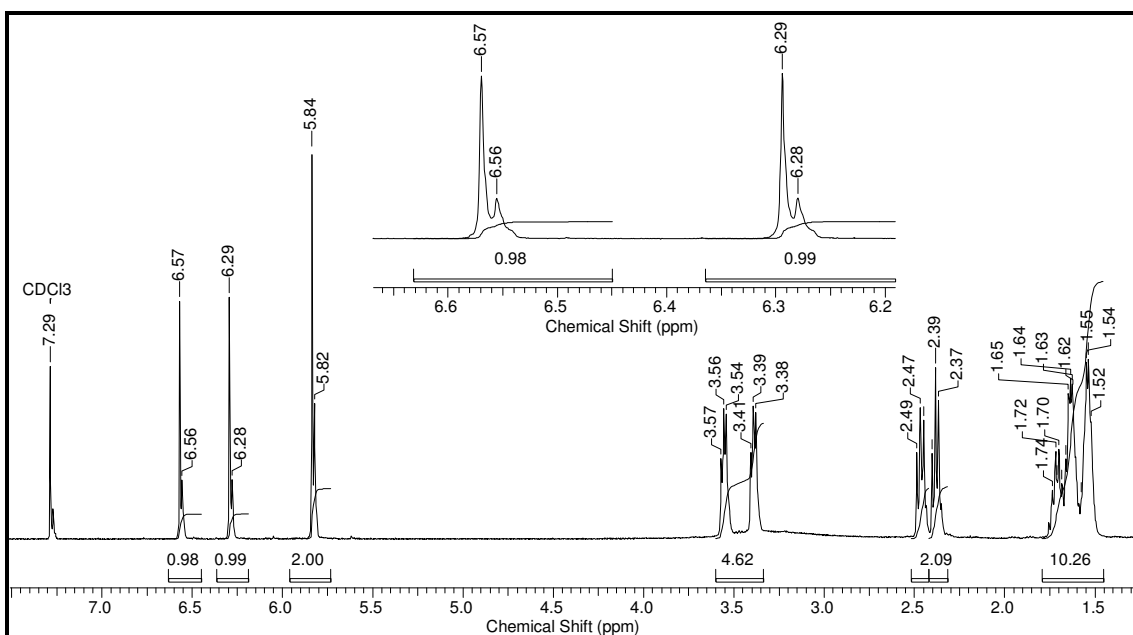
**Espectro 49:** Espectro de IV da 6-amino-tetraidropiperina 72

**Dados do Espectro de Massas:**

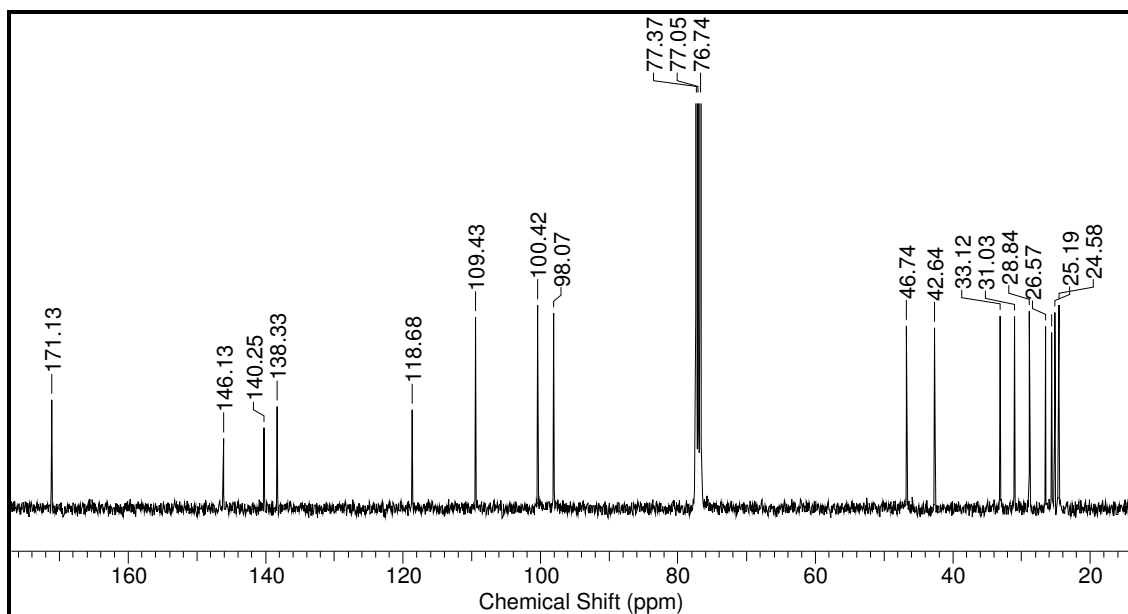
m/z = 304 (25%); 219 (25%); 177 (10%); 150 (100%); 137 (5%); 112 (10%); 84 (15%) e 41 (10%).



**Espectro 50:** Espectro de massas da 6-amino-tetraidropiperina **72**



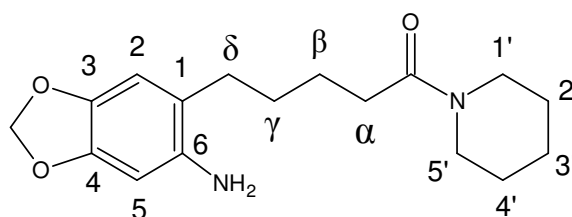
**Espectro 51:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) da 6-amino-tetraidropiperina **72**



**Espectro 52:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) da 6-amino-tetraidropiperina **72**

**Tabela 14:** Deslocamento químico de RMN  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  para **72**

Posição	$\delta^1\text{H}$ (ppm) ; $J$ (Hz)	$\delta^{13}\text{C}$ (ppm)
1'	3,39 (m; 2H)	42,6 ( $\text{CH}_2$ )
2'	1,63 (m; 2H)	25,6 ( $\text{CH}_2$ )
3'	1,63 (m; 2H)	24,6 ( $\text{CH}_2$ )
4'	1,63 (m; 2H)	25,1 ( $\text{CH}_2$ )
5'	3,56 (m; 2H)	46,7 ( $\text{CH}_2$ )
C=O	-----	171,1 (C)
$\alpha$	2,38(t; 7,3 2H)	33,1( $\text{CH}_2$ )
$\beta$	1,63 (m; 2H)	26,5 ( $\text{CH}_2$ )
$\gamma$	1,63 (m; 2H)	28,8 ( $\text{CH}_2$ )
$\delta$	2,47 (m; 2H)	31,0 ( $\text{CH}_2$ )
1	-----	118,6 (C)
2	6,57 (d; 5,7; 1H)	109,0(CH)
3	-----	146,1 (C)
4	-----	140,2 (C)
5	6,28 (d; 5,7; 1H)	98,1 (CH)
6	-----	138,3 (C)
$\text{OCH}_2\text{O}$	5,84 (sl; 2H)	100,4 ( $\text{CH}_2$ )



**6-amino-tetraidropiperina 72**

#### 4.7. Ensaio inseticida contra larvas de *Aedes aegypti*

Os ensaios descritos neste trabalho foram realizados no Laboratório de Fisiologia e Controle de Artrópodes Vetores - LAFICAVE- IOC- FIOCRUZ.

Foram utilizadas larvas de 3º instar (L-3) de *Aedes aegypti* da cepa *Rockefeller*, cepa referência de suscetibilidade a inseticidas, em laboratório há décadas (Kuno, 2010).

Utilizou-se a metodologia de eclosão sincronizada, com 1.000 ovos em uma bacia de plástico 33 X 24 X 8 cm contendo 1 L de água desclorada com 1 g de ração para gato. As larvas foram mantidas em uma BOD (*Biochemical Oxygen Demand*) a 26°C durante 3 dias, período para atingir o 3º instar.

Inicialmente, foram realizados em laboratório testes preliminares com doses bastante elevadas do material a ser testado, a fim de selecionar as moléculas mais ativas para, com elas, realizar ensaios tipo dose-resposta. Segundo a proposta da OMS (WHO, 2005), ao se tratar de produtos naturais e seus derivados, deve-se iniciar o teste preliminar numa concentração a 100 mg/L, porém devido à baixa solubilidade destes compostos em água, iniciamos os testes com concentração de 50 mg/L. Algumas substâncias, que não ficaram totalmente solúveis a 50 mg/L, foram testadas a 25 mg/L. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 16 (Página 67)**. Para as moléculas que apresentaram mortalidade acima de 25% foram realizados testes preliminares, com algumas concentrações para obtenção de faixas de respostas, ou seja, intervalos de concentrações de cada composto que ocasionam mortalidade do inseto desde próximo a zero até próximo de 100%. A partir dos resultados obtidos foram realizados ensaios do tipo dose-resposta para esses produtos, para cálculo das concentrações letais. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 17 (Página 77)**. Na **Figura 23 (Página 68)** encontram-se as moléculas avaliadas.

##### 4.7.1. Preparo das soluções-estoque para o ensaio larvicida:

Em uma balança analítica devidamente calibrada a massa desejada de cada substância foi pesada e colocada em tubos Falcon. A diluição foi realizada de forma que utilizássemos etanol como solvente majoritário e os demais solventes, se necessários, na menor quantidade possível, conforme mostrado na **Tabela 15** abaixo. Todas as soluções foram agitadas em vortex até a completa solubilização.

**Tabela 15:** Quantidades dos solventes das soluções-estoque das substâncias avaliadas no ensaio larvicida contra *Aedes aegypti*

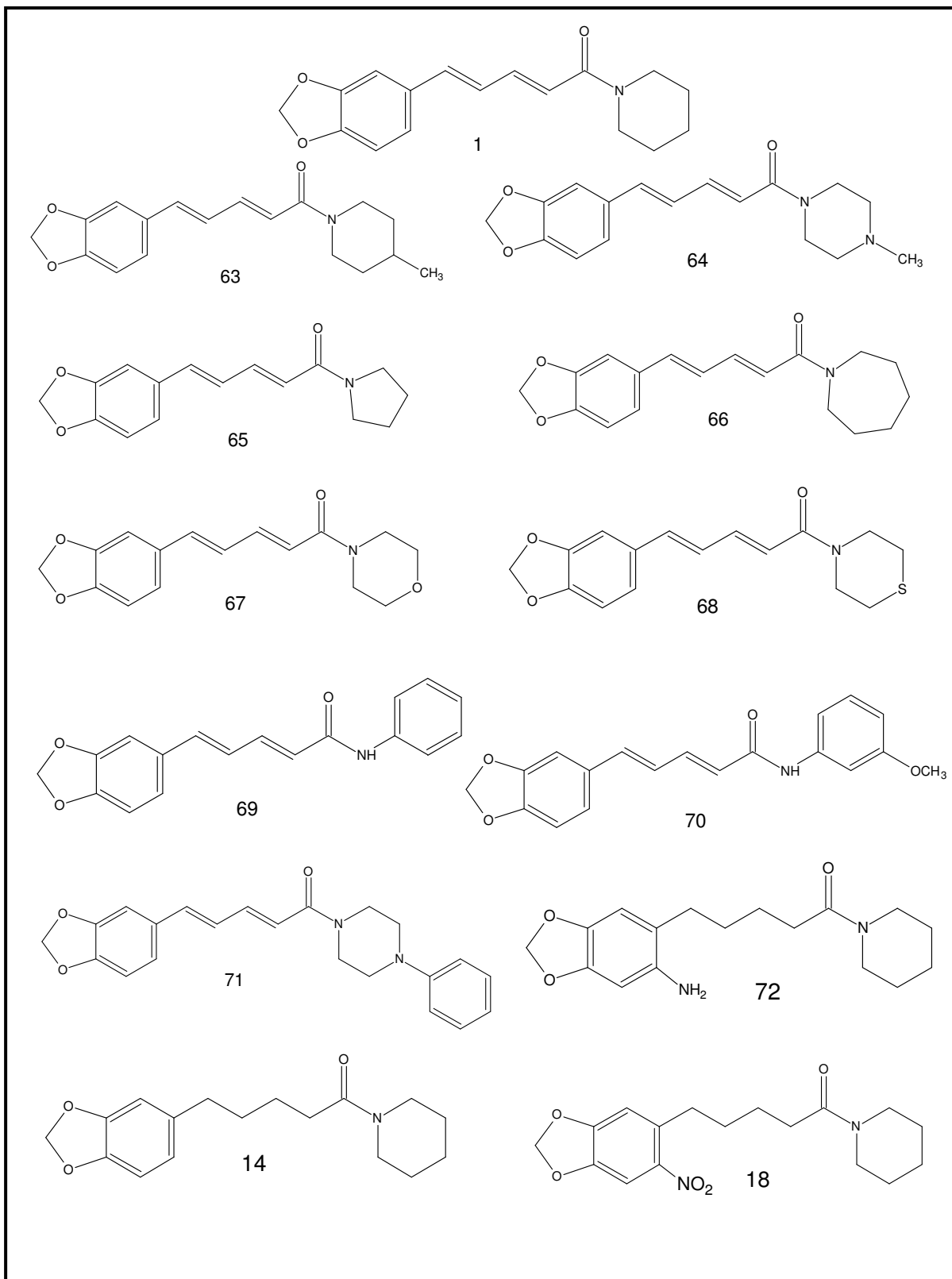
Substância	DMSO (µL)	Acetona (µL)	Etanol (mL)
66, 14 e 18	-----	500	7,5
67, 69 e 71	700	300	7,0
65	400	300	7,3
70	200	300	7,5
72	500	500	7,0
Controle 1	700	300	7,0
Controle 2	-----	500	7,5

#### 4.7.2. Montagem do ensaio

A cada copo descartável de 200 mL de capacidade adicionou-se 80 mL de água filtrada. Dependendo do volume da solução-estoque de cada substância a ser aplicado, retirou-se previamente quantidade equivalente de água com uma micropipeta automática. Após a adição da solução-estoque em cada copo, todo o volume dos copos foi agitado com vortex para homogeneização da solução. Vale ressaltar que em todos os casos as concentrações das soluções a serem testadas foram calculadas para um volume final de 100 mL. Depois de 15 minutos, foram adicionadas 20 larvas L-3 em 20 mL de água desclorada, totalizando volume de 100 mL. O ensaio foi realizado em quadruplicata, resultando em 80 larvas para cada concentração testada, em ambiente com temperatura controlada, a 26°C, durante 24 horas, quando se realizou a leitura. Cada ensaio foi repetido 3 vezes em dias diferentes, a fim de que fosse obtido a média da mortalidade. Não houve mortalidade nos controles (Lima *et al.*, 2003).

**Tabela 16:** Resultados obtidos nos ensaios a 50 mg/L e 25 mg/L após 24 h.

substâncias	50 mg/L	25 mg/L
1	Precipitou	Precipitou – Mortalidade ~ 100%
14	Mortalidade 100%	Mortalidade ~ 95%
18	Mortalidade 100%	Mortalidade ~ 35%
65	Precipitou	Mortalidade ~ 50%
66	Precipitou	Precipitou – Mortalidade ~ 75%
67	Não solubilizou	Mortalidade ~10%
69	Não solubilizou	Precipitou
70	Precipitou	Precipitou
71	Não solubilizou	Precipitou
72	Mortalidade ~ 40%	Mortalidade ~ 1%



**Figura 23:** Moléculas avaliadas quanto à atividade larvicida frente ao *Aedes aegypti*.

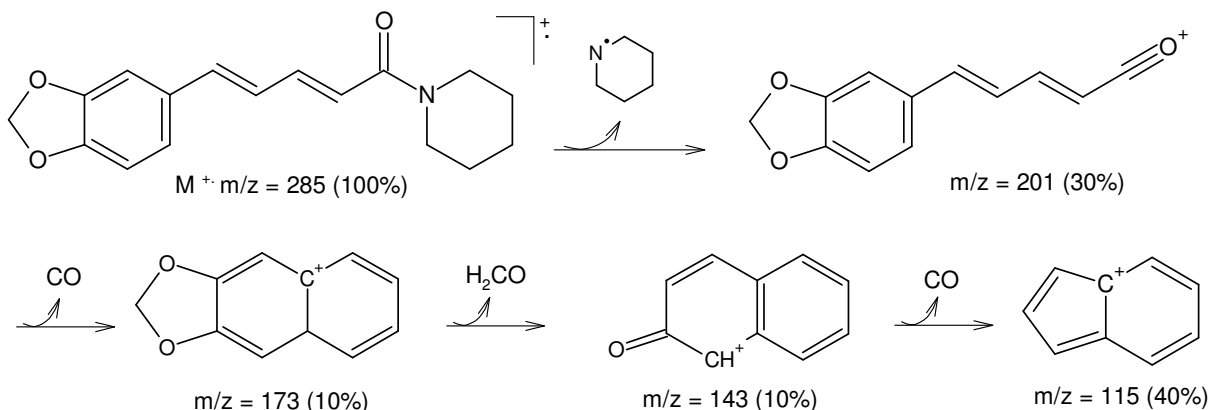
## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

### 5.1. Isolamento da piperina dos frutos secos de *Piper nigrum*

A primeira etapa deste trabalho consistiu no isolamento do produto natural (Ikan, 1991), visando a obtenção de quantidades adequadas de piperina para a síntese de seus derivados. A metodologia aplicada para a extração do produto foi descrita por Santos (1999), que utilizou uma aparelhagem de Soxhlet, tendo etanol como solvente. Após extração e tratamentos adequados, a piperina foi obtida na forma de cristais amarelos. O material foi obtido, normalmente, com grau de pureza adequado, o que foi confirmado através dos métodos convencionais de análise (RMN, CG-EM e IV). Os dados obtidos foram totalmente compatíveis com a estrutura da amida natural, e também com dados descritos na literatura (De Araújo Júnior *et al.*, 1997).

Encontramos na literatura outras abordagens para o isolamento da piperina, entre as quais destacamos o uso de  $\text{CHCl}_3$  em condições de maceração (Epstein *et al.*, 1993), uso de solução aquosa de surfactante (Padalkar & Gaikar, 2008), o uso de HPCPC (*High Performance Centrifugal Partition Chromatography*) (Chen *et al.*, 2009), em condições supercríticas (Kumoro *et al.*, 2009) e o uso de ácido acético glacial seguido de partição com clorofórmio (Kanaki *et al.*, 2008). Diante de tantas metodologias encontradas, a escolhida por nosso grupo se destaca pela facilidade de acesso ao equipamento utilizado (Soxhlet) e pela baixa toxicidade dos solventes utilizados (etanol e água), além da eficiência para extração de um produto natural.

Para o produto isolado, encontramos ponto de fusão idêntico ao da literatura Pf: 126-127 °C (Ikan, 1991). No espectro de infravermelho (**Espectro 1, página 25**) pode ser observada uma forte absorção em  $1633\text{ cm}^{-1}$ , indicando a presença da função carbonila amídica conjugada, além das absorções na região entre  $2940\text{-}2858\text{ cm}^{-1}$ , referente às deformações axiais das ligações C-H e em  $1252\text{ cm}^{-1}$ , referente ao estiramento do metileno do grupo metilenodioxí. No espectro de massas (**Espectro 2, página 25**) encontram-se fragmentos como o íon molecular e pico base  $m/z = 285$  ( $\text{M}^+$ , 100%), além dos  $m/z = 201$  (30%), 173 (10%), 143 (10%) e 115 (40%); compatíveis com descritos anteriormente na literatura (Ferreira, 2006). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 3, página 26**), observou-se um simpleto largo em  $\delta$  5,98 ppm, referente aos 2 hidrogênios do grupamento metilenodioxílico, além de um grupo de sinais entre  $\delta$  6,43 e  $\delta$  7,44 ppm, referentes aos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral, e entre  $\delta$  6,74 e  $\delta$  6,99, referente aos 3 hidrogênios do sistema aromáticos. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 4, página 26**) observou-se um sinal em  $\delta$  165,4 ppm, referente à absorção do carbono da carbonila amídica. No **esquema 17**, a seguir, descrevemos uma proposta de fragmentação para a piperina.



**Esquema 17:** Proposta de fragmentação para a piperina **1**

## 5.2. Preparação do 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (ácido piperínico **12**), intermediário na síntese das amidas, através da hidrólise alcalina da piperina

A preparação dos primeiros derivados envolveu a hidrólise da função amida presente na piperina **1**, gerando o ácido piperínico **12**. As amidas são facilmente hidrolisadas em meio ácido, mas nesse caso não é possível devido à presença do grupo metilenodioxi, que pode clivar e às duplas ligações, que podem gerar carbocátions. Tentativas de se fazer esta hidrólise em meio ácido, sob diferentes protocolos experimentais, geraram mistura complexa de produtos, geralmente muito mais polares que o ácido piperínico esperado. A hidrólise básica foi usada como uma alternativa para gerar o ácido piperínico. Esta reação encontra-se experimentalmente descrita no trabalho de Ikan (1991). Contudo, nosso grupo de pesquisa observou que a reação não se completava conforme descrito por Ikan (1991), sendo necessárias modificações no tempo de reação, de 2 horas para 12 horas de refluxo, além da elevação das quantidades de base utilizada, gerando assim o ácido piperínico **12**, em elevado rendimento (93%) e grau de pureza adequado após a recristalização (Ribeiro, 2004). Porém, como otimização do processo, a utilização do reator de microondas (**Figura 24**) diminuiu consideravelmente o tempo de reação. Em apenas 1 hora foi possível obter ácido piperínico a ser purificado através de recristalização com rendimento de 82%.

Isso pode ser explicado pelo fato de que as reações realizadas utilizando aquecimento por microondas diferem das reações que são termicamente aquecidas. O efeito de microondas pode estar relacionado ao aumento nas vibrações moleculares na interface de reação. Outros autores afirmam também que a irradiação de microondas afeta a energia de ativação, o que contribui para diminuir o tempo de reação. Experimentos realizados usando reator de microondas (**Figura 24**) em síntese orgânica podem, portanto, causar um resultado diferente quando comparados com reações de aquecimento convencionais, mesmo que a temperatura final seja a mesma (Lidstrom, *et.al.*, 2001; Kappe *et al.*, 2009). Na figura abaixo mostramos o reator de microondas utilizado para aceleração da reação de hidrólise básica da amida natural.

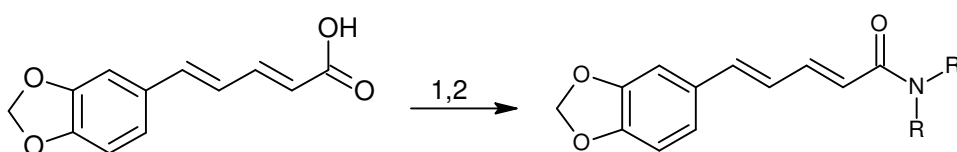
O produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise (IV, CG-EM,  $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN). Os resultados foram compatíveis com os da literatura (Ikan, 1991; Ferreira, 2006).





**Figura 24:** Reator de microondas utilizado para síntese orgânica em laboratório.

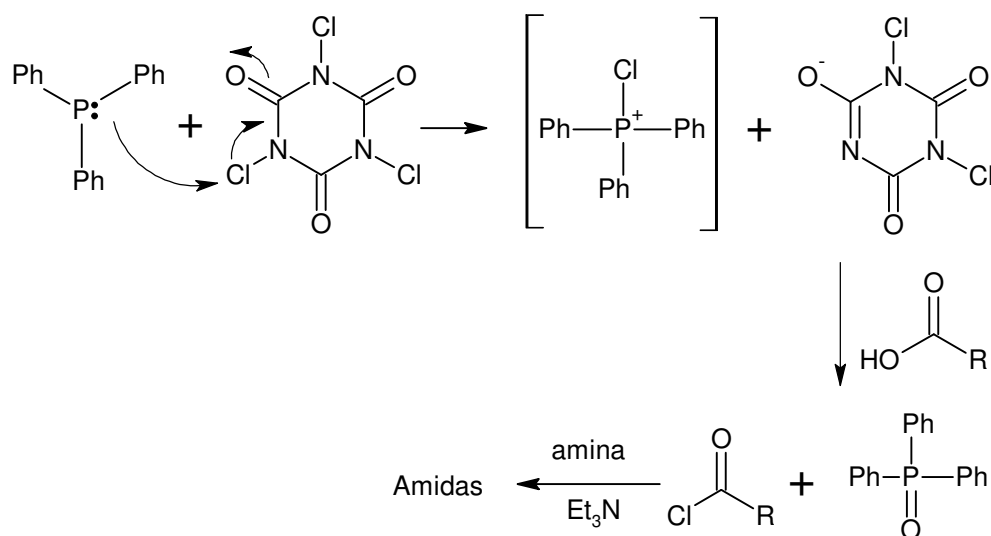
### 5.3. Síntese das amidas da série insaturada (**63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **68**, **69**, **70** e **71**)



Condições Reacionais Gerais: 1)  $(\text{COCl})_2/\text{N}_2$ , t.a., 2h ; 2) amina,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C}$ , 30 min

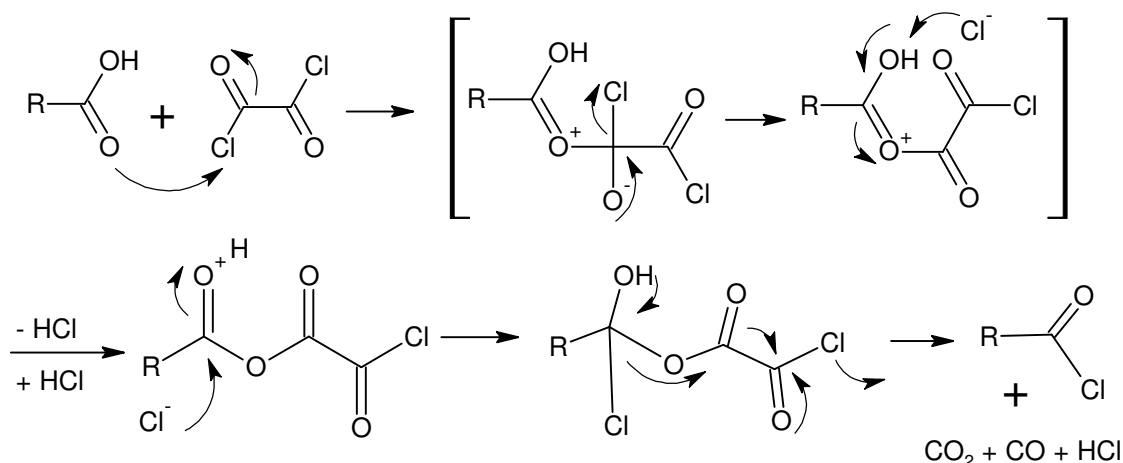
**Esquema 18:** Preparação das amidas da série insaturada.

As metodologias mais comumente empregadas na preparação de amidas a partir dos ácidos correspondentes envolvem a utilização de dicicloexilcarbodiimida (DCC) em presença da amina adequada (Yesilada *et.al.*, 1996), a passagem pelo respectivo cloreto de acila (Sloop, 1995) ou ainda a formação de mesilatos (Venkatasamy *et al.*, 2004). Apesar de o uso do DCC permitir a obtenção da amida em apenas uma etapa a partir do ácido, esta metodologia apresenta como inconveniente a difícil remoção de dicicloexiluréia formada como subproduto na reação. As metodologias empregadas para preparação de cloretos de ácido, geralmente não são aplicadas para compostos sensíveis a ácidos, pois as condições exigidas geram HCl durante o processo. Portanto, em trabalho realizado em 2005, foi utilizada uma metodologia alternativa para obtenção de cloreto de ácido pela combinação de trifetilfosfina ( $\text{Ph}_3\text{P}$ ) e tricloroisocianúrico (TCICA) em meio de DCM a  $0^\circ\text{C}$ . A adição subsequente de aminas primárias resultou em obtenção de amidas secundárias de alto rendimento (**Esquema 19, página 72**) (Rodrigues *et al.*, 2005). Nosso grupo de pesquisa tentou realizar essa metodologia alternativa, o que não gerou resultados satisfatórios.



**Esquema 19:** Proposta de mecanismo para metodologia do uso de  $\text{Ph}_3\text{P}$  e TCICA (Rodrigues *et al.*, 2005).

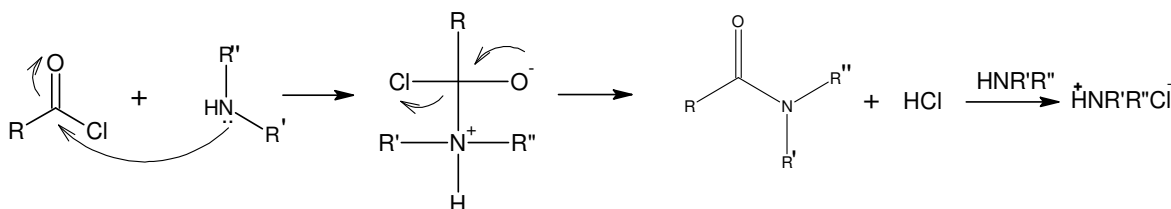
Portanto, na síntese das amidas da série insaturada (**63**, **64**, **65**, **66**, **67**, **68**, **69**, **70** e **71**), a passagem pelo cloreto de ácido (cloreto de acila) foi comum (**Esquema 18**, página 71). A formação do cloreto de ácido teve como objetivo sintetizar um intermediário mais reativo frente à reação de formação de amida através da reação de Substituição Nucleofílica Acílica (SNAc). Os cloretos de tionila ( $\text{SOCl}_2$ ) e oxalila ( $\text{COCl}_2$ ) são usualmente os reagentes de escolha para a síntese de cloretos de ácido. Apresentam a vantagem de formar subprodutos gasosos ( $\text{SO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{CO}_2$ ) que não contaminam o produto, o que pode ser verificado no **Esquema 20** (March, 1985).



**Esquema 20:** Mecanismo de formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila (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. Por haver disponibilidade do cloreto de oxalila, este foi utilizado na preparação dos cloretos de ácidos. Por ser mais reativo que o  $\text{SOCl}_2$ , todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente, o que minimiza problemas de degradação

dos produtos obtidos. Por apresentar alta reatividade, os cloretos de ácido sintetizados não foram quantificados ou purificados por nenhuma técnica, foram todos considerados puros pelo acompanhamento por CCDA (pela formação instantânea do éster metílico, pela reação com metanol) e utilizados logo em seguida, após remoção do excesso de cloreto de oxalila em evaporador rotatório. A adição subsequente das aminas correspondentes gerou as amidas da série insaturada apresentadas com rendimentos variados (46% a 97%). Estas reações foram realizadas na presença de excesso de amina (1:2), necessária à neutralização do HCl gasoso gerado na etapa de S<sub>N</sub>Ac, conforme apresentado no **Esquema 21** a seguir. Alternativamente, podemos utilizar outra base terciária, por exemplo, trimetilamina ou piridina.

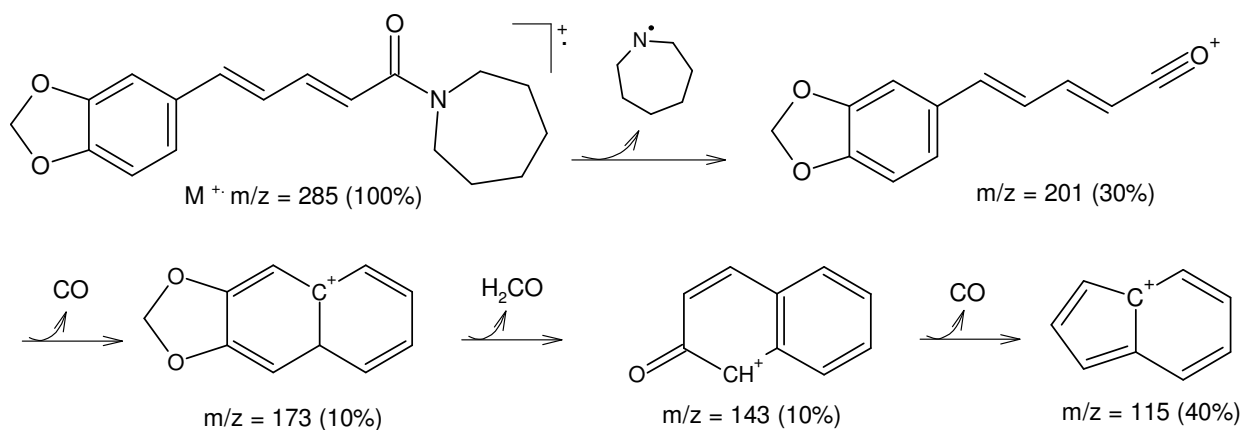


**Esquema 21:** Mecanismo de Substituição Nucleofílica Acílica

Como a porção do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(*E*)-4(*E*)-pentadienóico está presente em todos os derivados, os espectros de IV, CG-EM, RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C apresentaram-se bem semelhantes, salvo para as modificações da porção amídica. Para exemplificar a atribuição de dados espectrométricos, elegemos as amidas **66**, **70** e **71**.

A amida **66** foi obtida na forma de um sólido de cor verde-musgo perolado e apresentou ponto de fusão 114-115°C. No espectro de infravermelho (**Espectro 17, página 38**) pode ser observada absorção em 3028 cm<sup>-1</sup> referente ao sistema aromático; forte absorção em 1633 cm<sup>-1</sup>, indicando a presença de carbonila amídica conjugada, além de outra em 1252 cm<sup>-1</sup> referente a estiramento do metileno do grupo metilenodioxi. No espectro de massas (**Espectro 18, página 39**), encontra-se o íon molecular que é o pico base *m/z* = 299 (M<sup>+</sup>, 100), além dos fragmentos *m/z* = 201 (10%) e 115 (20%). No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 19, página 39**), observou-se um simpleto largo a δ 5,98 ppm, referente aos hidrogênios do grupamento metilenodioxi, um duplete a δ 6,40 ppm, referente ao hidrogênio olefínico α a carbonila, um duplo duplete a δ 7,45 ppm, referente ao hidrogênio olefínico β a carbonila e dois tripletos, sendo um a δ 3,62 e outro a δ 3,54, referentes aos hidrogênios dos metilenos do anel hexametilênico vizinhos ao nitrogênio da amida, que apresentam um comportamento diferente dos demais hidrogênios deste anel. Isso se deve ao caráter da ligação C-N da amida, um caráter de dupla ligação que interfere nos carbonos vizinhos. Esse efeito pode ser observado nos demais espectros com características semelhantes. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 20, página 40**) observou-se um sinal a δ 166,5 ppm, referente a carbonila amídica conjugada e um sinal a δ 101,3 ppm, referente ao metileno do grupamento metilenodioxi, além de outros sinais compatíveis com a estrutura da amida **66**.

No **Esquema 22** a seguir, incluímos uma proposta de fragmentação da amida **66**.



**Esquema 22:** Proposta de fragmentação para amida **66**

A amida **70** foi obtida na forma de um sólido branco e apresentou ponto de fusão 144-145°C. No espectro de infravermelho (**Espectro 33, página 50**) observou-se absorção em 3012  $\text{cm}^{-1}$  referente ao sistema aromático, além de outras à 1618  $\text{cm}^{-1}$ , 1489  $\text{cm}^{-1}$  e 1446  $\text{cm}^{-1}$  confirmando a presença de esqueleto aromático. Observa-se também forte absorção a 1651  $\text{cm}^{-1}$  relativa à carbonila amídica conjugada. Uma absorção em 989  $\text{cm}^{-1}$  demonstra a presença da deformação angular de C-H para um hidrogênio isolado no sistema aromático, além de outra absorção a 864  $\text{cm}^{-1}$  evidenciando a deformação angular de C-H para 2 hidrogênios vizinhos no sistema aromático, o que confirma a presença de 2 sistemas aromáticos diferentes. No espectro de massas (**Espectro 34, página 51**), observa-se fragmentos como o íon molecular  $m/z = 323$  ( $M^+$ , 25%) e o pico base  $m/z = 201$  (100%), além de outros fragmentos como  $m/z = 161$  (25%) e 115 (50%). No espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Espectro 35, página 51**), observou-se um simpleto a  $\delta$  5,98 ppm, referente aos hidrogênios do grupamento metilenodioxí, outro simpleto a  $\delta$  3,8 ppm evidenciando a presença da metoxila, além de um duplete a  $\delta$  7,22 ppm referente aos hidrogênios metilênicos isolados no sistema aromático que comporta a metoxila, além de outros sinais. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 36, página 52**), observou-se um sinal a  $\delta$  164,4 ppm referente a carbonila amídica conjugada e um sinal a  $\delta$  55,4 ppm referente a metoxila substituinte do sistema aromático, além de outros sinais compatíveis com a estrutura da amida **70**.

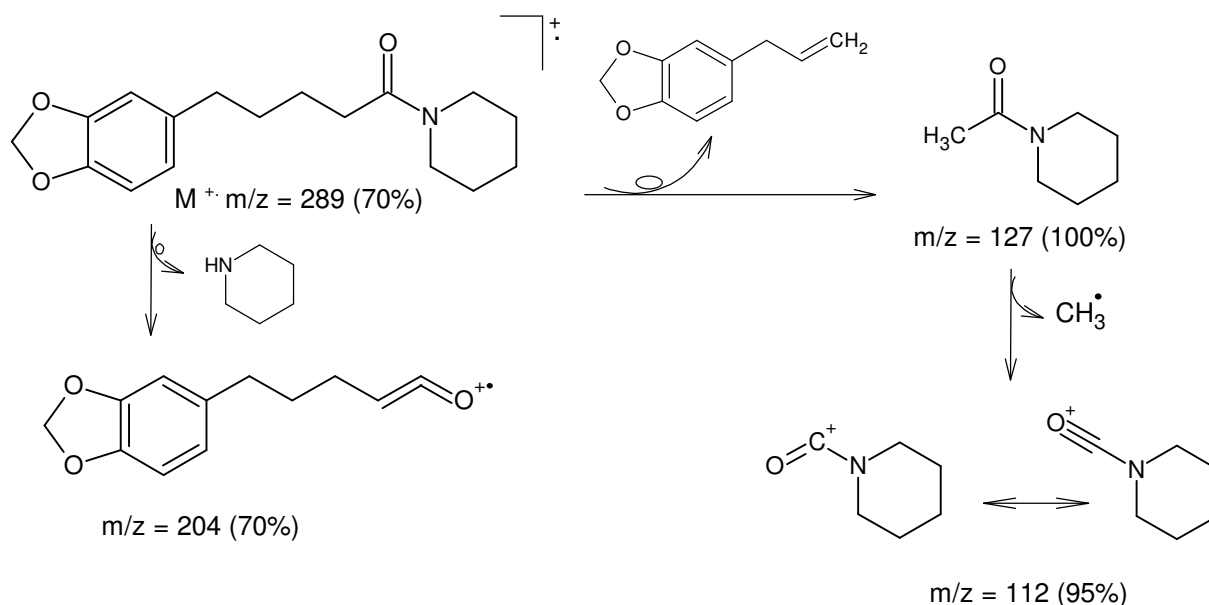
A amida **71** foi obtida na forma de um sólido amarelo-claro e apresentou ponto de fusão 152-153°C. No espectro de infravermelho (**Espectro 37, página 53**) observa-se absorções a 3018  $\text{cm}^{-1}$ , 1589  $\text{cm}^{-1}$ , 1502  $\text{cm}^{-1}$  e 1444  $\text{cm}^{-1}$  referentes aos sistemas aromáticos, forte absorção a 1635  $\text{cm}^{-1}$  evidenciando a presença da carbonila amídica conjugada, deformação angular a 862  $\text{cm}^{-1}$  de C-H para 2 hidrogênios vizinhos no sistema aromático, além de outras absorções a 762  $\text{cm}^{-1}$  e 690  $\text{cm}^{-1}$  demonstrando a deformação angular de C-H para 5 hidrogênios no sistema aromático, o que nos confirma a presença de 2 sistemas aromáticos. No espectro de massas (**Espectro 38, página 54**) observa-se fragmentos como o íon molecular  $m/z = 362$  ( $M^+$ , 75%), o pico base  $m/z = 132$  (100%), além de outros com abundância relativa elevadas, como  $m/z = 201$  (35%), e 56 (60%). No espectro de R, MN  $^1\text{H}$  (**Espectro 39, página 54**) observou-se um simpleto largo a  $\delta$  6,00 ppm, referente aos hidrogênios do grupamento metilenodioxí, dois multipletos nas regiões de  $\delta$  3,23 e  $\delta$  3,89 referentes aos hidrogênios dos metilenos do grupamento piperazil, além de outros sinais compatíveis com a estrutura da amida **71**. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Espectro 40, página 55**) observou-se um sinal a  $\delta$  165,0 ppm, referente a carbonila da amida conjugada e dois sinais a  $\delta$  45,3 ppm e outro a  $\delta$  49,4 ppm, referentes aos carbonos metilênicos do grupamento piperazil, além de outros sinais.

## 5.4. Síntese das amidas da série saturada (**14**, **18** e **72**)

### 5.4.1. Síntese da tetraidropiperina (**14**)

A preparação da tetraidropiperina (**14**) foi realizada através da redução catalítica clássica, tendo como catalisador Pd/C em atmosfera de H<sub>2</sub> (a pressão normal) e acetato de etila como solvente (Venkatasamy *et al.*, 2004). O rendimento é considerado muito satisfatório (97%).

A tetraidropiperidina (**14**) foi obtida na forma de um óleo levemente amarelado e com forte odor. No espectro de infravermelho (**Espectro 41**, página 56), observa-se fortes absorções em 2935 cm<sup>-1</sup> e 2856 cm<sup>-1</sup> referente ao estiramento de metilenos. Em 1639 cm<sup>-1</sup> outra forte absorção referente à carbonila amídica. Além de outras absorções que comprovam a estrutura da amida **14**. No espectro de massas (**Espectro 42**, página 57), encontram-se fragmentos como o íon molecular  $m/z = 289$  (M<sup>+</sup>, 70%), o  $m/z = 127$  (100%) como pico base, além de outros fragmentos de abundância relativa elevadas, como os  $m/z = 204$  (70%), e 112 (95%). No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 43**, página 57), observou-se um multipletto a  $\delta$  2,58 ppm, referente aos hidrogênios  $\alpha$  a carbonila, um multipletto a  $\delta$  1,74 ppm, referente aos hidrogênios  $\beta$  a carbonila, além de outros sinais. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 44**, página 58) observou-se um sinal a  $\delta$  171 ppm, referente a carbonila amídica e um sinal a  $\delta$  100 ppm, referente ao carbono do grupamento metilenodioxí, além de outros sinais compatíveis com a estrutura da amida **14**. No **Esquema 23** a seguir incluímos uma proposta de fragmentação para tetraidropiperina.



**Esquema 23:** Proposta de fragmentação para tetraidropiperina **14**

### 5.4.2. Síntese da 6-nitro tetraidropiperina(**18**)

A preparação da 6-nitro tetraidropiperina (**18**) foi realizada através da metodologia clássica de nitração aromática (Rascado, 1997), utilizando ácido nítrico fumegante à baixa temperatura. Como o anel aromático possui uma densidade eletrônica alta, devido aos oxigênios do grupamento metilenodioxí contribuir com elétrons, a reação ocorre de forma normal, ao contrário da piperina em que o dieno, conjugado com a carbonila amídica, interfere na nitração aromática. O produto nitrado **18** foi obtido, a 83% de rendimento.

Outro fator relevante a ser mencionado sobre esta reação de nitração é a regioselectividade da nitração na posição 6 (seis) do anel aromático, devido aquele carbono apresentar maior densidade eletrônica, sendo assim mais reativo frente a uma reação de substituição eletrofílica aromática (Costa, 2000).

A 6-nitro tetraidropiperina (**18**) foi obtida na forma de um sólido amarelo-escuro e apresentou ponto de fusão 64-65°C. No espectro de infravermelho (**Espectro 45, página 60**), observa-se absorções em 3076 cm<sup>-1</sup>, 1502 cm<sup>-1</sup> e 1458 cm<sup>-1</sup> caracterizando a presença de um sistema aromático. Em 2953 cm<sup>-1</sup> e 2850 cm<sup>-1</sup> encontram-se absorções referentes aos metilenos, em 922 cm<sup>-1</sup> observa-se deformação angular de C-H para um hidrogênio isolado no sistema aromático. Em 1522 cm<sup>-1</sup> e 1325 cm<sup>-1</sup> encontra-se o estiramento de C-N para nitrocompostos. No espectro de massas (**Espectro 46, página 60**), encontram-se fragmentos característicos como  $m/z = 335$  (M<sup>+</sup>, 60%) que é o pico do íon molecular, o  $m/z = 112$  (100%) como o pico base, além de outros fragmentos de abundância relativa elevadas. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 47, página 61**) observou-se dois simpletos em  $\delta$  6,76 ppm e  $\delta$  7,49 ppm, referentes aos hidrogênios *orto*, em relação ao grupo metilenodioxi, do anel aromático. A presença do grupamento nitro na posição *meta* do anel é responsável por esse maior deslocamento químico dos hidrogênios *orto*, visto que é um grupo retirador de elétrons. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 48, página 61**), observou-se um sinal em  $\delta$  170,9 ppm, referente a carbonila amídica e um sinal em  $\delta$  151,6 ppm, referente ao carbono quaternário portando o grupamento nitro, além de outros sinais compatíveis com a estrutura.

#### 5.4.3. Síntese da 6-amino tetraidropiperina (72)

A redução de compostos nitro aromáticos para as respectivas anilinas é uma das mais importantes transformações em síntese orgânica para obtenção de intermediários ou material de partida para diversos produtos farmacêuticos, agroquímicos e corantes. Dentre os diversos métodos para tal reação, a transferência de hidrogênio catalítica é um dos métodos mais simples e de menor custo (Kalbasi, *et al.*, 2011). Existem métodos que envolvem o uso de NaBH<sub>4</sub> como agente redutor, usando água como solvente a temperatura ambiente, além do uso de metais, por exemplo, (Fe) com NH<sub>4</sub>Cl em mistura de etanol e água sob refluxo (Leite *et al.*, 2004).

A preparação da 6-amino tetraidropiperina (**72**) foi realizada através da redução da 6-nitro tetraidropiperina, utilizando cloreto férrico hidratado e hidrazina. O produto foi obtido a 91% de rendimento na forma de um sólido branco e apresentou ponto de fusão 89-90°C. No espectro de infravermelho (**Espectro 49, página 63**), observam-se absorções a 3467 cm<sup>-1</sup> e 3363 cm<sup>-1</sup> referentes ao estiramento de N-H, caracterizando a presença do grupamento amino, além de outras compatíveis com a estrutura da 6-amino tetraidropiperina **72**. No espectro de massas (**Espectro 50, página 64**), encontram-se o fragmento do íon molecular  $m/z = 304$  (M<sup>+</sup>, 30%) e o pico base  $m/z = 150$  (100%), além de outros com abundância relativa elevada. No espectro de RMN <sup>1</sup>H (**Espectro 51, página 64**), observou-se dois simpletos a  $\delta$  6,28 ppm e  $\delta$  6,57 ppm, referentes aos hidrogênios *orto*, em relação ao metilenodioxi, do anel aromático. A presença do grupamento amino na posição *meta*, em relação ao metilenodioxi, do anel aromático é responsável por esse menor deslocamento químico dos hidrogênios *orto*, visto que é um grupo doador de elétrons. No espectro de RMN <sup>13</sup>C (**Espectro 52, página 65**) observou-se um sinal a  $\delta$  171,1 ppm, referente a carbonila amídica, um sinal a  $\delta$  138,3 ppm, referente ao carbono quaternário portando o grupamento amino, além de outros sinais.

## 5.5. Ensaio inseticida contra larvas de *Aedes aegypti*

Para avaliação da atividade inseticida das moléculas descritas nesse trabalho em larvas de *Aedes aegypti*, foi utilizada a seqüência de experimentos descritos no item 4.7 (página 66) (**Material e Métodos**). Em todos os casos utilizou-se a cepa Rockefeller, referência de susceptibilidade a inseticidas.

Primeiramente, foi realizado um ensaio preliminar numa concentração de 50 mg/L para cada molécula testada. As amidas **67**, **69** e **71** não ficaram totalmente solúveis. Além disso, as amidas **1**, **65**, **66** e **70**, ao serem adicionadas em meio aquoso, precipitaram. As amidas **1**, **14**, **18**, **65**, **66**, e **72** induziram mortalidade igual ou próxima de 100%. Devido ao fato de algumas amidas não ficarem totalmente solúveis, ou de resultarem em mortalidade 100%, realizou-se outro ensaio a 25 mg/L para todas as moléculas. As amidas **1**, **66**, **69**, **70** e **71** precipitaram ao serem aplicadas em meio aquoso. Isso pode ser explicado pelo fato destas amidas serem substâncias hidrofóbicas. Os resultados obtidos para os ensaios a 50 mg/L e 25 mg/L encontram-se na **Tabela 15**, página 66. Para as amidas **1**, **14**, **18**, e **66** foi observada mortalidade compatível com produtos considerados ativos; para estes derivados realizamos ensaios do tipo dose-resposta. Os dados de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> encontram-se na **Tabela 17** e a curva de regressão linear da mortalidade após 24h de exposição, na **Figura 25**.

A utilização da cepa *Rock* num estudo deste tipo é extremamente importante, pois elimina qualquer potencial efeito de resistência cruzada com outros inseticidas. É sabido que mesmo utilizando gerações posteriores de um inseto retirado de uma população já exposta a inseticidas, não temos garantia de que a resistência será eliminada, daí a importância de utilizar cepas sabidamente susceptíveis nas avaliações iniciais. Será necessário posteriormente testar o efeito dos produtos mais promissores sobre populações de campo, com diferentes históricos de utilização de inseticidas e de mecanismos de resistência. Com isto será possível obter avaliações mais concretas dos produtos testados, com verificação de seus efeitos sobre populações do *Aedes aegypti* adaptadas a diferentes realidades do ponto de vista do controle químico empregado em campo. Uma vez que o efeito de nossos compostos tenha sido confirmado no laboratório, será relevante avaliar também a persistência do produto em condições de campo, expostas ao ambiente; neste caso, por meio de ensaios simulados de campo.

**Tabela 17:** Dados obtidos de CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> para as substâncias **1**, **14**, **18** e **66** em larvas de *Aedes aegypti* após 24h.

Substância	<i>Aedes aegypti</i>			
	CL <sub>50</sub>		CL <sub>90</sub>	
	mg/L	µM	mg/L	µM
<b>1</b>	<b>11,84</b>	<b>41,54</b>	<b>19,67</b>	<b>69,02</b>
<b>14</b>	<b>5,95</b>	<b>20,59</b>	<b>11,95</b>	<b>41,35</b>
<b>18</b>	<b>22,65</b>	<b>67,61</b>	<b>40,10</b>	<b>119,70</b>
<b>66</b>	<b>14,28</b>	<b>47,76</b>	<b>26,96</b>	<b>90,17</b>

A tetraidropiperina **14** apresentou melhor resultado em relação às demais amidas testadas (CL<sub>50</sub> = 5,95 mg/L; 20,59 µM), seguida da piperina **1** (CL<sub>50</sub> = 11,84 mg/L; 41,54 µM), o que é semelhante a trabalhos anteriores do grupo com outras espécies de dípteros

(Barbieri *et al.*, 2007). Não se sabe exatamente qual seria o mecanismo de ação esperado para esse composto; no entanto, a ausência das insaturações na amida tetraidropiperina lhe confere maior liberdade conformacional, o que pode facilitar sua absorção pela larva, bem como sua ligação com o receptor hipotético.

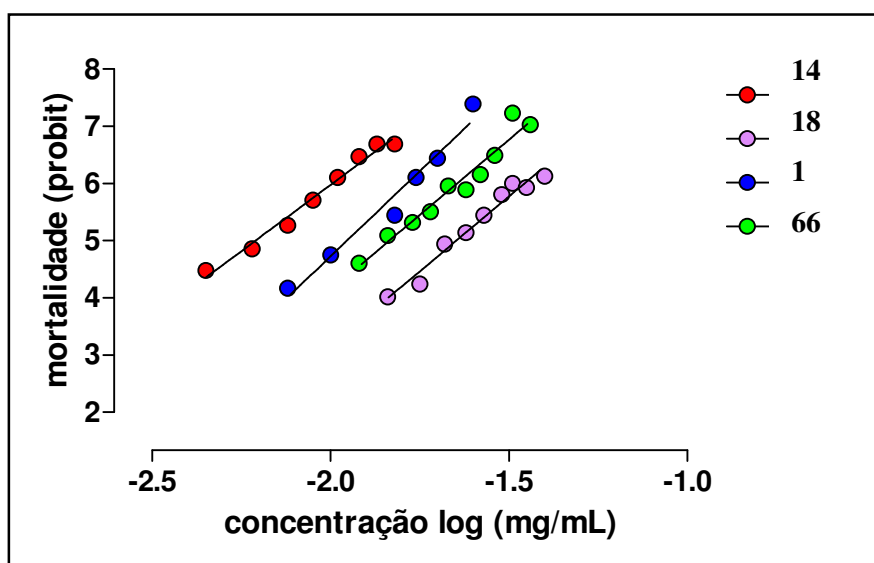
Trabalhos publicados anteriormente usando óleos essenciais extraídos de plantas em ensaios de larvas de *Aedes aegypti*, relatam  $CL_{50}$  variando de 60 mg/L a 519 mg/L (Cavalcanti *et al.*, 2004). Portanto, as amidas mais ativas testadas no presente trabalho, com  $CL_{50}$  na faixa de 6 a 25 mg/L, apresentaram resultados muito satisfatórios.

Moléculas semelhantes à piperina e aos derivados apresentados, os fenilpropanóides safrol, eugenol e aldeído cinâmico apresentaram, respectivamente,  $CL_{50}$  de 49 mg/L, 44,5 mg/L e 24,4 mg/L quando testados com *Aedes aegypti* (Simas *et al.*, 2004).

No trabalho descrito por Park e colaboradores (2002), a amida natural piperina e algumas isobutilamidas foram testadas contra larvas de *A. aegypti*, apresentando  $CL_{50} = 5,1$  mg/L para piperina e  $CL_{50} = 0,92$  mg/L para pelitorina, resultados compatíveis com os do presente trabalho.

Ainda que a toxicidade das moléculas aqui testadas esteja muito distante de temephos, larvicida comercial utilizado no controle de larvas de *Aedes aegypti*, que apresenta  $CL_{99} = 0,006$  mg/L (Lima *et al.*, 2003) para cepa *Rock*, a quando se considera os estudos com produtos naturais, os resultados obtidos foram muito satisfatórios. Além disto, essas moléculas podem servir como protótipo para síntese de outras, potencialmente mais ativas.

Analisando as curvas obtidas pela regressão linear dos dados de mortalidade *versus* concentração (**Figura 25**), observamos que a inclinação das retas é semelhante, o que sugere homogeneidade de resposta da cepa estudada (*Rock*) frente aos diferentes compostos.



**Figura 25:** Curvas de regressão linear da mortalidade da cepa de *Rockefeller* de *Aedes aegypti* após 24h.



## 6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Os resultados obtidos demonstram o potencial da piperina como precursor, aplicável ao desenvolvimento de uma nova família de moléculas candidatas a inseticidas, potencialmente úteis no controle da dengue. A abundância do produto natural no material vegetal, bem como a facilidade de sua extração e as manipulações sintéticas possíveis, são pontos relevantes em relação a esta amida natural.
- A metodologia de preparação do ácido piperínico, utilizando o reator de microondas, otimizou o processo, diminuindo o tempo reacional. O produto foi obtido em rendimento e pureza satisfatórios e foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise.
- As metodologias aplicadas para preparação das amidas derivadas da piperina foram satisfatórias, gerando os produtos com rendimentos variados de 47% a 97%. Todos os derivados foram caracterizados pelos métodos convencionais de análise.
- O derivado tetraidropiperina apresentou um resultado excelente frente à mortalidade das larvas de *Aedes aegypti*. Ainda que distante do inseticida até então mais amplamente utilizado (temephos®), os resultados são extremamente relevantes diante de outros produtos naturais atualmente avaliados.
- A baixa solubilidade em água dos compostos deste trabalho dificultou a execução dos ensaios com larvas de *Aedes aegypti*. Diante desta condição, pretendemos avaliar a atividade inseticida frente ao mosquito adulto.
- Novos derivados devem ser desenvolvidos a partir destas informações para que possamos obter mais dados sobre a relação entre a estrutura química e a atividade inseticida (REA) destes compostos, possibilitando assim o planejamento de moléculas que possam ser utilizadas como novas opções de inseticida, obtidas de uma fonte renovável e que possam atuar no manejo integrado de pragas.
- Modificações estruturais podem ser realizadas com intuito de aumentar a solubilidade das amidas em meio aquoso. A preparação de sais de amônio quaternário é uma alternativa bastante viável.
- Estes compostos devem ser testados em populações de campo do vetor da dengue com distintos mecanismos de resistência para avaliar seu potencial de aplicação. Avaliações de sua persistência, em ensaios que simulem as condições de campo, também devem ser planejadas. A investigação quanto ao mecanismo de ação é também uma informação fundamental para o planejamento da síntese de uma nova classe de inseticidas.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BANCROFT, T.L. On the etiology of dengue fever. **Australasian Medical Gazette**, v.25, p.17-18, 1906.

BARRETO-JUNIOR, C. B. **Abordagem para a síntese de amidas naturais bioativas e seus análogos**. 2005. 188p. Dissertação (Mestre em ciências, Química orgânica). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, Rio de Janeiro.

BARBIERI JR., E.; BARRETO JR., CB; RIBEIRO, R.C.; OLIVEIRA, V.H.S.; LIMA, M.E.F.; BORJA, G.E.M. Efeito inseticida de amidas naturais de Piper e do derivado sintético tetraidropiperina contra *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) e *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.16, p.87-91, 2007.

BISSET, J.A., Uso correcto de inseticidas: control de la resistência. **Revista Cubana de Medicina Tropical**. v.54(3), p. 202-219, 2002.

BRAGA, I.A.; GALARDO, A.K.R.; MACHADO FILHO, M.R.; ZIMMERMAN, R.; BRAGA, I.L. Controle seletivo de vetores da malária: guia para o nível municipal. Brasília, Ministério da Saúde, 1999.

BRAGA, I.A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: inseticidas, mecanismos de ação e resistência **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v.16, n.4, p.279-293, out-dez, 2007.

BULL, M.J.; DAVIES, J.H.; SEARLE, R.J.C.; HENRY, A.C. Alkyl Aryl Oxime OEtters: A Group of Pyrethroids. **Pestic.Sci.**, v. 11, p. 249-256, 1980.

CARLTON, F.B.; SIMPSON, W.M.; HADDAD, L.M. The Organophosphate and Other Insecticides. In: HADDAD, L.M., SHANNON, M.W., WINCHESTER, J.F. **Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose**, USA. WB, 3a ed., p. 836-850, 1998.

CAVALCANTI, E.S.B.; MORAIS, S.M.; LIMA, M.A.A.; SANTANA, E.W.P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.5, p.541-544, 2004.

CHAVASSE, D.C.; YAP, H.H. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. Geneve: WHO; 1997. WHO/CTD/WHOPES/97.2.

CHEN, Z.; WU, J.B.; ZHANG, J.; LI, X.J.; SHEN, M.H.; One step purification of piperine directly from *Piper nigrum* L. by High Performance Centrifugal Partition Chromatography. **Separation Science and Technology**, v.44, n.8, p.1884-1893, 2009.

CHOU, C.H. Roles of Allelopathy in Biochemical Ecology: Experience from Taiwan. **Biologia Plantarum**, v. 31, n. 6 p. 458- 528, 1989

COATS, J.R . Risks from Natural Versus Synthetic Insecticides, **Annu. Rev. Entomol**, v. 39, p. 489-515, 1994.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo de reatividade e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova** v.23, n.3, 2000.

COSTA, J.G.M.; RODRIGUES, F.F.G.; ANGÉLICO, E.C.; SILVA, M.R.; MOTA, M.L.; SANTOS, N.K.A.; CARDOSO, A.L.H.; LEMOS, T.L.G. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.15, n.4, p. 304-309, Out./Dez,2005.

CROMBIE, L. Natural Product Chemistry and its Part in the Defence Against Insects and Fungi in Agriculture. **Pestic. Sci.**, v.55, n.8, p. 761-774, 1999.

DE ARAÚJO-JÚNIOR, J. X.; DA CUNHA, E. V. L.; CHAVES, M. C. O.; GRAY, A. I. Piperdardine, a piperidine alkaloid from *Piper tuberculatum*. **Phytochemistry** v.44, n.3, p. 559-561, 1997.

DE PAULA, V. F., BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J., VELOSO, D. P., PICANÇO, M. C. Synthesis and insecticidal activity of new amide derivatives of piperine. **Pest. Manag. Sci.** v.56, n.2, p. 168-174, 2000.

DUARTE M. L. R.; ALBUQUERQUE F. C. Sistema de Produção da Pimenteira-do-reino, Embrapa Amazônia Oriental, 2005. Disponível em<<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Pimenta/PimenteiradoReino/paginas/importancia.htm>> acesso em 04/09/2009.

ELLIOTT, M.; FARNHAM, A. W.; JANES, N. F.; NEEDHAM, P. H.; PULMAN, D.A. Synthetic Insecticide with A New Order of Activity. **Nature**, v. 248, p. 710-711, 1974.

ELLIOTT, M.; JANES, N. F. Synthetic Pyrethroids – A New Class of Insecticide. **Chem. Soc. Rev.**, v. 7, p. 473-505, 1978.

EPSTEIN, W.W; NETZ, D.F.; SEIDEL, J.L. Isolation of piperine from black pepper. **Journal of Chemical Education**, v.70, n.7, p.598-599, 1993.

ESTRELA, J.L.V.; GUEDES, R.N.C.; MALTHA, C.R.A.; FAZOLIN, M. Toxicidade de Amidas Análogas à Piperina a Larvas de *Ascia monusteorseis* Godart (Lepidoptera: Pieridae) e *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) **Neotropical Entomology** v.32, n.2, p.343-346, 2003.

FERREIRA, W.S., **Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminidas**. 2006. 197 p. Dissertação (Mestre em Ciências, Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, Rio de Janeiro.

FERREIRA, W.S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; SARAIVA, V.B.; SILVA, F.A.; PREVIATO, L.M.; PREVIATO, J.O.; ECHEVARRIA, A.; LIMA, M.E.F. Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: chemical and biological studies. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.16, p.2984-2991, 2008.

FRANCO, O. Reinfestação do Pará por *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** v.21, n.4, p. 729-731, 1969.

FLORES, A.V.; RIBEIRO, J.N.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, E.L.R. Organochloride: A Public Health Problem. **Ambiente & Sociedade**, v. 7, n. 2, p. 111-125, 2004.

GALEFFI, C.; MARINI-BETTOLO, G. B. New Approaches to the Utilization of Plants in the Preparation of Pharmaceuticals and Insecticides. **Fitoterapia**, v. 59, n. 3, p.179-205, 1988.

Guidelines for laboratory and Field testing of mosquito larvicides  
[http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO\\_CDS\\_WHOPES\\_GCDPP\\_2005.13.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHOPES_GCDPP_2005.13.pdf), Acessado em 04/07/2011

HIRATA, R. Piretróides: Estrutura Química-Atividade Biológica. **Química Nova**, v.18, n. 4, p. 368-373, 1995.

HOY, J.B. Experimental mass-rearing of the mosquitofish, *Gambusia affinis*. **Journal of American Mosquito Control Association**.; v.1, n.3, p. 295-298, 1985.

IKAN, R. **Natural Products: A Laboratory Guide**, Academic Press, 2nd Edition: p.233-238, 1991.

KALBASI, R.J.; NOURBAKHS, A.A.; BABAKNEZHAD, F. Synthesis and characterization of Ni nanoparticles-polyvinylamine/SBA-15 catalyst for simple reduction of aromatic nitro compounds. **Catalysis Communications**, v.12, p.955-960, 2011.

KANAKI, N.; DAVE, M.; PADH, H.; RAJANI, M. A rapid method for isolation of piperine from the fruits of *Piper nigrum L.* **Journal of Natural Medicines**, v.62, n.3, p.281-283, 2008.

KAPPE, C.O.; DALLUYER, D.; MURPHREE, S.S. **Practical microwave synthesis for organic chemists: Strategies, instruments and protocols**. Wiley – VHC, 2009.

KIM, S.H.; LEE, Y.C. Piperine inhibits eosinophil infiltration and airway hyperresponsiveness by suppressing T cell activity and Th2 cytokine production in the ovalbumin-induced asthma model. **J Pharm Pharmacol**, v.61, n.3, p. 353-359, 2009.

KUMORO, A.C.; SINGH, H.; HASAN, M.; Solubility of piperine in supercritical and near critical carbon dioxide. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v.17, n.6, p.1014-1020, 2009.

KUNO, G. Early History of Laboratory Breeding of *Aedes aegypti* (Diptera:Culicidae) Focusing on the Origins and Use of Selected Strains. **J. Med. Entomol.** V.47, n.6, p. 957 – 971, 2010.

LARA, W.H.; BATISTA, G.C. Pesticidas. **Química Nova**, v.15, p.161-166, 1992.

LEITE, A.C.L.; SILVA, K.P.; SOUZA, I.A.; ARAÚJO, J.M.; BRONDANI, D.J. Synthesis, antitumour and antimicrobial activities of new peptidyl derivatives containing the 1,3-benzodioxole system. **European Journal of Medicine Chemistry** v.39. p.1059-1065, 2004.

LI M, LIU Z. In vitro effect of Chinese herb extracts on caries-related bacteria and glucan. **J Vet Dent**. v.25, n.4, p. 236-239, 2008.

LIDSTROM, P.; TIERNEY, J.; WATHEY, B.; WESTMAN, J. Microwave assisted organic synthesis – a review. **Tetrahedron**, v.57, p.9225-9283, 2001.

LI, S.; WANG, C.; WANG, M.; LI, W.; MATSUMOTO, K.; TANG, Y. Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms. **Life Sciences** v. 80, p. 1373–1381, 2007.

LIMA, J.B.P.; PEREIRA DA-CUNHA, M.; DA SILVA JÚNIOR, R.C.; GALARDO, A.K.R.; SOARES, S.S.; BRAGA, I.A.; RAMOS, R.P.; VALLE, D., Resistance of *Aedes Aegypti* organophosphates in several municipalities in the state of Rio de Janeiro e Espírito Santo, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** v.68, n.3, p. 329–333, 2003.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R.; VAZEILLE, M.; DE FILIPPIS A.M.B.; FAILLOUX, A.B. Large genetic differentiation and low variation in vector competence for dengue and yellow fever viruses of *Aedes albopictus* from Brazil, the United States, and the Cayman Islands. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**; v.69, n.1, p.105-114, 2003.

LUO, Y.; LIU, H.M.; SU, M.B.; SHENG, L.; ZHOU, Y.B.; LI, J.; LU, W.; Synthesis and biological evaluation of piperamide analogues as HDAC inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.21, p.4844-4846, 2011.

MARCH, J. **Advanced Organic Chemistry-Reactions: Mecanism and Struture**. *John Willey & Sons*, 3<sup>o</sup>ed.: 388, 437, 438, 1095, 1099, 1100 e 1101, 1985.

MARTINEZ, E.M. **Dengue hemorrágico en niños**. Habana, Cuba: Ed. José Martí; 1990.

MERCK Index. 12th ed. New York: Merck Research Laboratories, 1996 - para solubilidades e estrutura

MIAN, L.S.; MULLA, M.S. Effects of Pyrethroid Insecticides on Nontardet Invertebrates in Aquatic Ecosystems. **Journal Agric. Entomol.**, v.9, p. 73 – 98, 1992.

MULLA, M.S.; FEDERICI, B.A.; DARWAZEH, H.A.; EDE, L. Field evaluation of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against floodwater mosquitoes. **Applied Environmental Microbiology**; v.43, n.6, p. 1288-1293, 1982.

MULLIGAN III, F.S.; SCHAEFER, C.H.; WILDER, W.H. Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis* H-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. **Journal of Economic Entomology**; v.73, p. 684-688, 1980.

MURPHY, S. D. Toxic Effects of Pesticides. **Toxicology - The Basic Science of Poisons**. 5a ed. United States of América: McGraw-Hill, c. 18, p. 519-579, 1996.

NAMBA, T. Poisoning Due to Organophosphate Insecticides: Acute and Chronic Manifestations. **The American Journal of Medicine**, v. 50, p. 475-492, 1971.

NELSON, M.J. *Aedes aegypti*: biologia y ecologia. Washington, DC, Organización Panamericana de La Salud; 1986.

Organización Panamericana de La Salud. Dengue y dengue hemorrágico em las Américas: guías para su prevención y control. Washington, DC: OPS; 1995.

PACHLATKO, J.P. Natural Products in Crop Protection. **Chimia**, v. 52, n. 1-2, p. 29-47, 1998.

PADALKAR, K.V.; GAIKAR, V.G. Extraction of piperine from piper nigrum (black pepper) by aqueous solutions of surfactant and surfactant plus hydrotrope mixtures. **Separation Science and Technology**, v.43, n. 11-12, p.3097-3118, 2008.

PALCHICK, S., **Chemical Control Of Vectors** In: The Biology of Disease Vectors. Colorado: University Press of Colorado; 1996.

PARK I.K.; LEE S.G.; SHIN S.C.; PARK J.D.; AHN Y.J. Larvicidal activity of isobutylamides identified in *Piper nigrum* fruits against three mosquito species, **J. Agric. Food Chem.**, v.50, n.7, p.1866-1870, 2002.

PIMENTA, A.T.A.; SANTIAGO, G.M.P.; ARRIAGA, A.M.C.; MENEZES, G.H.A.; BEZERRA, S.B. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade larvídica de *Pterodon polygalaeflorus* Benth (Leguminosae) sobre *Aedes aegypti* **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n.4, p. 501-505, Out./Dez. 2006.

PISSINATE, K. **Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos.** 2006. Dissertação (Mestre em Ciências, Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, Rio de Janeiro.

PRIDGEON, J.W.; MEEPAGALA, K.M.; BECNEL, J.J.; CLARK, G.G.; PEREIRA, R.M.; LINTHICUM, K.J. Structure-activity relationships of 33 piperidines as toxicants against female adults of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **J. Med. Entomol.** v.44, n.2, p.263-269, 2007.

RAO, V.R.S.; SURESH, G.; RAO, R.R.; BABU, K.S.; CHASHOO, G.; SAXENA, A.K.; RAO, J.M. Synthesis of piperine-amino acid ester conjugates and study of their cytotoxicity activities against human cancer cells lines. **Medicinal Chemistry Research**, 2010.

RASCADO, M. F. N. **Utilização do safrol na síntese de derivados do núcleo pirroloquinolina, potencialmente úteis como antineoplásicos.** 1997. Dissertação (Mestre em Ciências, Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, Rio de Janeiro.

REDDY, P.M.; PHILIP, G.H. In Vivo Inhibition of AchE and ATPase Activities in the Tissue of Freshwater Fish, *Cyprinus Carpio* Exposed to Technical Grade Cypermethrin. **Environ. Contam. Toxicol.**, v. 52, p. 619 – 626, 1994.

RIBEIRO, T. S., **Transformações químicas no alcalóide natural piperina e avaliação da atividade tóxica sobre *Trypanosoma cruzi*.** 2004. Dissertação (Mestre em Ciências, Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, Rio de Janeiro.

RIBEIRO, T. S.; LIMA, M. E. F.; LIMA, L. F.; PREVIATO, M. L.; PREVIATO, J.O. Toxic effects of natural piperine and derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 3555-3558, 2004.

ROBERTS, D.R.; MANGUIN, S.; MOUCHET, J. DDT house spraying and reemerging malaria. **Lancet**; v.356, p.330-332, 2000.

RODRIGUES, R. DA C.; BARROS, I.M.A.; LIMA, E.L.S., Mild one-pot conversion of carboxylic acids to amides or esters with Ph 3P/trichloroisocyanuric acid **Tetrahedron Letters**, v.46, p. 5945–5947, 2005.

RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. In: Gluber DJ, Kuno G. **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. New York: CAB International; 1997.

ROSE, R.I. Pesticides and public health: integrated methods of mosquito management. **Emerging Infectious Diseases**; v.7, n.1, p.17-23, 2001.

SANGWAN, P.L.; KOUL, J.L.; KOUL, S.; REDDY, M.V.; THOTA, N.; KHAN, I.A.; KUMAR, A.; KALIA, N.P.; QAZI, G.N. Piperine analogs as potent staphylococcus aureus NorA efflux pump inhibitors. **Bioorganic & Med. Chem.** V.16, p. 9847-9857, 2008.

SANTOS, A. P. **Piperina: Modificações Estruturais, Síntese de análogos e Avaliação Citotóxica**. 1999. Dissertação (Mestre em Ciências, Química Orgânica) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Seropédica, Rio de Janeiro.

SCHNEIDER, M.O.; MORAGAS, W.M. Biocidas: Suas Propriedade e Histórico no Brasil. **Caminhos da geografia**, v. 3, n. 10, p. 26-46, 2003.

SCHOLTE, E.J.; NIJIRU, B.N.; SMALLEGANGE, R.C.; TAKKEN, W.; KNOLS, B.G. Infection of malaria (*Anopheles gambiae s.s.*) and filariasis (*Culex quinquefasciatus*) vector with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Malaria Journal**; v.2, n.1, p.1-8, 2003.

SCOTT, W. P.; MCKIBBEN, G. H. Toxicity of black pepper extract to boll weevils. **J. Econ. Entomol.** V.71, n.2, p. 343-344, 1978.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE E DEFESA CIVIL DO RIO DE JANEIRO–[www.saude.rj.gov.br](http://www.saude.rj.gov.br), acessado em 23 de março de 2011.

SEMLER, U.; GROSS, G. G. Distribution of piperine in vegetative parts of *Piper nigrum*. **Phytochemistry** v.27, n.5, p. 1566-1567, 1988.

SHAAYA, E.; KOSTJUKOVSKI, M.; EILBERG, J.; SUKPRAKARN, C. Plant Oils as Fumigants and Contact Insecticides for the Control of Stored-product Insects. **J. Stored Prod. Res.**, v. 33, n.1, p. 7-15, 1997.

SHAALAN, E.A.S.; CANYON, D.; YOUNES, M.W.F.; ABDEL-WAHAB, H.; MANSOUR, A.H. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. **Environmental International**, v.31, p.1149-1166, 2005.

SIMAS, N.K.; LIMA, E.C.; CONCEIÇÃO, S.R.; KUSTER, R.M.; OLIVEIRA FILHO, A.M. Produtos naturais para o controle da transmissão da dengue – atividade larvicida de (óleo vermelho) e de terpenóides e fenilpropanóides. **Quim. Nova**, V. 27, N. 1, P. 46-49, 2004.

SINGH, A.; DUGGAL, S. Piperine – Review of advances in pharmacology. **International J. of Pharm.Sci.and Nano**. v.2, n.3, p. 615-620, 2009.

SINGH, I.P.; JAIN, S.K.; KAUR, A.; SINGH, S.; KUMAR, R.; GARG, P.; SHARMA, S.S.; ARORA, S.K. Synthesis and antileishmanial activity of piperoyl-amino acid conjugates. **European Journal of Med. Chem**. v.45, p. 3439-3445, 2010.

SLOOP, J. C. Microscale Synthesis of the Natural-Products Carpanone and Piperine. **Journal of Chemical Education**, v. 72, n. 2, p. A25-A28, 1995.

SOARES, L.F. **Intoxicações Agudas por Carbamatos em Pediatria. Aspectos Epidemiológicos, Clínicos e Terapêuticos**. 1998. 112p. Monografia (Curso de Especialização em Pediatria) Universidade Federal Fluminense – Niterói , Rio de Janeiro.

SOLOMONS, T.W.G. **Química Orgânica 2**. Livros Técnicos e Científicos, 6ª Ed., p. 107 - 109, 119 e 120, 1996.

SUNILA, E.S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum L.* and piperine. **J. Ethnopharm**. v.90, p. 339-346, 2004.

TAQVI, S.I.; SHAH, A.J.; GILANI, A.H. Blood pressure lowering and effects of piperine. **J. Cardiovasc Pharmacol**. v.52, n.5, p. 452-458, 2008.

VENKATASAMY, R.; FAAS, L.; YOUNG, A. R.; RAMAN, A.; HIDER, R. C. Effects of piperine analogues on stimulation of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. **Bioorg. Med. Chem**. v.12, p. 1905-1920, 2004.

VIEGAS-JÚNIOR, C.; DANUELLO, A.; BOLZANI, V.S.; BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.. Molecular hybridization: A useful tool in the design of new drug prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v.14, n.14, p.1829-1852, 2007.

VOGEL, A. I. **Química Orgânica – Análise Orgânica Qualitativa**, Ao Livro Técnico AS, 3a. edição, 1978.

WHEELER, W. Role of Research and Regulation in 50 Years of Pest Management in Agriculture. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4151–4155, 2002.

WOLFF, M.S.; TONIOLO, P.G.; LEE, E.W.; RIVERA, M.; DUBIN, N. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. **Journal of the National Cancer Institute** v.85, n.8, p.648-652, 1993.

World Health Organization. Vector Control for Malaria and other Mosquito-Borne Diseases Report of a WHO Study Group. Geneva: WHO; 1995. WHO TRS n°857.



YESILADA, A.; ZORLU, E.; AKSU, F.; YESILADA, E. 3,4-Dimethoxy Cinnamic Acid Tertiary Amides: Synthesis and Evaluation of Antiinflammatory and Analgesic Activities. **Farmaco**, v. 51, n. 8-9, p. 595-599, 1996.

ZITO, S.W.; ZIEG, R.G.; STABA, E.J. Distribution of Pyrethrins in Oil Glands and Leaf Tissue of *Chrysanthemum cinerariaefolium*. **Planta Médica**, v. 47, p. 205-207, 1983.



