

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

DISSERTAÇÃO

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE TRIPANOCIDA DE NOVOS
HETEROCICLOS DA CLASSE DOS 1,2,4-OXADIAZÓIS, DERIVADOS E
ANÁLOGOS DA AMIDA NATURAL PIPERINA.**

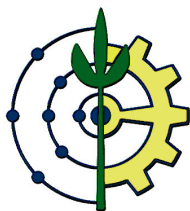
BRENO ALMEIDA SOARES

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



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

**SÍNTESE E AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE TRIPANOCIDA DE NOVOS
HETEROCICLOS DA CLASSE DOS 1,2,4-OXADIAZÓIS, DERIVADOS E
ANÁLOGOS DA AMIDA NATURAL PIPERINA.**

BRENO ALMEIDA SOARES

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 Síntese
Orgânica/Química Medicinal.

Seropédica, RJ

Setembro de 2009

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

BRENO ALMEIDA SOARES

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Química, área de Concentração em Síntese Orgânica/Química Medicinal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/09/2009

**Prof. Dr. Marco Edilson Freire de Lima (DQ/ICE/UFRRJ)
(Orientador)**

Prof^a. Dra. Lidia Moreira Lima (FF-LASSBio/UFRRJ)

Prof. Dr. Sérgio Pinheiro (IQ/UFF)

**Prof. Dr. Aurélio Baird Buarque Ferreira (DQ/ICE/UFRRJ)
(Membro Suplente)**

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus queridos pais Washington Luiz Teixeira Soares e Terezinha Almeida Soares, que nunca hesitaram em medir esforços em prol de meu enriquecimento acadêmico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, o criador do Universo. Ele é o pré-requisito para o desenvolvimento da vida, e conseqüentemente, das relações humanas.

Segundo, agradeço a todos os professores que participaram de minha formação, do jardim ao mestrado. Dentre estes, há alguns que não poderia deixar de citar:

Ao Prof. Marco Edílson Freire de Lima, orientador, professor e amigo que serei grato para sempre por ter me recebido em seu laboratório, e que nunca deixou a desejar durante esta trajetória.

À Prof^a. Rosane Nora Castro, por toda sua dedicação e amor ao PPGQ, pela amizade, e pelo conhecimento teórico e experimental adquirido em suas excelentes aulas durante a graduação e o mestrado.

Ao Prof. Aurélio Baird Buarque Ferreira, pela maestria como destila sua sabedoria.

Aos Professores Raimundo Braz Filho e Mario Geraldo de Carvalho, pela inenarrável atenção concedida na proposta de fragmentação de alguns dos derivados finais deste trabalho, e na análise dos espectros de massa de alta resolução.

Aos Professores do DQ/ICE/UFRRJ: Victor Rumjanek, Carlos Mauricio Santana, João Baptista, Áurea Echevarria, Dari Cesarin, Marcia Cristina, Cayoco Ponzoni, Waleska Gianini, Evelton Casartelli, Laerte, Geovan, Brêtas, Luciano, Terezinha, Sergio, pelos ensinamentos, e amistoso convívio acadêmico.

Aos conspícuos técnicos de laboratório, cruciais para o andamento do trabalho: Mauricio e Welisson (RMN), Eli (IV), Frances (EM), Carlão (solventes), Fábio (vidrarias), Osmar (parte burocrática), Gil (xérox), Aldir, André e Paulinho.

Aos amigos de laboratório, sala de aula, que estiveram (ou estão) no mesmo percurso: Cleber, Welisson, Ari, Regina, Vitor Hugo, Vinícius, Daniel, Letícia, Nailton, Jorge Fábio, Luiza, Marcelo, Ceará, Kenia, Carlos Alberto, Marco Aurélio, Tiago, Mirza, Luis, Rodney, Camila, Andressa, Rose e Andréa Janaína.

À Prof. Wanda Almeida do DQO/IQ/Unicamp pela disponibilidade em realizar as análises de massa de alta resolução dos derivados finais deste trabalho.

Aos Prof. Célio Freire de Lima e Débora Decote-Ricardo do IBCCF/UFRRJ, pela realização dos ensaios biológicos.

À banca examinadora pela disponibilidade, sugestões e críticas construtivas, que fatalmente enriquecerão esta dissertação.

E, finalmente, à Capes pela bolsa concedida.

O que é o que é?

Eu fico
Com a pureza
Da resposta das
crianças
É a vida, é
bonita
E é bonita...
Viver!
E não ter a
vergonha
De ser feliz
Cantar e cantar
e cantar
A beleza de ser
Um eterno
aprendiz...
Ah meu Deus!
Eu sei, eu sei
Que a vida devia
ser
Bem melhor e
será
Mas isso não
impede
Que eu repita
É bonita, é
bonita
E é bonita...
Viver!
E não ter a
vergonha
De ser feliz
Cantar e cantar
e cantar
A beleza de ser
Um eterno
aprendiz...
Ah meu Deus!
Eu sei, eu sei
Que a vida devia
ser
Bem melhor e
será
Mas isso não
impede
Que eu repita
É bonita, é
bonita
E é bonita...

E a vida!
E a vida o que
é?
Diga lá, meu
irmão
Ela é a batida
De um coração
Ela é uma doce
ilusão
Hê! Hô!...
Mas e a vida
Ela é maraviha
Ou é sofrimento?
Ela é alegria
Ou lamento?
O que é? O que
é?
Meu irmão...
Há quem fale
Que a vida da
gente
É um nada no
mundo
É uma gota é um
tempo
Que nem dá um
segundo...
Há quem fale
Que é um divino
Mistério
profundo
É o sopro do
criador
Numa atitude
repleta de
amor...
Você diz que é
luta e prazer
Ele diz que a
vida e viver
Ela diz que
melhor é morrer
Pois amada não é
E o verbo é
sofrer...
Eu só sei que
confio na moça
E na moça eu
ponho a força da
fé
Somos nós que

fazemos a vida
Como der ou
puder ou
quiser...
Sempre desejada
Por mais que
esteja errada
Ninguém quer a
morte
Só saúde e
sorte...
E a pergunta
roda
E a cabeça agita
Fico com a
pureza
Da resposta das
crianças
É a vida, é
bonita
E é bonita...
Viver!
E não ter a
vergonha
De ser feliz
Cantar e cantar
e cantar
A beleza de ser
Um eterno
aprendiz...
Ah meu Deus!
Eu sei, eu sei
Que a vida devia
ser
Bem melhor e
será
Mas isso não
impede
Que eu repita
É bonita, é
bonita
E é bonita...
Viver!
E não ter a
vergonha
De ser feliz
Cantar e cantar
e cantar
A beleza de ser
Um eterno
aprendiz...

Ah meu Deus!
Eu sei, eu sei
Que a vida devia
ser
Bem melhor e
será
Mas isso não
impede
Que eu repita
É bonita, é
bonita
E é bonita...

Viver!
E não ter a
vergonha
De ser feliz
Cantar e cantar
e cantar
A beleza de ser
Um eterno
aprendiz...
Ah meu Deus!
Eu sei, eu sei
Que a vida devia
ser

Bem melhor e
será
Mas isso não
impede
Que eu repita
É bonita, é
bonita
E é bonita...

**Luis Gonzaga do Nascimento Júnior
(Gonzaguinha)**

SUMÁRIO

ÍNDICE.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ESQUEMAS.....	ix
LISTA DE ESPECTROS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xiv
RESUMO.....	xv
ABSTRACT.....	xvi

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Doença de Chagas.....	1
1.1.1. Tratamento.....	5
1.2. Produtos Naturais (PN's) e a descoberta dos fármacos.....	8
1.3. A importância dos Produtos Naturais (PN's) em síntese orgânica.....	15
1.4. Atividades farmacológicas do gênero <i>Piper</i>	17
1.5. Outras amidas relacionadas a piperina.....	18
1.6. Atividades biológicas da piperina.....	19
1.7. Biossíntese da piperina.....	21
1.8. Modificações estruturais na piperina.....	22
1.9. Núcleos oxadiazólicos.....	27
1.9.1. Métodos de elaboração do anel 1,2,4-oxadiazólico.....	28
1.9.2. Atividades biológicas dos 1,2,4-oxadiazóis.....	32
2. OBJETIVOS E JUSTIFICATIVAS.....	35
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	37
3.1. Estratégias de síntese.....	37
3.1.1. Estratégia para a síntese do derivado 1,2,4-oxadiazólico (55) derivado direto da piperina 1	37
3.1.2. Estratégia para a síntese de derivados 1,2,4-oxadiazólicos análogos à piperina 1	38
3.2. Estratégias de síntese dos precursores ácidos carboxílicos, derivados e análogos à piperina 1 , com modificação estrutural.....	40
3.2.1. Modificação na cadeia lateral.....	40
3.2.2. Modificação no anel aromático.....	41
3.3. Isolamento da piperina dos frutos secos de <i>Piper nigrum</i>	41
3.4. Síntese dos ácidos carboxílicos (52a a 52h), intermediários na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis.....	43
3.4.1. Hidrólise alcalina da piperina 1	43
3.4.2. Síntese do ácido cinâmico 52d	44
3.4.3. Síntese do ácido piperonílico 52e	46
3.4.4. Síntese dos ácidos saturados 52b e 52f	47
3.4.5. Síntese dos ácidos nitrados 52c , 52g e 52h	49

3.5. Síntese dos cloretos de ácido 53	54
3.6. Síntese da benzamidoxima 54	55
3.7. Síntese dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos 55 a 62	57
3.8. Avaliações biológicas: Atividade tripanocida.....	71
4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	74
5. MATERIAL E MÉTODOS	76
5.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas.....	76
5.2. Nas análises, sínteses e purificações.....	76
5.3. Outros equipamentos.....	77
5.4. Isolamento da amida piperidil do ácido 5-(3,4-metilenodioxi)-2(E)-4(E)-pentadienóico (piperina 1)	78
5.5. Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (ácido piperínico 52a).....	81
5.6. Preparação do ácido 3-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-propenóico (ácido cinâmico 52d).....	84
5.7. Preparação do ácido 3,4 metilenodioxibenzóico (ácido piperonílico 52e).....	87
5.8. Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil) pentanóico (ácido tetraidropiperínico 52b)	90
5.9. Preparação do ácido 3-(3,4-metilenodioxifenil) propanóico (ácido diidrocinâmico 52f).....	93
5.10. Preparação do ácido 5-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil) pentanóico (ácido 6-nitrotetraidropiperínico 52c).....	96
5.11. Preparação do ácido 3-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil) propanóico (ácido 6-nitrodiidrocinâmico 52g).....	99
5.12. Preparação do 6-nitropiperonal 65	102
5.13. Preparação do ácido 6-nitro-3,4 metilenodioxibenzóico (ácido 6-nitro piperonílico 52h).....	105
5.14. Preparação da N'-hidroxi-benzeno-carboximidamida (benzamidoxima 54).....	108
5.15. Preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos (55 a 62).....	111
5.15.1. Preparação do 3-fenil-5-[4-(3,4-metilenodioxifenil)-1(E)-3(E)-butadienil]-1,2,4-oxadiazol (55).....	112
5.15.2. Preparação de 3-fenil-5-[2-(3,4-metilenodioxifenil)-(E)-etenil]-1,2,4-oxadiazol (58).....	115

5.15.3. Preparação do 3-fenil-5-(3,4-metilenodioxifenil)-1,2,4-oxadiazol (59).....	118
5.15.4. Preparação de 3-fenil-5-[4-(3,4-metilenodioxifenil)-butil]-1,2,4-oxadiazol (56).....	121
5.15.5. Preparação de 3-fenil-5-[2-(3,4-metilenodioxifenil)-etil]-1,2,4-oxadiazol (60).....	124
5.15.6. Preparação de 4-fenil-5-[4-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-butil]-1,2,4-oxadiazol. (57).....	127
5.15.7. Preparação de 4-fenil-5-[2-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-etil]-1,2,4-oxadiazol (61).....	130
5.15.8. Preparação de 4-fenil-5-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-1,2,4-oxadiazol (62).....	133
5.15.9. Preparação da <i>N</i> '-{[(2 <i>E</i> ,4 <i>E</i>)-5-(1,3-benzodioxol-5-il)penta-2,4-dienoil]oxi}benzenocarboximidamida (intermediário <i>O</i> -acilado) (66).....	136
5.16. Avaliação da atividade tóxica contra <i>Trypanosoma cruzi</i>	138
5.16.1. Manutenção das formas epimastigotas.....	138
5.16.2. Atividade Anti-Epimastigota.....	138
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	139
7. ANEXO.....	151

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem do <i>Trypanosoma cruzi</i> em microscopia eletrônica.....	1
Figura 2. Representação esquemática do ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i>	2
Figura 3. Imagem de barbeiros, três gêneros diferentes; a) <i>Triatoma</i> ; b) <i>Panstrongylus</i> e c) <i>Rhodnius</i>	3
Figura 4. Distribuição geográfica da doença de Chagas.....	4
Figura 5. Fluxo de imigração na América Latina.....	5
Figura 6. Fármacos de utilidade clínica reconhecida.....	6
Figura 7. Fármaco inibidor da enzima tripanotona redutase do <i>T. cruzi</i>	7
Figura 8. Os primeiros fármacos isolados de produtos naturais.....	10
Figura 9. Salicina e salicilatos que marcaram o desenvolvimento de fármacos no período de 1800-1900.....	11
Figura 10. Barbitol, epinefrina, procaína, benzocaína e cocaína.....	12
Figura 11. Vimblastina, vincristina, etoposídeo, teniposídeo e taxol.....	13
Figura 12. Bacatina III, 10-desacetil-bacatina III e taxotere.....	14
Figura 13. Participação dos Produtos Naturais (PN's) no desenvolvimento de fármacos no período de 1981 a 2002.....	15
Figura 14. Piperina, principal constituinte químico de <i>Piper nigrum</i>	16
Figura 15. Área de cultivo de pimenta do reino.....	17
Figura 16. Algumas amidas isoladas de espécies de <i>Piper</i>	18
Figura 17. Estruturas químicas dos derivados que demonstraram maior efeito inibitório das oxidases estudadas.....	22
Figura 18. Amidas <i>N,N</i> -dissubstituídas que demonstraram maior atividade inseticida sobre <i>A. monuste orseis</i> L.....	23
Figura 19. Exemplos de compostos modificados sinteticamente que apresentaram maiores atividades biológicas.....	23
Figura 20. Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica ao <i>T. cruzi</i>	24
Figura 21. Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica contra o carcinoma de Ehrlich.....	25
Figura 22. Cloridratos mesoiônicos sintetizados por DaSilva.....	25
Figura 23. Núcleos oxadiazólicos.....	27

Figura 24. Posição dos esqueletos via condensação (I) e via cicloadição dipolar (II) para formação do sistema 1,2,4-oxadiazólico.....	28
Figura 25. Derivados 1,2,4-oxadiazólicos antagonistas de receptores colinérgicos...	33
Figura 26. Derivado 1,2,4-oxadiazólicos antagonistas de receptores H ₃ não imidazólicos.....	33
Figura 27. Derivados 1,2,4-oxadiazólicos mimetizadores de peptídios.....	34
Figura 28. Diferentes padrões estruturais dos precursores ácidos carboxílicos para síntese dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos.....	40
Figura 29. Extrator de Soxhlet acoplado à manta de aquecimento e condensador....	41
Figura 30. Estruturas dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos testados contra epimastigotas do <i>T. cruzi</i>	71
Figura 31. Atividade epimastigota da amida cinâmica e do derivado 58	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Novas entidades químicas (NCEs) aprovadas entre 1975 e 1999 por classe de drogas.....	7
Tabela 2. Algumas atividades farmacológicas exibidas por espécies do gênero <i>Piper</i> ..	19
Tabela 3. Valores de IC ₅₀ para a piperina e os derivados mais ativos contra as formas epimastigota e amastigota do <i>T. cruzi</i>	24
Tabela 4. Valores de IC ₅₀ (μM) para piperina, derivados e benzonidazol frente a diferentes formas do <i>Trypanosoma cruzi</i>	26
Tabela 5. Atividades biológicas de compostos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazólico.....	32
Tabela 6. Rendimentos globais na síntese dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos...	59
Tabela 7. Algumas absorções na região do infravermelho (IV) dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos (55 a 62).....	69
Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ¹ H dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos (55 a 62).....	69
Tabela 9. Deslocamentos químicos de RMN ¹³ C dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos (55 a 62).....	70
Tabela 10. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para a piperina 1	80
Tabela 11. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido piperínico 52a	83
Tabela 12. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido cinâmico 52d	86
Tabela 13. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido piperonílico 52e	89
Tabela 14. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido tetraidropiperínico 52b	92
Tabela 15. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido diidrocinâmico 52f	95
Tabela 16. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido 6-nitrotetraidropiperínico 52c	98
Tabela 17. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido 6-nitrodiidrocinâmico 52g	100
Tabela 18. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o 6-nitropiperonal 65	104
Tabela 19. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para o ácido 6-nitro piperonílico 52h	107
Tabela 20. Deslocamentos químicos de ¹ H e ¹³ C para benzamidoxima 54	110

Tabela 21. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>55</u>	114
Tabela 22. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>58</u>	117
Tabela 23. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>59</u>	120
Tabela 24. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>56</u>	123
Tabela 25. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>60</u>	126
Tabela 26. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>57</u>	130
Tabela 27. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>61</u>	132
Tabela 28. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>62</u>	135
Tabela 29. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado <u>66</u>	137
Tabela 30. Valores de IC_{50} para os novos derivados contra epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i>	72

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Proposta biossintética para a formação da piperina.....	21
Esquema 2. Decomposição térmica do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol 15	27
Esquema 3. Decomposição fotoquímica do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol 15	27
Esquema 4. Rota sintética para obtenção núcleo oxadiazólico 3,5-dissubstituído a partir de nitrila 27	29
Esquema 5. Proposta mecanística de Ooi e Wilson para formação do anel 1,2,4-oxadiazólico.....	29
Esquema 6. Formação do núcleo 1,2,4-oxadiazol através do cicloadição 1,3-dipolar.....	30
Esquema 7. Formação de derivados 1,2,4-oxadiazólicos inibidores da enzima glicogênio fosforilase (GP) através do cicloadição 1,3- dipolar.....	30
Esquema 8. Rota sintética para obtenção do sistema 1,2,4-oxadiazólico a partir de <i>N</i> -aciliminoéteres.....	31
Esquema 9. Rota sintética para obtenção do sistema 1,2,4-oxadiazólico via rearranjo de Beckman.....	31
Esquema 10. Rota sintética para a preparação do novo derivado 1,2,4-oxadiazólico 55a a partir da amida natural 1	37
Esquema 11. Rota sintética para a preparação de outros derivados 1,2,4-oxadiazólicos (56 e 57) a partir do ácido 52a , derivado da piperina 1	38
Esquema 12. Estratégia sintética para a preparação dos derivados 1,2,4-oxadiazóis (58 a 62) análogos à amida natural 1 a partir do piperonal 63	39
Esquema 13. Proposta de fragmentação para a piperina 1	42
Esquema 14. Hidrólise básica da piperina 1	43
Esquema 15. Proposta de fragmentação para o ácido piperínico 52a	44
Esquema 16. Reação de formação do ácido cinâmico 52d	44
Esquema 17. Proposta de mecanismo para reação de Knoevenagel.....	45
Esquema 18. Proposta de fragmentação para o ácido cinâmico 52d	46
Esquema 19. Oxidação do piperonal 63	46
Esquema 20. Proposta de fragmentação para o ácido piperonílico 52e	47
Esquema 21. Reação de redução catalítica dos ácidos 52a e 52d	47
Esquema 22. Proposta de fragmentação para o ácido tetraidropiperínico 52b	48
Esquema 23. Proposta de fragmentação para o ácido diidrocinâmico 52f	49

Esquema 24. Nitração do anel aromático.....	50
Esquema 25. Proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi- 6-nitrotetraidropiperínico 52c	51
Esquema 26. Proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi- 6-nitrodiidrocinâmico 52g	52
Esquema 26. Proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi- 6-nitropiperonílico 52h	53
Esquema 28. Síntese dos cloretos de acila.....	54
Esquema 29. Proposta mecanística para formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila.....	55
Esquema 30. Nitração do anel aromático.....	55
Esquema 31. Proposta de fragmentação para a benzamidoxima 54	56
Esquema 31. Preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos a partir do cloreto de ácido.....	57
Esquema 32. Proposta mecanística para formação dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos.....	58
Esquema 33. Proposta de fragmentação para o derivado 55	60
Esquema 34. Proposta de fragmentação para o derivado 58	61
Esquema 35. Proposta de fragmentação para o derivado 59	62
Esquema 36. Proposta de fragmentação para o derivado 56	63
Esquema 37. Proposta de fragmentação para o derivado 60	64
Esquema 38. Proposta de fragmentação para o derivado 57	65
Esquema 39. Proposta de fragmentação para o derivado 61	67
Esquema 40. Proposta de fragmentação para o derivado 62	68
Esquema 41. Estratégia de preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos substituídos no anel aromático.....	75

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de IV da piperina 1	79
Espectro 2. Espectro de massas da piperina 1	79
Espectro 3. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) da piperina 1	79
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) da piperina 1	80
Espectro 5. Espectro de IV do ácido piperínico 52a	82
Espectro 6. Espectro de massas do ácido piperínico 52a	82
Espectro 7. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) do ácido piperínico 52a	82
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) do ácido piperínico 52a	83
Espectro 9. Espectro de IV do ácido cinâmico 52d	85
Espectro 10. Espectro de massas do ácido cinâmico 52d	85
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido cinâmico 52d	85
Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido cinâmico 52d	86
Espectro 13. Espectro de IV do ácido piperonílico 52e	88
Espectro 14. Espectro de massas do ácido piperonílico 52e	88
Espectro 15. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido piperonílico 52e	88
Espectro 16. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido piperonílico 52e	89
Espectro 17. Espectro de IV do ácido tetraidropiperínico 52b	91
Espectro 18. Espectro de massas do ácido tetraidropiperínico 52b	91
Espectro 19. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do ácido tetraidropiperínico 52b	91
Espectro 20. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) do ácido tetraidropiperínico 52b	92
Espectro 21. Espectro de IV do ácido diidrocinâmico 52f	94
Espectro 22. Espectro de massas do ácido diidrocinâmico 52f	94
Espectro 23. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do ácido diidrocinâmico 52f	94

Espectro 24. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) do ácido diidrocinâmico <u>52f</u>	95
Espectro 25. Espectro de IV do ácido 6-nitrotetraidropiperínico <u>52c</u>	97
Espectro 26. Espectro de massas do ácido 6-nitrotetraidropiperínico <u>52c</u>	97
Espectro 27. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrotetraidropiperínico <u>52c</u>	97
Espectro 28. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrotetraidropiperínico <u>52c</u>	98
Espectro 29. Espectro de IV do ácido 6-nitrodiidrocinâmico <u>52g</u>	100
Espectro 30. Espectro de massas do ácido 6-nitrodiidrocinâmico <u>52g</u>	100
Espectro 31. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrodiidrocinâmico <u>52g</u>	100
Espectro 32. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrodiidrocinâmico <u>52g</u>	101
Espectro 33. Espectro de IV do 6-nitropiperonal <u>65</u>	103
Espectro 34. Espectro de massas do 6-nitropiperonal <u>65</u>	103
Espectro 35. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 6-nitropiperonal <u>65</u>	103
Espectro 36. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) do 6-nitropiperonal <u>65</u>	104
Espectro 37. Espectro de IV do ácido 6-nitro-piperonílico <u>52h</u>	106
Espectro 38. Espectro de massas do ácido 6-nitro-piperonílico <u>52h</u>	106
Espectro 39. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) do ácido 6-nitropiperonílico <u>52h</u>	106
Espectro 40. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, Acetona- d_6) do ácido 6-nitropiperonílico <u>52h</u>	107
Espectro 41. Espectro de IV da benzamidoxima <u>54</u>	108
Espectro 42. Espectro de massa da benzoimidoxima <u>54</u>	109
Espectro 43. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da benzoimidoxima <u>54</u>	109
Espectro 44. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) da benzoimidoxima <u>54</u>	109
Espectro 45. Espectro de IV do derivado <u>55</u>	112
Espectro 46. Espectro de massas do derivado <u>55</u>	113
Espectro 47. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de <u>55</u>	113
Espectro 48. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de <u>55</u>	113
Espectro 49. Espectro de IV de <u>58</u>	115
Espectro 50. Espectro de massas de <u>58</u>	116

Espectro 51. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 58	116
Espectro 52. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 58	116
Espectro 53. Espectro de IV de 59	118
Espectro 54. Espectro de massas de 59	119
Espectro 55. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 59	119
Espectro 56. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 59	119
Espectro 57. Espectro de IV de 56	122
Espectro 58. Espectro de massas de 56	122
Espectro 59. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 56	122
Espectro 60. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 56	123
Espectro 61. Espectro de IV de 60	124
Espectro 62. Espectro de massas de 60	125
Espectro 63. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 60	125
Espectro 64. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 60	125
Espectro 65. Espectro de IV de 57	127
Espectro 66. Espectro de massas de 57	128
Espectro 67. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 57	128
Espectro 68. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 57	128
Espectro 69. Espectro de IV de 61	131
Espectro 70. Espectro de massas de 61	131
Espectro 71. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 61	131
Espectro 72. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 61	132
Espectro 73. Espectro IV de 62	134
Espectro 74. Espectro de massas de 62	134
Espectro 75. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 62	134
Espectro 76. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 62	135
Espectro 77. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, acetona- d_6) de 66	136
Espectro 78. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, acetona- d_6) de 66	137

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

arom. = aromático

BHI = Infusão de cérebro e coração

CCF = Cromatografia de Camada Fina

d = duplete

dd = duplo duplete

DP = Desvio Padrão

DMBA = 7,12-dimetilbenzenoantraceno

DMSO = dimetil-sulfóxido

IC₅₀ = Concentração inibitória de 50%

IV = Infravermelho

J = constante de acoplamento

m = multiplete

m/z = razão massa-carga

Pf. = ponto de fusão

Ph = fenila

ppm = partes por milhão

Py = piridina

RMN ¹H = **R**essonância **M**agnética **N**uclear de Hidrogênio

RMN ¹³C = **R**essonância **M**agnética **N**uclear de Carbono 13

s = singleto

sl = singleto largo

SFB = Soro Fetal Bovino

SN_{AC} = **S**ubstituição **N**ucleofílica **A**cíclica

t = tripleto

t.a. = **t**emperatura **a**mbiente

TMS = **T**etrametilsilano

u.m.a. = **u**nidade de **m**assa **a**tômica

v = deformação axial

σ = deformação angular

δ = deslocamento químico

μg = micrograma

μM = micromolar

RESUMO

Este trabalho se insere numa linha de pesquisa que visa a utilização de produtos naturais abundantes e acessíveis na síntese de novas moléculas com potencial atividade anti-chagásica. Estudos recentes em nosso laboratório demonstraram a atividade antiparasitária da piperina e de uma série de derivados e análogos sobre o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas. Utilizando o bioisosterismo como estratégia de modificação molecular, descrevemos aqui o planejamento, a síntese e a avaliação antiparasitária de derivados da classe dos 1,2,4-oxadiazóis. A etapa-chave da estratégia sintética utilizada envolveu a reação de S_NAC da benzamidoxima com cloretos de ácidos, seguida de ciclização, que permitiu a preparação de oito novos 1,2,4-oxadiazóis. A avaliação da atividade tóxica destes novos derivados contra a forma epimastigota do *T. cruzi* confirmou a relação bioisostérica entre a amida natural e os novos derivados preparados, evidenciando o oxadiazol **55** derivado direto da piperina, como o composto mais ativo da série.

ABSTRACT

This work is part of a research project which investigates the utilization of abundant and accessible natural products in the synthesis of new molecules with potential activity against Chagas' disease. Recent studies carried out in our laboratory showed activity against *Trypanosoma cruzi* for piperine, a major component of *Piper nigrum* and for a series of its derivatives and analogues. Using bioisosterism as a strategy for molecular modification, we describe here the design, synthesis and antiparasitic evaluation of class of derivatives of 1,2,4-oxadiazole. The key step of the synthetic strategy used involved the SNAC reaction of the benzamidoxima with acid chlorides followed by cyclization, which allowed the preparation of eight new 1,2,4-oxadiazole. The evaluation of the toxic activity of these new derivatives against epimastigote form of *T. cruzi* confirmed the bioisosteric relationship between the natural amide and the new products prepared, showing the oxadiazole **55** direct derived from piperine, as the most active compound in the series.

1.1. Doença de Chagas

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

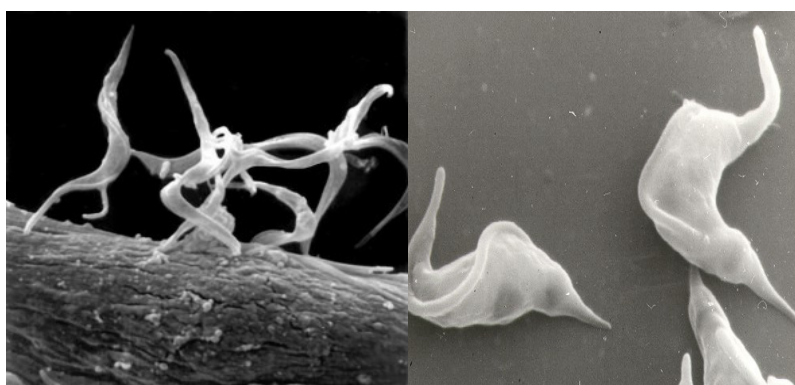


Figura 1. Imagem do *Trypanosoma cruzi* em microscopia eletrônica
(<http://www.fiocruz.br/ccs/estetica/chagas.htm>)

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

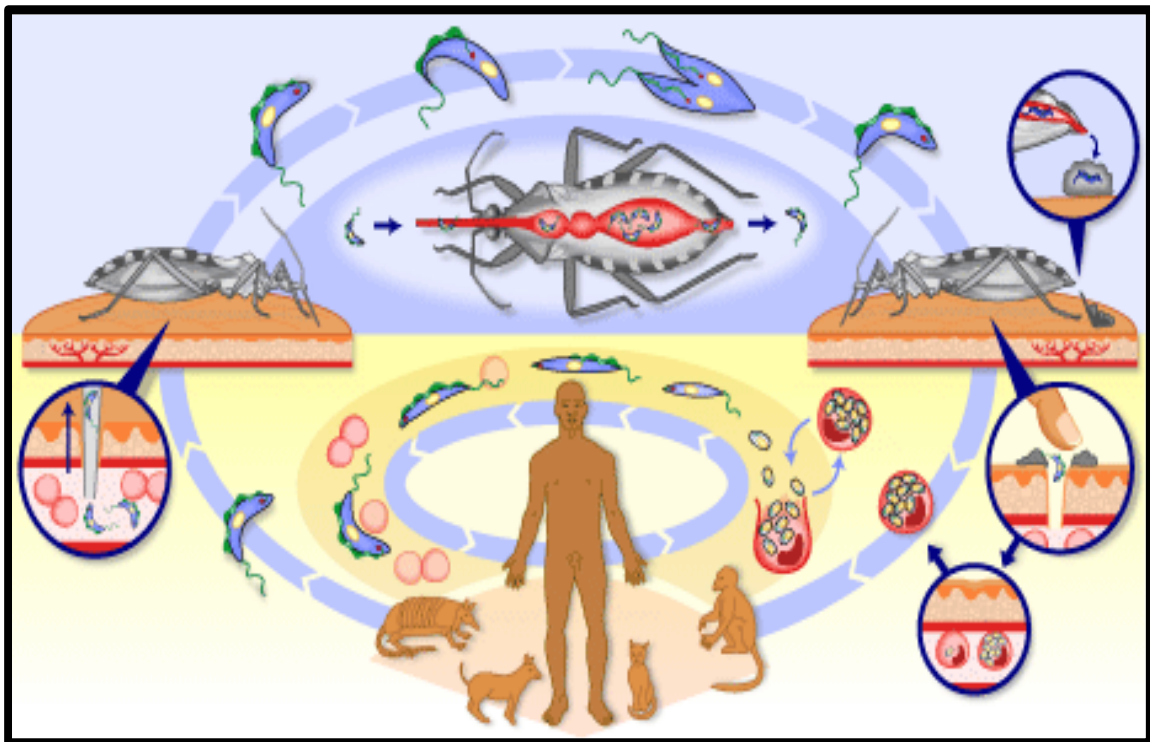


Figura 2. Representação esquemática do ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi*.

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

Esta parasitose é transmitida, principalmente, pelo contato da pele e mucosas com fezes ou urina de diferentes insetos hematófagos, da Família Reduviidae, tendo como exemplo os gêneros *Triatoma*, *Panstrongylus* e *Rhodnius* (o popular barbeiro, **Figura 3**), contaminados com o *T. cruzi*.

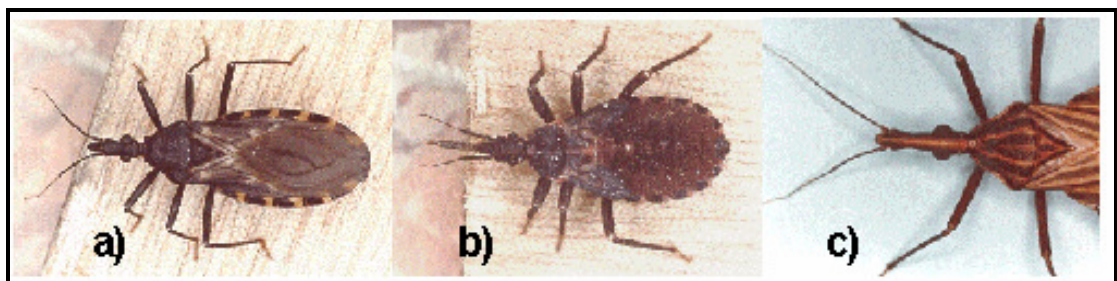


Figura 3. Imagem de barbeiros, três gêneros diferentes; a) *Triatoma*; b) *Panstrongylus* e c) *Rhodnius* (<http://ryoko.biosci.ohio-state.edu/~parasite/rhodnius.html>).

A transmissão da doença também pode ocorrer por transfusão sanguínea, por transmissão congênita, por transplantes de órgãos, por via oral (raro) - como aconteceu em Santa Catarina, pela ingestão de caldo-de-cana contaminado com fezes, urina ou o próprio inseto (Lewinsohn, 2005) - ou ainda, de forma acidental, em laboratório.

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde, cerca de 18 milhões de pessoas, entre o México e as Américas do Sul e Central, encontram-se infectadas pelo *T. cruzi*, e 40 milhões com risco de adquirir a doença. Para completar o quadro, estima-se que 21 mil pessoas morrerão vítimas desta parasitose todos os anos e ainda 200 mil novos casos de infecção ocorrerão neste mesmo período (WHO, 2002). Soma-se o fato de não haver um tratamento eficaz para erradicação do parasito intracelular, fazendo desta doença um dos maiores desafios na área de Saúde Pública nesta região do planeta (**Figura 4**) (Coura e De Castro, 2002).



Figura 4. Distribuição geográfica da doença de Chagas.

(<http://www.who.int/ctd/chagas/geo.htm>)

Apesar das doenças infecciosas e parasitárias terem diminuído seus impactos na causa de óbitos ocorridos no Brasil (de um total de 45% em 1930, para cerca de 7% em 1999), estas são ainda importantes, principalmente nas regiões do Brasil onde se concentram as populações mais carentes (Barreto e Carmo, 1994).

Focalizando o Estado do Rio de Janeiro, segundo dados do Ministério da Saúde, no ano de 1999 ocorreram 5411 óbitos causados por infecções e parasitoses, sendo que 3244 destes ocorreram na capital. Neste mesmo ano ocorreram 39 óbitos causados por

infecções por *T. cruzi*, sendo que a maior parte das mortes ocorreram no Município do Rio de Janeiro e em Niterói (26 e 6 óbitos por doença de Chagas, respectivamente) (Schmunis, 2000).

Em 2003, Loroza e colaboradores relataram a presença de ninfas de triatomíneos em uma casa no bairro de Arcádia, no município de Miguel Pereira, estado do Rio de Janeiro. Neste local foram coletados vários ovos e 46 espécimes de *Triatoma vitticeps*. Dentre eles, adultos e estágios ninfais apresentaram, respectivamente, 43,5% e 56,5% de representatividade. A infecção natural por *Trypanosoma cruzi* foi detectada em seis espécimes representando 13% da amostra total. Foi constatado, através do teste de imunofluorescência indireta para anticorpos anti-*T. cruzi*, que um dos moradores da casa apresentou reação positiva (Loroza *et al.*, 2003).

Apesar do caso citado acima, grandes avanços no controle da proliferação desta doença foram obtidos nas últimas décadas por conta do controle do seu vetor, o barbeiro, e também pela queda exponencial dos casos transmissão por transfusão sanguínea, particularmente no Cone Sul da América e nos Andes, o que teve como consequência uma redução de 100 milhões para 40 milhões no número das pessoas com risco de contrair a doença (Urbina & DoCampo, 2003).

Um trabalho desenvolvido por Shumiz em 2007 mostrou que por conta de problemas econômicos e/ou políticos está ocorrendo uma migração de pessoas oriundas de países onde a doença de Chagas é endêmica como El Salvador, México e Peru, por exemplo, para países desenvolvidos como Austrália, Canadá, Espanha e EUA. Casos de infecção humana foram detectados nestes países seja por transfusão sanguínea, transplante de órgãos, ou ainda por infecção congênita. Estimativas reportadas no estudo indicam que na Austrália, no período entre 2005 e 2006, 1067 de 65.255 (16 em 1000) imigrantes latino-americanos poderiam estar contaminados com o *T. cruzi*, e no Canadá, em 2001, 1218 em 131.135 imigrantes (9 em 1000), originários de países endêmicos de Chagas, também estariam infectados. Na Espanha, um verdadeiro ímã para imigrantes latino-americanos, desde 2000, 5125 de 241.866 imigrantes legais (25 em 100) estariam infectados pelo parasita. A falta de uma política de prevenção e proteção da população através do controle adequado dos bancos de sangue, nas transfusões sanguíneas e nos transplantes de órgãos dos cidadãos (incluindo os imigrantes infectados) vem preocupando especialistas da área ultimamente. Outro ponto relevante é que este fenômeno migratório não se restringe apenas a países europeus e EUA, uma vez que há casos de pessoas infectadas por Chagas também na Ásia e na

Oceania. A difusão da Doença de Chagas pelos quatro cantos do mundo encontra-se ilustrada na **Figura 5**.

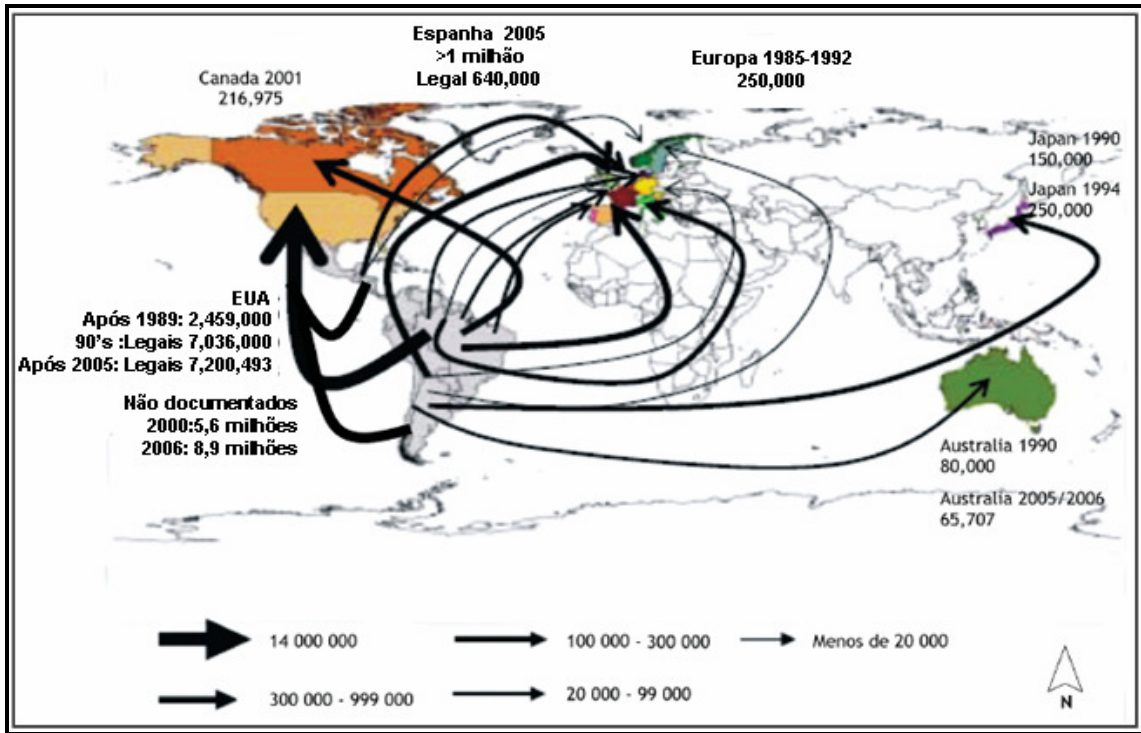


Figura 5. Fluxo de imigração na América Latina. Obtido do Centro Latino Americano y Caribeño de Demografía (CELADE) e modificado. Projeto de investigação da migração internacional na América Latina.(IMILA)

1.1.1. Tratamento

Uma quimioterapia específica para esta parasitose ainda não está disponível. Os fármacos disponíveis e utilizados para o tratamento desta doença são nitrofuranos (como o nifurtimox (3-metil-*N*-[(5-nitro-2-furfuril)-metileno]-4-tiomorfolinoamina-1,1-dióxido) e nitroimidazóis (como o benznidazol (2-nitro-*N*-fenilmetil-1*H*-imidazol-1-acetamida) (**Figura 6**) introduzidos empiricamente há cerca de três décadas. O mecanismo de ação desses fármacos começou a ser desvendado há duas décadas. No caso do nifurtimox, o mesmo age via mecanismo de redução do grupo nitro em radicais nitroânios instáveis, os quais reagem produzindo metabólitos oxigenados altamente tóxicos (peróxidos e superóxidos), enquanto que o benznidazol parece agir por uma via diferente (estresse redutivo), que envolve modificações nas ligações covalentes de macromoléculas, via intermediários nitroreduzidos (Urbina & DoCampo, 2003).

O inconveniente desses fármacos são seus efeitos colaterais, sendo os principais: anorexia, vômitos, polineuropatia periférica e dermatopatia alérgica, provavelmente

provocada pelos danos oxidativos e redutivos nas células hospedeiras. O grande problema na quimioterapia com esses dois fármacos ocorre pelo fato dos mesmos não curarem o paciente, e sim amenizarem os efeitos decorrentes da infecção (Urbina, 1999).

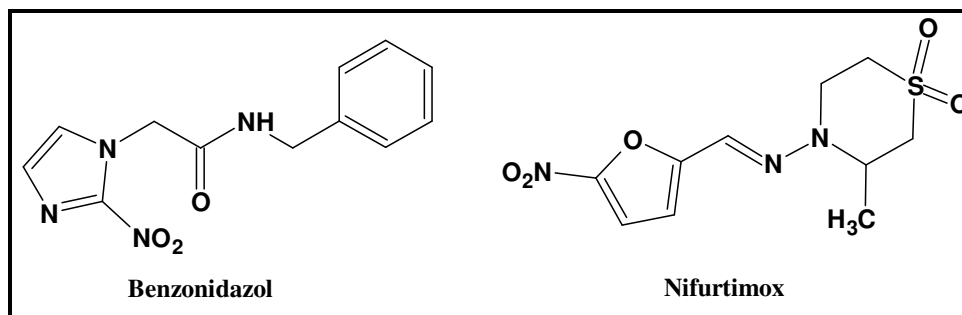


Figura 6. Fármacos de utilidade clínica reconhecida.

Atualmente, apenas o benzonidazol é utilizado no Brasil para o tratamento da doença de Chagas. O nifurtimox, após ser usado em vários países da América do Sul, inclusive no Brasil, deixou de ser comercializado devido ao seu alto grau de genotoxicidade (Coura e De Castro, 2002).

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

Contudo, o elevado custo de investimento e a falta de um mercado potencial para aquisição de novos fármacos desenvolvidos, visto que este tipo de enfermidade acomete populações de baixo poder aquisitivo, não estimula as grandes corporações farmacêuticas a desenvolverem fármacos para o tratamento de doenças tropicais. Dentre 1393 novos fármacos produzidos no período de 1975 a 1999, apenas 13 (0,9%) destinam-se às doenças tropicais (**Tabela 1, página 7**), e destas nenhuma para doença de Chagas (Trouiller *et al.*, 2002).

Tabela 1. Novas entidades químicas (NCEs) aprovadas entre 1975 e 1999 por classe terapêutica de fármacos (Trouiller *et al.*, 2002).

Áreas terapêuticas	Novas entidades químicas aprovadas 1975-1999
Sistema nervoso central (SNC)	211 (15,1%)
Cardiovascular	179 (12,8%)
Citostático (antineoplásico)	111 (8,0%)
Respiratório (não-infectivo)	89 (6,4%)
Anti-infectivo e Antiparasitário	224 (16,1%)
HIV (Aids)	26 (1,9%)
Tuberculose	3 (0,2%)
Doenças tropicais	13 (0,9%)
Malária	4 (0,3%)
Outras categorias terapêuticas	579 (41,6%)
Total	1393 (100%)

Recentemente, uma nova alternativa terapêutica vem sendo testada na quimioterapia desta parasitose. Trata-se da Clomipramina (**Figura 7**), um derivado tricíclico antidepressivo, que atua inibindo a enzima tripanotiona redutase *do T. cruzi*, provocando a morte do parasita, e prevenindo o risco de danos no coração na fase aguda do tratamento em ratos infectados (Basán *et al.*, 2008).

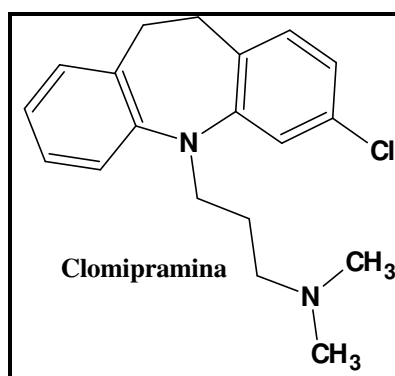


Figura 7. Fármaco inibidor da enzima tripanotiona redutase *do T. cruzi* (Basán *et al.*, 2008)

O uso de produtos naturais no tratamento de infecções causadas por parasitas vem sendo documentado na literatura por conta de vários trabalhos, reportando a

investigação de atividade tripanocida de uma grande variedade produtos naturais, sejam estes extratos brutos, compostos isolados, ou ainda análogos semissintéticos destes (Duschak&Couto, 2007). A importância dos produtos naturais (PN's) em síntese orgânica, e conseqüentemente no desenvolvimento de novas moléculas biologicamente ativas é histórica e será discutida no próximo tópico.

1.2. Produtos Naturais (PN's) e a descoberta dos Fármacos

Plantas, fungos, insetos, organismos marinhos e bactérias são fontes importantes de substâncias biologicamente ativas, sendo que a maioria dos fármacos em uso clínico ou são de origem natural ou foram desenvolvidos por síntese química planejada a partir de produtos naturais (Baker, 2004). Embora existam nos dias atuais diversas estratégias e metodologias disponíveis para que se possa sintetizar e descobrir novos fármacos, a química de produtos naturais representa uma destas alternativas de sucesso, historicamente privilegiada (Mann, 1992). Muitos metabólitos secundários ou especiais se notabilizaram como matérias-primas valiosas para a produção de inúmeros medicamentos contemporâneos (Cragg, 2003), comprovando que a parceria entre químicos medicinais e químicos de produtos naturais é estratégica para a descoberta de fármacos inovadores (Lombardino, 2004).

Segundo estimativas da Convenção da Diversidade Biológica (CDB), o Brasil hospeda entre 15 e 20% de toda a biodiversidade mundial, sendo considerado o maior do planeta em número de espécies endêmicas. Dados estatísticos indicam ainda que existam 55 mil espécies de plantas, 517 anfíbios (294 endêmicos), 1.622 aves (192 endêmicas), 524 mamíferos (cerca de 130 endêmicos), 468 répteis (172 endêmicos), 3.000 espécies de peixes de água doce e cerca de 15 milhões de insetos, muitos completamente desconhecidos. Com toda essa riqueza biológica, o maior produto de exportação comercial do país (*ca.* 40%) refere-se a espécies de plantas exóticas, que foram introduzidas como, por exemplo, laranja, soja, cana-de-açúcar e eucalipto (Lewinsohn, 2002).

O profundo conhecimento do arsenal químico da natureza pelos povos primitivos e pelos indígenas pode ser considerado como fator fundamental para o descobrimento de substâncias tóxicas e medicamentosas ao longo do tempo. A convivência e o aprendizado com os mais diferentes grupos étnicos trouxeram valiosas contribuições para o desenvolvimento da pesquisa na área dos produtos naturais, do

conhecimento da relação íntima entre a estrutura química de um determinado composto e suas propriedades biológicas e da inter-relação animal-inseto-planta.

Neste sentido, a natureza forneceu muitos modelos moleculares que fundamentaram estudos de relação estrutura-atividade (*REA*) e inspiraram o desenvolvimento da síntese orgânica clássica (Viegas *et al.*, 2006).

Os curares, por exemplo, eram substâncias obtidas de diversas espécies de *Strychnos* e *Chondrodendron* americanas e africanas, utilizadas pelos índios para produzir flechas envenenadas para caça e pesca (Pinto *et al.*, 1995; Dewick, 2002). A primeira planta de curare identificada foi coletada no Suriname e descrita, em 1783, por Schreber, como *Toxicaria americana*, tendo sido posteriormente classificada como *Strychnos guianensis* (Pinto *et al.*, 1995). Somente no século XIX Boehm isolou o principal constituinte ativo do curare americano (*Chondrodendro tomentosum*), a (+)-tubocurarina (**Figura 8**).

O curare foi também responsável pelo início dos estudos sobre a relação entre estrutura química e atividade biológica (*REA*), tendo sido o primeiro trabalho publicado abordando este assunto, datado de 1869 (Viegas *et al.*, 2006; Barreiro *et al.*, 1999).

O ópio, preparado dos bulbos de *Papaver somniferum*, é conhecido há séculos por suas propriedades soporíferas e analgésicas. Em 1804, Armand Séquin isolou seu constituinte majoritário, a morfina (**Figura 8**), sendo esta a primeira substância natural utilizada clinicamente na forma pura (Viegas *et al.*, 2006).

Durante a colonização espanhola do Peru, em 1630, os jesuítas tomaram conhecimento da utilização pelos índios das cascas secas de espécies de *Cinchona* para o tratamento de alguns tipos de febre (Viegas *et al.*, 2006). Em 1820, Pellertier e Caventou isolaram a quinina (**Figura 8**) da *Cinchona officianalis*, que durante quase trezentos anos foi o único princípio ativo eficaz contra a malária (Barreiro *et al.*, 1999).

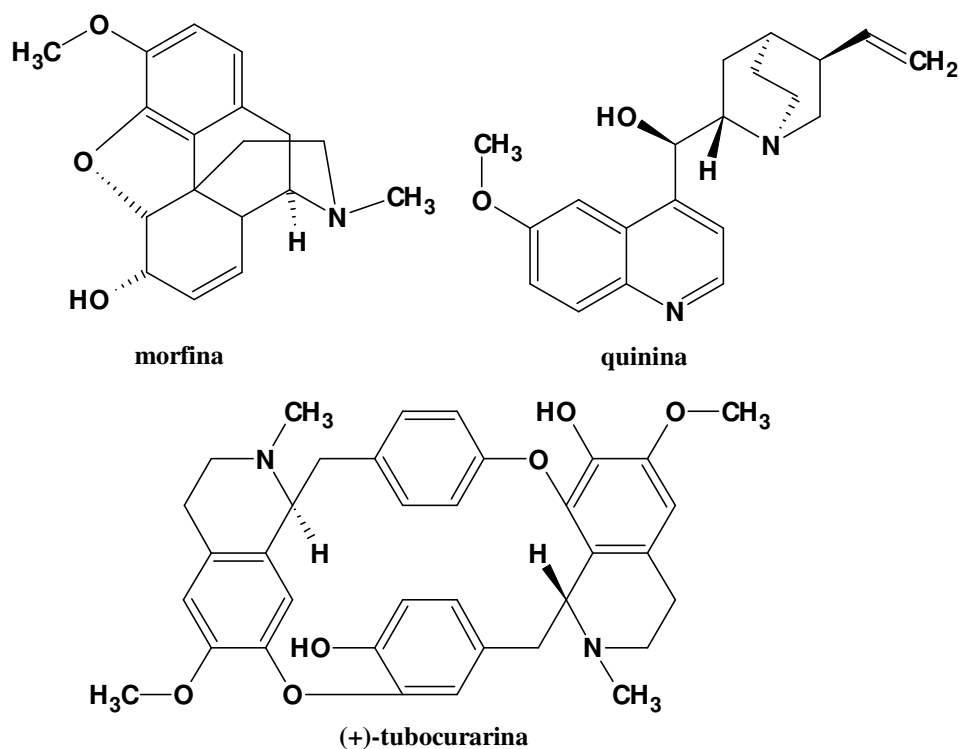


Figura 8. Primeiros fármacos isolados de produtos naturais

No início, os químicos estudavam plantas consagradas pelo uso popular, geralmente incorporadas às farmacopéias da época, limitando-se ao isolamento e à determinação estrutural de substâncias ativas (Yunes *et al.*, 2001). Talvez o marco mais importante para o desenvolvimento dos fármacos a partir de produtos naturais de plantas tenha sido o descobrimento dos salicilatos, com atividades analgésicas e antipiréticas, obtidos de *Salix alba*. Em 1828, Johann A. Buchner isolou uma pequena quantidade de salicina (**Figura 9**). Vários outros cientistas empenharam-se em melhorar os rendimentos e a qualidade da salicina obtida do extrato natural até que em 1860 Hermann Kolbe e seus alunos sintetizaram o ácido salicílico e seu sal sódico a partir do fenol; Em 1898, Felix Hoffmann, descobriu o ácido acetil-salicílico (**AAS, Figura 9**), menos ácido que o ácido salicílico, mas mantendo as propriedades analgésica e anti-pirética desejadas (Viegas *et al.*, 2006; Weissmann, 1991)

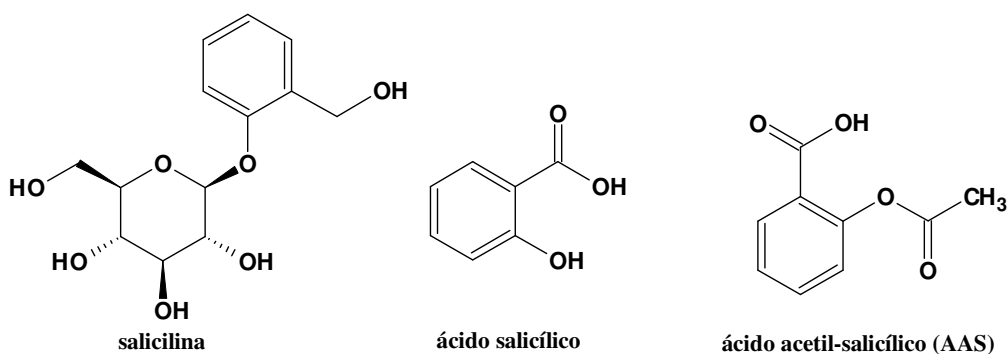


Figura 9. Salicina e salicilatos que marcaram o desenvolvimento de fármacos no período de 1800-1900

As propriedades terapêuticas do AAS levaram os laboratórios de pesquisa da Bayer a elegerem o AAS como um novo produto a ser lançado no mercado para competir com os salicilatos naturais, o que ocorreu a partir de 1897 sob o nome de Aspirina® (Viegas *et al.*, 2006). Após mais de 100 anos de sua descoberta, o AAS continua sendo alvo de inúmeras pesquisas sobre sua aplicação terapêutica como analgésico e antiinflamatório, atuando no controle da febre, na artrite reumática e na inibição da agregação plaquetária (Viegas *et al.*, 2006; Yunes *et al.*, 2001).

O descobrimento do AAS marcou de certa forma o final do primeiro período, onde a busca por substâncias naturais terapeuticamente úteis era feita ao acaso. Além disso, o AAS foi o pioneiro dos fármacos sintéticos. Um dos primeiros marcos deste segundo período foi o surgimento do barbital (**Figura 10**), em 1903, indicado como agente hipnótico; em 1904, foi sintetizada a epinefrina (broncodilatador e descongestionante nasal), seguida da procaína e da benzocaína (**Figura 10**), dois anestésicos locais pertencentes à classe dos ésteres do ácido *p*-aminobenzóico, que tiveram como protótipo a estrutura da cocaína (Viegas *et al.*, 2006).

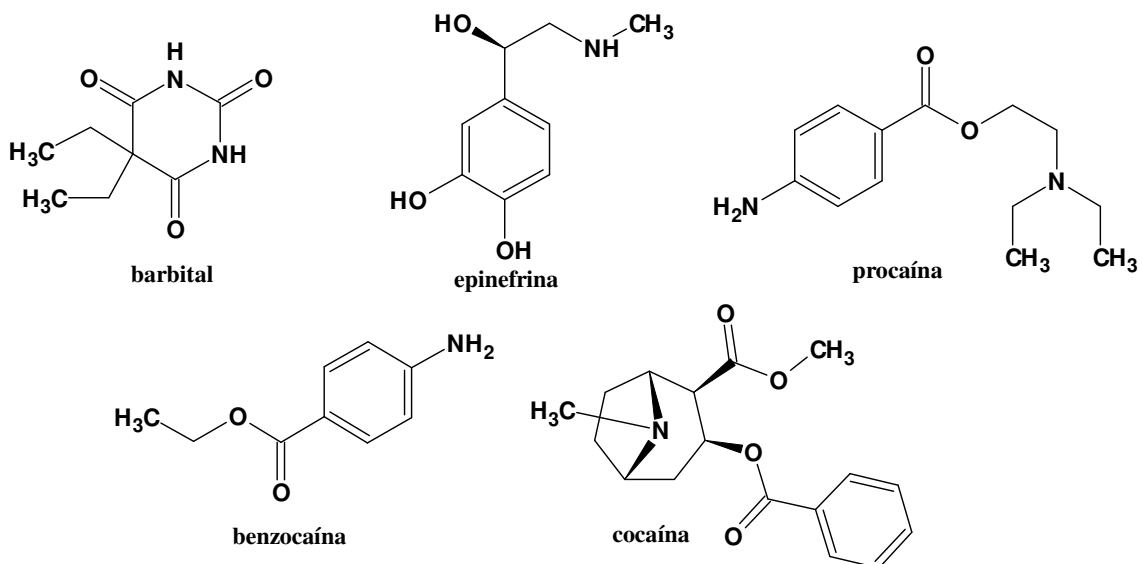


Figura 10. Barbital, epinefrina, procaína, benzocaína e cocaína.

Dentre os quimioterápicos para o câncer, a vimblastina e a vincristina, extraídas de *Catharanthus roseus*, o etoposídeo e teniposídeo, derivados semissintéticos da podofipeotoxina, extraída de *Podophyllum peltatum*, e o taxol, extraído de *Taxus brevifolia* são importantes fármacos introduzidos na terapêutica nos últimos anos (desde a segunda metade do século XX), que foram fundamentais para o renascimento do interesse nos produtos naturais por parte da indústria farmacêutica (**Figura 11**).

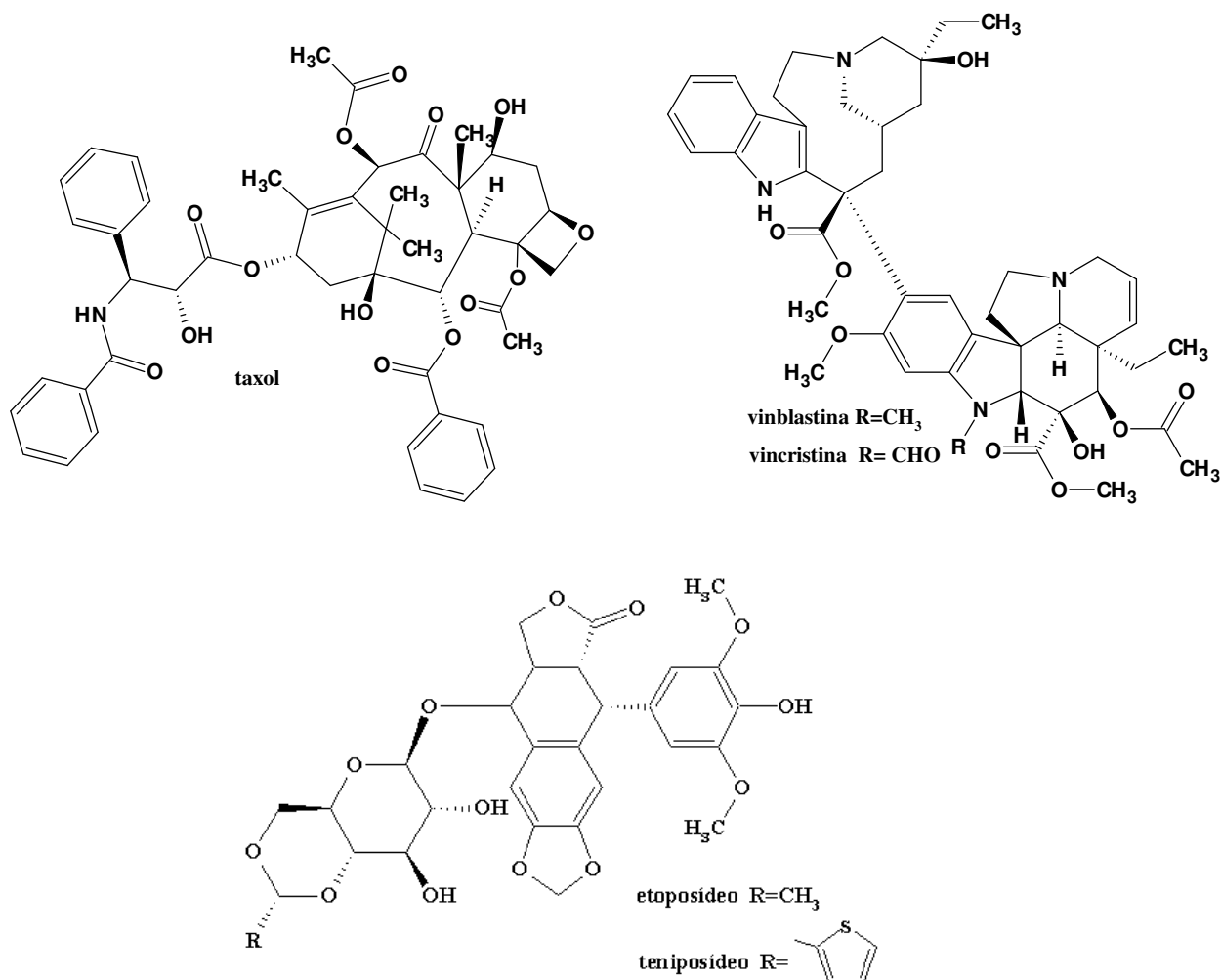


Figura 11. Vinblastina, vincristina, etoposídeo, teniposídeo e taxol.

Estima-se o consumo de cerca de 230 kg/ano de taxol (Paclitaxel®, nome comercial) para suprir as necessidades clínicas de pacientes com câncer (Correa, 1995). Uma vez que o taxol é extraído das cascas de *Taxus brevifolia*, e para extrair 1kg de taxol, precisa-se de 10 toneladas de cascas, o que representa cerca de 3000 árvores (Correa, 1995), sua utilização clínica tornou-se inviável.

O interesse pelo taxol foi intenso a partir dos anos 80, quando vários grupos de pesquisa passaram a tentar viabilizar metodologias sintéticas para sua obtenção em maior escala. O taxol foi obtido por semissíntese pela primeira vez por Denis e colaboradores (1988), a partir da desacetilação da bacatina (**Figura 12, página 12**), precursor isolado de *Taxus baccata*, obtendo-se a 10-desacetil-bacatina III (**Figura 12**), e o taxol (**Figura 11**) em 4 etapas sintéticas consecutivas, em rendimentos de 52%, a partir do substrato natural de partida (Viegas *et al.*, 2006).

Por síntese total, o taxol foi obtido no mesmo período por Holton (1994a, 1994b) e Nicolaou (1994), com rendimentos inviáveis (Barreiro *et al.*, 1999; Kusama *et al.*, 2000; Ribeiro, 2004). Também nesse período Greene e colaboradores (1994) conseguiram obter por semissíntese o Taxotere® (docetaxel) (**Figura 11**), análogo duas vezes mais ativo que o próprio taxol, sendo utilizado contra câncer de ovário, mama, pulmão, cérebro e garganta (Correa, 1995).

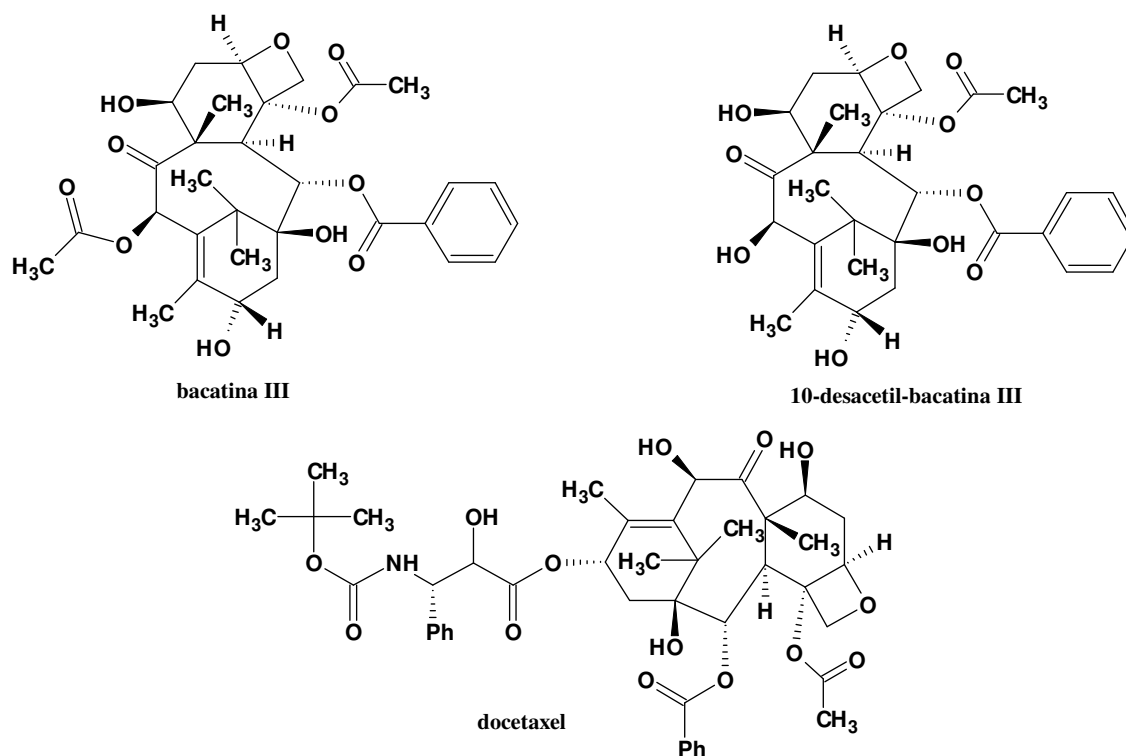


Figura 12. Bacatina III, 10-desacetil-bacatina III e taxotere.

1.3. A importância dos Produtos Naturais (PN's) em síntese orgânica

Em 2003 Newman e colaboradores relataram a importância dos PN's, como fonte de novas estruturas, não necessariamente como produtos finais, mas sim como protótipos para novos fármacos, constatando a participação dos PN's num percentual cerca de 50% (**Figura 13**), direta ou indiretamente, no desenvolvimento de novos fármacos para o mercado.(Newman *et al.*, 2003).

Classificação dos fármacos quanto a sua origem:

- **B:** Biológica;
- **N:** Produto Natural;
- **ND:** Derivado do Produto Natural – semi-sintético;
- **S:** Sintética – sem referência farmacofórica de N;
- **S*:** Sintética – com referência farmacofórica de N;
- **V:** Vacina
- **NM:** Produto modelado com base em PN's.

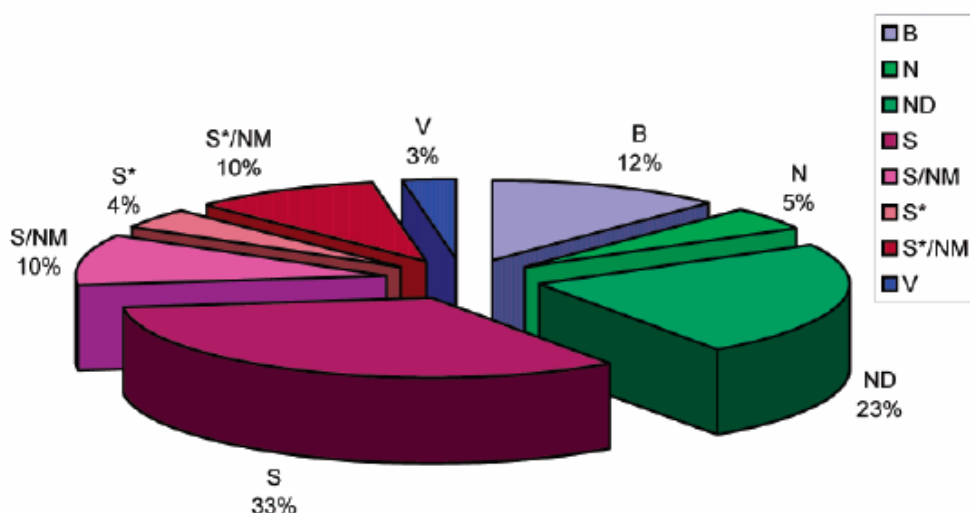


Figura 13. Participação dos Produtos Naturais (PN's) no desenvolvimento de fármacos no período de 1981 a 2002 (Newman *et al.*, 2003).

Dada à crescente ameaça à biodiversidade, através da destruição dos ecossistemas e à importância dos produtos naturais na descoberta de novos fármacos, torna-se necessário expandir a exploração dos mananciais naturais renováveis na busca de novos agentes bioativos. A amida natural piperina **1** (**Figura 14**) preenche os requisitos essenciais para utilização como molécula protótipo e/ou precursor para o

desenvolvimento de novos fármacos: abundância, presença em fonte renovável, fácil isolamento, variadas atividades biológicas constatadas, além de possuir funcionalidades possíveis de sofrerem diferentes manipulações sintéticas como transformações na função amida, reações de adição eletrofílica às duplas ligações, substituição no núcleo aromático, além de abertura do anel metileno dioxi.(Ribeiro, 2004).

A amida natural piperina **1** (amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2E-4E-pentadienóico - **Figura 14**) é o principal constituinte químico de *Piper nigrum* (Piperaceae), ocorrendo em maior proporção nos frutos da planta (Semler & Gross, 1988). *Piper nigrum* (popularmente conhecida como pimenta do reino) tem seu uso bastante difundido na medicina popular da Índia, país de onde é originária, sendo que no Brasil, seu principal uso é como condimento. Apesar de ser considerada aqui uma planta exótica, o Brasil é um dos grandes produtores mundiais de pimenta do reino, destacando-se como principais produtores os estados do Pará e Espírito Santo (<http://www.agecom.ba.gov.br>).

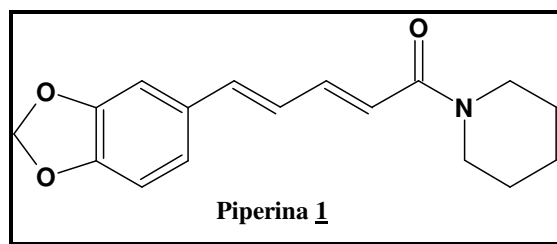


Figura 14. Piperina, principal constituinte químico de *Piper nigrum*

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.

Por seu sabor e aroma incomparáveis, a pimenta do reino é a espécie mais conhecida do gênero *Piper*, vindo daí sua importância econômica. A **Figura 15**, mostra uma área de cultivo da pimenta do reino para fins comerciais.



Figura 15. Área de cultivo de pimenta do reino (Detalhe: fruto da planta)

(http://www.governo.es.gov.br/scripts/portal051_1.asp?noticia=99652783&secao=Not%C3%Adcias)

1.4. Atividades Farmacológicas do gênero *Piper*

A utilização de espécies do gênero *Piper* com fins medicinais é prática comum nas culturas orientais. Na China, algumas prescrições recomendam o uso de *P. futokasura* no tratamento de asma e arritmias cardíacas. Na Jamaica, dores estomacais são tratadas com a infusão de *P. aduncum* e *P. hispidum* (também usada como repelente de insetos). No México e Brasil usa-se *P. amalago* para aliviar dores estomacais e no combate a infecções. Na **Tabela 2** estão sumarizadas algumas destas atividades (Parmar *et al.*, 1997).

Tabela 2. Algumas atividades farmacológicas exibidas por espécies do gênero *Piper*
(Parmar *et al.*, 1997)

Atividade	Espécie do gênero <i>Piper</i>
Antitumoral	<i>P. hookeri</i> , <i>P. clarkii</i> , <i>P. hancei</i> , <i>P. rebesioides</i> , <i>P. wallichii</i>
Antileucêmica	<i>P. hookeri</i> , <i>P. futokadsura</i> , <i>P. attenuatum</i>
Antibiótica	<i>P. hookeri</i> , <i>P. wallichii</i>
Analgésica	<i>P. arborícola</i> , <i>P. nigrum</i>
Antibacteriana	<i>P. aducum</i> , <i>P. methysticum</i>
Anti-reumática	<i>P. guineense</i> , <i>P. nigrum</i>
Inseticida	<i>P. nigrum</i> , <i>P. hispidum</i> , <i>P. longum</i>
Anti-inflamatória	<i>P. amalago</i> , <i>P. nigrum</i>
Antipirética	<i>P. chaba</i> , <i>P. nigrum</i>
Anticâncer	<i>P. nigrum</i>

1.5. Outras amidas naturais relacionadas à piperina

As principais substâncias encontradas no gênero *Piper*, às quais são atribuídas as atividades anteriormente citadas, pertencem a várias classes. Dentre os principais constituintes do gênero pode-se citar os alcalóides, propenilfenóis, lignanas, neolignanas, terpenos, esteróides, chalconas, diidrochalconas, flavonas e flavononas (Parmar *et al.*, 1998 e 1997 ; Atal *et al.*, 1975). As amidas são, certamente, os principais constituintes do gênero *Piper*. A **Figura 16** mostra as estruturas de algumas amidas naturais, isoladas de espécies do gênero *Piper*.

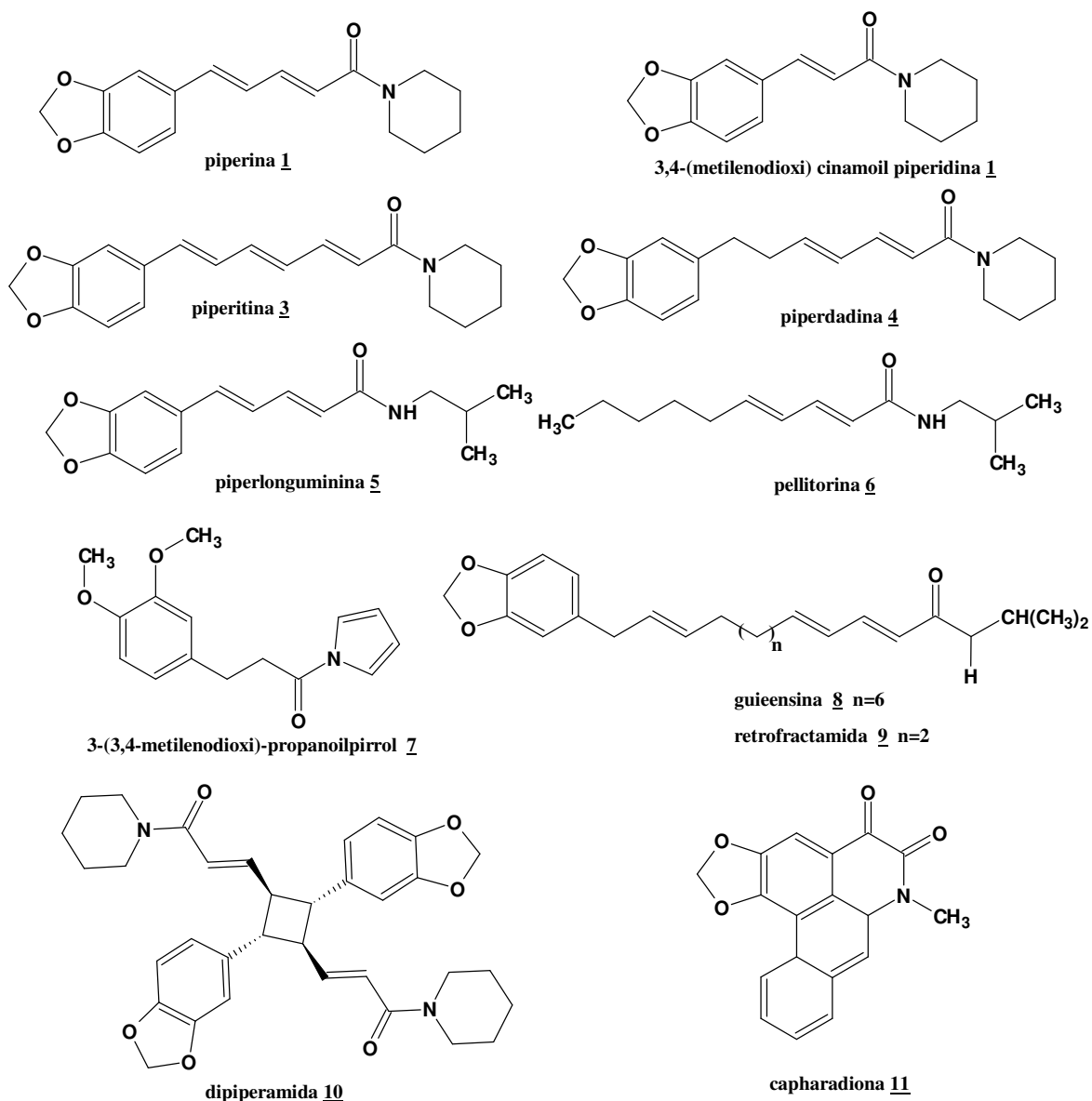


Figura 16. Algumas amidas isoladas de espécies de *Piper* (Parmar *et al.*, 1998 e 1997)

1.6. Atividades biológicas da piperina.

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 e Mckibben, 1978). Desde então, várias pesquisas seguiram-se com o intuito de identificar as substâncias responsáveis por esta atividade.

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

Na China, a pimenta do reino é utilizada no tratamento da epilepsia desde tempos remotos (D'Hooger *et al.*, 1996; Liu *et al.*, 1984). Liu e colaboradores, em estudo comparativo, mostraram que a piperina é capaz de induzir a síntese da serotonina prevenindo convulsões (Liu *et al.*, 1984).

Sem dúvida, o aumento da biodisponibilidade de outros medicamentos pela piperina é a mais intrigante das atividades farmacológicas desta substância. Este efeito é observado quando alguns medicamentos são co-administrados com a piperina, traduzindo-se numa maior concentração plasmática dos mesmos. Tal efeito foi constatado em estudos com a vasicina, a esparteína (Atal *et al.*, 1981), o propranolol, teofilina, a fenitoína (Bano *et al.*, 1991) e a curcumina (Shoba *et al.*, 1998). A maioria dos trabalhos relatam um aumento de 100% (ou mais) na concentração plasmática de tais substâncias. As razões levantadas para este efeito, segundo a maioria dos autores são:

- Alterações na permeabilidade das células epiteliais do trato gastro-intestinal, facilitando a absorção dos fármacos (Johri *et al.*, 1992);
- Influência na glicuronidação (etapa importante na biotransformação de compostos xenobióticos) (Reen *et al.*, 1993; Atal *et al.*, 1981);
- Atuação sobre as enzimas hepáticas metabolizantes (Atal *et al.*, 1985; Atal *et al.*, 1981), monooxigenases hepáticas, dependentes de citocromo P450 (Koul *et al.*, 2000; Reen, 1997; Bhat e Chandrasekhara, 1987).

A grande vantagem ressaltada em todos os trabalhos para o aumento da biodisponibilidade de fármacos administrados por via oral, está na possibilidade da utilização de uma rota alternativa de administração destes medicamentos, evitando assim a via parenteral (mais dolorosa e invasiva), além de permitir o uso de doses menores dos fármacos co-administrados com piperina (Ribeiro, 2004).

Na Índia, o uso de espécies de *Piper* no tratamento de doenças intestinais é bastante antigo. Isto estimulou a investigação da atividade antiparasitária de algumas destas espécies. Ghoshal e colaboradores comprovaram a atividade anti-amebiana de *P. logum*, relacionando esta atividade com a presença de piperina (Ghoshal *et al.*, 1996). Kapil relatou a atividade leishmanicida, *in vitro*, da piperina sobre cepas de *Leishmania donovani* (comparável à atividade exibida pela pentamidina, fármaco indicado para o tratamento da leishmaniose) (Kapil, 1993). Após alguns anos, a piperina foi testada *in vivo* sobre animais infectados com *L. donovani*, podendo ser observada uma diminuição significativa da parasitemia com doses extremamente baixas (Raay *et al.*, 1999). Lee e colaboradores descreveram a atividade antifúngica de amidas relacionadas à piperina sobre seis espécies de fungos fitopatogênicos (Lee *et al.*, 2001).

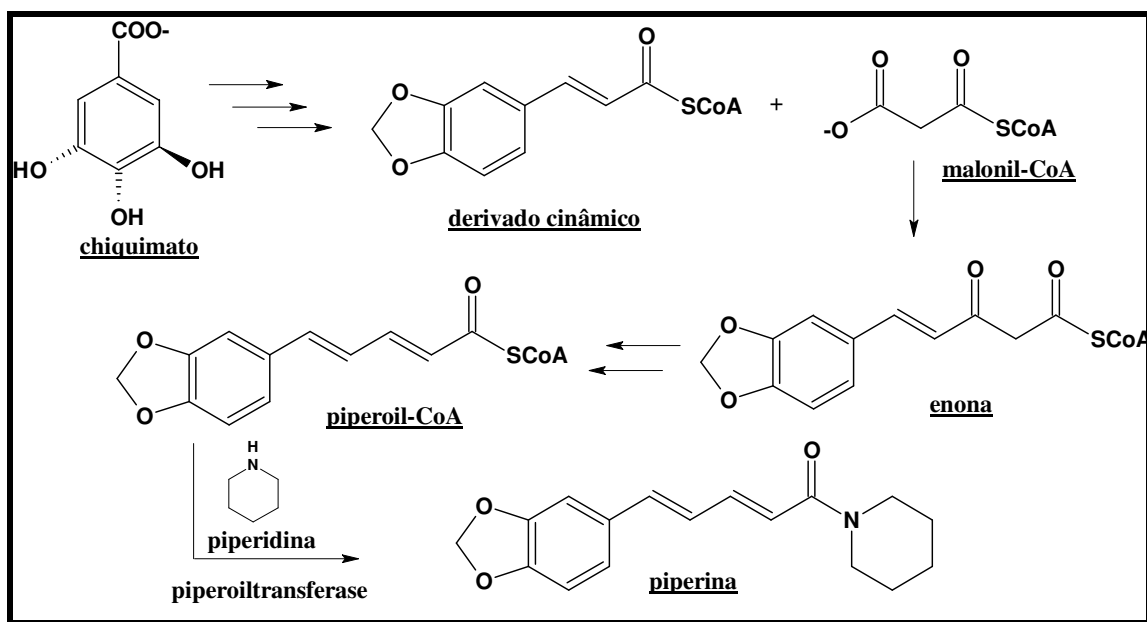
Encontram-se na literatura relatos sobre a atividade antitumoral da piperina. Além do estudo *in vitro* frente às células tumorais, foi avaliada a atividade da piperina *in vivo* (ratos), utilizando-se doses de 1,14 mg.kg⁻¹. Observou-se neste estudo a inibição do desenvolvimento do tumor induzido (linfoma de Dalton) em 37%, e o aumento da expectativa de vida dos animais portadores do carcinoma de Ehrlich em até 58% (Sunila e Kuttan, 2004).

Estudos desenvolvidos por Lee e colaboradores em 2005 evidenciaram a ação da piperina na inibição da atividade da enzima monoaminoxidase (MAO) em ratos. Esta enzima é responsável por catalisar a desaminação oxidativa de neurotransmissores como, por exemplo, serotonina e dopamina. As substâncias inibidoras da MAO são usadas no tratamento de distúrbios mentais, principalmente como antidepressivos e, na terapia das doenças de Parkinson e Alzheimer (Lee *et al.*, 2005).

Mais recentemente, em 2009, Vellaichamy e colaboradores descreveram a piperina como um potencial quimiopreventivo em ratos infectados por DMBA, um potente agente carcinogênico. A administração oral de piperina (50mg.kg⁻¹) preveniu significativamente a formação de tumores cutâneos durante a indução por DMBA nos ratos (Vellaichamy *et al.*, 2009).

1.7. Biossíntese da piperina

A subunidade acila da molécula da piperina tem a sua biossíntese mostrada no **Esquema 1**. Observa-se o chiquimato como precursor do intermediário cinâmico, que pode possuir diferentes padrões de oxigenação no anel aromático (nos carbonos 3, 4 e 5), sendo que o anel 3,4-metilenodioxi é bastante comum na classe dos fenilpropanóides (C₆-C₃) (Mann, 1994). Após condensação do tioéster do derivado cinâmico com uma unidade de malonil-S-CoA, seguida de descarboxilação e da redução da enona gerada e β -eliminação, chegamos ao tioéster piperoil-CoA que reage com piperidina gerando a piperina (Geissman e Crout, 1969). Desde o início dos estudos biossintéticos da piperina, foi proposto que sua formação dava-se por condensação da piperidina com o tioéster piperoil-CoA (**Esquema 1**). Geissman, na década de 60, propôs uma rota biossintética para a piperina que apenas a descoberta posterior da enzima piperidina piperoiltransferase pôde confirmar (Geissman e Crout, 1969). Esta enzima mostrou-se específica para piperidina, alcançando 100% de atividade relativa (Geisler e Gross, 1990).



Esquema 1. Proposta biossintética para a formação da piperina.

1.8. Modificações estruturais na piperina

Encontram-se relatadas na literatura 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.

Koul e colaboradores demonstraram que a piperina e derivados inibem enzimas hepáticas (oxidases), dependentes do citocromo P450. Foi observado que a saturação da cadeia lateral da piperina resultou em um aumento da inibição enzimática, enquanto que nas modificações do anel aromático e na função amídica foram poucos os análogos que demonstraram seletividade em inibir a atividade das oxidases estudadas (Koul *et al.*, 2000) (**Figura 17**).

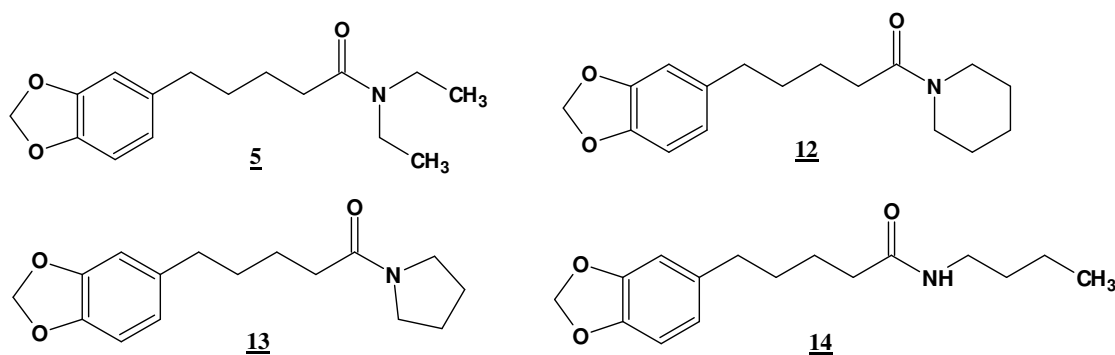


Figura 17. Estruturas químicas dos derivados que demonstraram maior efeito inibitório das oxidases estudadas.

De Paula e colaboradores relataram a atividade inseticida da piperina e de amidas análogas (sintetizadas a partir da mesma) (**Figura 18**) sobre diferentes espécies de insetos: *Ascia monuste orseis* L., *Acanthoscelides obstectus* S., *Brevicoryne brassicae* L., *Protopolybia exigua* D. e *Cornitermes cumulans* K. (De Paula *et al.*, 2000).

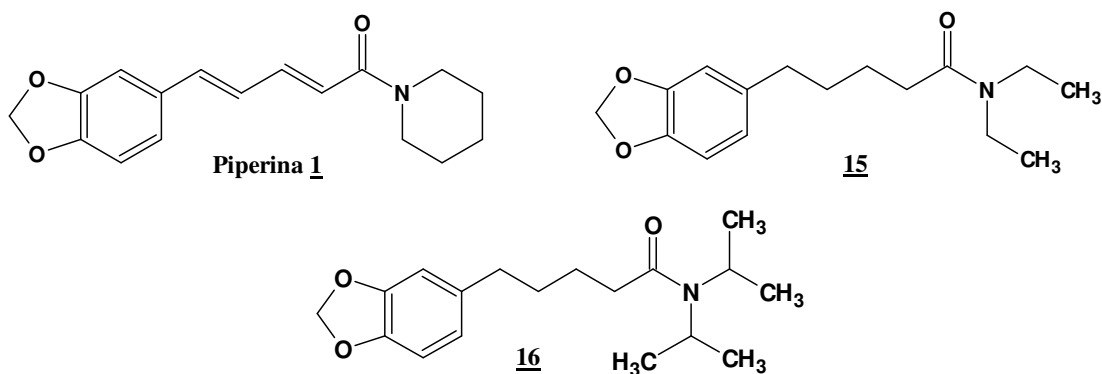


Figura 18. Amidas *N,N*-dissubstituídas que demonstraram maior atividade inseticida sobre *A. monuste orseis* L. (De Paula *et al.*, 2000).

Venkatasamy e colaboradores, baseados em dados anteriores descritos sobre a atividade da piperina na proliferação de melanócitos (Lin *et al.*, 1999), sintetizaram uma série de análogos e derivados da amida natural, visando realizar um estudo de relação estrutura-atividade (*REA*). Foram investigados os seus efeitos biológicos sobre a proliferação e diferenciação dos melanócitos. A perda progressiva dos melanócitos e despigmentação da pele ocasiona o vitiligo, doença que atinge cerca de 1% da população mundial, variando de 0,1-2 % em diferentes países. A **Figura 19** mostra alguns exemplos de compostos modificados sinteticamente que apresentaram atividades biológicas mais relevantes, indicando a piperina como precursora de novos protótipos no tratamento do vitiligo (Venkatasamy *et al.*, 2004).

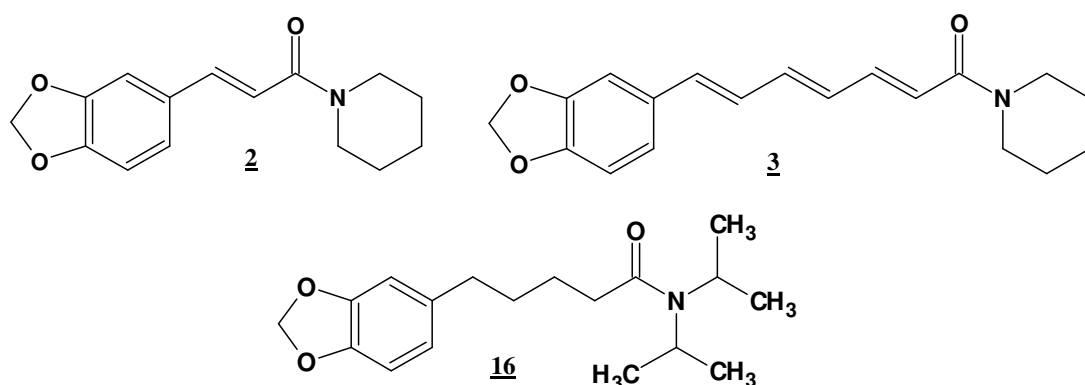


Figura 19. Exemplos de compostos modificados sinteticamente que apresentaram maiores atividades biológicas.

Ribeiro e colaboradores, em estudos realizados em nosso grupo de pesquisa, baseados em dados anteriores descritos sobre a atividade antiparasitária da piperina

sobre *Leishmania donovani* (tripanossomatídeo - causador da leishmaniose visceral) (Kapil, 1993; Raay *et al.*, 1999), sintetizaram uma série de análogos e derivados da amida natural, visando realizar um estudo sobre outro tripanossomatídeo, o *Trypanosoma cruzi* – causador da doença de Chagas. A **Figura 20** mostra alguns exemplos de compostos modificados sinteticamente que apresentam atividades biológicas mais relevantes.

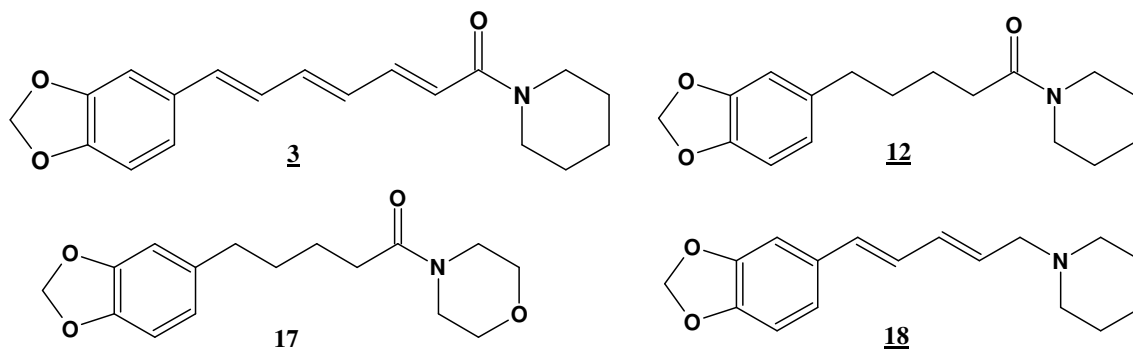


Figura 20. Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica ao *T. cruzi*.

A **Tabela 3** mostra os valores de IC_{50} para a piperina **1** e os derivados mais ativos contra epimastigotas e amastigotas do *Trypanosoma cruzi* (Ribeiro *et al.*, 2004).

Tabela 3. Valores de IC_{50} para a piperina e os derivados mais ativos contra as formas epimastigota e amastigota do *T. cruzi*.

Composto	$IC_{50}(\mu M)$	
	Epimastigota	Amastigota
1	7,36	4,91
3	10,67	7,4
12	19,41	11,52
17	56,13	5,71
18	17,49	9,63

Posteriormente, nosso grupo de pesquisa, motivado por dados descritos na literatura sobre a atividade antitumoral da piperina frente às culturas *in vitro* de células L929, linfoma de Dalton (DLA) e do carcinoma ascítico de Ehrlich (EAL) (Sunila e Kuttan,

2004), sintetizou uma série de análogos à amida natural, e investigaram suas atividades citotóxicas frente ao carcinoma de Ehrlich. A **Figura 21** mostra as estruturas das amidas mais ativas nas avaliações realizadas (Barreto-Junior, 2005; Pissinate, 2006).

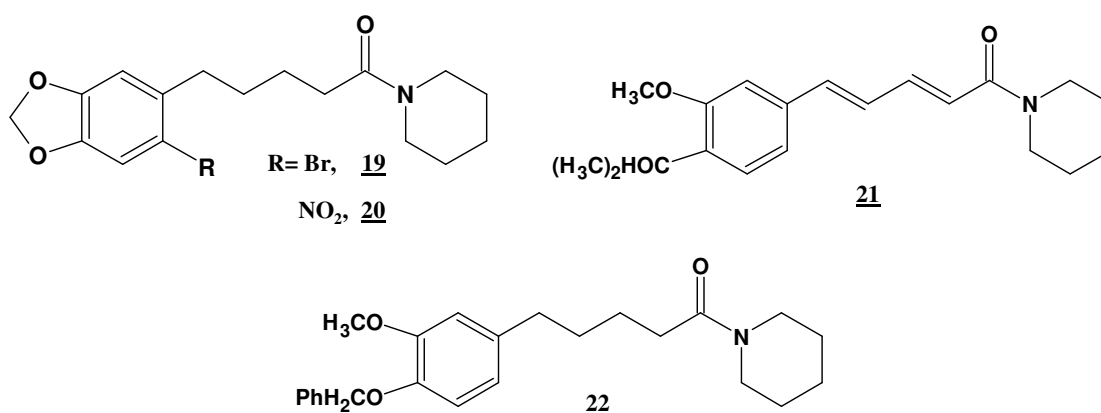


Figura 21. Derivados e análogos que apresentaram maior atividade tóxica contra o carcinoma de Ehrlich (Barreto-Junior, 2005; Pissinate, 2006).

Recentemente, em mais um trabalho do nosso grupo, Ferreira sintetizou uma série de compostos mesoiônicos 23 a 31 (**Figura 22**) da classe dos 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas e avaliou contra as formas evolutivas do *T. cruzi*, obtendo resultados satisfatórios (Ferreira, 2006). Esses novos derivados heterocíclicos, além de mostrarem-se ativos contra o parasita, tiveram baixa citotoxicidade frente a linhagem de células utilizadas no ensaio (**Tabela 4, página 25**).

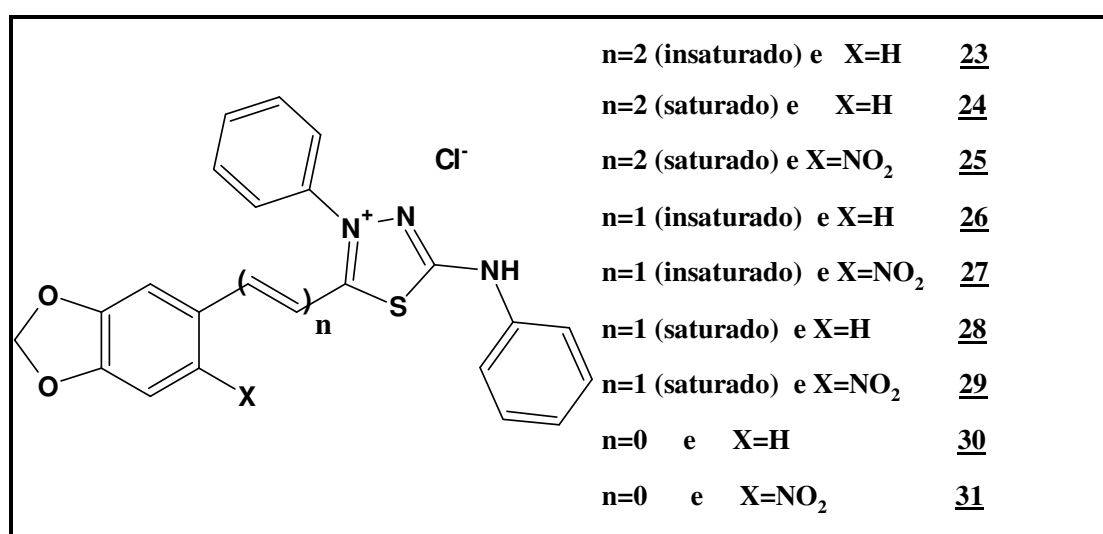


Figura 22. Cloridratos mesoiônicos sintetizados por Ferreira (Ferreira, 2006).

Tabela 4. Valores de IC₅₀ (μM) para piperina, derivados e benzonidazol frente a diferentes formas do *T. cruzi*.

Compostos	IC ₅₀ (μM)			DL ₅₀ (μM)
	Epimastigota	Tripomastigota	Amastigota	Citotoxicidade ¹
Piperina	7,3	>[] _{max} ²	4,91	20,01
23	10,83	6,7	1,35	38,56
24	4,13	>[] _{max}	NT	1,95
25	113,06	NT ³	NT	NT
26	31,5	NT	NT	NT
27	83,42	NT	NT	NT
28	13,42	>[] _{max}	NT	6,62
29	45,24	NT	NT	NT
30	40,82	NT	NT	NT
31	0,64	>[] _{max}	NT	1,08
Benzonidazol	2,2	6,6	2,5

¹Citotoxicidade para macrófagos murinos; ²Maior que a concentração máxima permitida; ³Não testados; ⁴Fármaco de referência

Os resultados obtidos por Ferreira mostraram que a função amídica do produto natural pode ser substituída por núcleos heterocíclicos nitrogenados, preservando a atividade tripanocida.

1.9. Núcleos oxadiazólicos.

A química das quatro formas isoméricas de oxadiazóis (**Figura 23**) fora revisada em 1962 por Boyer, e especificamente os 1,2,4-oxadiazóis por Behr também em 1962 e mais tarde por Eloy em 1965.

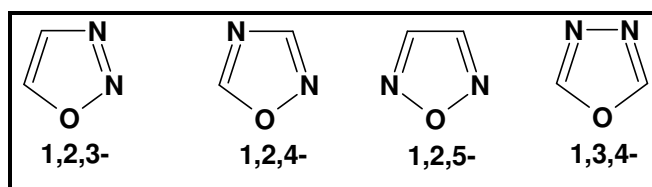
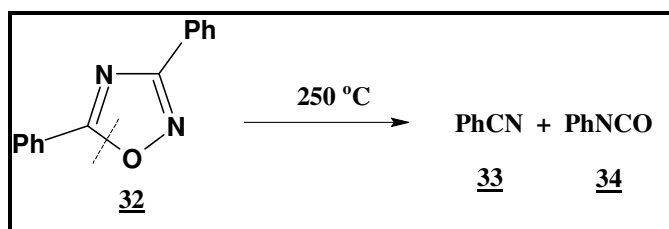


Figura 23. Núcleos oxadiazólicos.

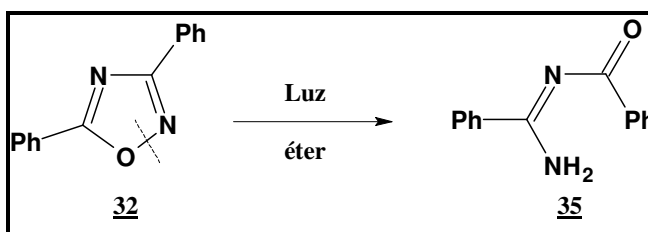
Uma característica marcante dessa classe é sua estabilidade em solução, sendo inerte até mesmo em presença de ácido sulfúrico concentrado (Tiemann, 1884). Porém, apesar da estabilidade em solução, estudos posteriores mostraram que anéis 1,2,4-

oxadiazólicos dissustituídos nas posições 3 e 5 decompõem-se a 250°C, sendo a clivagem da ligação entre o carbono 5 e o oxigênio 1 (**Esquema 2**) (Ainsworth, 1966).



Esquema 2. Decomposição térmica do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol 32.

Dois anos mais tarde, Newman evidenciou a decomposição fotoquímica deste mesmo composto dissustituído 32 em éter, fornecendo com rendimentos de 31% a *N*-benzoilbenzamidina 35. Em contraste com a decomposição térmica, na decomposição fotoquímica a clivagem se dá na ligação N-O (**Esquema 3**) (Newman, 1968).



Esquema 3. Decomposição fotoquímica do 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol 32.

Os núcleos 1,2,4-oxadiazólicos 3,5-dissustituídos podem ser preparados através de diversas metodologias distintas (Clapp, 1976). Duas metodologias de síntese de derivados 1,2,4-oxadiazólicos abrangem 95% da preparação desses compostos: a condensação de amidoximas com derivados do ácido carboxílico [mostrado esquematicamente a combinação dos dois esqueletos (I) e a cicloadição dipolar de óxido de nitrila com nitrilas (II)] (**Figura 16**).

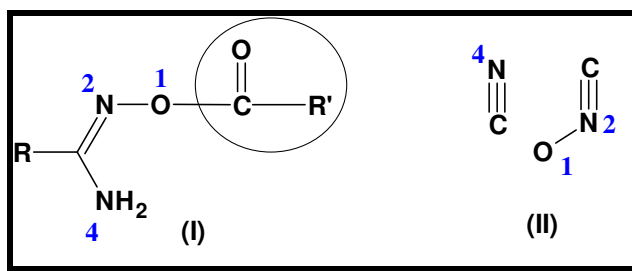


Figura 24. Posição dos esqueletos via condensação (I) e via cicloadição dipolar (II) para formação do sistema 1,2,4-oxadiazólico.

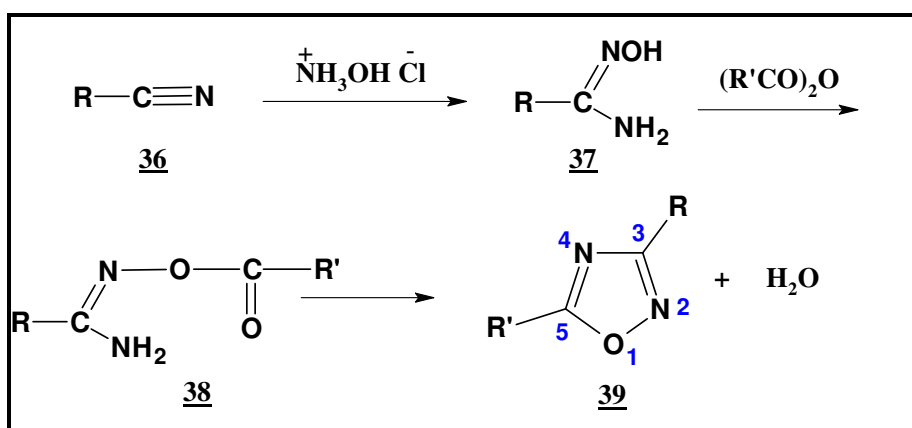
1.9.1. Métodos de elaboração do anel 1,2,4-oxadiazol.

➤ **A partir de *O*-acilamidoximas:**

É a metodologia mais utilizada para a síntese do sistema 1,2,4-oxadiazólico. A amidoxima **36** é convertida ao intermediário acíclico *O*-acilado **38** (**Esquema 4**). Este, por sua vez, pode ser isolado, caso a etapa de acilação não ultrapasse os 100 °C. Caso contrário, ocorre a total conversão a forma cíclica **39** (Eloy, 1962).

As amidoximas **37** podem ser obtidas a partir do aquecimento de uma nitrila **36** em presença de cloridrato de hidroxilamina (Clapp, 1976).

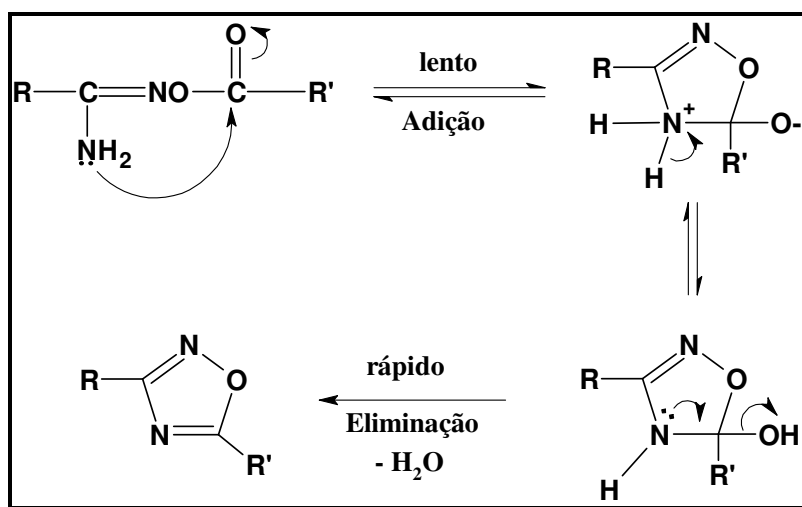
Após a etapa de adição de anidrido, este fornece o carbono na posição cinco do produto final (**Esquema 4**).



Esquema 4. Rota sintética para obtenção núcleo oxadiazólico 3,5-dissubstituído a partir de nitrila **27**.

Outros derivados carbonilados como cetonas, ácidos carboxílicos relativamente reativos como fórmico e acrílico, ésteres, amidas e cloretos de ácidos também podem ser usados para fornecer o carbono cinco do anel oxadiazólico. Utilizando cloretos de ácidos muito reativos, como cloreto de cloro acetila, por exemplo, a conversão de **37** a **39** ocorre a temperatura ambiente (Clapp, 1976).

Em 1980, Ooi e Wilson realizaram um estudo cinético da formação do anel 1,2,4-oxadiazólico através da ciclização de *O*-acilamidoximas em éter difenílico e outros solventes numa temperatura entre 100-145° C, e propuseram um mecanismo para esta reação (**Esquema 5**).

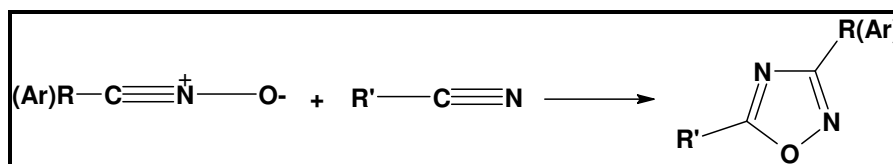


Esquema 5. Proposta mecanística de Ooi e Wilson para formação do anel 1,2,4-oxadiazólico.

Um pequeno efeito isotópico cinético (k_H/k_D) foi encontrado na ciclização da *N,N*-dideuterio-*O*-acilamidoxima. Ao mesmo tempo, descobriu-se que a ciclização podia ser afetada tratando a *O*-acilamidoxima com clorofórmio deuterado e hidreto de sódio a temperatura ambiente. Neste caso, fica evidenciado que a ciclização ocorre pelo ataque do íon amideto no carbono carbonílico do grupo acila.

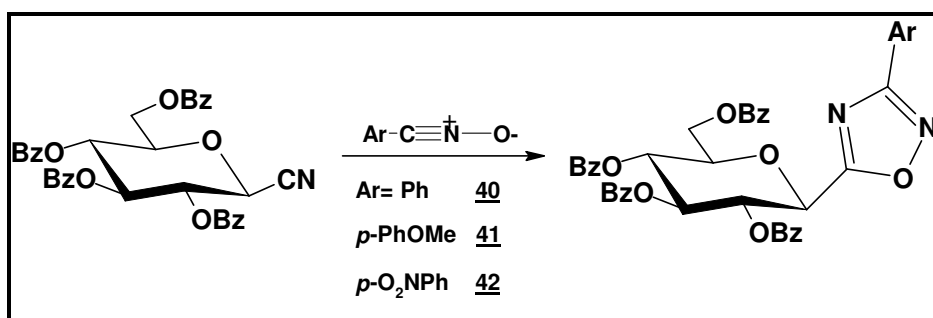
➤ **A partir da cicloadição 1,3-dipolar de óxido nitrilas com nitrilas:**

Esta metodologia foi descrita pela primeira vez por Leandri em 1956. Apesar de não ter uma variedade de aplicações tão grande quanto a primeira, há alguns trabalhos relevantes na literatura relatando este tipo de reação para fornecer derivados 1,2,4-oxadiazóis (**Esquema 6**).



Esquema 6. Formação do núcleo 1,2,4-oxadiazol através do cicloadição 1,3- dipolar.

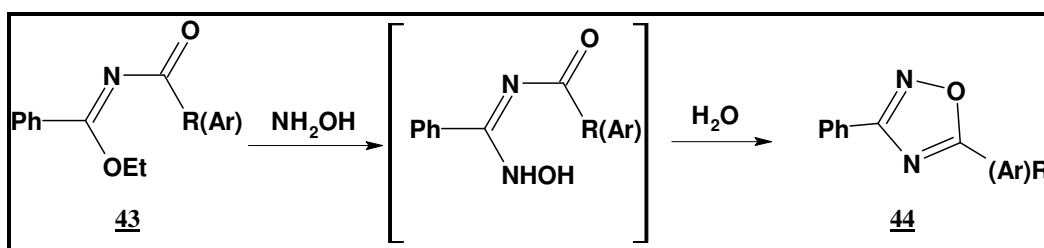
Em 2006, Benlifa e colaboradores propuseram a síntese de uma série de derivados inibidores da enzima glicogênio fosforilase (GP), utilizando esta metodologia (**Esquema 7**).



Esquema 7. Formação de derivados 1,2,4-oxadiazólicos inibidores da enzima glicogênio fosforilase (GP) através do cicloadição 1,3- dipolar.

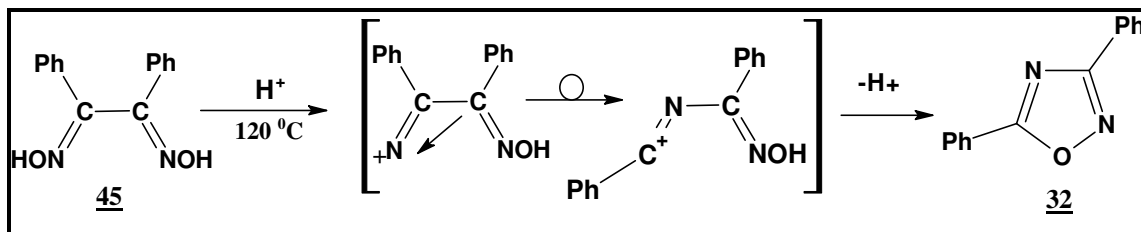
➤ **Outras metodologias:**

Além da desidratação de amidoximas *O*-aciladas e da cicloadição 1,3-dipolar de óxidos de nitrila com nitrilas, existem algumas outras metodologias para a formação do sistema 1,2,4-oxadiazol. Uma delas é a utilização de *N*-aciliminoéteres **43** em presença de hidroxilamina, seguida de ciclização intramolecular (Eloy, 1964). (**Esquema 8**), sem isolamento do intermediário.



Esquema 8. Rota sintética para obtenção do sistema 1,2,4-oxadiazólico a partir de *N*-aciliminoéteres **43**.

Outra metodologia interessante é a partir de α -benzildioximas **45** em presença de ácido fosfórico, via rearranjo de Beckman, fornecendo o composto 3,5-difenil-1,2,4-oxadiazol **32** (Conley & Mikulski, 1959) (**Esquema 9**).



Esquema 9. Rota sintética para obtenção do sistema 1,2,4-oxadiazólico via rearranjo de Beckman.

1.9.2. Atividades biológicas dos 1,2,4-oxadiazóis.

Existem inúmeras aplicações biológicas descritas na literatura com derivados contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol. Essas aplicações vão desde compostos com atividade analgésica, até moléculas inibidoras da enzima HIV-1 transcriptase reversa. A **Tabela 5** abaixo mostra o grande leque de atividades biológicas que esta classe de compostos abrange.

Tabela 5. Atividades biológicas de compostos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol.

Atividade biológica	Referência
<i>Antiparasitária</i>	(Havens, <i>et al.</i> ; 2000)
<i>Leishmania donovani/ Plasmodium berghei</i>	(Hynes & Gratz, 1972)
<i>Antimicrobiana</i>	(Gadebusch <i>et al.</i> , 1969)
<i>Staphylococcus aureus, Salmonella schottmuelleri, Escherichia coli, Mycobacterium tuberculosis.</i>	
<i>Anticâncer</i>	(Kumar <i>et al.</i> , 2009)
<i>(Linhagem de células humanas do pâncreas / próstata)</i>	
<i>Anti-inflamatória</i>	(Nicolaidis <i>et al.</i> , 1998)
<i>Fungicida</i>	(Ulrich & Wilfried, 1989)
<i>Analgésica</i>	(Afiatpour & Srivastava, 1994)
<i>Antiviral</i>	(Diana <i>et al.</i> , 1994)
<i>(rhinovírus, HIV)</i>	(Medebielle <i>et al.</i> , 2005)

Apesar das amidas serem mais resistentes à hidrólise do que os ésteres, e assim apresentarem maior biodisponibilidade, a hidrólise destas é uma reação bastante comum entre as biotransformações de fase 1 dos xenobióticos (Zavitz *et al.*, 2008).

Visando um incremento na bioestabilidade de moléculas bioativas, a transformação bioisostérica de grupamentos passíveis de sofrerem hidrólise em meio biológico como amidas e ésteres, por anéis heterocíclicos aromáticos e eletronicamente estáveis passou a ser uma excelente ferramenta, na medida em que estes anéis heterocíclicos, no caso, os 1,2,4-oxadiazóis, mostram-se mais resistentes a labilidade da farmacocinética (Ciapetti & Giethlen, 2008).

Logo, essa grande variedade de atividades biológicas explica-se em parte pelo fato desses anéis heterocíclicos da classe dos 1,2,4-oxadiazóis passarem a ser utilizados como equivalentes bioisostéricos de amidas e ésteres em sínteses de novos compostos bioativos. (Vu, 1999 e Street, 1993). O bioisosterismo consiste numa estratégia de modificação molecular de substância protótipo. Uma troca bioisostérica pode melhorar a bioestabilidade da molécula, levando ao incremento de sua atividade biológica e ainda reduzindo possíveis efeitos colaterais indesejados (Lima & Barreiro, 2005) (Olsen *et al.*, 2000).

Existem vários exemplos de troca bioisostérica de amidas e/ou ésteres que representaram um aumento na atividade biológica dos compostos. Um deles foi descrito no estudo realizado por Olsen e colaboradores, onde foram sintetizados dois derivados 1,2,4-oxadiazólicos **46** e **47** (**Figura 25**), aumentando a afinidade da molécula como antagonista de receptores colinérgicos nicotínicos (Olsen, 2000).

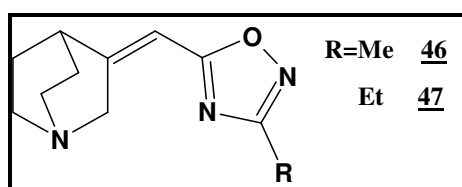


Figura 25. Derivados 1,2,4-oxadiazólicos antagonistas de receptores colinérgicos
(Olsen *et al.*, 2000)

Outro exemplo é o uso de um derivado 5-substituído-3-fenil-1,2,4-oxadiazol **48** (**Figura 26**) como potente antagonista dos receptores H₃ não imidazólicos (Gfesser *et al.*, 2004).

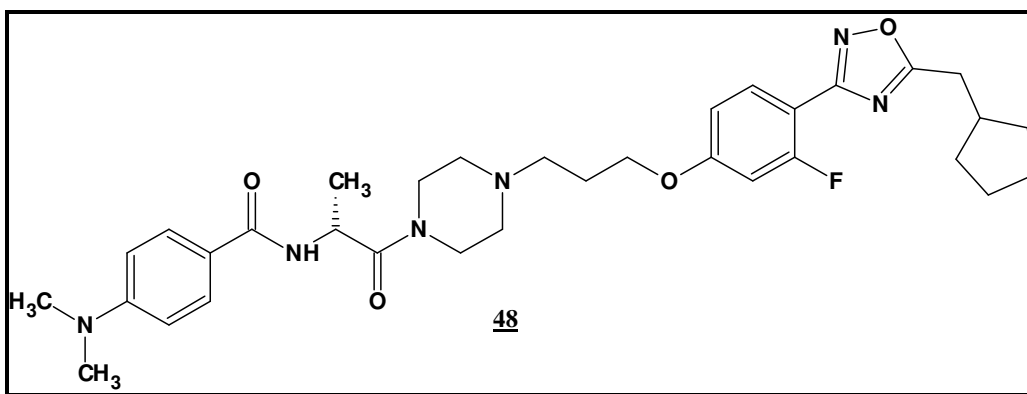


Figura 26. Derivado 1,2,4-oxadiazólicos antagonista de receptores H₃ não imidazólicos (Gfesser *et al*, 2004).

Uma outra aplicação relevante e que recentemente vem sendo um dos focos principais dessa estratégia de bioisosterismo, é o uso de derivados 1,2,4-oxadiazólicos 3,5-dissubstituídos (**49**, **50**, **51**; **Figura 27**) como peptídeo-miméticos, promovendo assim, uma maior aplicação clínica dos mesmos, já que o peptídeo nativo é passível de sofrer hidrólise através da ação das proteases (Jakopin, 2007).

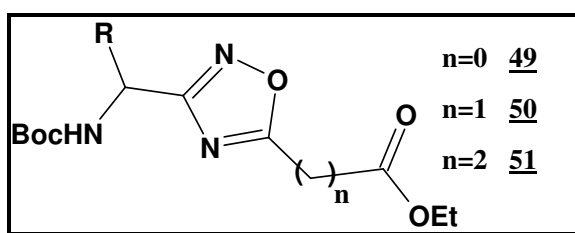


Figura 27. Derivados 1,2,4-oxadiazólicos mimetizadores de peptídios (Jakopin, 2007).

2. JUSTIFICATIVAS E OBJETIVOS

Os resultados anteriormente descritos por Kapil (1993) e Raay (1999) sobre a atividade antiparasitária da piperina sobre *Leishmania donovani* (protozoário, da família dos tripanossomatídeos, causador da leishmaniose visceral, na Índia), estimulou nosso grupo de pesquisa (Ribeiro, 2004) em avaliar a atividade tóxica desta amida natural e de seus derivados sobre outro importante tripanossomatídeo de interesse médico, o *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas, parasitose de grande impacto na América do Sul, principalmente no Brasil.

Paralelamente, diversas aplicações biológicas envolvendo compostos contendo o núcleo 1,2,4-oxadiazol foram encontradas na literatura (**Tabela 5, página 32**). Soma-se ainda alguns trabalhos mais específicos (Gfesser *et al.*, 2003) (Jakopin *et al.*, 2007), descrevendo a relação bioisotérica desses núcleos 1,2,4-oxadiazólicos com ésteres e amidas [a piperina **1** (**Figura 14, página 16**) é uma amida natural].

A soma dos fatores citados acima estimulou nosso grupo de pesquisa a continuar os estudos com o *Trypanosoma cruzi*, incorporando a unidade 1,2,4-oxadiazólica aos derivados e análogos da piperina, imaginando assim uma melhora na estabilidade destas novas moléculas propostas em meio biológico.

Outro fator relevante sobre a utilização desta amida natural envolve a sua abundância no material vegetal, facilidade da sua extração, que aliado ao seu perfil estrutural, permite várias abordagens, visando a obtenção de derivados. Desta forma, temos como principais objetivos neste trabalho:

- Isolar quantidades adequadas da amida natural, através da metodologia otimizada pelo nosso grupo de pesquisa (Ribeiro, 2004), e realizar modificações na estrutura da piperina, que permitam a preparação de uma série de derivados híbridos, incorporando ao produto natural o núcleo 1,2,4-oxadiazol;
- Utilizar a estratégia de bioisosterismo (Lima & Barreiro, 2005) para o desenho dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos propostos, realizando a síntese destes com dois planejamentos de modificação estrutural:
 - a) Modificações da cadeia lateral com a variação do número de carbonos olefínicos e a saturação dos mesmos/homologação e simplificação molecular;

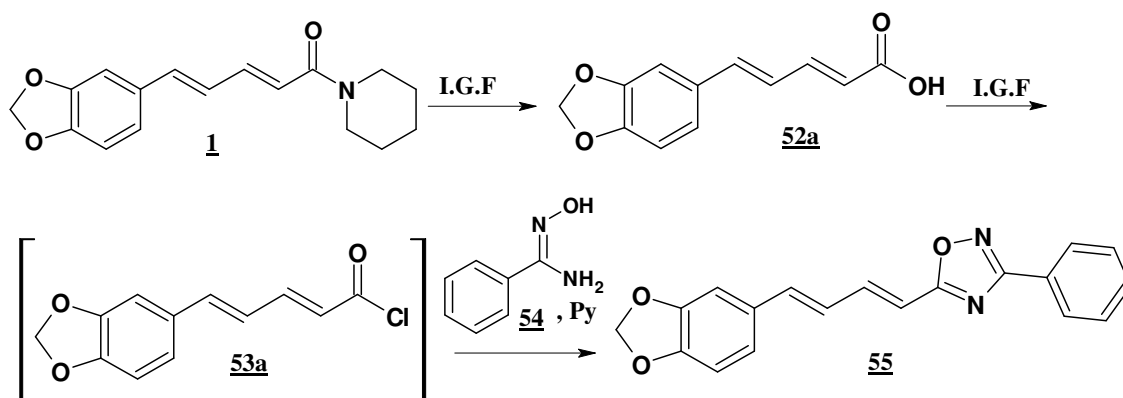
- b) Nitração dos anéis aromáticos mantendo o grupo metilenodioxílico, presente na amida natural, piperina;
- Avaliar com estes produtos finais a importância das modificações realizadas na cadeia lateral (conjugação e a distância entre os anéis aromáticos homocíclicos e heterocíclicos), e dos anéis aromáticos (nitração – visto que o benzonidazol, fármaco de referência, possui um grupo nitro em sua estrutura – unidade farmacofórica) quanto à sua toxicidade sobre as formas epimastigotas do *Trypanosoma cruzi*. Diante dos resultados que serão obtidos, pretendemos traçar um perfil da relação estrutura-atividade (REA) dos derivados e análogos (1,2,4-oxadiazóis) com a piperina.

3- RESULTADOS E DISCUSSÕES.

3.1- Estratégias de síntese.

3.1.1. Estratégia para a síntese do 1,2,4-oxadiazol derivado direto da amida natural **1**.

Para a síntese das novas moléculas propostas (**55** a **62**), derivados e análogos à piperina **1**, fez-se necessário a preparação de seus respectivos ácidos carboxílicos com duas abordagens de modificação estrutural: na cadeia lateral (variando a quantidade de carbonos olefínicos e a saturação dos mesmos) e no carbono seis do anel aromático (nitração). O **Esquema 10** abaixo mostra a rota sintética para obtenção do oxadiazol **55**, derivado direto da amida natural piperina **1** cujo procedimento de isolamento encontra-se descrito na **página 79**.

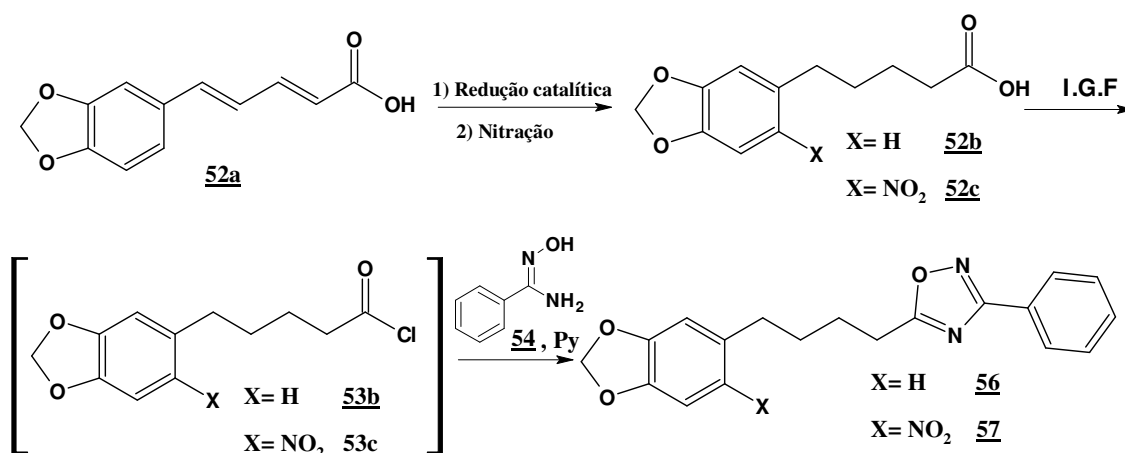


Esquema 10. Rota sintética para a preparação do novo derivado 1,2,4-oxadiazólico **55** a partir da amida natural **1**.

O derivado 1,2,4-oxadiazólico **55** pode ser preparado através da reação de substituição nucleofílica acílica entre o cloreto de ácido **53a** e a benzamidoxima **54**. Por sua vez, o cloreto de ácido **52a** pode ser obtido por interconversão de grupo funcional (I.G.F) tendo o ácido piperínico **52a** como precursor. Diversas metodologias podem ser empregadas para obtenção do intermediário **53a**, dentre elas destacamos o uso de cloreto de tionila (SOCl_2) e cloreto de oxalila (COCl_2) (March, 1985). O ácido piperínico **52a** pode ser facilmente preparado a partir da amida natural **1**, através de uma reação de hidrólise básica, como pode ser observado no experimental da **página 82**.

3.1.2. Estratégia para a síntese de derivados 1,2,4-oxadiazólicos análogos à piperina **1**.

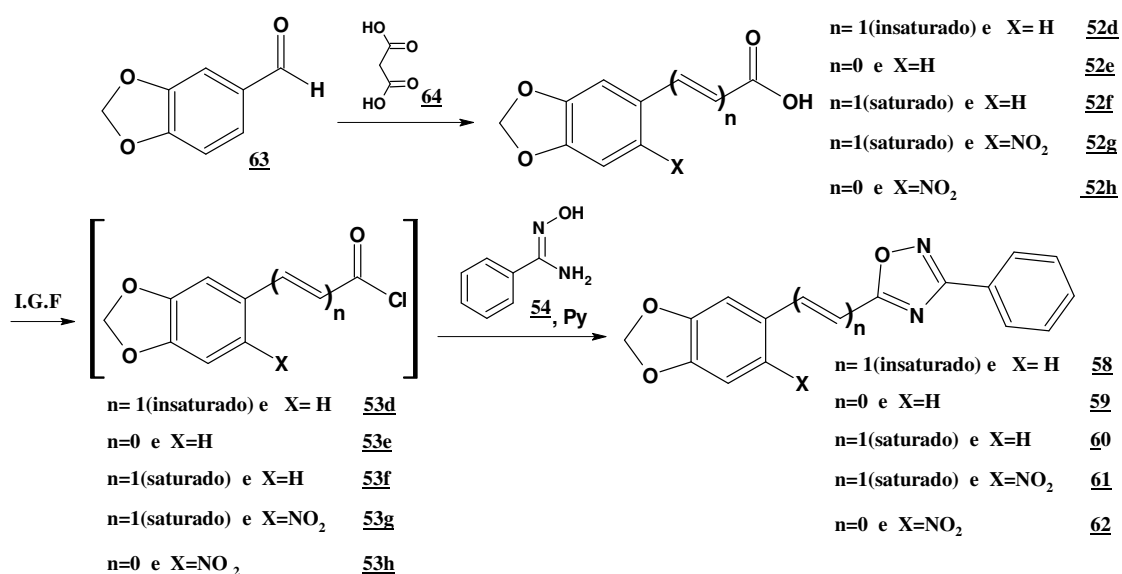
Seguindo a mesma estratégia sintética descrita no **Esquema 10** (página **36**), outros análogos também foram preparados, variando a estrutura dos cloretos de ácido (preparados a partir dos respectivos ácidos) empregados na etapa de acilação. No **Esquema 11**, pode ser observada a estratégia para síntese de outros derivados da piperina, com modificações estruturais. Foram preparados dois derivados piperínicos (com a cadeia lateral contendo quatro carbonos), sendo um com a cadeia lateral saturada **56**, e outro com a cadeia lateral saturada além de uma substituição na posição seis do anel aromático **57**. Vale ressaltar como obteve-se os intermediários **52b** e **52c**. O intermediário **52b**, foi obtido através de uma reação de redução catalítica ácido piperínico **52a** (página **91**), enquanto que **52c** foi obtido através de uma reação de nitração de **52b** mostrada na página **97**.



Esquema 11. Rota sintética para a preparação de outros derivados 1,2,4-oxadiazólicos (**56** e **57**) a partir do ácido **52a**, derivado da piperina **1**.

Já no **Esquema 12**, encontra-se descrita a estratégia sintética para obtenção dos derivados oxadiazólicos, análogos à piperina **1**, derivados do aldeído comercial piperonal **63**. Até a etapa da reação entre os cloretos de ácido **53d** a **53h** com a benzamidoxyima **54**, vale ressaltar como chegou-se aos intermediários estáveis **52d** a **52h**, precursores dos cloretos de ácido citados. Para obtenção do ácido caboxílico **52d**,

contendo dois carbonos na cadeia lateral, utilizou-se a reação de Knoevenagel entre o piperonal **63** e o ácido malônico **64** (página 85). Já o intermediário cinâmico reduzido **52f** teve como precursor **52d**, onde foi realizada uma reação de redução catalítica cujo experimental foi descrito na página 94. O intermediário cinâmico reduzido e nitrado **52g**, por sua vez, foi obtido através de uma reação clássica de nitração de **52f** (vide experimental na página 100). Dando seqüência à síntese dos precursores ácidos carboxílicos, o intermediário **52e**, com ausência da cadeia lateral, foi obtido através de uma reação de oxidação do piperonal **63**, utilizando Reagente de Jones (vide experimental na página 88). Já o intermediário **52h**, com a ausência na cadeia lateral e nitrado na posição seis do anel aromático, foi obtido através do nitração de **52e** (vide experimental na página 106).



Esquema 12. Estratégia sintética para a preparação dos derivados 1,2,4-oxadiazóis (**58 a 62**) análogos à amida natural **1** a partir do piperonal **63**.

3.2. Estratégias de síntese dos precursores ácidos carboxílicos, derivados e análogos à piperina **1**, com modificação estrutural

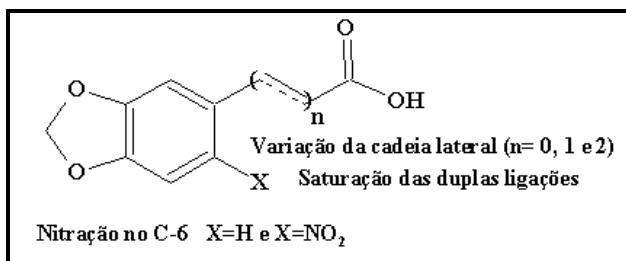


Figura 28. Diferentes padrões estruturais dos precursores ácidos carboxílicos para a síntese dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos.

3.2.1. Modificação da cadeia lateral

Para realizar a síntese dos intermediários ácidos carboxílicos foram necessárias reações tais como:

- A hidrólise básica da função amida da piperina **1** (Ikan, 1991) para obtenção do ácido piperínico (**52a**), com 2 insaturações (4C – sp²) entre a carbonila e o anel aromático (**página 82**);
- A reação de Knoevenagel com o piperonal (**63**) (Silva *et al.*, 2002), para a obtenção do ácido 3,4-metilenodioxi-cinâmico (**52d**), com 1 insaturação (2C – sp²) entre a carbonila e o anel aromático (**página 85**);
- A oxidação da função aldeído do piperonal **63** (Rodig, 1990) para a obtenção do ácido 3,4-metilenodioxi-piperonílico (**52e**), e do nitro-piperonal **65** (Mitscher *et al.*, 1978), com ausência de carbono entre a carbonila e o anel aromático (**página 88**);
- A redução catalítica (Pd/C) das ligações duplas dos ácidos previamente preparados **52a** e **52d** (**páginas 82 e 85**), responsáveis pela conjugação da carboxila ao anel aromático (Venkatasamy *et al.*, 2004) para obtenção dos ácidos saturados **52b** e **52f** (**páginas 91 e 94**).

3.2.2. Modificação no anel aromático

Para a realizar a síntese dos derivados nitrados foram necessária reações tais como:

- A nitração dos ácidos saturados **52b** e **52f** e do piperonal **63** (páginas 97, 100 e 106), utilizando a reação de nitração catalisada por ácido (Vogel, 1989) (Rascado, 1997).

3.3. 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.

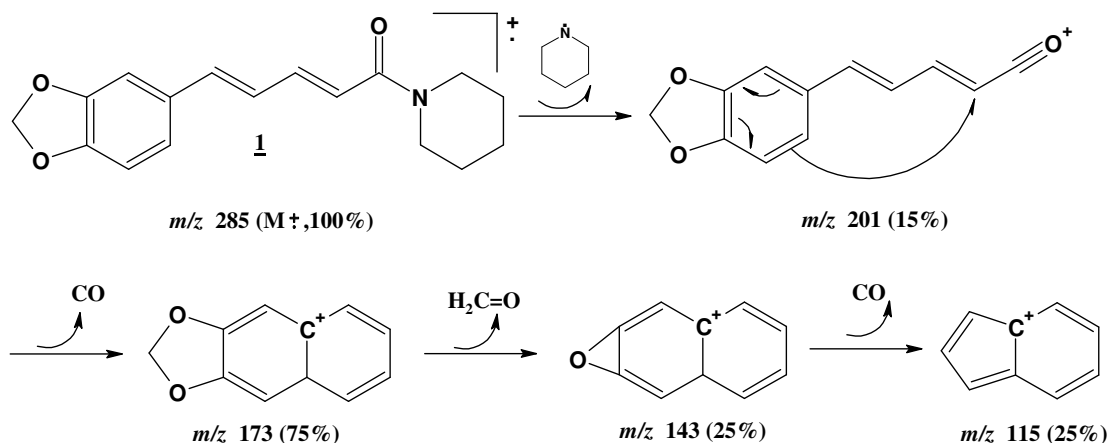
A metodologia aplicada para a extração do produto foi descrita por Ikan (1991), e otimizada em nosso laboratório onde foi utilizada uma aparelhagem de Soxhlet, tendo etanol como solvente (Ribeiro, 2004) (DaSilva, 2006). A **Figura 29** mostra a aparelhagem utilizada para a extração do material vegetal.



Figura 29. Extrator de Soxhlet acoplado à manta de aquecimento e condensador.

Após extração e tratamentos adequados, a piperina foi obtida na forma de cristais amarelos. O material foi obtido, normalmente, em grau de pureza adequado, o que foi confirmado através dos métodos convencionais de análise (RMN, IV e EM). Os dados obtidos foram totalmente compatíveis com a estrutura da amida natural, e também por comparação com dados descritos na literatura (De Araújo Júnior *et al.*, 1997).

No espectro de infravermelho pode ser observada uma forte absorção em 1634 cm^{-1} , indicando a presença da função carbonila amídica conjugada, além das absorções na região entre $2937\text{-}2858\text{ cm}^{-1}$, referentes às deformações axiais das ligações C-H (Espectro 1, página 79). No espectro de RMN ^1H , observou-se um sinal simples em δ 5,97 ppm, referente aos 2 hidrogênios do grupamento metilenodioxílico, além de um grupo de sinais entre δ 6,40 e δ 7,43 ppm, referentes aos hidrogênios olefínicos da cadeia lateral, e os 3 hidrogênios aromáticos (Espectro 3, página 79). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal em δ 165,3 ppm, referente à absorção do carbono da carbonila amídica (Espectro 4, página 80). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base ($m/z = 285$ u.m.a., 100% de abundância relativa) (Espectro 2, página 79), fragmentos característicos para a estrutura da amida natural. O Esquema 13 mostra uma proposta de fragmentação para a piperina **1**.

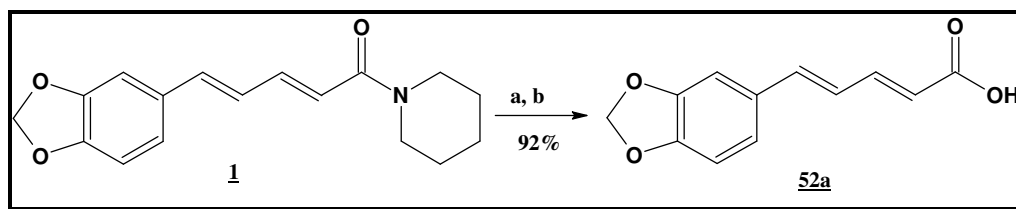


Esquema 13. Proposta de fragmentação para a piperina **1**.

3.4 Síntese dos ácidos carboxílicos (52a a 52h), intermediários na síntese dos 1,2,4-oxadiazóis.

3.4.1 Hidrólise alcalina da piperina 1.

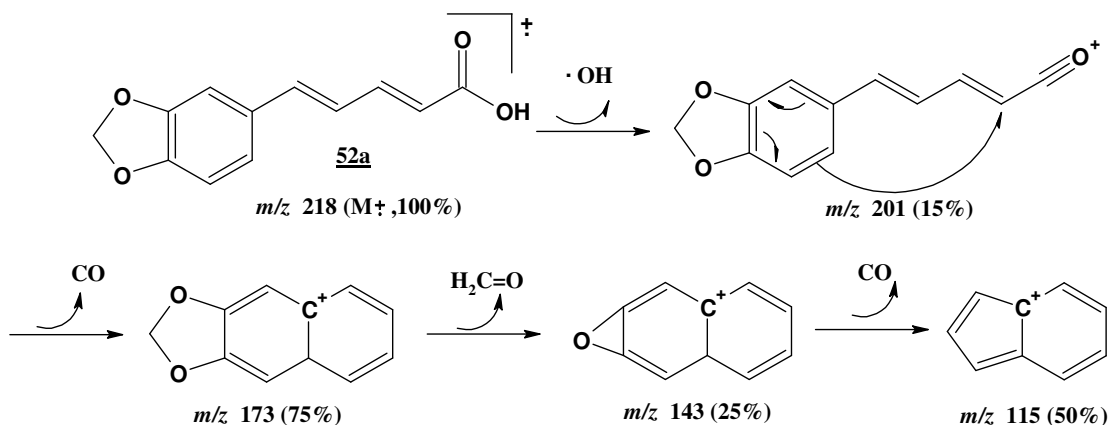
A preparação do primeiro derivado envolveu a hidrólise da função amida presente na piperina 1, gerando o ácido piperínico 52a (**Esquema 14**). Esta reação encontra-se experimentalmente descrita no trabalho de Ikan (Ikan, 1991). Contudo a reação não se completou conforme descrito por Ikan (1991), sendo necessário então modificações no tempo de reação, de 2 horas para 6 horas de refluxo e elevar as quantidades de base utilizada (Ribeiro, 2004), gerando assim o ácido piperínico 52a, após acidificação do meio, em elevado rendimento (92%) e grau de pureza adequado.



Reagentes: a) KOH/etanol, refluxo, 6h; b) HCl 10%, até pH 3,0

Esquema 14. Hidrólise básica da piperina 1.

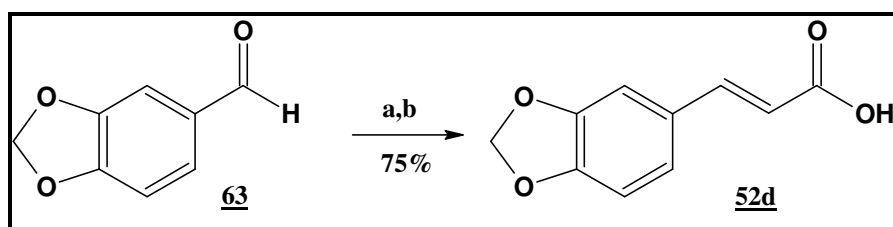
O ácido 52a apresentou ponto de fusão idêntico ao descrito na literatura (Pf.: 216-217°C) (Ikan, 1991). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga, entre 3300-3200 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção a 1678 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido conjugado (**Espectro 5, página 82**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal em δ 169,0 ppm, referente ao carbono da carbonila (**Espectro 8, página 83**). No espectro de RMN ^1H observou-se um singlete em δ 12,2 ppm do hidrogênio ácido, e o restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de 52a (**Espectro 7, página 82**). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base ($m/z = 218$ u.m.a., 100% de abundância relativa) (**Espectro 6, página 82**), fragmentos característicos para o ácido 52a. O **Esquema 15** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido 52a.



Esquema 15. Proposta de fragmentação para o ácido piperínico **52a**.

3.4.2 Síntese do ácido cinâmico **52d**.

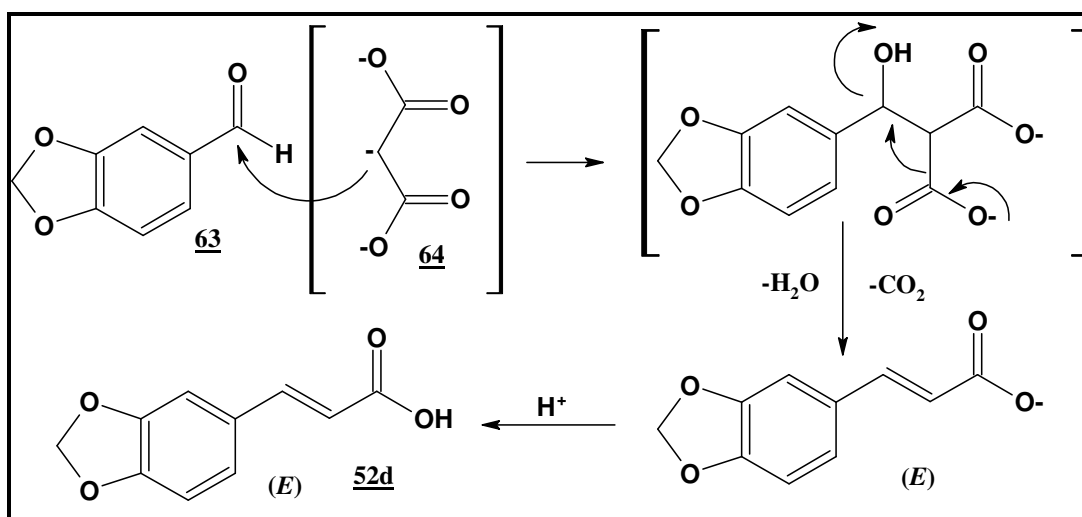
A preparação do ácido cinâmico **52d** foi realizada através da reação de Knoevenagel entre o piperonal **63** e o ácido malônico (**Esquema 16**), em presença de piperidina, tendo piridina como solvente (Silva *et al.*, 2002).



Reagentes: a) ác. malônico, piridina e piperidina, refluxo, 4h; b) HCl 10%

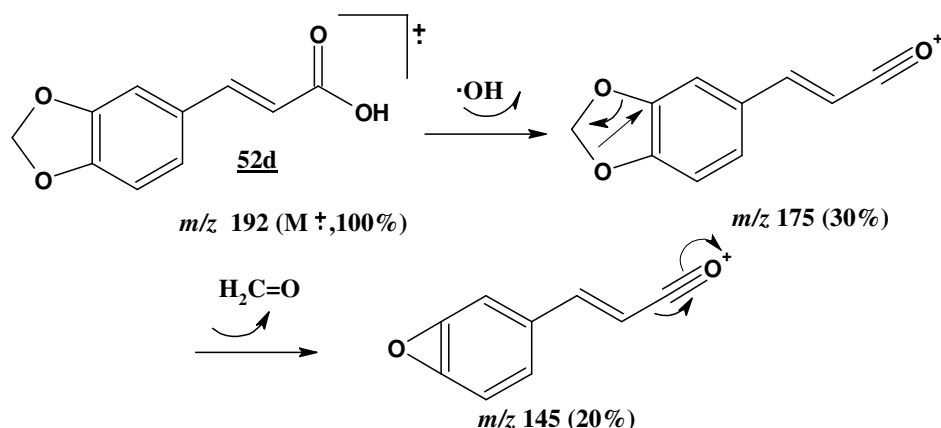
Esquema 16. Reação de formação do ácido cinâmico **52d**.

A reação se dá através da formação do enolato do ácido malônico, pela ação da piperidina como base. O ânion formado ataca o centro eletrofílico do piperonal (carbonila aldeídica), formando um intermediário suscetível de sofrer, *in situ*, uma eliminação descarboxilativa que por restrições estereoeletrônicas, gera estereosseletivamente o alceno com configuração *E*. Após neutralização do meio, o ácido cinâmico **52d** é formado, como mostra o mecanismo descrito no **Esquema 17**.



Esquema 17. Proposta de mecanismo para reação de Knoevenagel (Silva *et al.*, 2002).

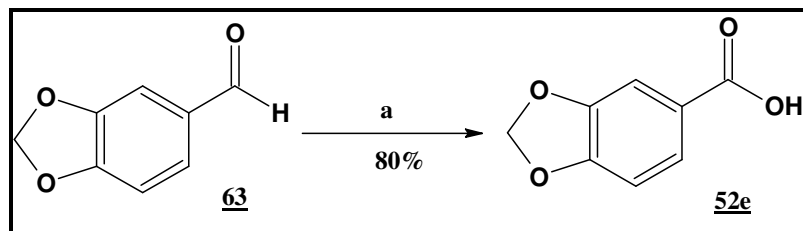
O ácido cinâmico **52d** foi obtido, após recristalização, na forma de cristais brancos apresentando ponto de fusão idêntico ao descrito na literatura (Pf.: 238°C) (Silva *et al.*, 2002). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga, entre 3500-3400 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção em 1692 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido conjugado (**Espectro 9, página 83**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal em δ 169 ppm, referente ao carbono da carbonila (**Espectro 12, página 85**). No espectro de RMN ^1H observou-se um singlete em δ 12,3 ppm, com um hidrogênio, referente ao ácido carboxílico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura do ácido **52d** (**Espectro 11, página 85**). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base ($m/z = 192$ u.m.a., 100% de abundância relativa) (**Espectro 10, página 85**), fragmentos característicos para o ácido **52d**. O **Esquema 18** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido cinâmico **52d**.



Esquema 18. Proposta de fragmentação para o ácido cinâmico **52d**.

3.4.3 Síntese do ácido piperonílico **52e**.

Para a preparação do derivado piperonílico **52e** foi realizada uma reação de oxidação com o reagente de Jones (2,68M CrO_3) (Rodig, 1994) sobre o piperonal (**Esquema 19**), tendo acetona como solvente.

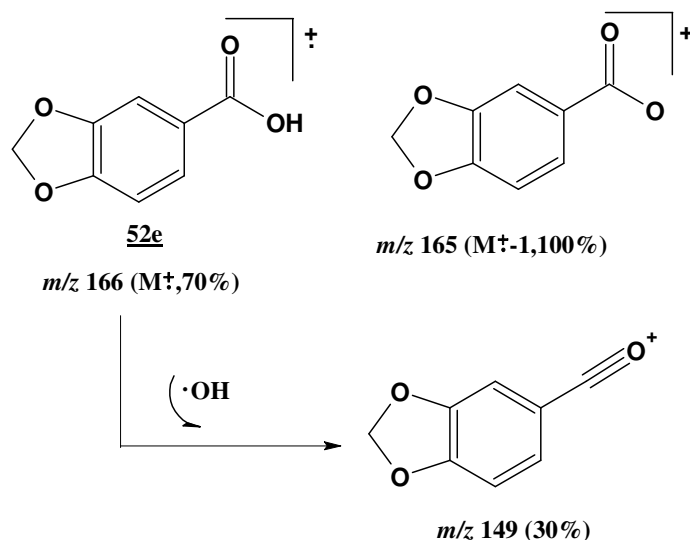


Reagentes: a) Reagente de Jones(2,68M em CrO_3), acetona, 4h, 0°C.

Esquema 19. Oxidação do piperonal **63**.

Após a recristalização, o ácido piperonílico **52e** apresentou ponto de fusão semelhante ao descrito na literatura (Aldrich, 2005-6). Além da análise comparativa do ponto de fusão, o produto foi devidamente caracterizado pelos métodos convencionais de análise. No espectro de infravermelho observa-se uma banda larga, entre 3500-3400 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção em 1673 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido conjugado (**Espectro 13**, **página 88**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal em δ 167 ppm, referente ao carbono da carbonila (**Espectro 16**, **página 89**). No espectro de RMN 1H observou-se um singlete em δ 12,6 ppm com integração para um hidrogênio, referente ao ácido

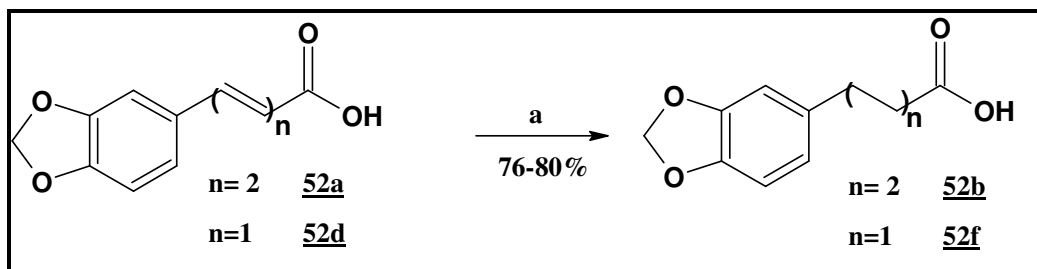
carboxílico, além de outros sinais, compatíveis com a estrutura do ácido piperonílico **52e** (**Espectro 15, página 88**). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base ($m/z = 165$ u.m.a., 100% de abundância relativa) (**Espectro 14, página 88**), fragmentos característicos para o ácido **52e**. O **Esquema 20** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido **52e**.



Esquema 20. Proposta de fragmentação para o ácido piperonílico **52e**.

3.4.4. Síntese dos ácidos saturados **52b** e **52f**.

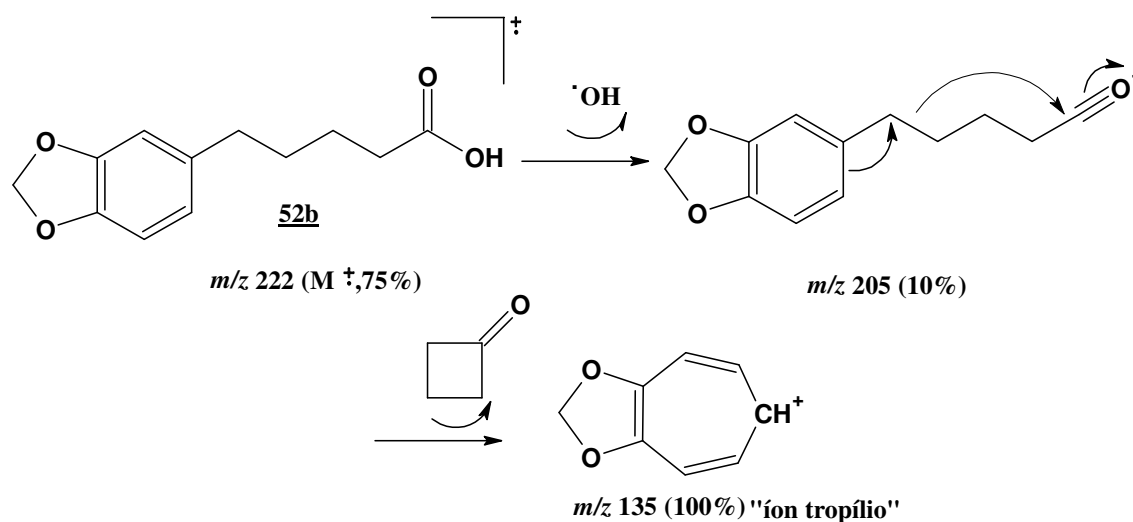
A preparação, tanto do ácido 3,4-metilenodioxitetraídripiperônico **52b** quanto do ácido 3,4-metilenodioxidiidrocínâmico **52f**, foi realizada através da hidrogenação catalítica heterogênea, em atmosfera de H_2 (a pressão normal), catalisado por Pd/C em acetato de etila como solvente (Vankatasamy *et al.*, 2004), utilizando os ácidos **52a** e **52d** como matéria-prima ou precursores sintéticos. O **Esquema 21** mostra as reações de redução catalítica.



Reagentes: a) H_2 , Pd/C; acetato de etila, pressão atmosférica, t.a, 3h.

Esquema 21. Reação de redução catalítica dos ácidos **52a** e **52d**.

Para o ácido 3,4-metilenodioxi-tetraidropiperínico **52b**, no espectro de infravermelho, foi observada uma banda larga, entre 3500-3400 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH, além da absorção em 1708 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido não conjugada (**Espectro 17, página 91**). No espectro de RMN ^{13}C foi observado um sinal em δ 180 ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada e sinais entre 24,2 e 35,3 ppm referentes aos carbonos saturados (**Espectro 20, página 92**). Nos espectro de RMN ^1H foram observados os sinais entre 1,6 a 2,5 ppm, referentes aos hidrogênios da cadeia saturada (**Espectro 19, página 91**). O espectro de massas, além do pico do íon molecular $m/z = 222$ u.m.a. e pico base 135 u.m.a., apresentou fragmentos característicos ao ácido **52b** (**Espectro 18, página 91**). O **Esquema 22** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi-tetraidropiperínico **52b**.

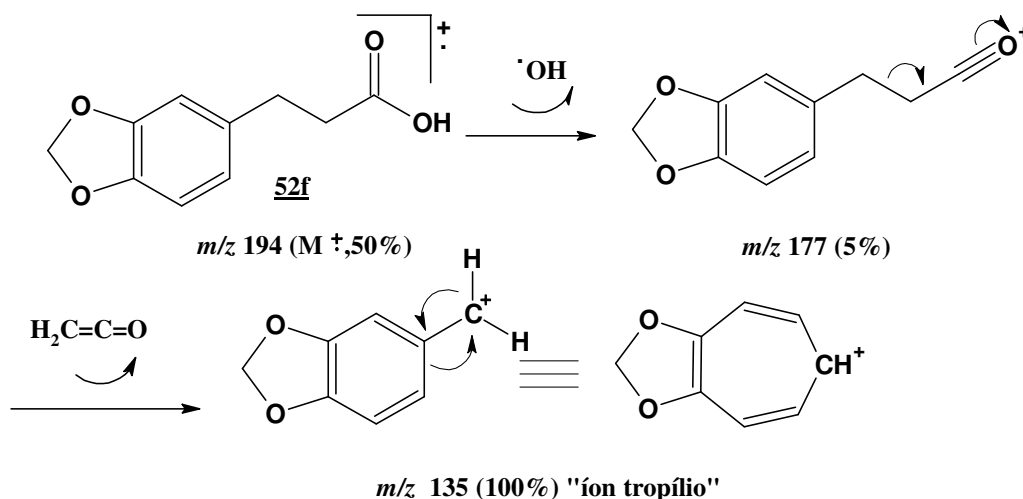


Esquema 22. Proposta de fragmentação para o ácido tetraidropiperínico **52b**.

No espectro de infravermelho do ácido 3,4-metilenodioxi-diidrocinâmico **52f** foi observada uma banda larga, entre 3300-3200 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH, além da absorção em 1733 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido não conjugada (**Espectro 21, página 94**). No espectro de RMN ^{13}C foi observado um sinal em δ 179 ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada e os sinais 30,4 e 36,1 ppm, referentes aos carbonos benzílico e α -carbonila, respectivamente (**Espectro 24, página 95**). Nos dados de RMN ^1H foram observados os dois tripletos em 2,63 e 2,87 ppm, referentes aos dois metilenos α e β -carbonila (**Espectro 23, página 94**). O espectro de

massas, além do pico do íon molecular $m/z = 194$ u.m.a. e pico base 135 u.m.a., apresentou fragmentos característicos ao ácido **52f** (**Espectro 22**, página 94).

O **Esquema 23** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi-diidrocinâmico **52f**.

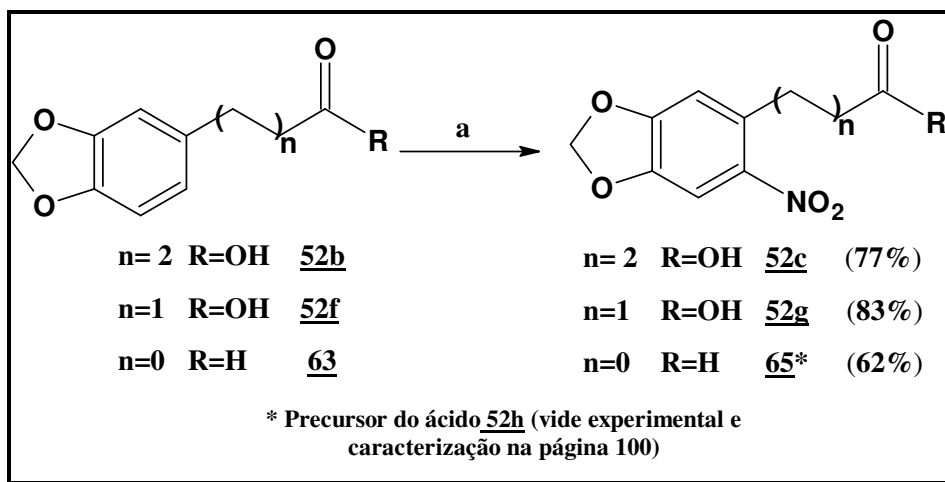


Esquema 23. Proposta de fragmentação para o ácido diidrocinâmico **52f**.

3.4.5. Síntese dos ácidos nitrados **52c** e **52g** e **52h**.

A nitração do anel aromático dos respectivos ácidos carboxílicos reduzidos **52b** e **52f**, obtidos na etapa anterior, foi realizada utilizando uma reação de nitração em solvente orgânico, gerando os respectivos nitro-aromáticos em rendimentos satisfatórios (77–82%) (Rascado, 1997) (**Esquema 24**). Para os ácidos conjugados **52a** e **52d**, não foi possível realizar a nitração do anel aromático provavelmente devido a interferência das insaturações da cadeia lateral. As reações para esses derivados nitração apresentou problemas, com inúmeros subprodutos comprometendo seu rendimento, por isso foi descartada a utilização do seu derivado.

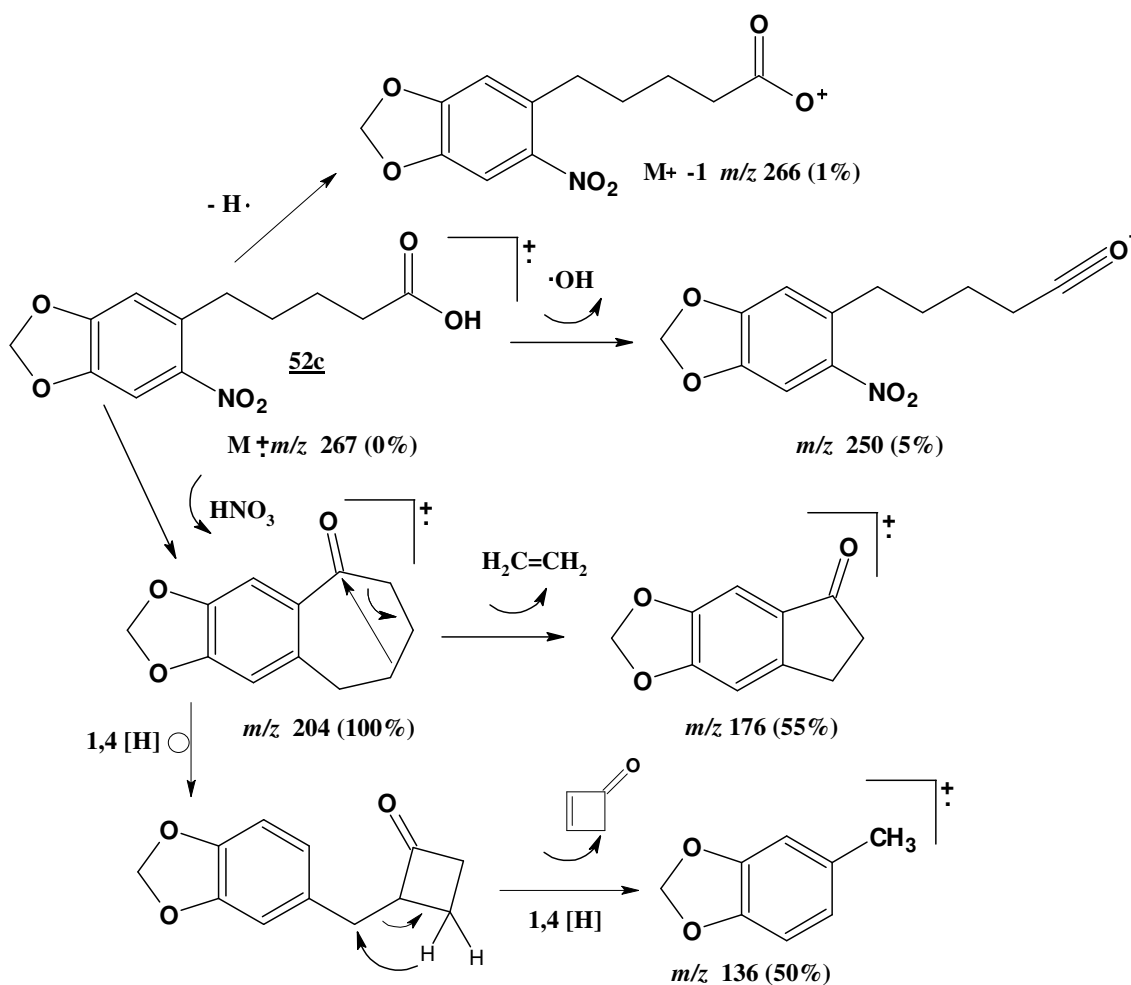
Outro fator relevante a ser mencionado sobre esta reação de nitração é a regioseletividade da nitração na posição 6 (seis) do anel aromático, devido aquele carbono apresentar maior densidade eletrônica, sendo assim mais reativo frente a uma reação de substituição eletrofílica aromática (**Esquema 24**) (Costa, 2000).



Reagentes: a) HNO₃ (conc), Ácido acético glacial, 5h, t.a.

Esquema 24. Nitração do anel aromático.

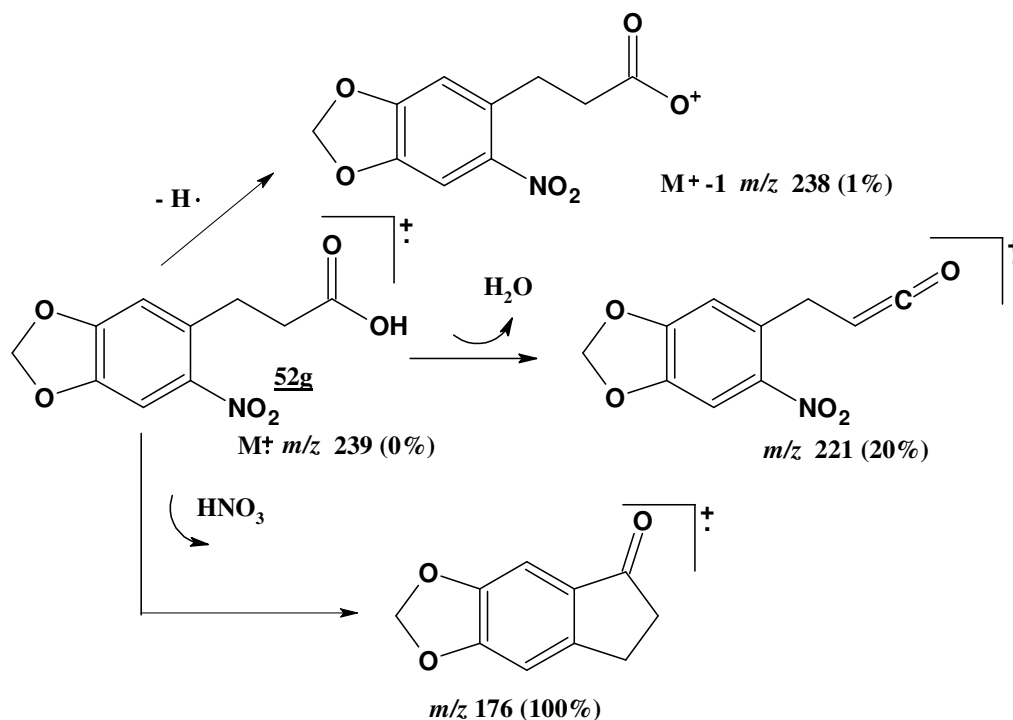
O ácido 3,4-metilenodioxo-6-nitrotetraidropiperínico **52c**, após recristalização, apresentou-se como um sólido amarelo amorfo e ponto de fusão 111-112°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga em 3423 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção em 1710 cm⁻¹, característica da carbonila de ácido não conjugado (**Espectro 25, página 97**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal em δ 177 ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada e outro sinal em δ 153 ppm, referente ao carbono ligado ao grupo nitro (**Espectro 28, página 98**). O espectro de RMN ¹H, apesar de não ter apresentado o hidrogênio ácido, apresentou os singletos dos hidrogênios isolados do anel aromático em δ 9,08 e 8,50 ppm, o restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de **52c** (**Espectro 27, página 97**). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base (m/z = 267 e 204 u.m.a. respectivamente), fragmentos característicos para o ácido **52c** (**Espectro 26, página 97**). O **Esquema 25** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido 6-nitrotetraidropiperínico **52c**.



Esquema 25. Proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxi-6-nitrotetraidropiperínico **52c**.

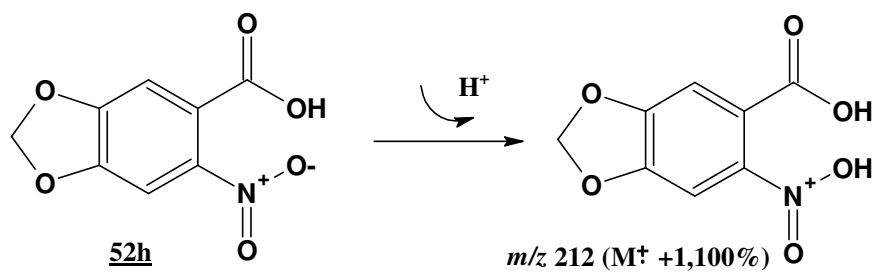
O ácido 3,4-metilenodioxi-6-nitrodihidrocinâmico **52g**, após recristalização, apresentou-se como um sólido amarelo amorfo e ponto de fusão 154-156°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga, em 3425 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção em 1711 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido não conjugado (**Espectro 29, página 100**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal a δ 176 ppm, referente ao carbono da carbonila não conjugada e outro a δ 153 ppm, referente ao carbono ligado ao grupo nitro (**Espectro 32, página 101**). O espectro de RMN ^1H , apesar de não apresentar o hidrogênio ácido, apresentou os singletos dos hidrogênios isolados do anel aromático em δ 7,46 e 6,89 ppm. O restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de **52g** (**Espectro 31, página 100**). O espectro de massas mostrou, além do pico do íon molecular e pico base ($m/z = 239$ e 176 u.m.a respectivamente), fragmentos

característicos para o ácido **52g** (**Espectro 30, página 100**). O **Esquema 26** mostra uma proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxil-6-nitrodihidrocinâmico **52g**.



Esquema 26. Proposta de fragmentação para o ácido 3,4-metilenodioxil-6-nitrodihidrocinâmico **52g**.

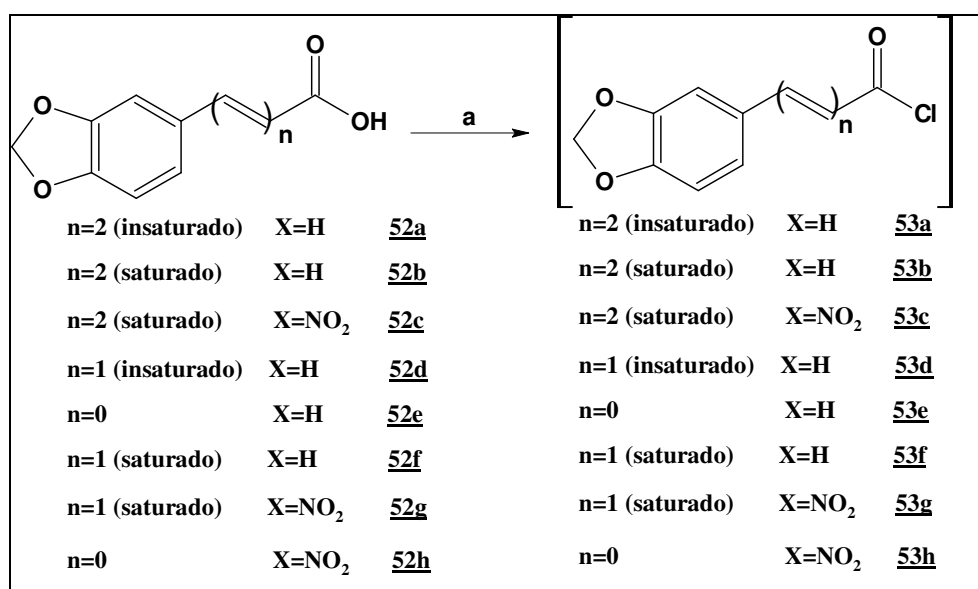
O ácido 3,4-metilenodioxil-6-nitropiperonílico **52h**, após purificação, apresentou-se como um sólido amarelo cristalino e ponto de fusão 164-166°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga, em 3425 cm^{-1} , devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico. Observou-se ainda a absorção em 1712 cm^{-1} , característica da carbonila de ácido não conjugado (**Espectro 37, página 106**). No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal a δ 165 ppm, referente ao carbono da carbonila e outro a δ 144 ppm, referente ao carbono ligado ao grupo nitro (**Espectro 40, página 107**). O espectro de RMN 1H , apesar de não apresentar o hidrogênio ácido, apresentou os simpletos dos hidrogênios isolados do anel aromático em δ 7,25 e 7,47 ppm. O restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de **52h** (**Espectro 39, página 106**). O espectro de massas mostrou o pico do íon molecular acrescido de uma unidade de massa atômica (m/z 212), confirmando a estrutura do ácido **52h** (**Espectro 38, página 106**). O **Esquema 27** mostra a formação deste pico-base.



Esquema 27. Proposta de formação do pico-base para o ácido 3,4-metilenodioxo- 6-nitroindol-2-carboxílico **52h**.

3.5. Síntese dos cloretos de ácido 53.

Para a síntese dos novos 1,2,4-oxadiazóis (55 a 62), a passagem pelos cloretos de ácido 52 a 53 (cloreto de acila) foi comum (**Esquema 28**). A formação dos cloretos de ácido teve como objetivo obter intermediários mais reativos frente à reação de substituição nucleofílica acílica, que dará origem aos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos.

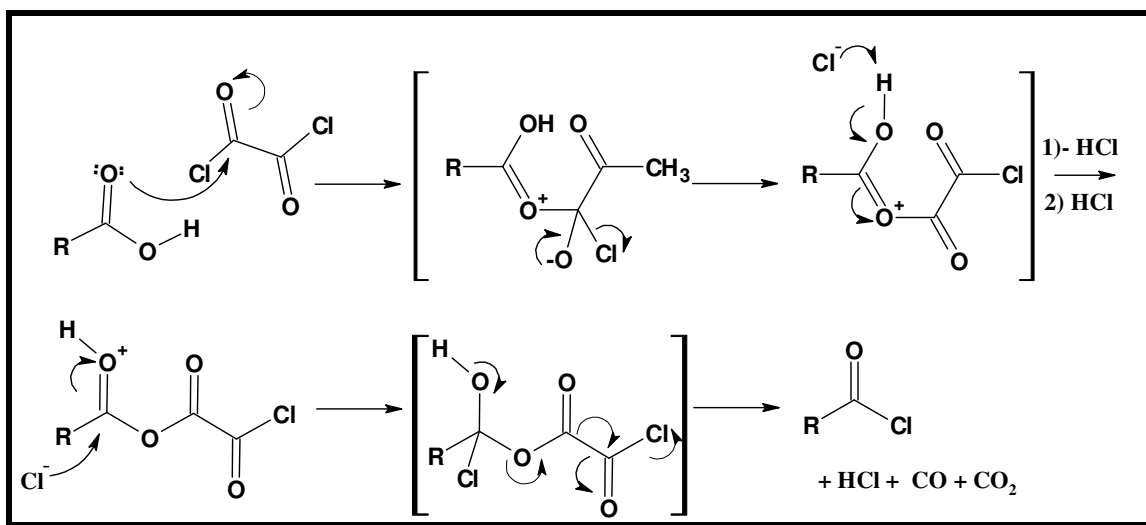


Reagente: a) (COCl)₂, t.a., 1-2h

Esquema 28. Síntese dos cloretos de acila.

Os cloretos de tionila (SOCl₂) e oxalila (COCl)₂ são usualmente os reagentes de escolha para a síntese de cloretos de acila. Apresentam a vantagem de formarem subprodutos gasosos (SO₂, CO, CO₂) que não contaminam o produto (March, 1985). Apesar de apresentarem comportamento reacional semelhante, as condições reacionais são distintas: para utilizar o cloreto de tionila o refluxo é necessário, já com cloreto de oxalila a reação se passa à temperatura ambiente. Por haver disponibilidade do cloreto de oxalila, este foi utilizado na preparação dos cloretos de ácidos. Por apresentar alta reatividade os cloretos de ácido sintetizados não foram quantificados ou purificados por nenhuma técnica, foram todos considerados puros pelo acompanhamento por CCF (pela formação do éster metílico, pela reação instantânea com metanol) e utilizados logo em seguida, após remoção do excesso de cloreto de oxalila em evaporador rotatório.

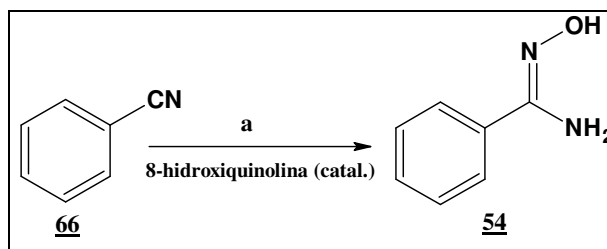
No **Esquema 29**, encontra-se descrita uma proposta para o mecanismo de formação dos cloretos de acila pela reação dos respectivos ácidos com cloreto de oxalila.



Esquema 29. Proposta mecanística para formação dos cloretos de acila utilizando cloreto de oxalila. (March, 1985)

3.6. Síntese da benzamidoxima **54**.

O precursor para a obtenção da benzamidoxima **54** desejada é a benzonitrila **66**, um reagente comercial facilmente acessível. A reação da benzonitrila com cloridrato de hidroxilamina, em presença de NaCO_3 e 8-hidroxiquinolina como catalisador (Cottrell *et al.*, 2004) (**Esquema 30**), nos fornece a benzamidoxima **54** em forma de um sólido marrom, com ponto de fusão igual a 76°C . O rendimento para essa reação gira em torno de 95%, o que nos permite obtê-la em escalas multigramas.

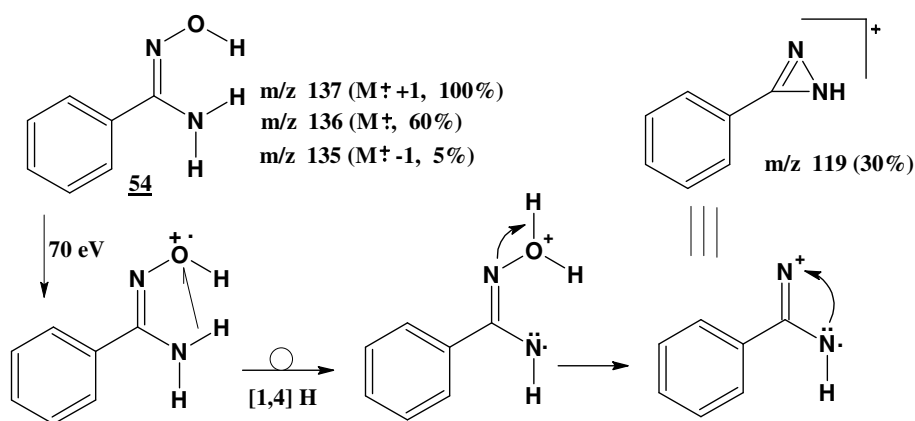


Reagentes: a) $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ e NaCO_3

Esquema 30. Nitração do anel aromático.

No espectro de infravermelho observamos uma absorção em 3373 cm^{-1} , o que caracteriza a presença do grupo funcional oxima. Em 1645 cm^{-1} , temos uma banda correspondente a uma deformação angular simétrica no plano de N-H (**Espectro 41, página 108**).

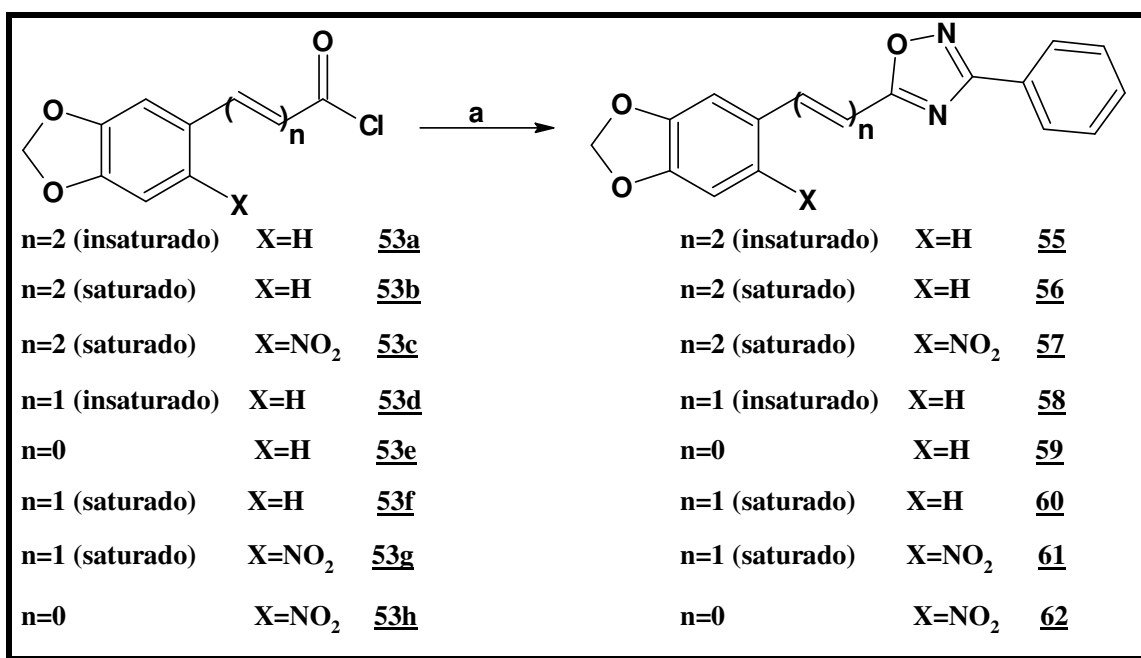
No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal a $\delta\ 154\text{ ppm}$, referente ao carbono sete imídico e outro a $\delta\ 132\text{ ppm}$, referente ao carbono *ipso* (**Espectro 44, página 109**). O espectro de RMN ^1H apresentou os singletos dos hidrogênios ligados ao oxigênio e nitrogênio, respectivamente em $\delta\ 8,24$ e $5,00\text{ ppm}$. O restante dos sinais foram totalmente compatíveis com a estrutura de **54** (**Espectro 43, página 109**), cuja caracterização e estudos espectroscópicos já havia sido publicado pelo grupo de Srivastava em 1996. Já no espectro de massa (**Espectro 42, página 109**), observou-se o pico do íon molecular ($m/z = 136\text{ u.m.a.}$ com 60% de abundância relativa), além do fragmento $m/z=119\text{ u.m.a.}$ com 30% de abundância relativa. A proposta de fragmentação encontra-se descrita no **Esquema 31**.



Esquema 31. Proposta de fragmentação para a benzamidoxima **54**.

3.7. Síntese dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos 55 a 62.

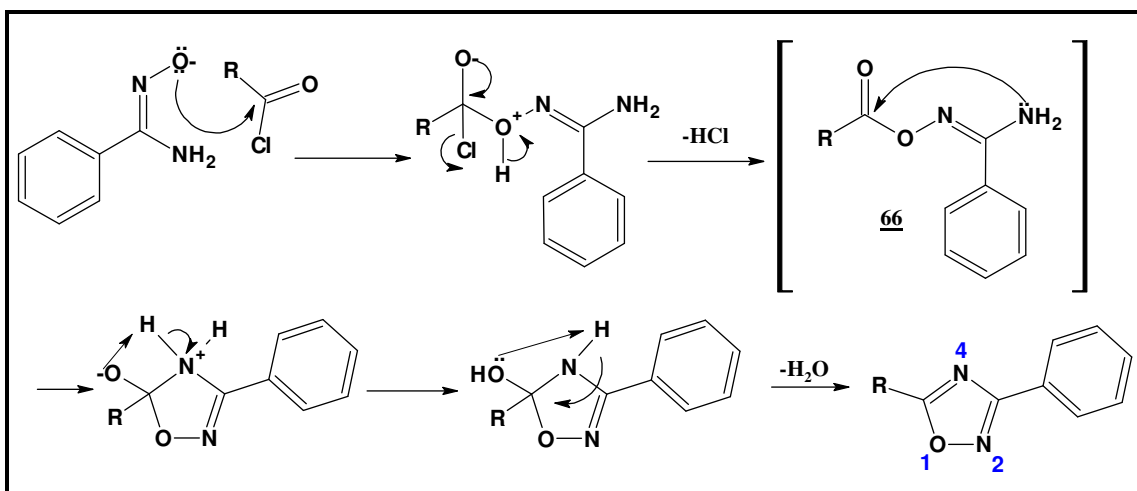
Esses derivados finais foram preparados através de uma reação de substituição nucleofílica acíclica dos respectivos cloretos de acila (53a a 53h) com a benzamidoxima 54, ambos descritos acima. A metodologia foi adaptada do trabalho de Chiou&Shine (1989), sendo piridina o solvente utilizado na reação e também desenvolvendo a função de base, abstraindo um próton do benzamidoxima 54, tornando esta mais nucleofílica para atacar o respectivo cloreto de ácido (53a a 53h) (**Esquema 31**).



Reagentes: a) Benzamidoxima 54, piridina, refluxo, 4-6h.

Esquema 31. Preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos a partir do cloreto de ácido.

A proposta mecanística para a formação desses novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos encontra-se descrita, de forma genérica, no **Esquema 32** (Ooi&Wilson, 1980).



Esquema 32. Proposta mecanística para formação dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos (Ooi&Wilson, 1980).

Para corroborar a formação do intermediário *O*-acilado **66** mostrado na proposta mecanística (**Esquema 30, página 53**), elegeu-se o derivado direto da piperina com cinco carbonos na cadeia lateral e duas insaturações, para isolar e caracterizar. Este derivado foi obtido na forma de cristais amorfos de cor amarelo, e seu ponto de fusão foi 164-166°C (**vide experimental na página 136**). Para determinar sua caracterização utilizou-se apenas a técnica de RMN. No espectro de RMN ^{13}C observou-se um sinal a δ 156 ppm, referente a absorção do carbono três do núcleo oxadiazólico, e ainda um outro sinal a δ 164 ppm, referente a absorção do carbono cinco, também do núcleo oxadiazólico (**Espectro 78, página 137**). No espectro de RMN ^1H observou-se um simpleto δ 7,02 ppm, referente ao hidrogênio da porção NH_2 da molécula, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **53** (**Espectro 77, página 136**).

Para a síntese dos oito novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos, o procedimento experimental adotado foi basicamente o mesmo. Houve porém algumas peculiaridades nos procedimentos experimentais, como por exemplo, na etapa final de adição de água ao meio reacional para conseqüente precipitação do produto final, sendo este posteriormente filtrado à vácuo. Apenas para o derivado **61** essa precipitação não ocorreu, sendo então o meio reacional devidamente tratado, afim de eliminar a piridina residual (**vide experimental página 130**).

Outro detalhe é em relação ao derivado piperínico saturado **56**, que foi obtido através da redução catalítica de **55** (**vide experimental na página 112**), enquanto que o derivado cinâmico saturado **60** não seguiu o mesmo comportamento. O perfil cromatográfico do produto da redução catalítica de **58** não foi equivalente ao esperado para **60**, sendo este derivado então preparado a partir do ácido **52f** (**vide experimental na pág. 115**). A tabela abaixo mostra o rendimento global de cada derivado 1,2,4-oxadiazólico sintetizado, e seu respectivo precursor (**Tabela 6**).

Tabela 6. Rendimentos globais na síntese dos novos derivados 1,2,4-oxadiazóis.

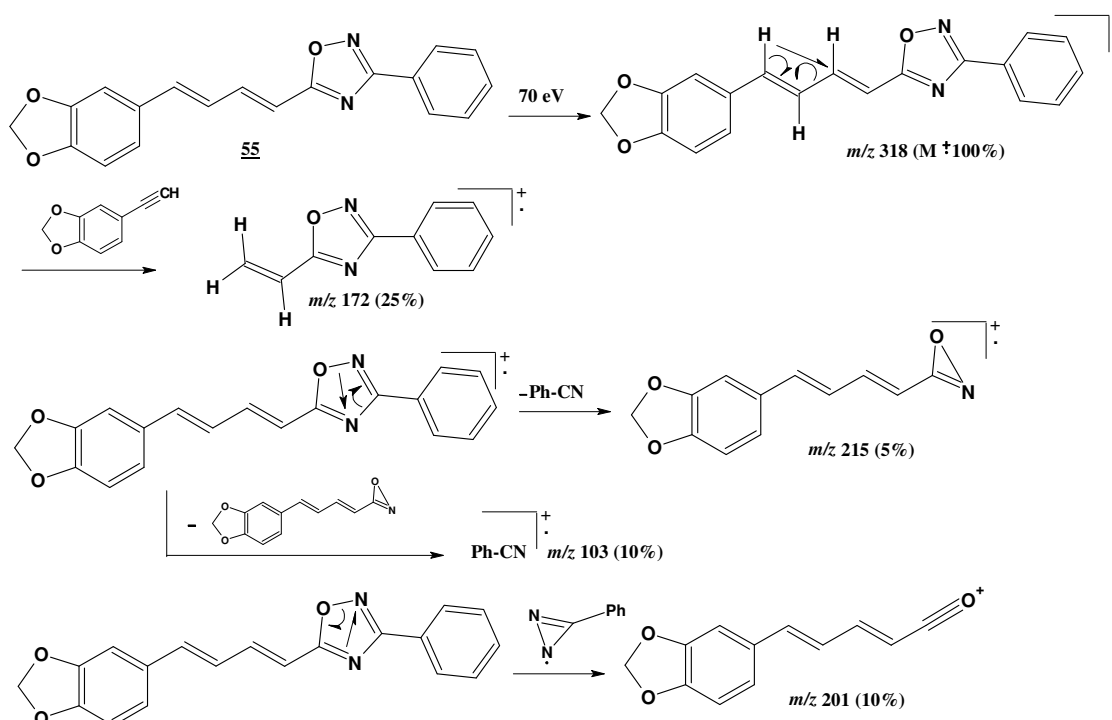
Derivado 1,2,4-oxadiazólico	Precursor	Rendimento
55	52a	78%
56	55	92%
57	52c	35%
58	52d	83%
59	52e	43%
60	52f	45%
61	52g	45%
62	52h	63%

Como o núcleo 1,2,4-oxadiazólico está presente em todos os derivados **55** à **62**, os espectros de IV, RMN ^1H e ^{13}C apresentaram-se bem semelhantes (**Tabela 7, 8 e 9, páginas 66 e 67**, respectivamente), salvo para as modificações da cadeia lateral. Já na espectrometria de massas, todos os derivados 1,2,4-oxadiazólicos apresentaram o pico do íon molecular, sendo em alguns casos em que este vinha somado ou subtraído de uma unidade de massa atômica, devido ao efeito “íon-trap” (Watson, 1994).

Além disso, algumas fragmentações características já descritas na literatura com moléculas contendo esse núcleo 1,2,4-oxadiazólico também foram observadas nos oito novos derivados **55** à **62** sintetizados (Srivastava, 2003).

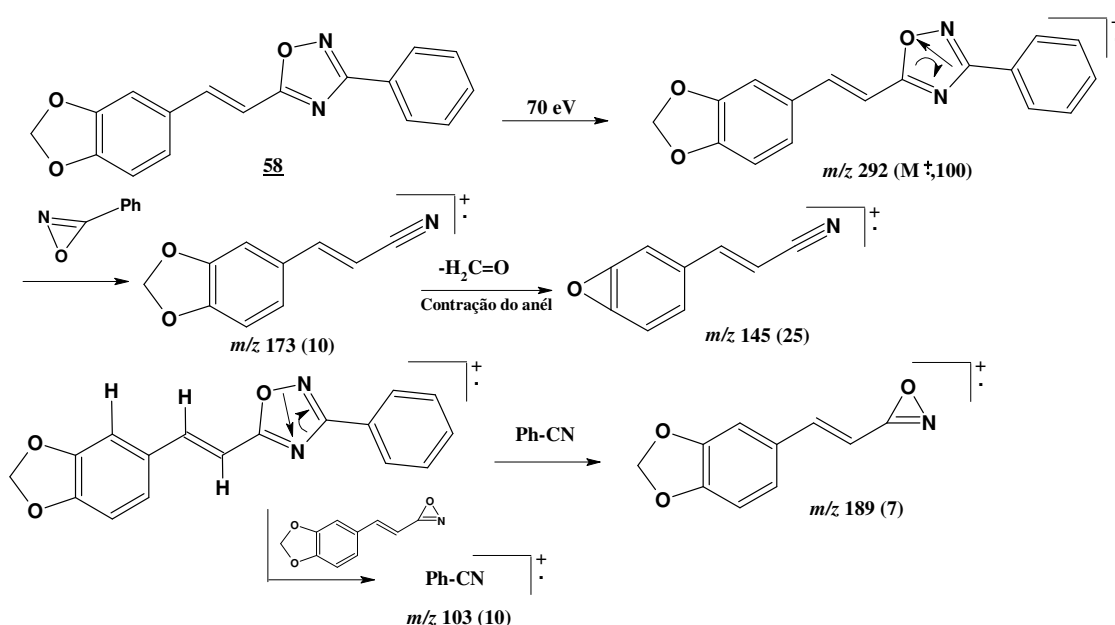
A atribuição dos dados espectroscópicos (IV, RMN ^1H e ^{13}C) foi realizada por comparação de dados presentes na literatura (Chiou&Shine, 1989)(Jakopin *et al.*, 2007)(Bora & Farooqui., 2007).

O derivado **55** (vide experimental na página 112) foi obtido na forma de um sólido amarelo amorfo e apresentou ponto de fusão 153°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda entre 1526 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N do heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 931 cm⁻¹, referente a ligação N-O também presente no heterociclo, e outra banda dupla, em 734/649 cm⁻¹, devido à deformação angular da ligação C-H referente aos cinco hidrogênios vizinho presente no substituinte fenila (**Espectro 45, página 112**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 175 ppm, referente ao deslocamento do carbono cinco do núcleo 1,2,4-oxadiazólico (**Espectro 48, página 113**). No espectro de RMN ¹H observou-se um duplete δ 6,47 ppm, referente ao hidrogênio alfa ao anel oxadiazólico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **55** (**Espectro 47, página 113**). O espectro de massas apresentou o pico do íon molecular (m/z 318 u.m.a), e M+1 (m/z 319 u.m.a), além de alguns fragmentos característicos para o **55** (**Espectro 46, página 113**). O Esquema 33 mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **55**.



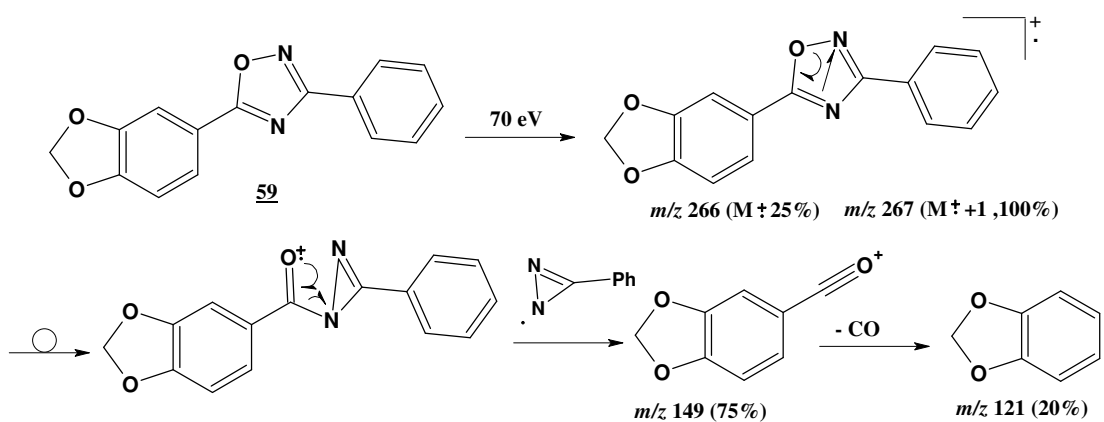
Esquema 33. Proposta de fragmentação para o derivado **55**.

O derivado **58** (vide experimental na página 115) foi obtido na forma de agulhas de cor castanho claro, apresentando ponto de fusão 151°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda entre 1540 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N do heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 927 cm⁻¹, referente à ligação N-O também presente no heterociclo, e outra banda dupla, em 740/682 cm⁻¹, devido à deformação angular da ligação C-H referente aos cinco hidrogênios vizinho presente no substituinte fenila (**Espectro 49, página 115**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente a absorção de um referente ao carbono três do núcleo oxadiazólico (**Espectro 52, página 116**). No espectro de RMN ¹H observou-se um duplete δ 7,80 ppm, referente ao hidrogênio alfa ao anel oxadiazólico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **58** (**Espectro 51, página 116**). O espectro de massas apresentou, além do pico do íon molecular (m/z = 292 u.m.a.), M+1 (m/z = 293), M-1 (m/z = 291), além de alguns fragmentos característicos para a estrutura de **58** (**Espectro 50, página 116**). O Esquema 34 mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **58**.



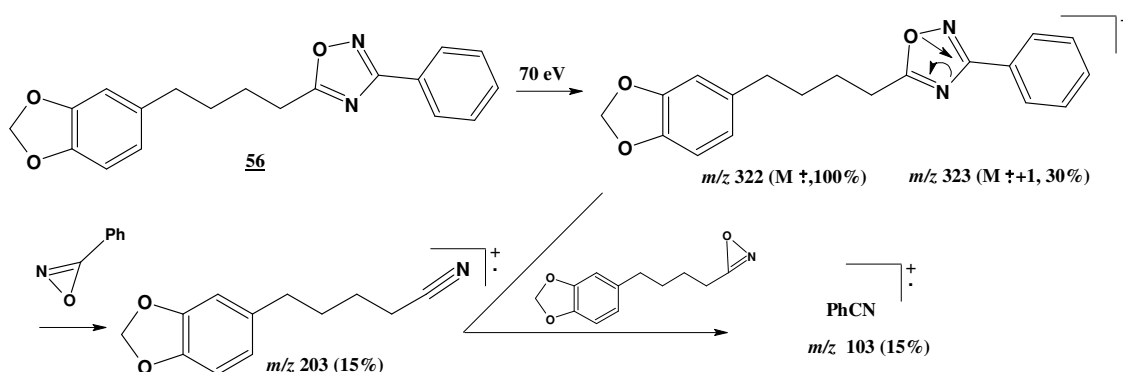
Esquema 34. Proposta de fragmentação para o derivado **58**.

Já o derivado **59** (vide experimental na página 118) obtido na forma de agulhas de cor creme, apresentou ponto de fusão 149°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga entre 1266 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C-O do grupo metilenodioxi.. Observou-se ainda uma pequena absorção em 927 cm⁻¹, referente a ligação N-O presente no heterociclo, e outra banda dupla, em 744/686 cm⁻¹, devido à deformação angular da ligação C-H referente aos cinco hidrogênios vizinhos, presentes no substituinte fenila (**Espectro 53, página 118**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente à absorção de um referente ao carbono três do núcleo oxadiazólico (**Espectro 56, página 119**). No espectro de RMN ¹H observou-se um multiplete δ 8,17 ppm, referente aos hidrogênio *orto* do anel aromático substituinte na posição três do anel 1,2,4-oxadiazólico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **59** (**Espectro 54, página 119**). O espectro de massas apresentou, além do pico do íon molecular (m/z = 266 u.m.a.), M+1 (m/z = 267), alguns fragmentos característicos para a estrutura de **59** (**Espectro 55, página 119**). O Esquema 35 mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **59**.



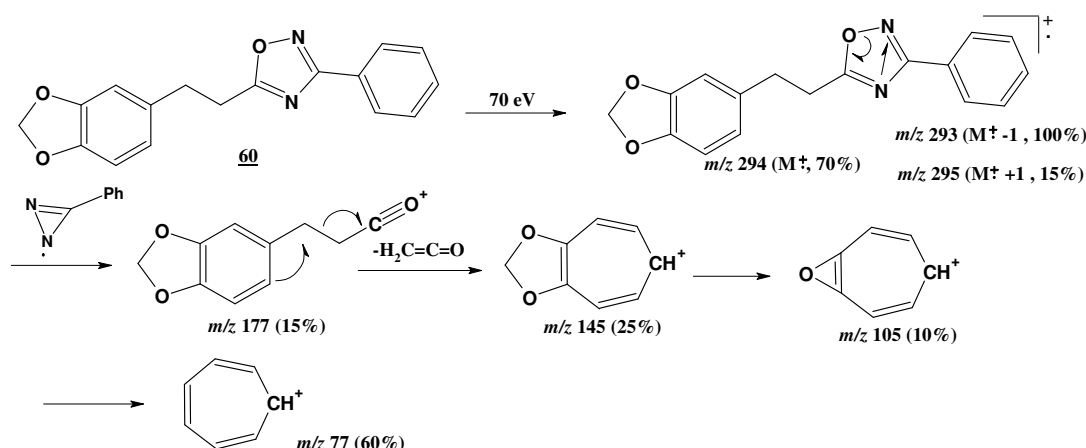
Esquema 35. Proposta de fragmentação para o derivado **59**.

O derivado **56** (vide experimental na página 121) foi obtido na forma de agulhas amarelas, apresentou ponto de fusão 71°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda em 1241 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C-O do grupo metilenodioxí. Observou-se ainda uma pequena absorção em 941 cm⁻¹, referente à ligação N-O também presente no heterociclo, e outra banda dupla, em 725/696 cm⁻¹, devido à deformação angular da ligação C-H referente aos cinco hidrogênios vizinho presente no substituinte fenila (**Espectro 57, página 122**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente a absorção do carbono três do núcleo oxadiazólico (**Espectro 60, página 123**). No espectro de RMN ¹H observou-se um multiplete δ 8,17 ppm, referente aos hidrogênio *orto* do grupamento fenila presente na posição três do anel 1,2,4-oxadiazólico, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **56** (**Espectro 59, página 122**). O espectro de massas apresentou, além do pico do íon molecular (m/z = 322 u.m.a.), M+1 (m/z = 323 u.m.a.), outros fragmentos característicos para o derivado **56** (**Espectro 58, página 122**). O **Esquema 36** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **56**.



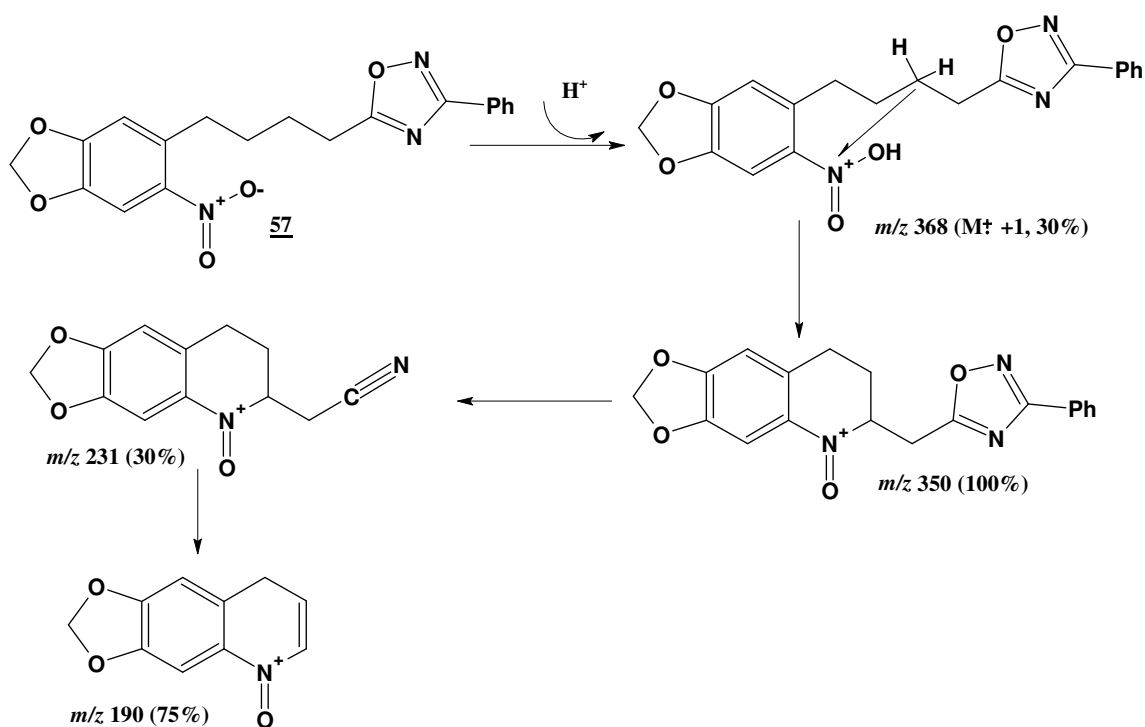
Esquema 36. Proposta de fragmentação para o derivado **56**.

Já o derivado **60** (vide experimental na página 124) foi obtido na forma de um sólido amorfo de coloração creme, com ponto de fusão 94°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda larga entre 1569 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N do heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 925 cm⁻¹, referente à ligação N-O presente no heterociclo, e outra banda dupla, em 717/692 cm⁻¹, devido à deformação angular da ligação C-H referente aos cinco hidrogênios vicinais, presente no substituinte fenila (**Espectro 61, página 124**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 178 ppm, referente a absorção do carbono cinco do núcleo oxadiazólico (**Espectro 64, página 125**). No espectro de RMN ¹H observou-se dois tripletos, um em δ 3,11 ppm, e outro em δ 3,20 ppm, ambos referentes aos hidrogênios metilênicos da cadeia lateral, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **60** (**Espectro 63, página 125**). O espectro de massas apresentou, além do pico do íon molecular (m/z = 294 u.m.a.), M+1 (m/z = 295), M-1 (m/z = 293 u.m.a), outros fragmentos característicos para a estrutura de **60** (**Espectro 62, página 125**). O **Esquema 37** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **60**.



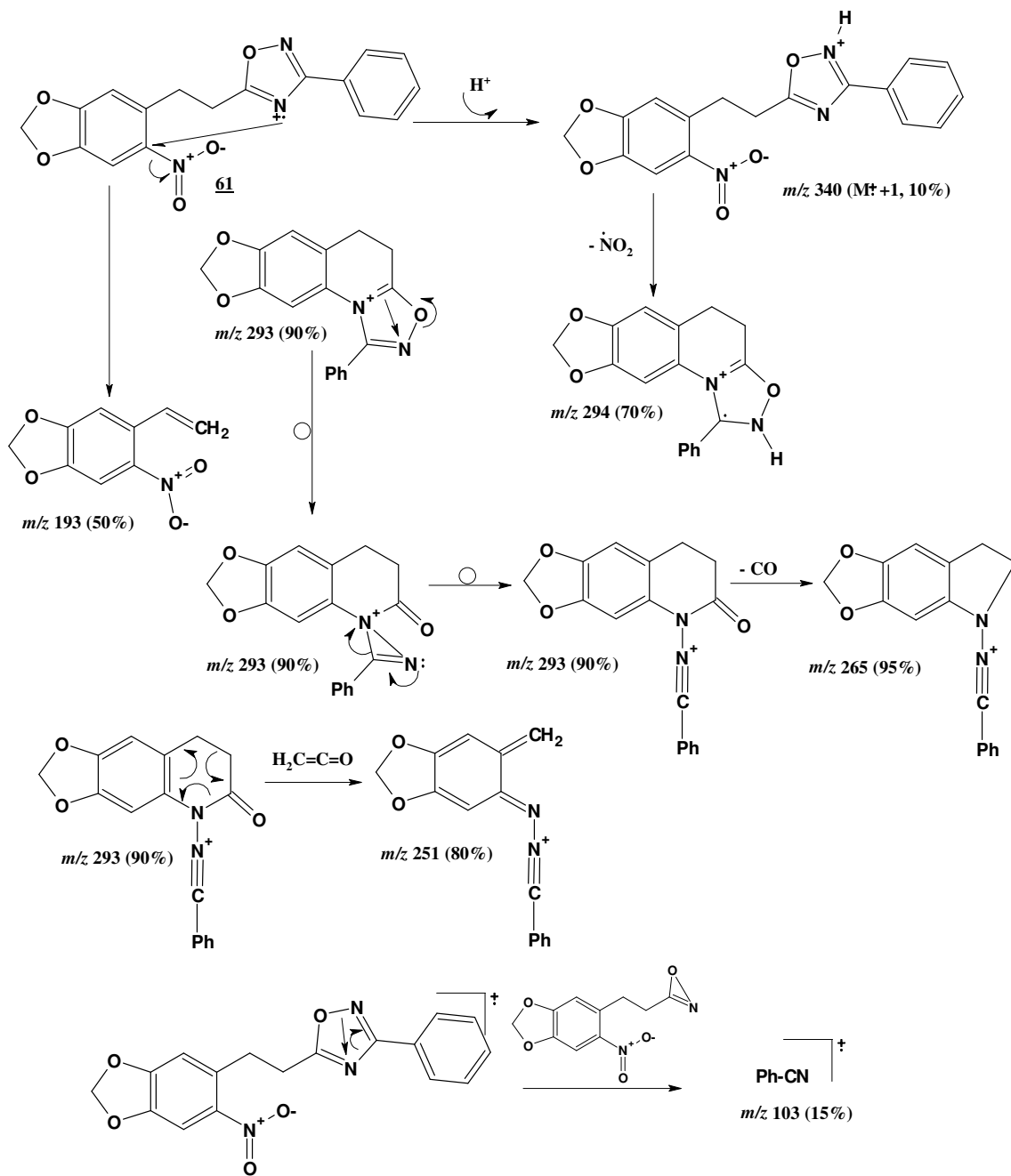
Esquema 37. Proposta de fragmentação para o derivado **60**.

O derivado **57** (vide experimental na página 127) foi obtido na forma de agulhas de cor castanho claro, com ponto de fusão 89°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda em 1521 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N presente no heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 933 cm⁻¹, referente à ligação N-O também presente no heterociclo, e uma banda em 1326 cm⁻¹, devido à vibração simétrica da ligação C-NO₂ (**Espectro 65, página 127**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente à absorção de um referente ao carbono três do núcleo oxadiazólico (**Espectro 68, página 128**). No espectro de RMN ¹H observou-se um simpleto δ 6,73 ppm referente ao hidrogênio dois do anel aromático, e outro simpleto em δ 7,49 ppm referente ao hidrogênio cinco deste, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **57** (**Espectro 67, página 128**). O espectro de massas apresentou, além do pico do íon molecular (m/z = 322 u.m.a.), M+1 (m/z = 323 u.m.a.), outros fragmentos característicos para a estrutura de **57** (**Espectro 66, página 128**). O **Esquema 38** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **57**.



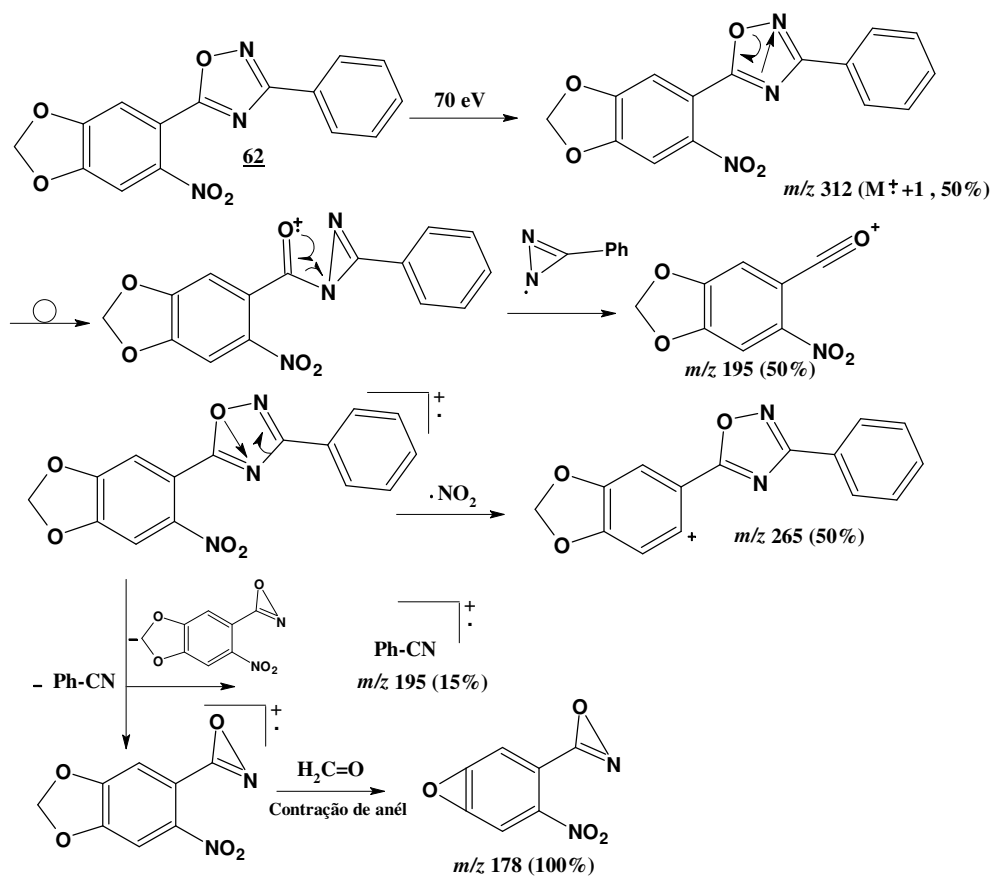
Esquema 38. Proposta de fragmentação para o derivado **57**.

O derivado **61** (**vide experimental na página 130**) foi obtido na forma de agulhas de cor castanho, com ponto de fusão 118°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda em 1517 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N presente no heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 925 cm⁻¹, referente à ligação N-O também presente no heterociclo, e uma banda em 1328 cm⁻¹, devido à vibração simétrica da ligação C-NO₂ (**Espectro 69, página 131**). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente a absorção do carbono três do núcleo oxadiazólico (**Espectro 72, página 132**). No espectro de RMN ¹H observou-se um simpleto δ 7,48 ppm, referente ao hidrogênio cinco do anel aromático, e outro simpleto em δ 6,71 ppm referente ao hidrogênio dois do mesmo, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **61** (**Espectro 71, página 131**). O espectro de massas não apresentou o pico do íon molecular, mas sim este acrescido de uma unidade de massa atômica ($m/z = 368$ u.m.a), além de alguns fragmentos característicos para a estrutura de **61** (**Espectro 70, página 131**). O **Esquema 39** mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **61**.



Esquema 39. Proposta de fragmentação para o derivado **61**.

O derivado **62** (vide experimental na página 133) foi obtido na forma de agulhas de cor creme, com ponto de fusão 172°C. No espectro de infravermelho observou-se uma banda em 1504 cm⁻¹, devido ao estiramento da ligação C=N presente no heterociclo. Observou-se ainda uma pequena absorção em 923 cm⁻¹, referente a ligação N-O também presente no heterociclo, e uma banda em 1382 cm⁻¹, devido à vibração simétrica da ligação C-NO₂ (Espectro 73, página 134). No espectro de RMN ¹³C observou-se um sinal a δ 168 ppm, referente a absorção de um referente ao carbono três do núcleo oxadiazólico (Espectro 76, página 135). No espectro de RMN ¹H observou-se um simpleto δ 7,51 ppm, referente ao hidrogênio dois do anel aromático, e outro simpleto em δ 7,74 ppm referente ao hidrogênio cinco do mesmo, além de outros sinais compatíveis com a estrutura de **62** (Espectro 75, página 134). O espectro de massas não apresentou o pico do íon molecular, mas sim este acrescido de uma unidade de massa atômica ($m/z = 312$ u.m.a), além de alguns fragmentos característicos para a estrutura de **62** (Espectro 74, página 134). O Esquema 40 mostra uma proposta de fragmentação para o derivado **62**.



Esquema 40. Proposta de fragmentação para o derivado **62**.

Tabela 7. Algumas absorções na região do infravermelho (IV) dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos **55** a **62**.

Ligação estirada ou deformada	IV (cm ⁻¹)							
	55	56	57	58	59	60	61	62
C-H _(Arom.)	3066	3070	3064	3070	3052	3066	3074	3068
C=C	1504	1517	1521	1502	1492	1504	1573	1535
C=N	1562	1596	1571	1540	1575	1569	1517	1504
C-O	1249	1241	1249	1253	1266	1247	1251	1251
C-O	1039	1039	1033	1035	1034	1039	1037	1029
N-O	931	941	933	927	937	925	925	923
Ar-H _(5H viz.)	734/649	752/696	715/688	740/692	744/686	717/692	728/696	759/698
Ar-NO ₂	1326	1328	1382

Tabela 8. Deslocamentos químicos de RMN ¹H dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos **55** a **62**.

H	δH (ppm)							
	55	56	57	58	59	60	61	62
2	6,94	6,69	6,73	7,13	7,65	6,72	6,71	7,51
5	6,8	6,74	7,49	6,87	6,97	6,73	7,48	7,74
6	6,86	6,64	7,1	7,82	6,68
α	6,47	2,97	3,01	7,8	3,2	3,38
β	7,52	1,72	1,79	6,91	3,11	3,28
γ	6,73	1,91	1,99
δ	6,73	2,62	2,94
2''	8,03	8,08	8,08	8,13	8,17	8,06	8,01	8,13
3''	7,41	7,49	7,49	7,51	7,52	7,47	7,42	7,62
4''	7,41	7,49	7,49	7,51	7,52	7,47	7,42	7,62
OCH₂O	5,92	5,93	6,09	6,05	6,11	5,92	6,02	6,44

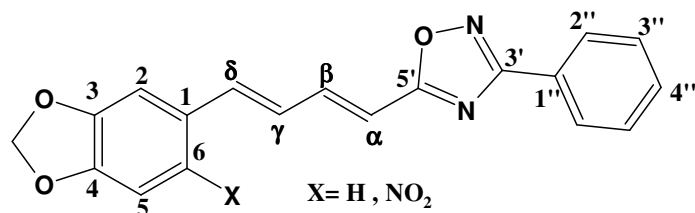
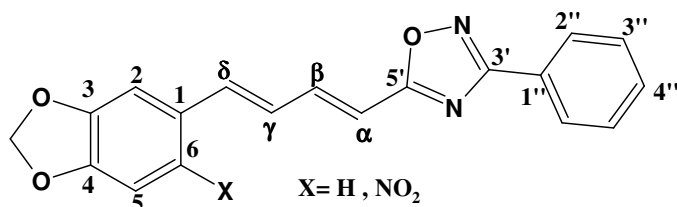


Tabela 9. Deslocamentos químicos de RMN ¹H dos derivados 1,2,4-oxadiazólicos obtidos 55 a 62.

C	δC (ppm)							
	<u>55</u>	<u>56</u>	<u>57</u>	<u>58</u>	<u>59</u>	<u>60</u>	<u>61</u>	<u>62</u>
1	131,11	131,12	131,13	131,12	131,15	133,15	131,77	131,49
2	105,93	108,81	105,79	108,72	108,89	108,72	106,08	105,91
3	148,79	147,61	146,42	149,87	151,49	147,79	147,16	150,84
4	148,37	145,68	142,71	148,56	148,31	146,29	142,88	144,03
5	108,63	108,16	110,41	108,91	108,06	108,41	110,81	109,96
6	130,45	121,13	151,72	128,85	118,17	124,49	152,01	151,37
α	121,16	35,11	33,43	106,21	32,39	30,98
β	142,96	26,25	26,38	142,36	28,85	27,52
γ	140,51	30,96	30,05
δ	124,85	26,09	26,38
3'	168,24	168,28	168,29	168,63	168,83	168,26	168,33	168,92
5'	175,35	179,74	179,61	175,43	175,35	178,91	178,51	172,69
1''	123,24	135,56	134,24	124,53	123,77	131,11	131,22	114,86
2''	128,84	128,85	128,85	128,9	128,83	128,83	128,89	128,94
3''	127,44	127,41	127,42	127,44	127,5	127,39	127,43	127,59
4''	127,04	126,92	126,89	127,01	127,03	126,83	126,77	126,37
OCH₂O	101,49	100,79	102,81	101,71	102,02	100,94	103,03	104,02



3.8. Avaliações biológicas: Atividade tripanocida.

A avaliação da atividade tóxica dos novos derivados preparados neste trabalho contra formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* foi realizada em colaboração com o Laboratório de Imunoparasitologia do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho da UFRJ, sob a coordenação dos professores Célio Freire de Lima e Débora Decoté-Ricardo. A **Figura 31** mostra as moléculas sintetizadas e testadas contra epimastigotas do *T. cruzi*.

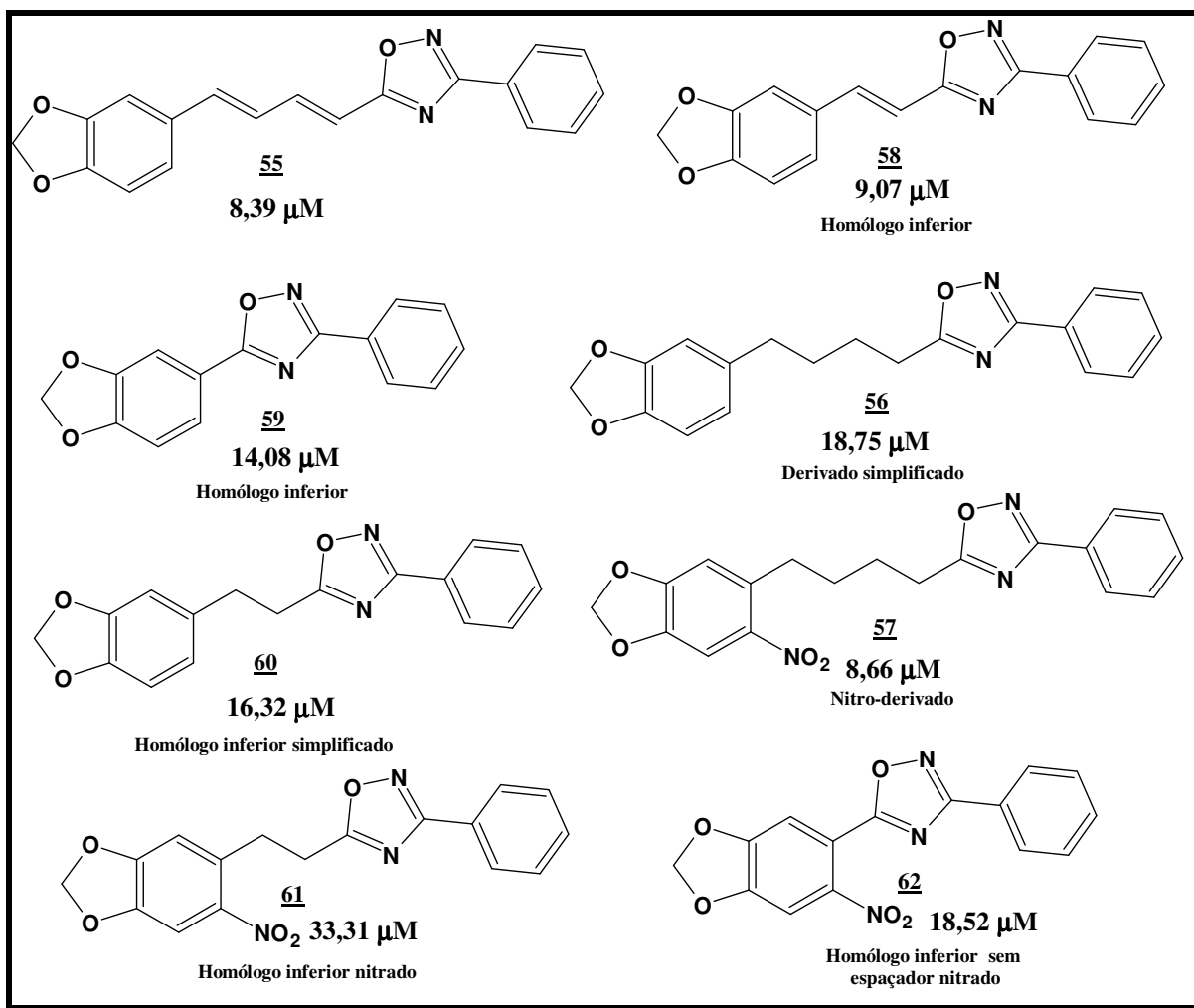


Figura 30. Estruturas dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos testados contra epimastigotas do *T. cruzi*.

Na **Tabela 30** encontram-se descritos os resultados obtidos no ensaio contra epimastigotas de *T. cruzi*. Cada um dos oito novos oxadiazóis preparados (**55-62**) foram avaliados segundo o protocolo descrito na parte experimental deste trabalho (**página 136**), tendo como controle negativo os parasitos em meio de cultura em presença de 0,005% de DMSO (veículo usado para solubilização das substâncias). A piperina, que já havia sido avaliada em trabalhos anteriores (Ribeiro *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2008), apresentando elevado efeito antiparasitário, foi usada como padrão positivo no referido ensaio, além do benzonidazol, fármaco utilizado no tratamento da doença de Chagas.

Tabela 30. Valores de IC₅₀ para os novos derivados contra epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*.

Moléculas	IC₅₀(μM)
Piperina <u>1</u>	2,45
Benzonidazol	2,86
<u>55</u>	8,39
<u>56</u>	9,07
<u>57</u>	14,06
<u>58</u>	18,75
<u>59</u>	16,32
<u>60</u>	8,66
<u>61</u>	33,31
<u>62</u>	18,52

A análise dos dados obtidos demonstram que a atividade antiparasitária foi mantida na nova série oxadiazólica, confirmando a relação bioisostérica entre a função amida terciária, presente no produto natural, e o núcleo heterocíclico, embora nenhum dos derivados sintetizados tenha apresentado maior potência inibitória que a piperina **1**. Uma observação interessante, obtida da análise dos dados da **Tabela 30**, envolveu a elevada atividade do derivado 1,2,4-oxadiazólico-cinâmico **58**, que contrastou com os resultados obtidos anteriormente no trabalho realizado por Ribeiro e colaboradores (2004), no qual a amida cinâmica foi inativa frente a epimastigotas de *T. cruzi* (**Figura 32**).

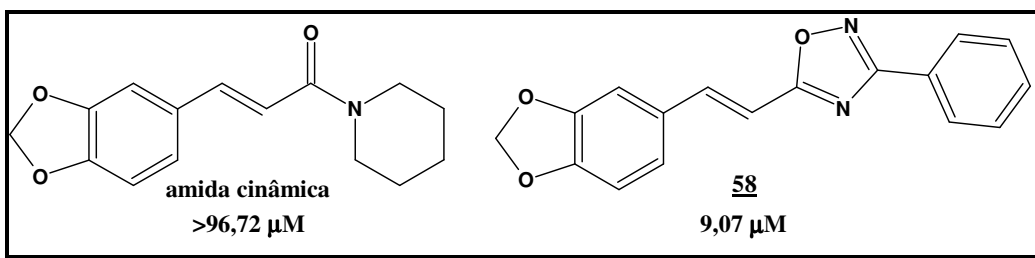


Figura 31. Atividade epimastigota da amida cinâmica e do derivado **58**.

Apesar das investigações sobre os prováveis mecanismos de ação que justifiquem a atividade observada para a piperina terem evidenciado que a mesma interfere na citocinese (Freire-de-Lima *et al.*, 2008), além de inibir as duas isoformas da malato-desidrogenase do parasito (MDH₁ e MDH₂), até o momento ainda não temos definição sobre o receptor responsável por estes efeitos (ou receptores). As observações realizadas neste trabalho sugerem que os oxadiazóis obtidos possam se ligar ao(s) mesmo(s) receptor(es) da piperina na célula do parasito.

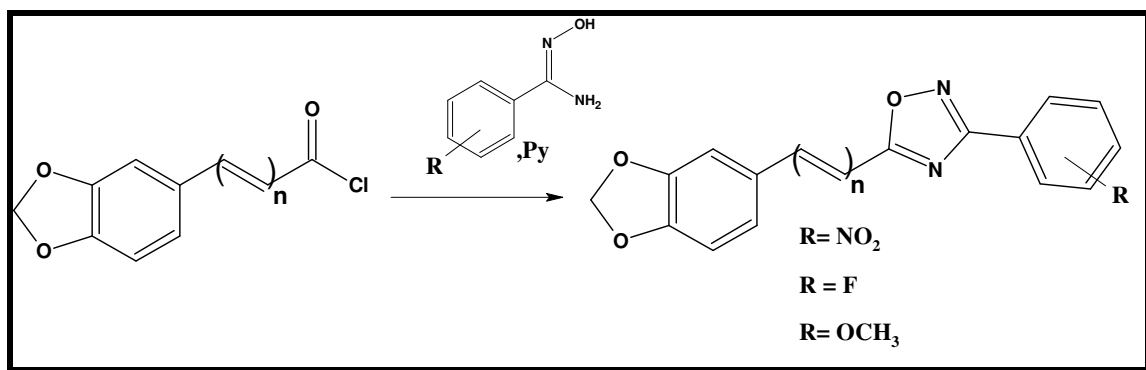
Outra informação que podemos obter a partir dos dados da **Tabela 30** é que a nitração do anel aromático (que gerou os derivados **57**, **61** e **62**) não resultaram em elevação significativa da atividade tripanocida para o derivado **46**, além disso dois derivados nitrados (**61** e **62**, **Tabela 30**) apresentaram diminuição da atividade, quando comparados aos seus correspondentes não nitrados (**56** e **59**, **Tabela 30**). Estes resultados sugerem que o grupo nitro, diferentemente do que acontece no caso do fármaco benzonidazol (Urbina & DoCampo, 2003), não é farmacofórico para a atividade antiparasitária das moléculas avaliadas neste trabalho, frente a epimastigota do *T. cruzi*.

Os derivados obtidos encontram-se em avaliação quanto às suas toxicidades contra linhagens de células de mamíferos (macrófagos, músculo liso e neurônios). As moléculas que apresentarem maior seletividade serão também avaliadas frente a amastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi*. As substâncias com melhor perfil de atividade serão posteriormente encaminhadas para avaliações *in vivo*.

4. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

- Os resultados obtidos demonstram o potencial da piperina **1** como precursor, aplicável ao desenvolvimento de uma nova família de moléculas candidatas a fármacos, úteis no tratamento da doença de Chagas. A abundância do produto natural no material vegetal, bem como a facilidade da sua extração e manipulações sintéticas possíveis, são pontos relevantes em relação à esta amida natural.
- A metodologia sintética preconizada se mostrou aplicável à preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos (**55** a **62**), e os produtos finais obtidos, bem como seus precursores, foram devidamente caracterizados através dos métodos convencionais de análise.
- Os oito derivados 1,2,4-oxadiazólicos preparados neste trabalho foram planejados com o objetivo de realizarmos um estudo sobre a relação existente entre a estrutura química e a atividade biológica (*REA*) para esta classe de compostos. Observamos para o derivado **55** um perfil estrutural ótimo quanto à atividade tripanocida.
- As investigações sobre possíveis mecanismos de ação de sobre o *Trypanosoma cruzi* encontram-se em andamento, em colaboração ao Laboratório de Imunoparasitologia do IBCCF-UFRJ.
- Os derivados finais obtidos (**55** a **62**) encontram-se em avaliação quanto às suas toxicidades contra linhagens de células de mamíferos (macrófagos, músculo liso e neurônios). As moléculas que apresentarem maior seletividade serão também avaliadas frente a amastigotas e tripomastigotas de *T. cruzi*. As substâncias com melhor perfil de atividade serão posteriormente encaminhadas para avaliações *in vivo*.

- A seqüência sintética desenvolvida neste trabalho permitirá a preparação de uma nova série de derivados 1,2,4-oxadiazólicos substituídos no anel aromático adjacente ao heterociclo, variando a natureza do substituinte (grupos doadores e retiradores de elétrons do anel) (**Esquema 41**).



Esquema 41. Estratégia de preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos substituídos no anel aromático.

5- Material e Métodos

5.1. Instrumentos utilizados nas caracterizações espectrométricas:

- Os espectros de RMN de ^1H (200 e 400 MHz) e ^{13}C (100 e 50 MHz) foram obtidos em espectrômetros de marca Bruker, modelos AC200 (PPGQO – UFRRJ). Foi utilizado como referência interna o tetrametilsilano (TMS) e os solventes deuterados: clorofórmio (CDCl_3), metanol (CD_3OD) e acetona (acetona- d_6) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz).
- Os espectros de Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrômetro Nicolet-Modelo 6700 FT (IT – UFRRJ), utilizando-se pastilhas de KBr para as amostras sólidas.
- Os espectros de massas das substâncias sintetizadas foram obtidos por impacto de elétrons (70 eV) utilizando cromatógrafo em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massa VARIAN-SATURN 2000. Coluna capilar CP-SIL8CB (30m x 0,25mm x 0,25 μm). Temperatura do injetor igual a 250°C. Temperatura de fonte igual a 280 C. Condições de análise: Temperatura inicial igual a 150°C/ 1' - 5° C/1' - 270°C.
- Os espectros de massa de alta resolução foram obtidos por elétron spray utilizando um equipamento QTOF Waters-Micromass.

5.2. Nas análises, sínteses e purificações

- Cromatografia em sílica gel 60 F₂₅₄ (camada de 0,2 mm), da marca Merck para o acompanhamento por CCF (Cromatografia de Camada Fina) das reações.
- As análises em coluna preparativa foram realizadas com gel de sílica (70-230 Mesh), da marca Vetec.

- Solventes: ácido acético glacial, acetato de etila, acetona, clorofórmio, diclorometano, etanol, éter etílico, hexano, metanol, piridina, todos graus PA, fornecidos pela Vetec. Os solventes utilizados nas reações conduzidas em meio anidro foram destilados de CaH₂ (Perrin, 1966).
- Reagentes: ácido clorídrico concentrado, ácido sulfúrico concentrado, ácido malônico, ácido nítrico concentrado, anidrido crômico, permanganato de potássio, álcool isopropílico, benzonitrila, bicarbonato de potássio, cloreto de oxalila, carbonato de sódio, hidreto de cálcio, paládio, hidróxido de potássio, piperonal, sulfato de sódio anidro.
- Piperina (isolada dos frutos secos de *Piper nigrum*, obtidos no comércio).

5.3. Outros equipamentos

- Aparelho Melt-Temp II para determinação dos pontos de fusão.
- Evaporador rotatório da Fisaton-Modelo 802.
- Câmara de revelação para CCF equipada com lâmpada UV com comprimento de onda de 254 e 365 nm.
- Placas de aquecimento e agitação magnética da Corning e Fisaton.

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

Numa aparelhagem de Soxhlet foram colocados 150 g de pimenta-do-reino e 1200 mL de etanol a 95%. O sistema foi mantido em refluxo por aproximadamente 12 horas (aparelhagem mostrada na **Figura 29**, página 41).

Após concentrar o extrato em evaporador rotatório, foi obtido um resíduo de aspecto viscoso e aroma adocicado, sendo então adicionado ao mesmo 150 mL de uma solução alcoólica de KOH 10%, para que ocorresse a precipitação dos taninos e demais materiais fenólicos, contaminantes do meio, na forma dos respectivos sais de potássio.

Após filtração e remoção do material precipitado, foi adicionada ao sobrenadante uma pequena quantidade de água, suficiente para que o meio se tornasse turvo. Após um período de 72 horas em repouso, formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob pressão reduzida. Esse procedimento foi repetido com mais algumas quantidades, somando 600 g de pimenta-do-reino. O sólido obtido foi lavado com uma pequena quantidade de água gelada, seguido de éter etílico gelado. Foram obtidos 18g (3%) de piperina na forma de cristais amarelo-claro.

Pf.: 127-129°C (Lit.: 125-127°C – Ikan, 1991)

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

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

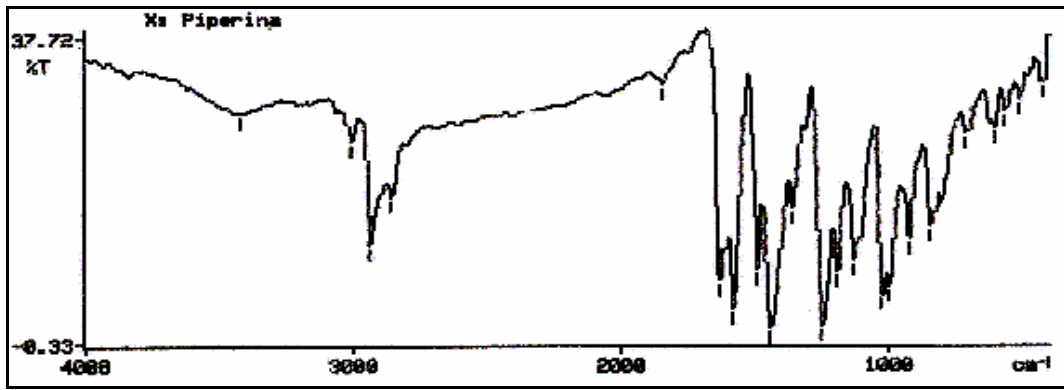
$\nu\text{C-H (Csp}^3\text{)} = 2937\text{-}2858$ (anel piperidínico)

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

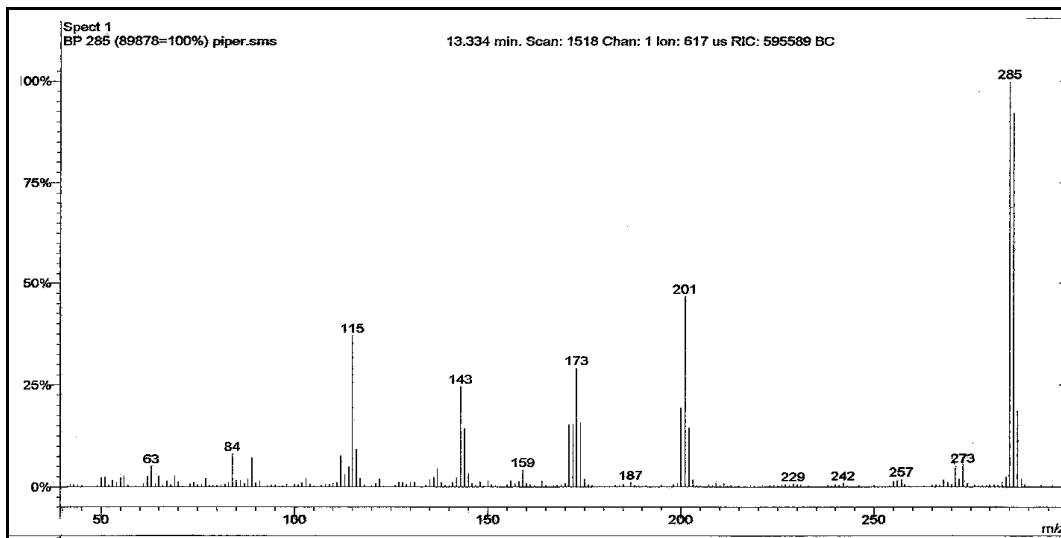
$\nu\text{C=C (Csp}^2\text{)} = 1583\text{-}1490$ (vibração do esqueleto aromático)

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

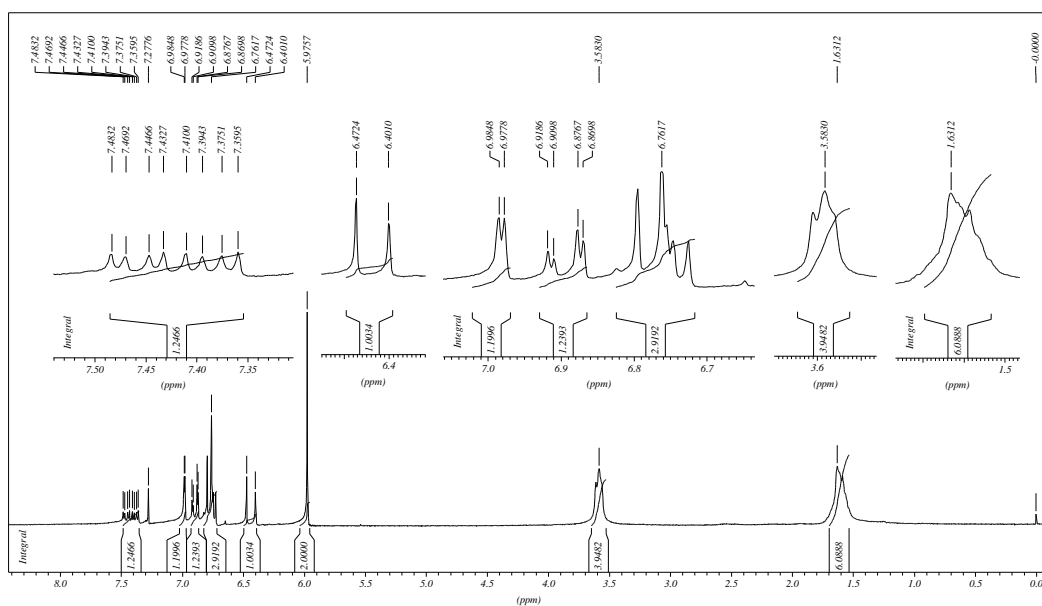
$\sigma\text{C-H (Csp}^2\text{)} = 850$ (dobramento de $2\text{H}_{\text{arom.}}$ vizinhos)



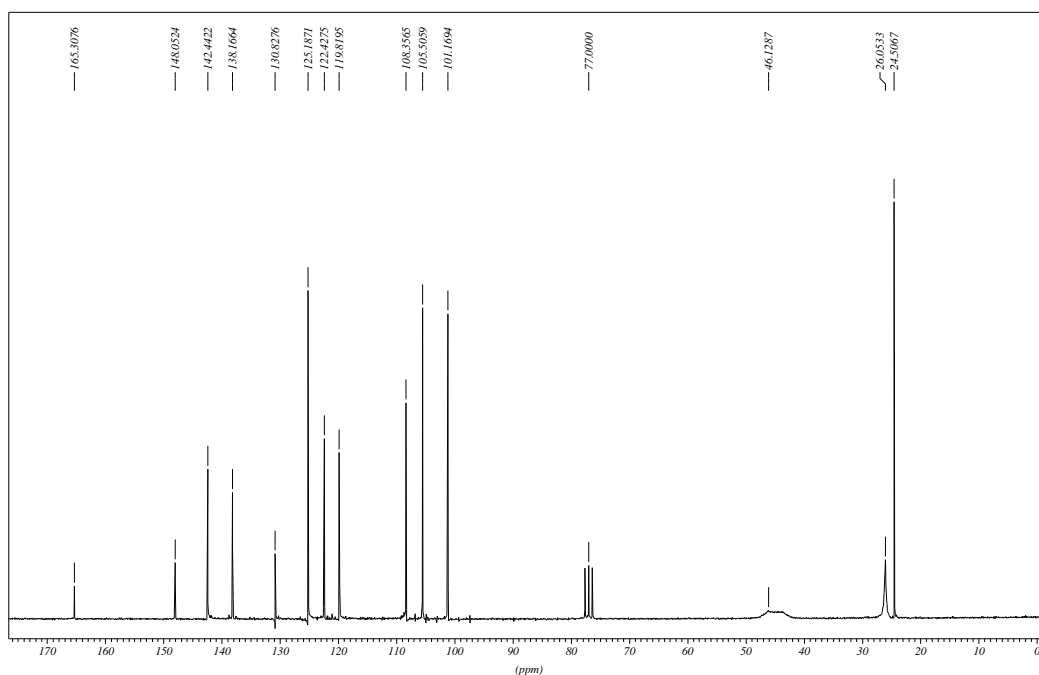
Espectro 1. Espectro de IV da piperina 1.



Espectro 2. Espectro de massas da piperina 1.



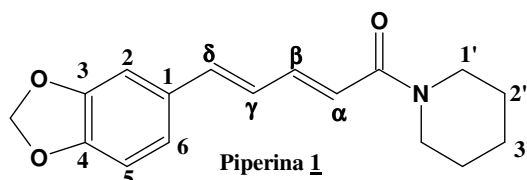
Espectro 3. Espectro de RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) da piperina 1.



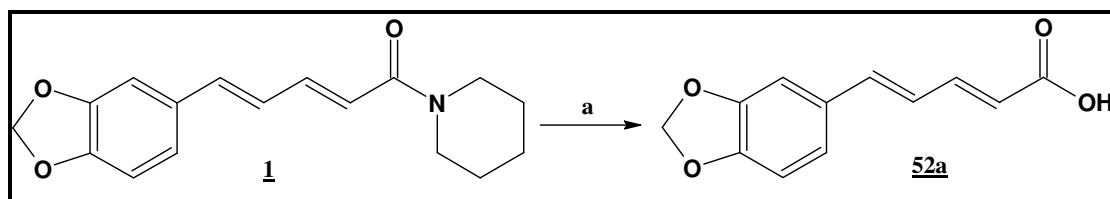
Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) da piperina **1**.

Tabela 10. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para a piperina **1**.

Posição	Piperina (CDCl_3) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
C=O	165,3 (C)
1	130,8 (C)
2	6,98 (d; 1,4; 1H)	105,5 (CH)
3	148,0 (C)
4	148,0 (C)
5	6,76 (m; 1H)	108,3 (CH)
6	6,89 (dd; 8,2 e 1,5; 1H)	122,4 (CH)
1'	3,58 (m; 4H)	46,1 (CH_2)
2'	1,63 (m; 4H)	26,0 (CH_2)
3'	1,63 (m; 6H)	24,5 (CH_2)
α	6,43 (d; 14,3; 1H)	119,8 (CH)
β	7,39 (ddd; 14,6, 7,1 e 2,9; 1H)	142,4 (CH)
γ	6,76 (m; 1H)	125,1 (CH)
δ	6,76 (m; 1H)	138,3 (CH)
OCH_2O	5,97 (sl; 2H)	101,1 (CH_2)



5.5. Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(*E*),4(*E*)-pentadienóico (ácido piperínico) (**52a**)



Reagentes: a) KOH / Etanol, refluxo, 6-8h; b) HCl 10% (93%)

Num balão de 50 mL de capacidade foi feita uma suspensão de 2,20 g (7,72 mmol) de piperina em 22 mL de solução alcoólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 6 horas. A reação foi acompanhada por CCF, sendo observado o menor tempo de retenção do ácido formado em relação ao substrato (piperina), devido a sua maior polaridade. A solução passou de amarela para marrom-claro, com formação de precipitado.

Após o término da reação, o etanol foi retirado do meio reacional em evaporador rotatório. Acrescentou-se água ao resíduo formado, deixando o mesmo atingir a temperatura de ebulição até total solubilização, sendo a solução formada, em seguida, filtrada à quente. À esta solução aquosa do respectivo carboxilato, 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 1,65 g (93%) do ácido piperínico **52a**.

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

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

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

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp³) = 2919,5 (metilenodioxi)

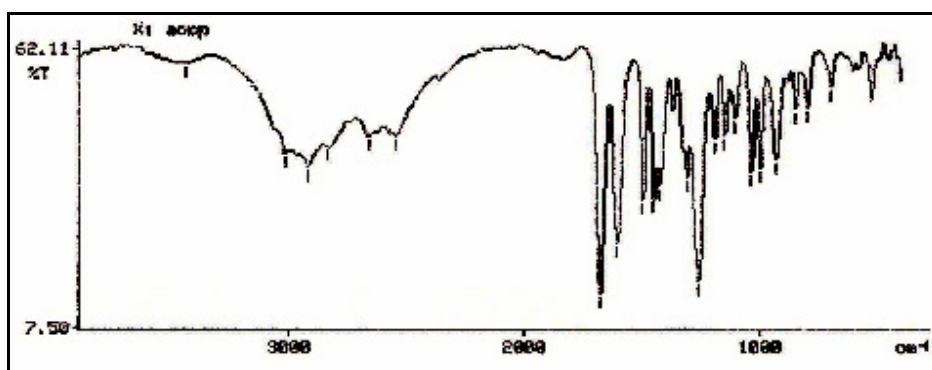
$\nu_{\text{C=O}}$ = 1678,8 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp²) = 1603-1495 (vibração do esqueleto aromático)

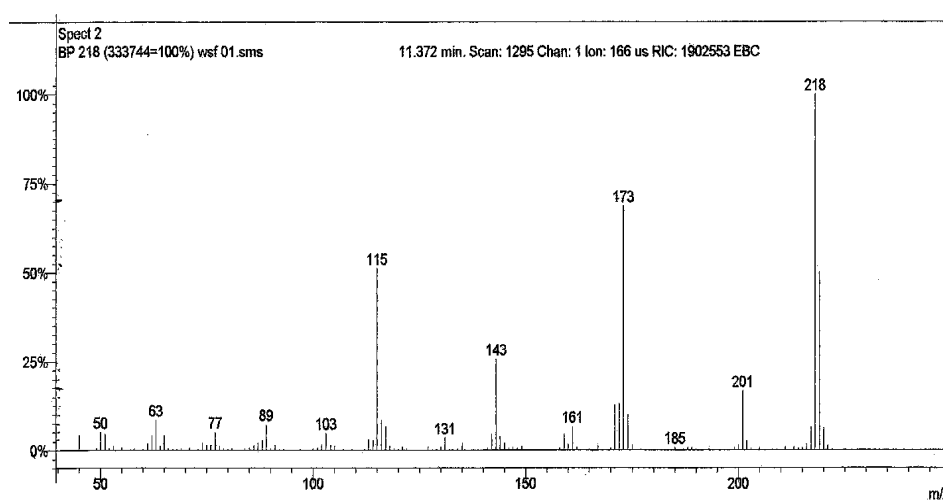
$\nu_{\text{C-O-C}}$ = 1257,5 (metilenodioxi)

$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp²) = 930 (dobramento de 1H_{arom.} isolado)

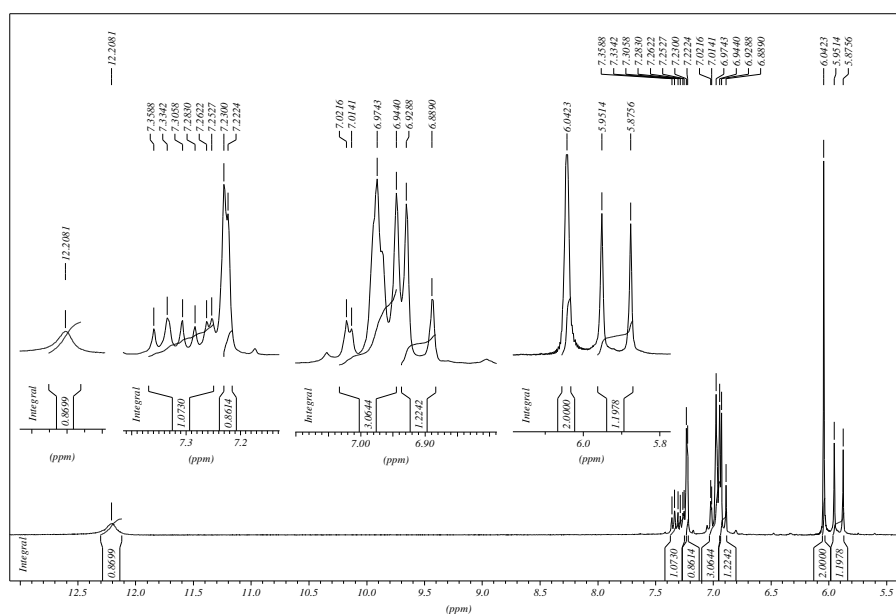
$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp²) = 850 (dobramento de 2H_{arom.} vizinhos)



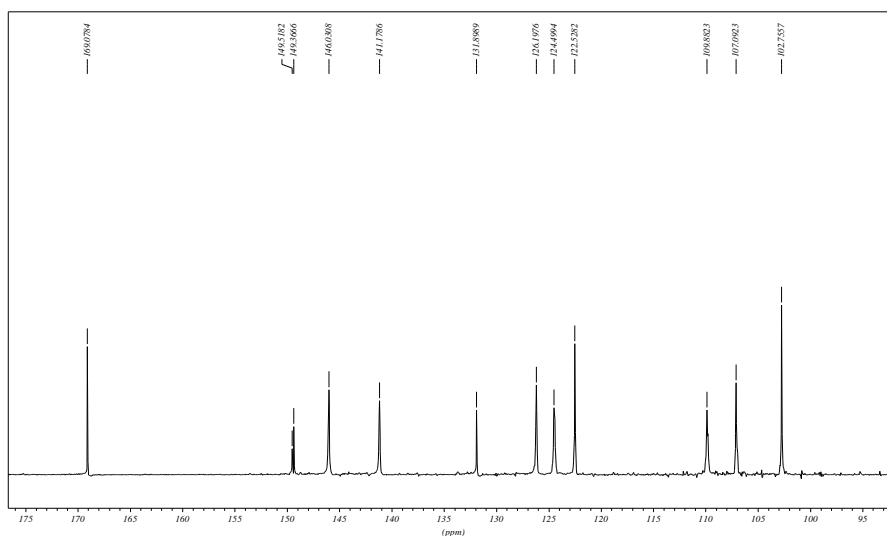
Espectro 5. Espectro de IV do ácido piperínico **52a**.



Espectro 6. Espectro de massas do ácido piperínico **52a**.



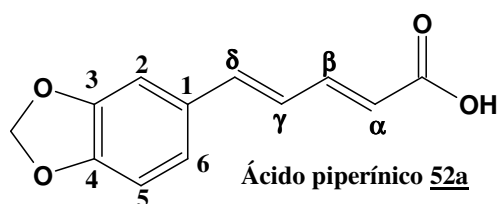
Espectro 7. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) do ácido piperínico **52a**.



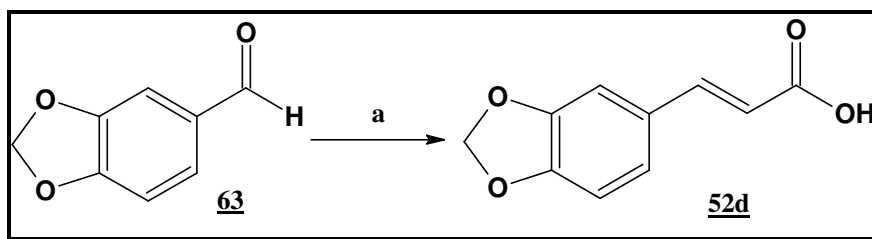
Espectro 8. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3 e CD_3OD) do ácido piperínico **52a**.

Tabela 11. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido piperínico **52a**.

Posição	Ácido piperínico (CDCl_3 e CD_3OD) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH	12,20 (sl, 1H)
C=O	169,0 (C)
1	131,8 (C)
2	7,22 (sl; 1H)	109,8 (CH)
3	149,3 (C)
4	149,5 (C)
5	6,90 (d; 8,0; 1H)	107,0 (CH)
6	6,97 (m; 1H)	122,5 (CH)
α	5,96 (d; 15,1; 1H)	124,4 (CH)
β	7,30 (m; 1H)	146,0 (CH)
γ	6,97 (m; 1H)	126,1 (CH)
δ	6,97 (m; 1H)	141,1 (CH)
OCH_2O	6,04 (sl; 2H)	102,7 (CH_2)



5.6. Preparação do ácido 3-(3,4-metilenodioxifenil)-2(*E*)-propenóico (ácido cinâmico) (**52d**)



Reagentes: a) ác. malônico, piridina e piperidina, refluxo, 8h; b) HCl 10% (75%)

Em um balão de 50 mL de capacidade, equipado com condensador de refluxo, foram dissolvidos 5,0 g (33,3 mmol) de piperonal **63** e 7,5 g (72 mmol) de ácido malônico numa mistura de 15 mL de piridina e 0,25 mL (2,53 mmol) de piperidina. Em seguida, a mistura foi aquecida sob refluxo por cerca de 8 horas em banho-maria, ocorrendo desprendimento de CO₂. A reação completou-se após ebulição por mais 10 minutos adicionais e, em seguida, após resfriar, foi vertida em 10 mL de solução de HCl 10%, o suficiente para neutralizar a piridina, ocorrendo a precipitação do produto na forma de um sólido branco. O produto formado foi filtrado, lavado com água, éter etílico e seco ao ar. Após recristalização com ácido acético glacial, o produto em sua forma pura, foi obtido na forma de um sólido branco 4,8 g (75 %) (Lit.: 96%) (Silva *et al.*, 2002). Pf.: 238°C (Lit.: 238°C)

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

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

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

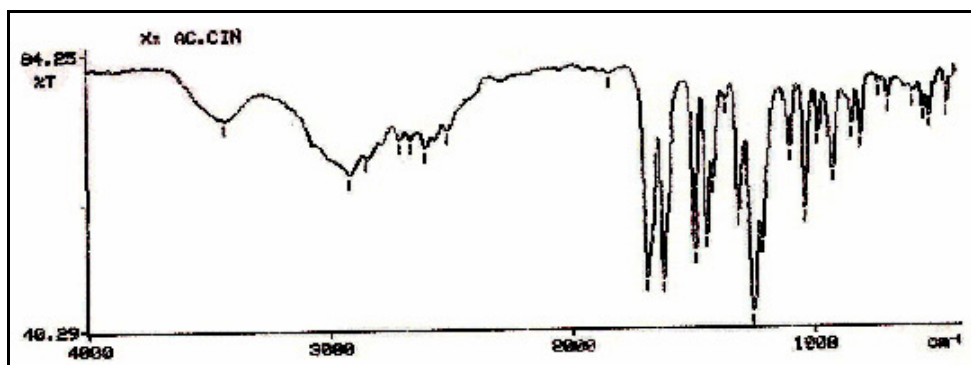
$\nu_{\text{C=O}} = 1692,1$ (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

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

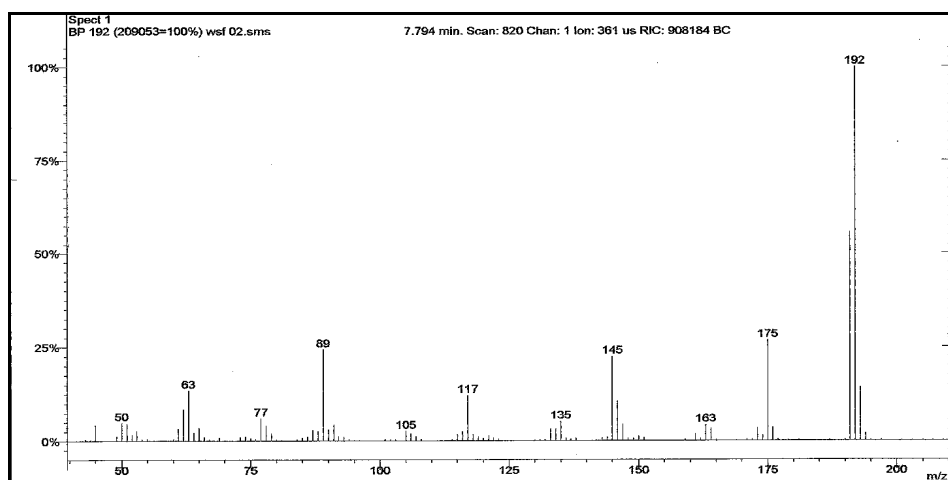
$\nu_{\text{C-O-C}} = 1250,3$ (metilenodioxi)

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

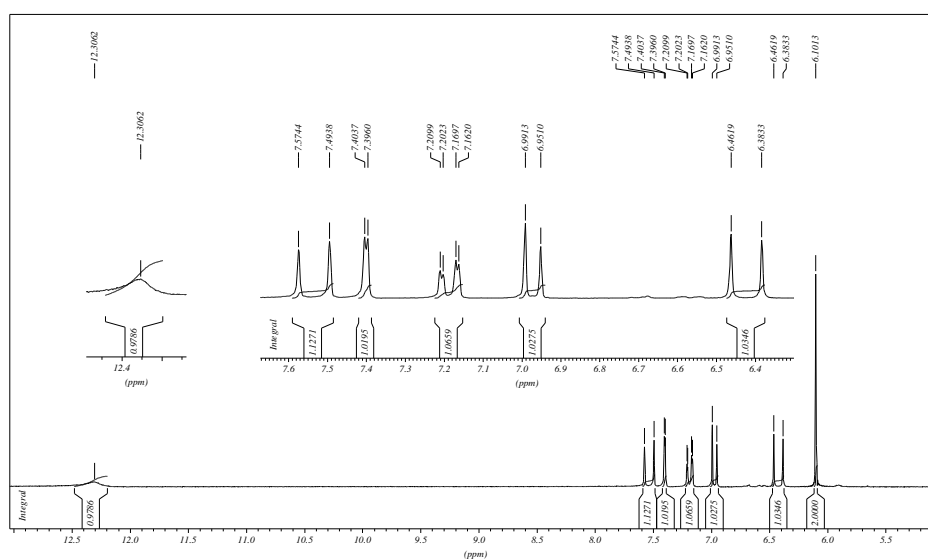
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 850$ (dobramento de 2H_{arom.} vizinhos)



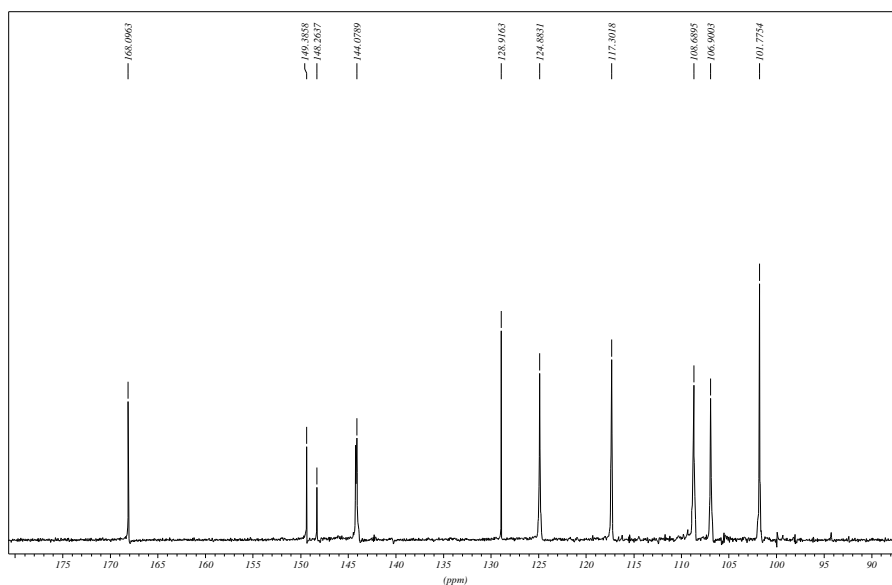
Espectro 9. Espectro de IV do ácido cinâmico **52d**.



Espectro 10. Espectro de massas do ácido cinâmico **52d**.



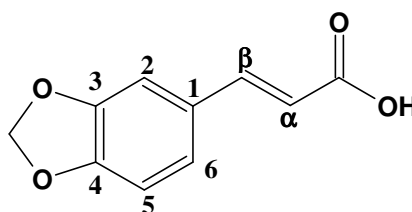
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido cinâmico **52d**.



Espectro 12. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido cinâmico **52d**.

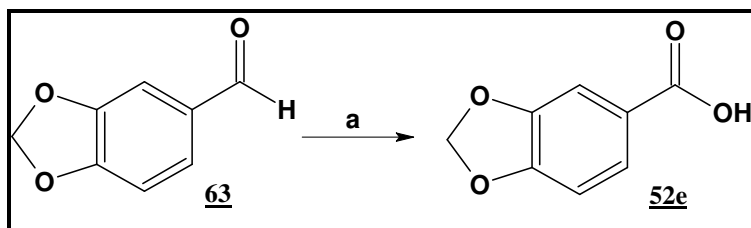
Tabela 12. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido cinâmico **52d**.

Posição	Ácido cinâmico (CD_3OD) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH	12,20 (sl, 1H)
C=O	168,9 (C)
1	128,9 (C)
2	7,29 (d; 1,5; 1H)	108,6 (CH)
3	148,2 (C)
4	149,3 (C)
5	6,86 (d; 8,0; 1H)	106,9 (CH)
6	7,08 (dd; 8,0 e 1,5; 1H)	124,8 (CH)
α	6,32 (d; 15,7; 1H)	117,3 (CH)
β	7,43 (d; 16,1; 1H)	144,0 (CH)
OCH_2O	6,10 (sl; 2H)	101,7 (CH_2)



Ácido cinâmico **52d**

5.7. Preparação do ácido 3,4 metilenodioxibenzoico (ácido piperonílico) (52e)



Reagentes: a) Reagente de Jones (2,8M CrO₃ em H₂SO₄)

Num balão de 25 mL de capacidade foram dissolvidos 2,0 g (13,3 mmol) de piperonal em 10 mL de acetona. Essa solução foi colocada em banho-de-gelo e mantida sob agitação, com adição gota-a-gota de 1,7 mL do Reagente de Jones (2,8M CrO₃ em H₂SO₄) (Rodig, 1990), durante 4 horas. A reação foi acompanhada pela mudança de cor da solução oxidante, de laranja (Cr⁺⁶) para verde (Cr⁺³), indicando a oxidação do aldeído. O excesso de reagente de Jones foi consumido pela adição de algumas gotas de álcool isopropílico. A solução resultante foi vertida em 50 mL de água gelada, havendo formação de um precipitado branco. Após um período de 12 horas o precipitado foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com água gelada. O produto formado foi dissolvido em 50 mL de uma solução aquosa de KOH 20%. Esta solução foi extraída com acetato de etila (2 x 10 mL) e a fase aquosa foi neutralizada com HCl concentrado, até pH 3, sendo o precipitado formado filtrado e lavado com água gelada. Foram obtidos 1,7 g (78%) do ácido piperonílico 52e na forma de cristais amorfos de coloração bege (Lit.: 80%) (Rodig, 1990).

Pf.: 231-232°C (Lit.:229-231°C) (Catálogo Aldrich - 2005)

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

vO-H = 3500-3400 (ácido carboxílico)

vC-H (Csp³) = 2921,5 (metilenodioxi)

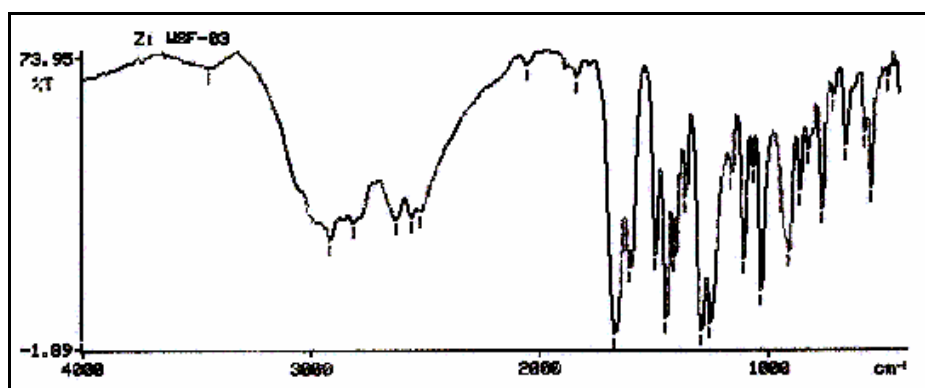
vC=O = 1673,8 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

vC=C (Csp²) = 1498-1450 (vibração do esqueleto aromático)

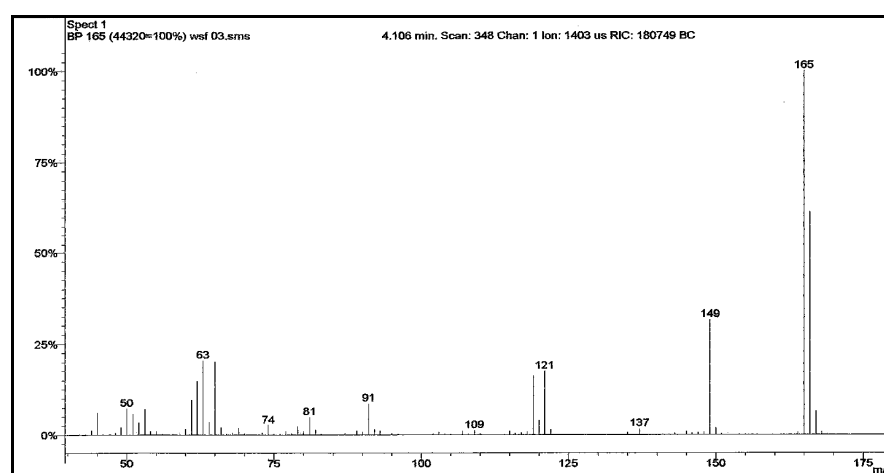
vC-O-C = 1258,5 (metilenodioxi)

σC-H (Csp²) = 930 (dobramento de 1H_{arom.} isolado)

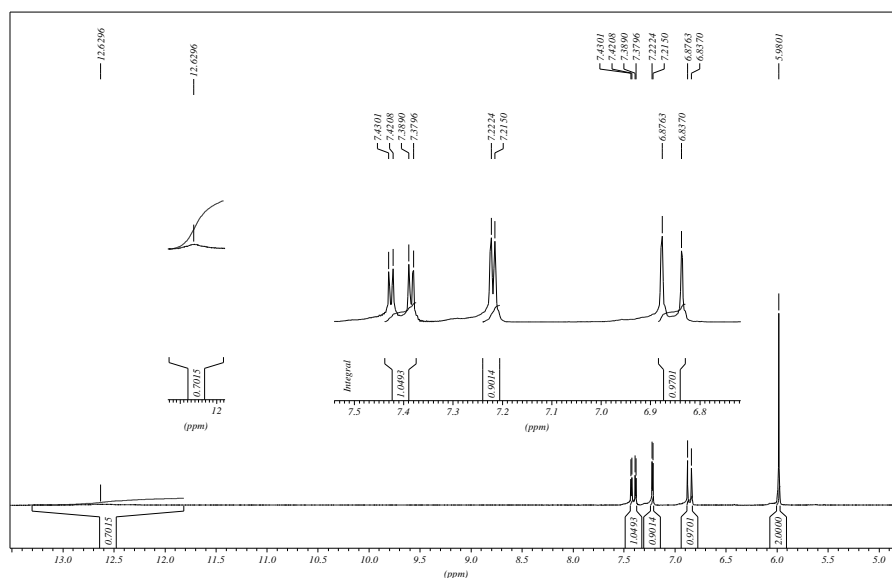
σC-H (Csp²) = 850 (dobramento de 2H_{arom.} vizinhos)



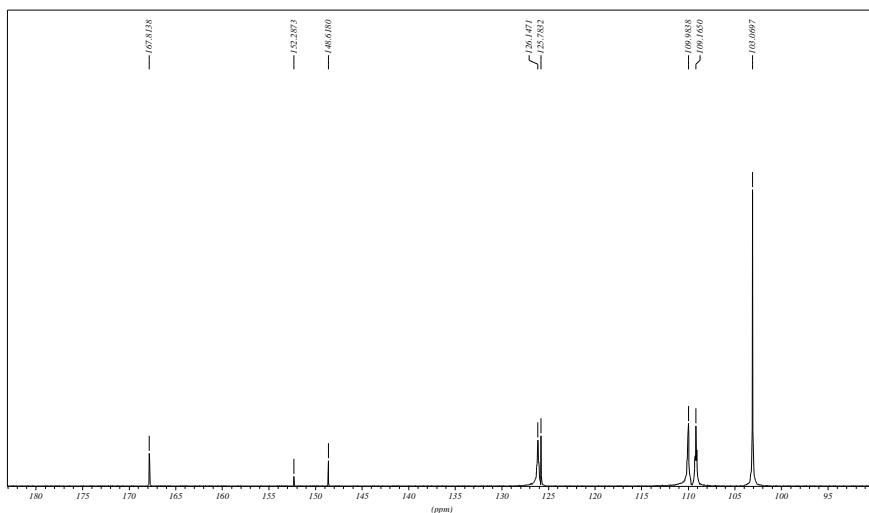
Espectro 13. Espectro de IV do ácido piperônico **52e**.



Espectro 14. Espectro de massas do ácido piperônico **52e**.



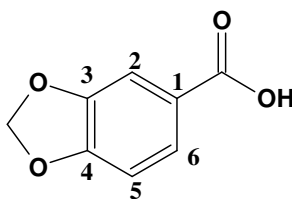
Espectro 15. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido piperônico **52e**.



Espectro 16. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido piperônico **52e**.

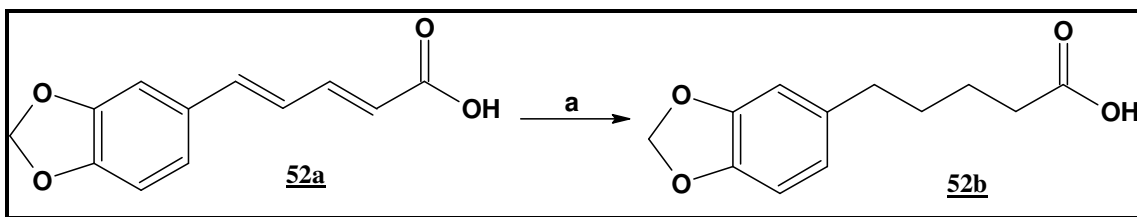
Tabela 13. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido piperônico **52e**.

Posição	Ácido piperônico (CD_3OD) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH	12,65 (sl; 1H)
C=O	167,8 (C)
1	125,7 (C)
2	7,21 (d; 7,8; 1H)	109,9 (CH)
3	152,2 (C)
4	148,6 (C)
5	6,85 (d; 7,8; 1H)	109,1 (CH)
6	7,40 (dd; 8,0 e 1,8; 1H)	126,1 (CH)
OCH_2O	5,98 (sl; 1H)	103,0 (CH_2)



Ácido piperônico **52e**

5.8. Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil) pentanóico (ácido tetraidropiperínico) (**52b**)



Reagentes: a) $\text{H}_2(\text{g})$, Pd/C; acetato de etila, t.a., 2h.

Num balão de 50 mL de capacidade, foi feita uma solução de 0,40 g (2,06 mmol) de ácido piperínico **52a** em 20 mL de acetato de etila, sobre a qual foi adicionado 0,05 g do catalisador Pd/C. Esta suspensão foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por alguns minutos. Selou-se o balão com um septo, retirando-se o ar presente no balão utilizando-se um bolhômetro e adicionou-se um balão contendo hidrogênio fixado ao septo. O sistema então permaneceu por 3 horas sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética. Após o término da reação (acompanhada por CCF), o meio reacional foi filtrado numa seringa empacotada com sílica gel, para retirar o catalisador. Após evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado em CHCl_3 : Hexano (1:9) à 40°C, e o produto **52b** foi obtido na forma de um sólido bege amorfo 0,35 g (76%). Pf.: 95-96°C (Lit.:95-96°C) (Sondengam, 1983).

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

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

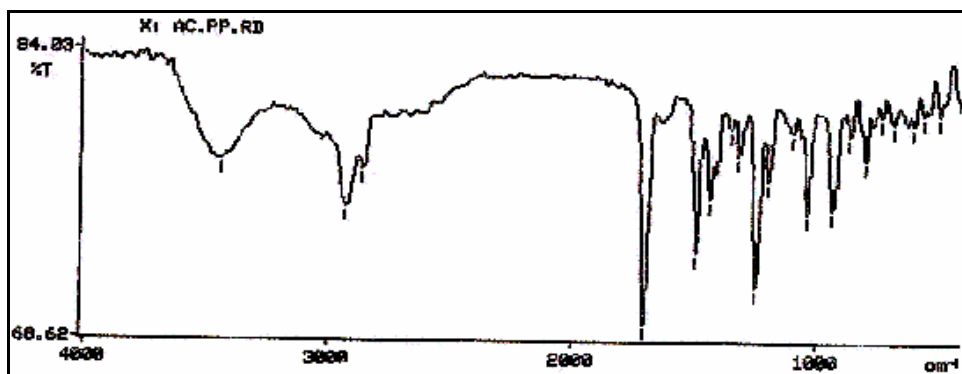
$\nu\text{C-H}$ (Csp^3) = 2928- 2859 (saturados e metilenodioxi)

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

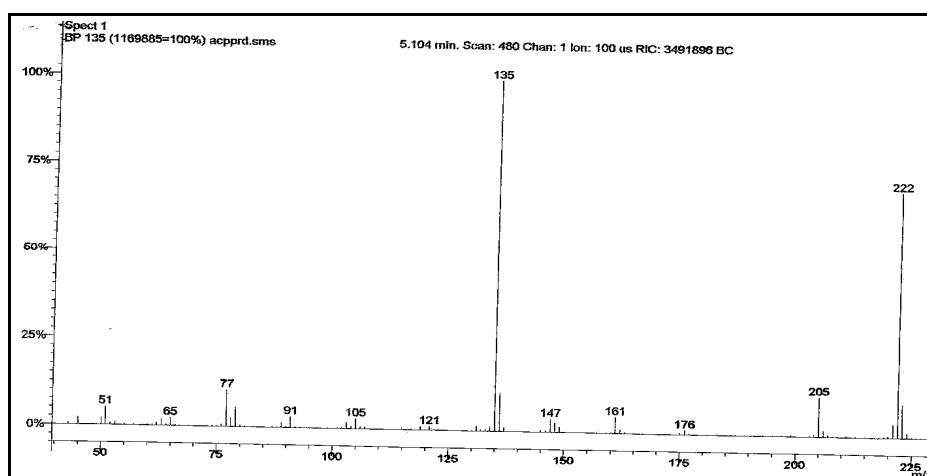
$\nu\text{C=C}$ (Csp^2) = 1491-1440 (vibração do esqueleto aromático)

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

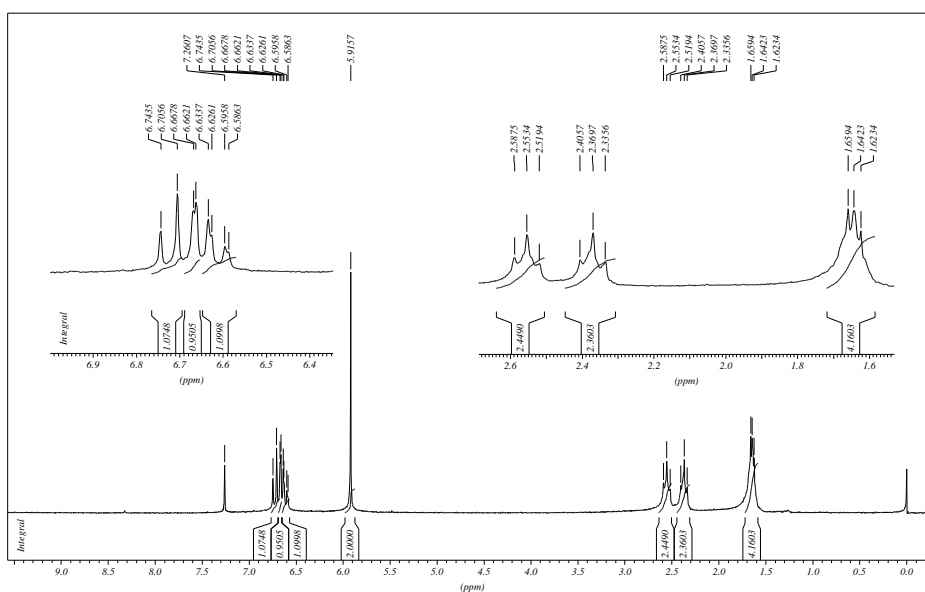
$\sigma\text{C-H}$ (Csp^2) = 936 (dobramento de $1\text{H}_{\text{arom.}}$ isolado)



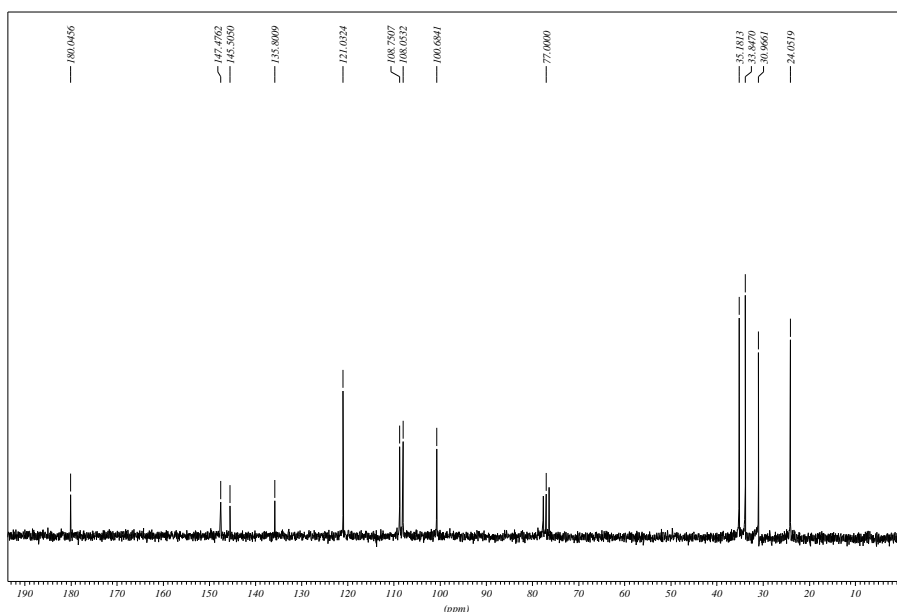
Espectro 17. Espectro de IV do ácido tetraidropiperínico **52b**.



Espectro 18. Espectro de massas do ácido tetraidropiperínico **52b**.



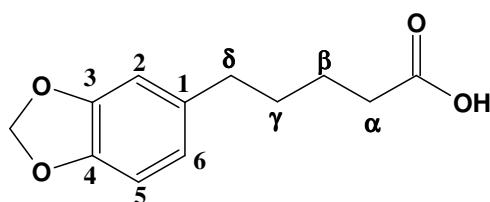
Espectro 19. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do ácido tetraidropiperínico **52b**.



Espectro 20. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) do ácido tetraidropiperínico **52b**.

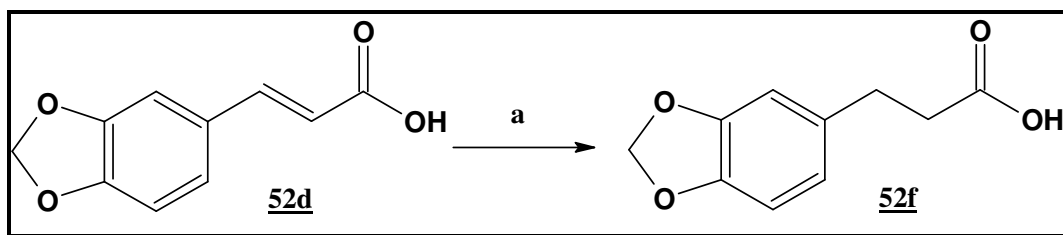
Tabela 14. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido tetraidropiperínico **52b**.

Posição	Ácido tetraidropiperínico (CDCl_3) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH
C=O	180,0 (C)
1	135,8 (C)
2	6,66 (d; 1,3; 1H)	108,7 (CH)
3	147,4 (C)
4	145,5 (C)
5	6,72 (d; 7,5; 1H)	108,7 (CH)
6	6,61 (dd, 7,5 e 1,5; 1H)	121,0 (CH)
α	2,55 (t; 7,0; 2H)	35,1 (CH_2)
β	1,64 (m; 2H)	24,0 (CH_2)
γ	1,64 (m; 2H)	30,9 (CH_2)
δ	2,36 (t; 6,8; 2H)	33,8 (CH_2)
OCH_2O	5,91 (sl; 2H)	100,6 (CH_2)



Ácido tetraidropiperínico **52b**

5.9. Preparação do ácido 3-(3,4-metilenodioxifenil) propanóico (ácido diidrocinâmico) (**52f**)



Reagente: a) H₂(g), Pd/C; acetona, t.a., 2h (80%).

Num balão de 50 mL de capacidade, foi feita uma solução de 0,40 g (2,08 mmol) de ácido cinâmico **52d** em 20 mL de acetona, sobre a qual foi adicionado 0,05 g do catalisador Pd/C. Esta suspensão foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por alguns minutos. Selou-se o balão com um septo, retirando-se o ar presente no balão utilizando-se um bolhômetro e adicionou-se um balão contendo hidrogênio fixado ao septo. O sistema então permaneceu por 3 horas sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética. Após o término da reação (acompanhada por CCF), o meio reacional foi filtrado numa seringa empacotada com sílica gel, a fim de retirar o catalisador. Após evaporação do solvente, o sólido foi recristalizado em CHCl₃: hexano (2:8) à 40°C, e o produto **52f** foi obtido na forma de cristais brancos em forma de agulhas 0,32 g (80%) (Lit.: 80%) (Venkatasamy *et al.*, 2004). Pf.: 84-85°C (Lit.: 86-88°C) (Venkatasamy *et al.*, 2004).

Infravermelho (KBr, cm⁻¹)

vO-H = 3300-3200 (ácido carboxílico)

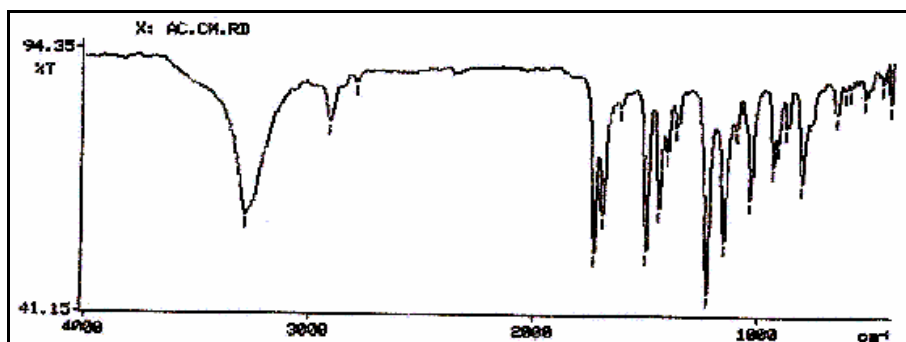
vC-H (Csp³) = 2916-2795 (saturados e metilenodioxí)

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

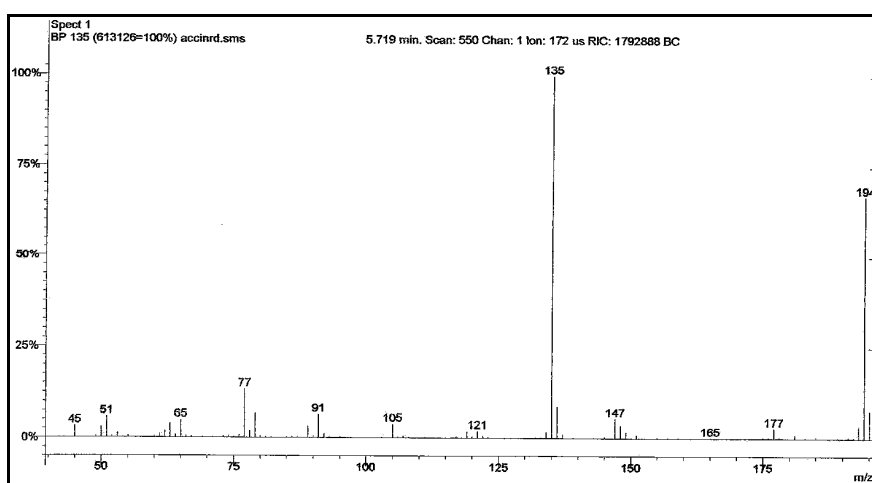
vC=C (Csp²) = 1612-1446 (vibração do esqueleto aromático)

vC-O-C = 1232,6 (metilenodioxí)

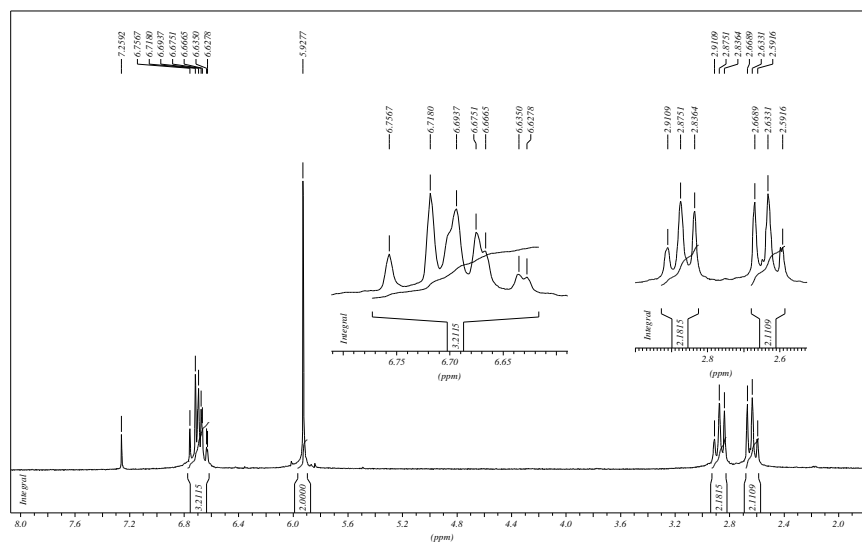
σC-H (Csp²) = 938,5 (dobramento de 1H_{arom.} isolado)



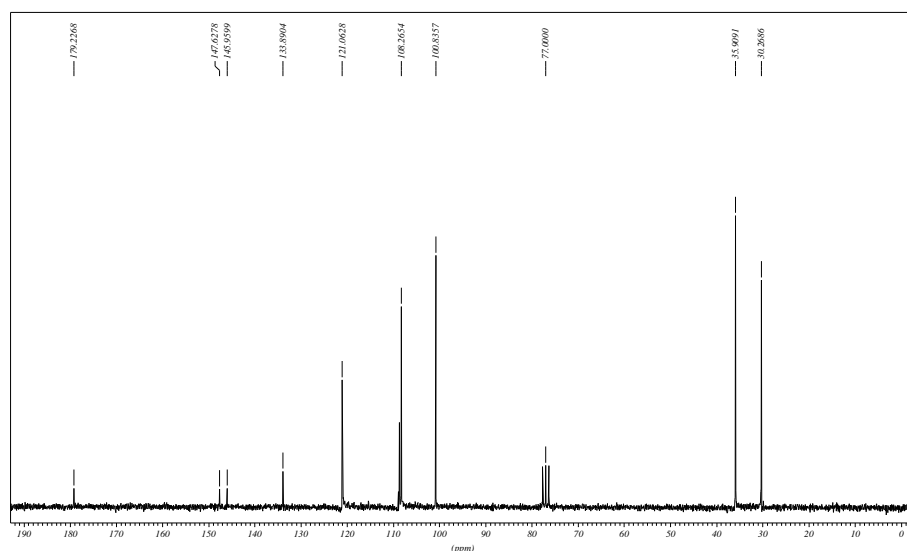
Espectro 21. Espectro de IV do ácido diidrocinâmico 52f.



Espectro 22. Espectro de massas do ácido diidrocinâmico 52f.



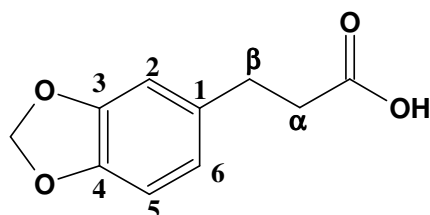
Espectro 23. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) do ácido diidrocinâmico 52f.



Espectro 24. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CDCl_3) do ácido diidrocinâmico **52f**.

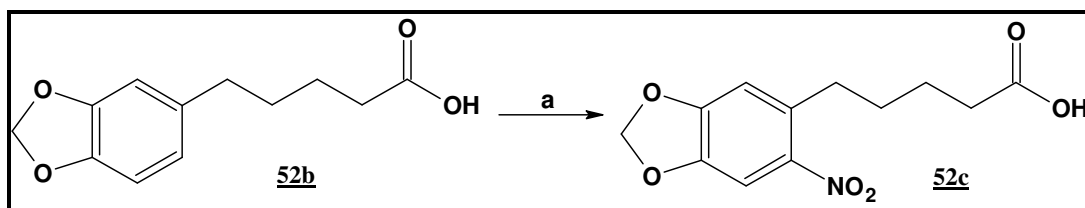
Tabela 15. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido diidrocinâmico **52f**.

Posição	Ácido diidrocinâmico (CDCl_3) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH
C=O	179,2 (C)
1	133,8 (C)
2	6,69 (d; 1,1; 1H)	108,2 (CH)
3	147,6 (C)
4	145,9 (C)
5	6,73 (d; 7,7; 1H)	108,2 (CH)
6	6,64 (dd; 7,8 e 1,5; 1H)	121,0 (CH)
α	2,87 (t; 7,5; 2H)	35,9 (CH_2)
β	2,63 (t; 7,2; 2H)	30,9 (CH_2)
OCH_2O	5,92 (sl; 2H)	100,8 (CH_2)



Ácido diidrocinâmico **52f**

5.10. Preparação do ácido 5-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil) pentanóico (ácido 6-nitrotetraidropiperínico) (**52c**)



Reagentes: a) CH₃COOH(glacial) e HNO₃(conc), 3h, 0°C (77%).

Em um balão de 10 mL de capacidade, foram dissolvidos 0,30 g (1,35 mmol) de ácido tetraidropiperínico **52b** em 1,5 mL de ácido acético glacial, formando uma solução incolor. Sobre esta solução, mantida sob agitação magnética e à temperatura ambiente, foi adicionado 0,3 mL (4,44 mmol) de ácido nítrico concentrado, gota-a-gota. A reação foi acompanhada por CCF (hexano:acetato de etila (5:5)), e após 3 horas a reação se completou, apresentando-se como uma solução amarela, que foi transferida para um funil de decantação e particionada entre acetato de etila (10 mL) e solução saturada de NaHCO₃ aquosa (2x10 mL). A fase orgânica foi lavada novamente com solução saturada de NaCl aquosa (2x10 mL) e água destilada (2x10 mL), e em seguida seca sobre Na₂SO₄ (anidro), filtrada e evaporada, fornecendo o ácido nitrado **52c** na forma de um sólido amarelo amorfo 0,27 g (77%), em elevado grau de pureza. Pf.: 111-112 °C.

Infravermelho (KBr, cm⁻¹)

vO-H = 3500-3400 (ácido carboxílico)

vC-H (Csp²) = 3050,3 (aromático)

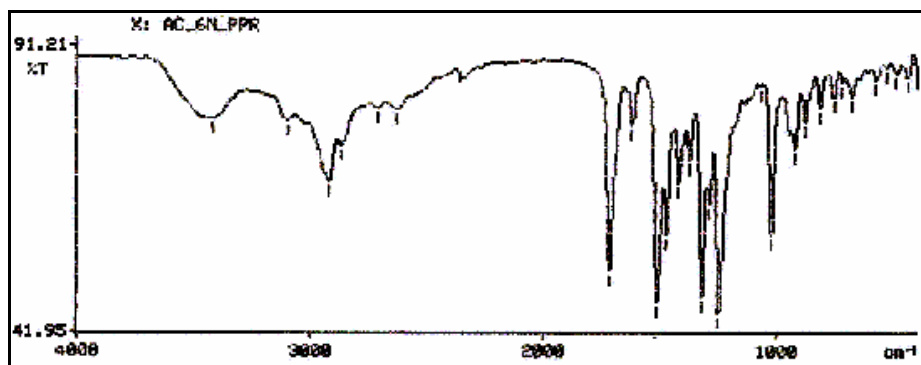
vC-H (Csp³) = 2925- 2871 (saturado e metilenodioxílico)

vC=O = 1718,0 (vibração da carbonila do ácido carboxílico não conjugado)

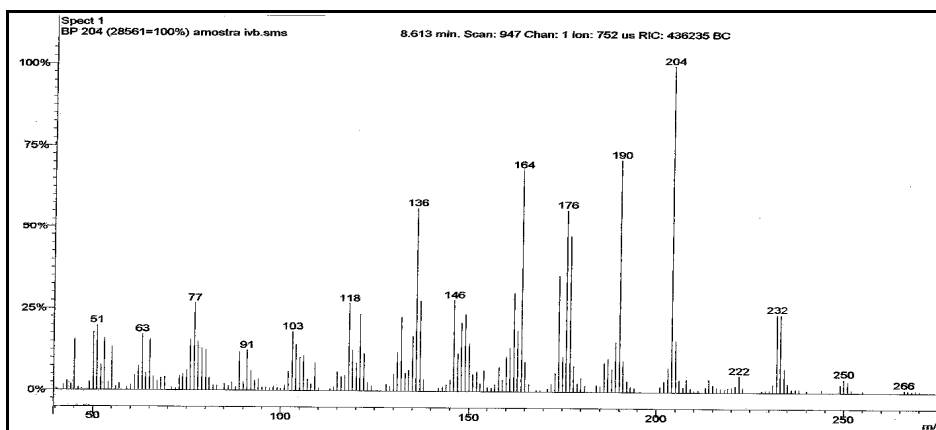
vC=C (Csp²) = 1620- 1477 (vibração do esqueleto aromático)

vN=O = 1518,7 (radical nitro)

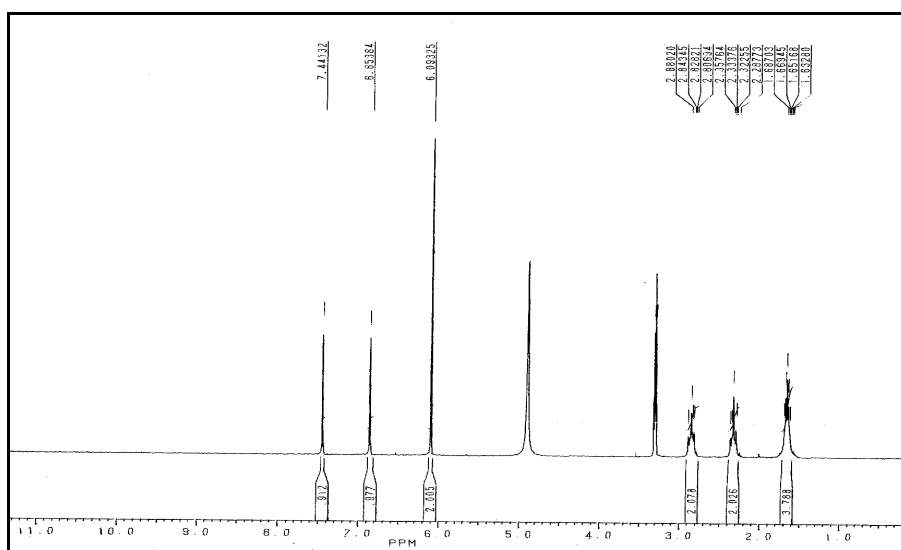
vC-O-C = 1250,7 (metilenodioxílico)



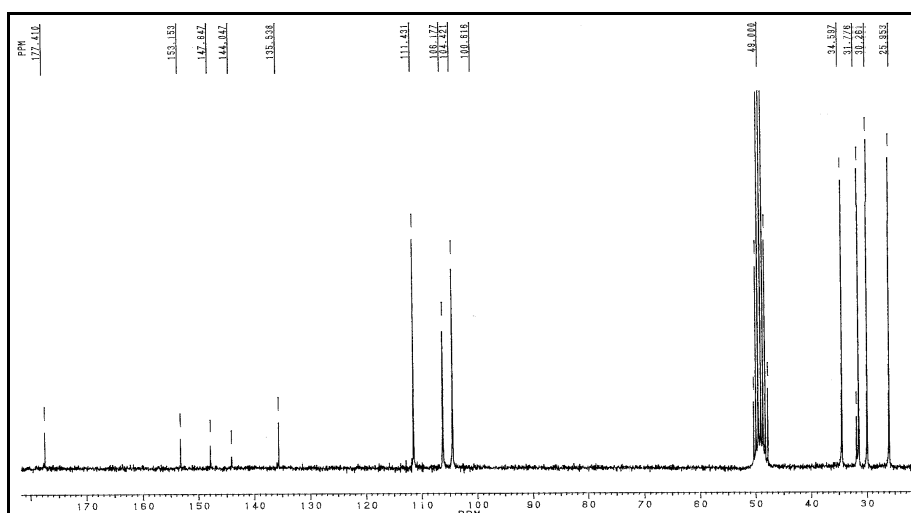
Espectro 25. Espectro de IV do ácido 6-nitrotetrahidropiperínico 52c.



Espectro 26. Espectro de massas do ácido 6-nitrotetrahidropiperínico 52c.



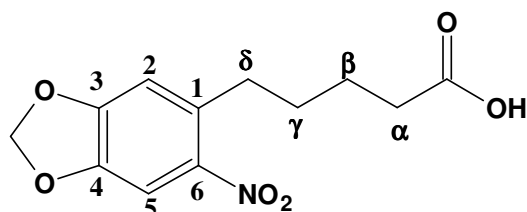
Espectro 27. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrotetrahidropiperínico 52c.



Espectro 28. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrotetraidropiperínico **52c**.

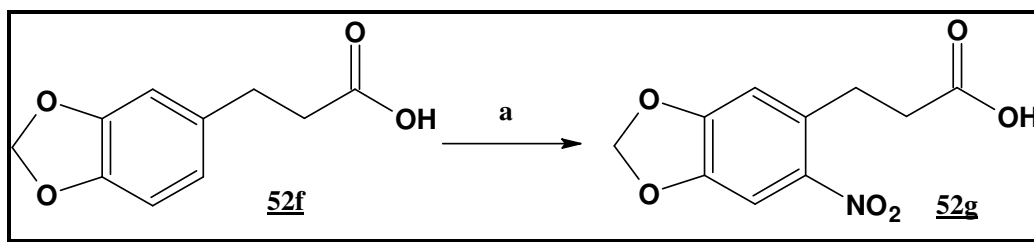
Tabela 16. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido 6 nitrotetraidropiperínico **52c**.

Posição	Ácido 6-nitrotetraidropiperínico (CD_3OD) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH
C=O	177,41 (C)
1	135,53 (C)
2	6,85 (s; 1H)	106,17 (CH)
3	147,64 (C)
4	144,04 (C)
5	7,44 (s; 1H)	111,43 (CH)
6	153,15(C)
α	2,82 (t; 7,0; 2H)	34,50 (CH_2)
β	1,65 (m; 2H)	25,95 (CH_2)
γ	1,65 (m; 2H)	30,26 (CH_2)
δ	2,32 (t; 6,8; 2H)	31,72 (CH_2)
OCH_2O	6,09 (sl; 2H)	100,61 (CH_2)



Ácido 6-nitrotetraidropiperínico **52c**

5.11. Preparação do ácido 3-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil) propanóico (ácido 6-nitrodiidrocinâmico) (**52g**)



Reagentes: a) CH_3COOH (glacial) e HNO_3 (conc), 3h, 0°C (83%).

Num balão de 10 mL de capacidade, equipado com condensador de refluxo, foram dissolvidos 0,30 g (1,54 mmol) de ácido diidrocinâmico **52f** em 1,5 mL de ácido acético glacial, formando uma solução incolor. Sobre esta solução, mantida sob agitação magnética e à temperatura ambiente, foi adicionado 0,3 mL (6,66 mmol) de ácido nítrico concentrado, gota-a-gota. A reação foi acompanhada por CCF (hexano:acetato de etila (5:5)), e após 3 horas a reação se completou apresentando-se como uma solução amarela, que foi transferida para um funil de decantação e particionada entre acetato de etila (10 mL) e solução saturada de NaHCO_3 aquosa (2x10 mL). A fase orgânica foi lavada novamente com solução saturada de NaCl aquosa (3x10 mL) e água destilada (3x10 mL), e em seguida seca sobre Na_2SO_4 (anidro), filtrada e evaporada, fornecendo o ácido nitrado **52g** na forma de um sólido amarelo amorfo 0,30 g (83%) (Lit.: 80%) (Rascado, 1997), em elevado grau de pureza. Pf.: $154-156^\circ\text{C}$ (Lit.: 153°C) (Rascado, 1997).

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

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

$\nu\text{C-H}$ (Csp^2) = 3066,3 (aromático)

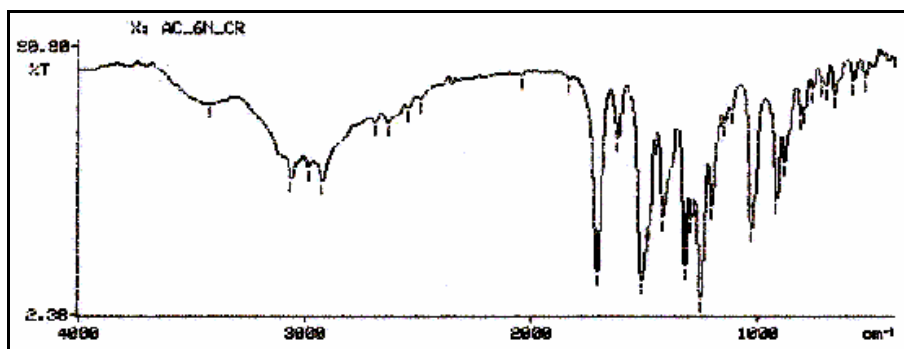
$\nu\text{C-H}$ (Csp^3) = 2988-2927 (saturado e metilenodioxílico)

$\nu\text{C=O}$ = 1711,0 (vibração da carbonila do ácido carboxílico não conjugado)

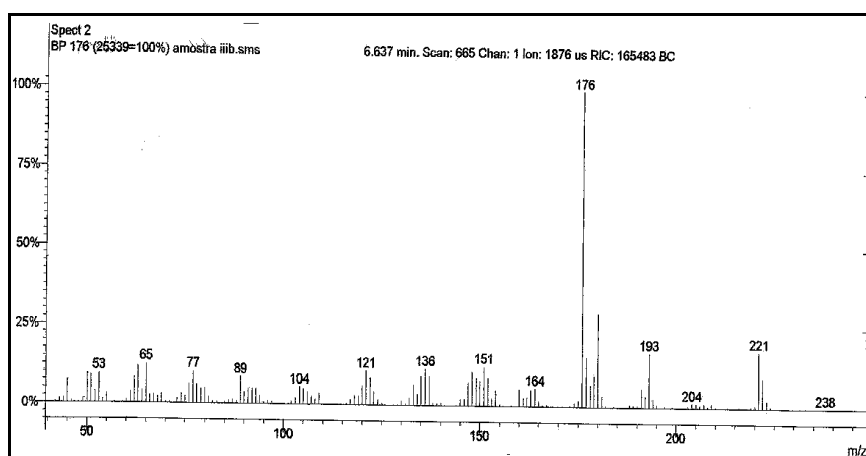
$\nu\text{C=C}$ (Csp^2) = 1600-1456,5 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu\text{N=O}$ = 1520,7 (radical nitro)

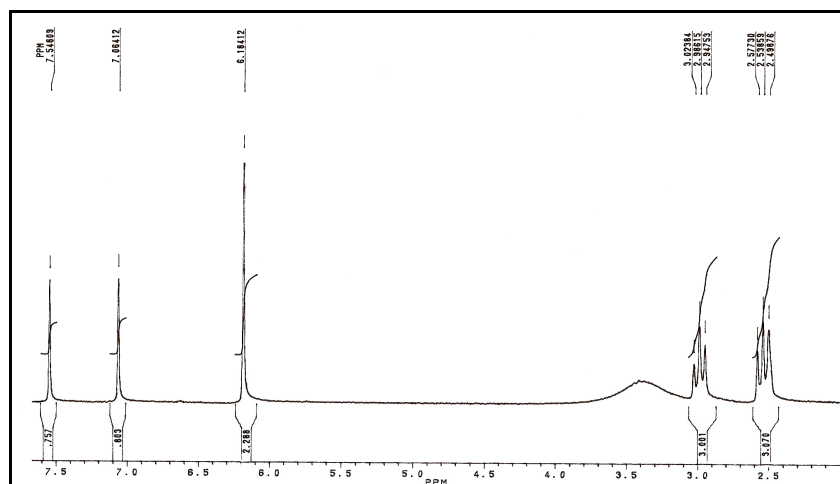
$\nu\text{C-O-C}$ = 1256,7 (metilenodioxílico)



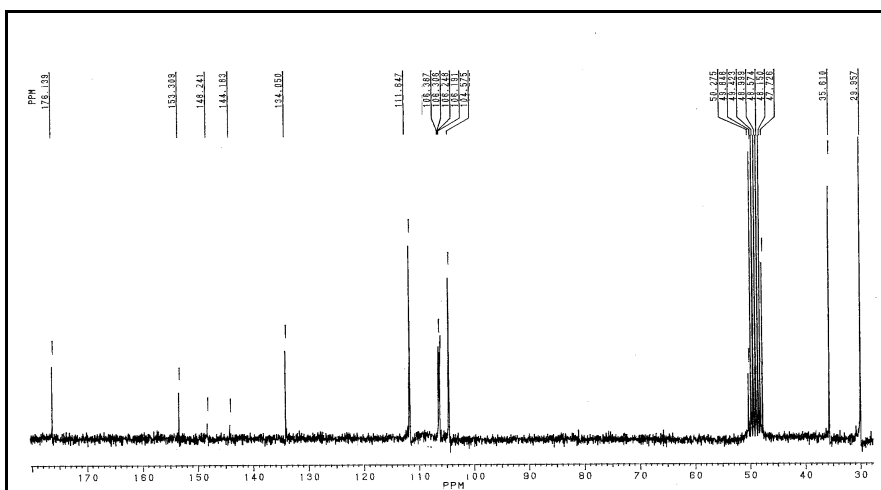
Espectro 29. Espectro de IV do ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**.



Espectro 30. Espectro de massas do ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**.



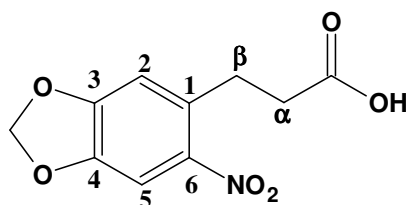
Espectro 31. Espectro de RMN ^1H (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**.



Espectro 32. Espectro de RMN ^{13}C (200 MHz, CD_3OD) do ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**.

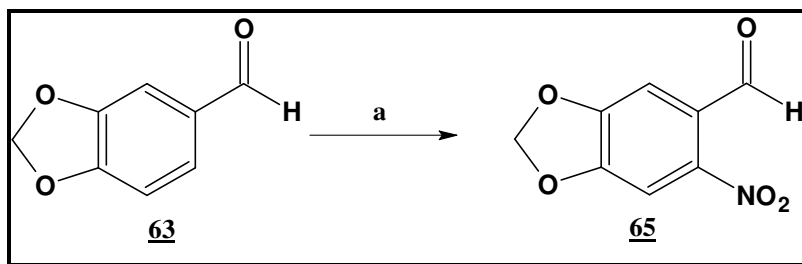
Tabela 17. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**.

Posição	Ácido 6-nitrodiidrocinâmico (CD_3OD) 200MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
OH
C=O	176,13 (C)
1	134,05 (C)
2	7,06 (s; 1H)	106,24 (CH)
3	148,24 (C)
4	144,18 (C)
5	7,54 (s; 1H)	111,64 (CH)
6	153,30 (C)
α	2,98 (t; 7,5; 2H)	35,61 (CH_2)
β	2,53 (t; 7,3; 2H)	29,95 (CH_2)
OCH_2O	6,18 (sl; 2H)	104,57 (CH_2)



Ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g**

5.12. Preparação do 6-nitropiperonal (65).



Reagentes: a) CH₃COOH(glacial) e HNO₃(conc), 6h, 0°C (62%).

Num balão de 10 mL de capacidade foram dissolvidos 1,0 g (6,66 mmol) de piperonal **63** em 5,0 mL de ácido acético glacial, formando uma solução incolor. Sobre esta solução, mantida sob agitação magnética e à temperatura ambiente, foi adicionado 1,5 mL (33,3 mmol) de ácido nítrico concentrado, gota-a-gota. A reação foi acompanhada por CCF e após 6 horas a reação se completou apresentando-se como uma solução amarela, que foi transferida para um funil de decantação e particionada entre acetato de etila (10 mL) e água (4x10 mL). A fase orgânica foi lavada com uma solução saturada de NaHCO₃ (4x10 mL), e em seguida seca sobre Na₂SO₄ (anidro), filtrada e evaporada, fornecendo um sólido amarelo, o qual foi purificado por cromatografia em sílica gel (eluente: hexano/acetato de etila 5%) fornecendo 0,806 g (62%) do 6-nitropiperonal **65**, na forma de cristais amarelos (Rascado, 1997).

Pf.: 88-90°C (Lit.: 93-94°C) (Catálogo Aldrich 2005-6)

Infravermelho (KBr, cm⁻¹)

ν_{C-H} (Csp²) = 3059,8 (aromático)

$\nu_{C=O}$ = 1680,8 (vibração da carbonila do aldeído conjugado ao anel aromático)

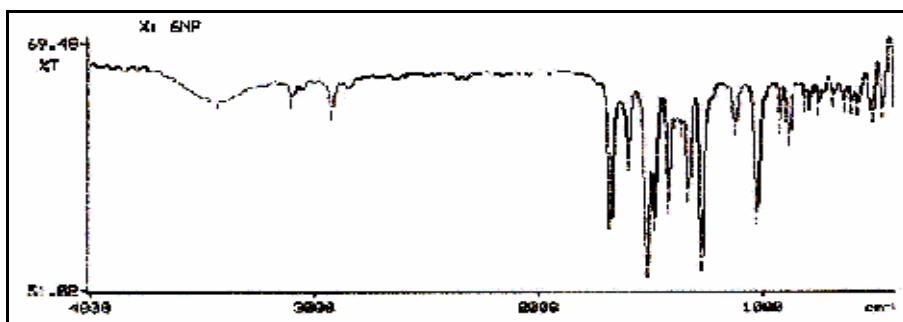
$\nu_{C=C}$ (Csp²) = 1598-1423 (vibração do esqueleto aromático)

$\nu_{N=O}$ = 1517,7 (radical nitro)

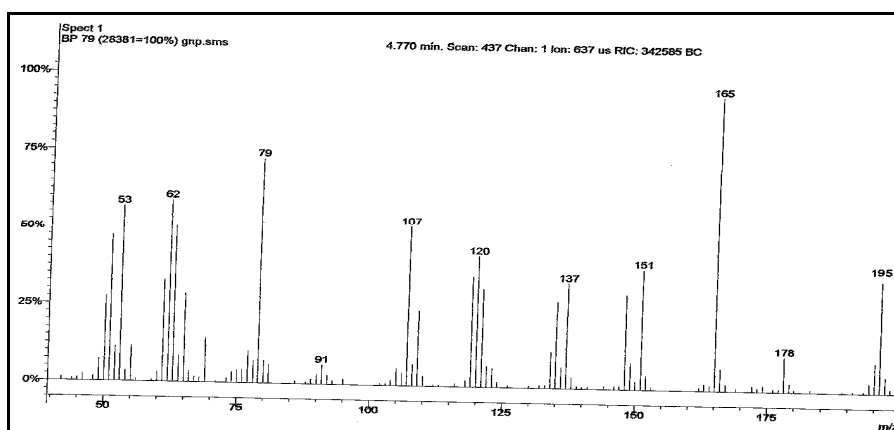
ν_{C-N} = 1369,4 (radical nitro)

ν_{C-O-C} = 1277,5 (metilenodioxi)

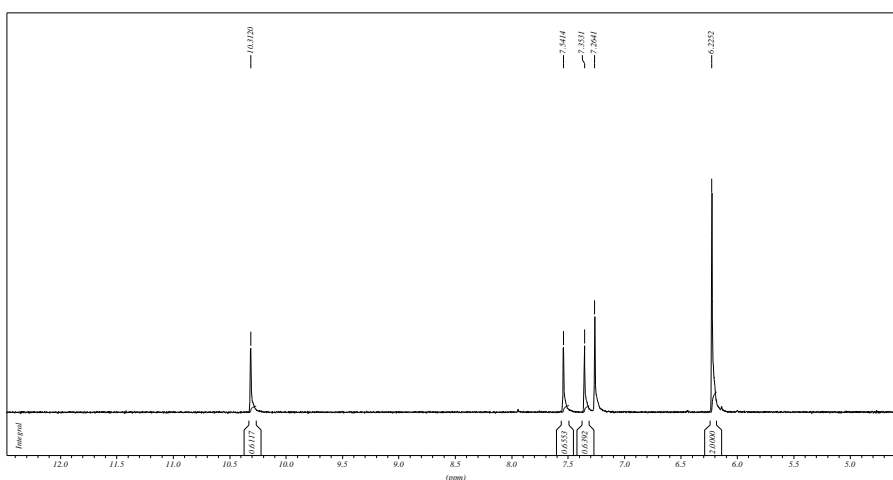
σ_{C-H} (Csp²) = 960,8 (dobramento de 1H_{arom.} isolado)



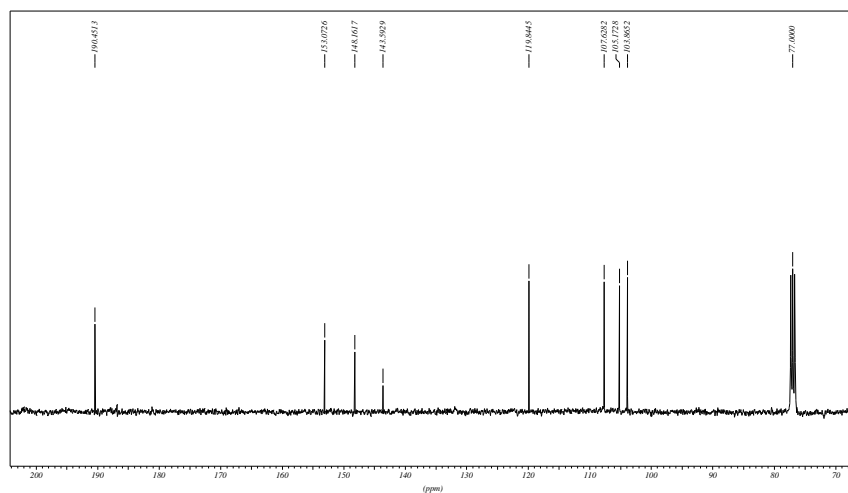
Espectro 33. Espectro de IV do 6-nitropiperonal 65.



Espectro 34. Espectro de massas do 6-nitropiperonal 65.



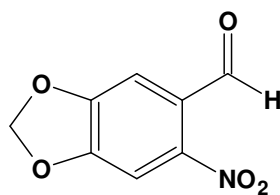
Espectro 35. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 6-nitropiperonal 65.



Espectro 36. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CDCl_3) do 6-nitropiperonal **65**.

Tabela 18. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o 6-nitropiperonal **65**.

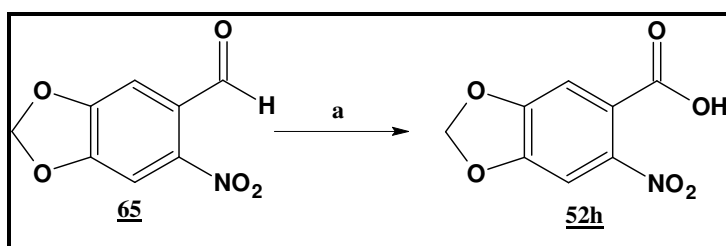
Posição	6-nitropiperonal (CDCl_3) 400MHz	
	δH (ppm), J(Hz)	δC (ppm)
CHO	10,31 (s; 1H)
C=O	190,4(C)
1	119,8 (C)
2	7,54 (s; 1H)	107,6 (CH)
3	153,0 (C)
4	148,1 C)
5	7,35 (s; 1H)	105,1 (CH)
6	143,5 (C)
OCH_2O	6,22 (sl; 1H)	103,8 (CH_2)



6-nitro piperonal 65

5.13. Preparação do ácido 6-nitro-3,4 metilenodioxibenzóico (ácido 6-nitropiperonílico) (52h)

Obs: A metodologia utilizada para preparar o ácido saturados 41-3, a partir do piperonal 52 (**vide pág. 82**), não logrou êxito para este derivado 52-1. Logo, tentou-se uma outra metodologia, utilizando como agente oxidante KMnO_4 . (Mitscher, 1978)



Reagentes: a) KMnO_4 , refluxo, 4h (48%).

À uma solução de 6 mL de água e 4 mL de acetona num balão de fundo redondo foi adicionado 0,320g (1,641 mmols) do 6 nitropiperonal 65 previamente preparado. Em seguida adicionou-se 0,413g (2,4615mmols) de KMnO_4 . A mistura foi submetida a agitação e refluxo durante 4h, havendo formação de um precipitado marrom (MnO_2), indicando o término da reação. Posteriormente, filtrou-se o meio reacional, para eliminação de todo MnO_2 residual, lavando com 20 mL de água destilada quente. Em seguida, resfriou-se esta solução aquosa resultante em banho de gelo, que foi acidificada com HCl (conc.), havendo formação de 0,165g (48%) de um precipitado amarelo 52h, que foi filtrado em seguida.

Pf.: 166-168°C (Lit.: 165-166°C)

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{O-H}}$ = 3425 (ácido carboxílico)

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 3070,17 (anel aromático)

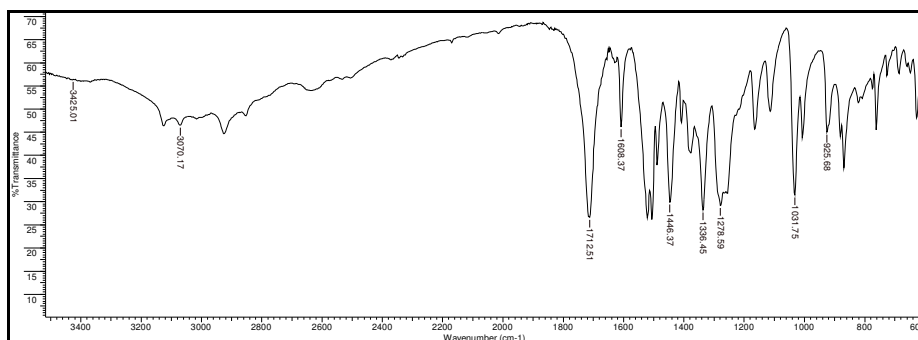
$\nu_{\text{C=O}}$ = 1608,3 (vibração da carbonila do ácido carboxílico conjugado)

$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp^2) = 1446 (vibração do esqueleto aromático)

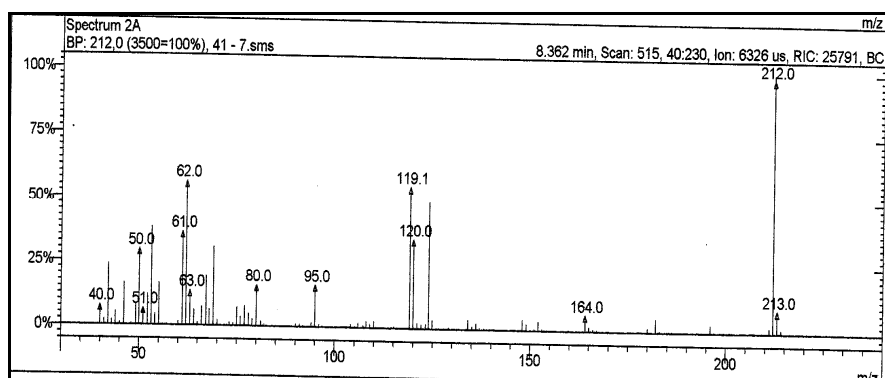
$\nu_{\text{C-O-C}}$ = 1278,5 (metilenodioxi)

ν_s (Ar-NO_2) = 1336,4 (grupo nitro)

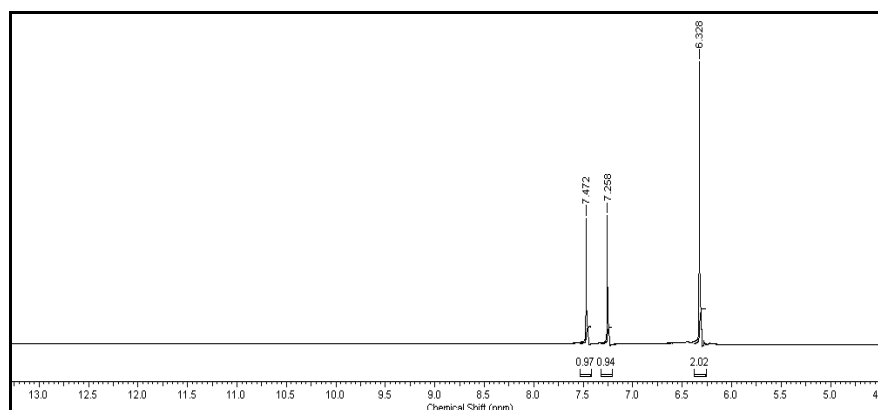
$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 925,6 (dobramento de $1\text{H}_{\text{arom.}}$ isolado)



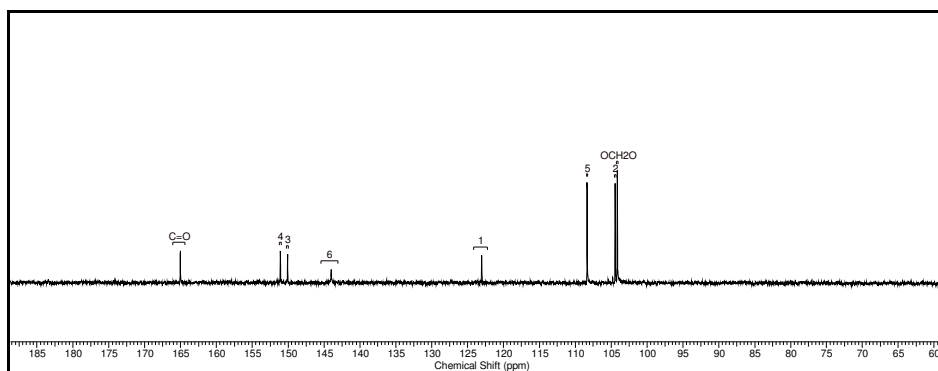
Espectro 37. Espectro de IV do ácido 6-nitro-piperônico **52h**.



Espectro 38. Espectro de massas do ácido 6-nitro-piperônico **52h**.



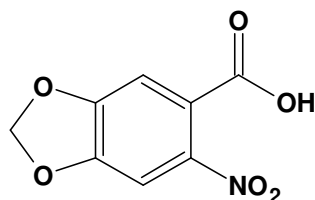
Espectro 39. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, Acetona- d_6) do ácido 6-nitro-piperônico **52h**.



Espectro 40. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, Acetona- d_6) do ácido 6-nitro-piperonílico **52h**.

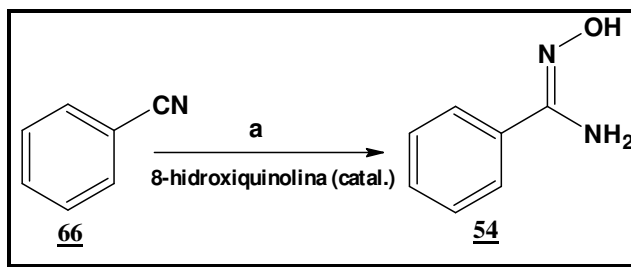
Tabela 19. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o ácido piperonílico **52h**.

Posição	Ácido 6-nitropiperonílico (Acetona- d_6) 400MHz	
	δ H(ppm); J (Hz)	δ C(ppm)
OH
C=O	165,23(C)
1	123,16(C)
2	7,25 (d; 1H)	104,44(CH)
3	150,11(C)
4	151,11(C)
5	7,47 (s; 1H)	108,34(CH)
6	144,26(C)
OCH ₂ O	6,32 (s; 2H)	104,14(CH ₂)



ácido 6-nitro piperonílico **52h**

5.14. Preparação da *N*'-hidroxi-benzo-carboximidamida (benzamidoxima) (**54**)



Reagentes: a) Cloridrato de hidroxilamina e Na₂CO₃, refluxo, 1h (94%).

À uma solução contendo 2,5g (24 mmols) de benzonitrila **66** em 20 ml de etanol, foram adicionados 8,7mg (0,06mmols) da 8- hidroxiquinolina. Posteriormente, 3,5g (51 mmols) do cloridrato de hidroxilamina e 4g (38 mmols) de carbonato de sódio, foram cada um dissolvidos em 10 ml de água destilada e adicionados por um período de 10 minutos no meio reacional. Após 1h de refluxo, evaporou-se o meio reacional em evaporador rotatório, resultando em um óleo castanho, que precipitou após passar a noite em repouso. Este precipitado foi purificado através de uma filtração utilizando sílica como fase estacionária e acetato de etila como eluente. Finalmente, obteve-se 3,1g (94%) da benzoimidoxima **54**. Pf.: 76°C (Lit.: 78°C) (Srivastava, 1997).

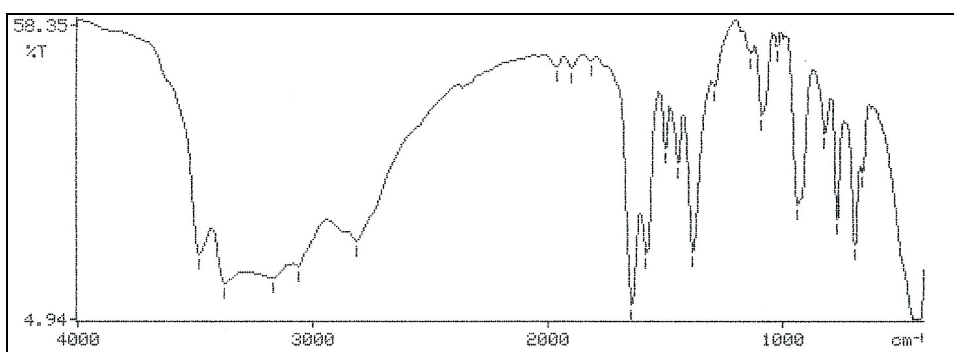
Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

$\nu_{\text{C}=\text{N}-\text{OH}} = 3300-3700$ (oxima)

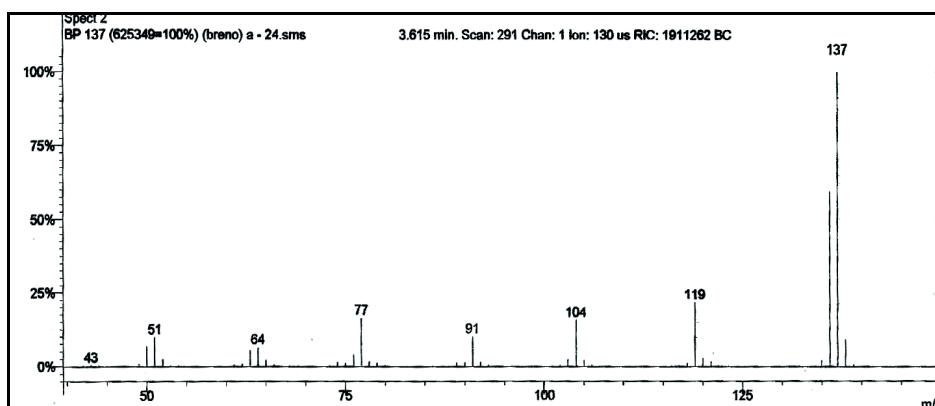
$\nu_{\text{C}-\text{H}}$ (aromático) = 3061 (deformação angular)

$\sigma_{\text{N}-\text{H}} = 1645$ (deformação angular)

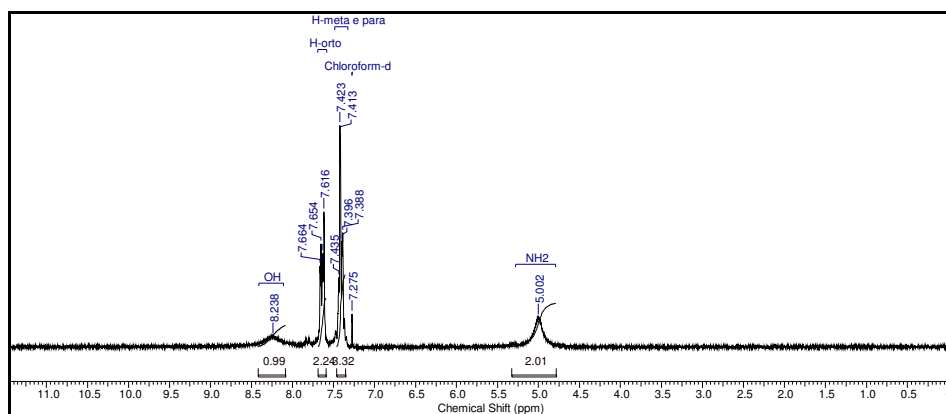
$\sigma_{\text{C}-\text{H}}$ (Csp²) = 770 e 695 (padrão de substituição do anél aromático, 5H vizinhos)



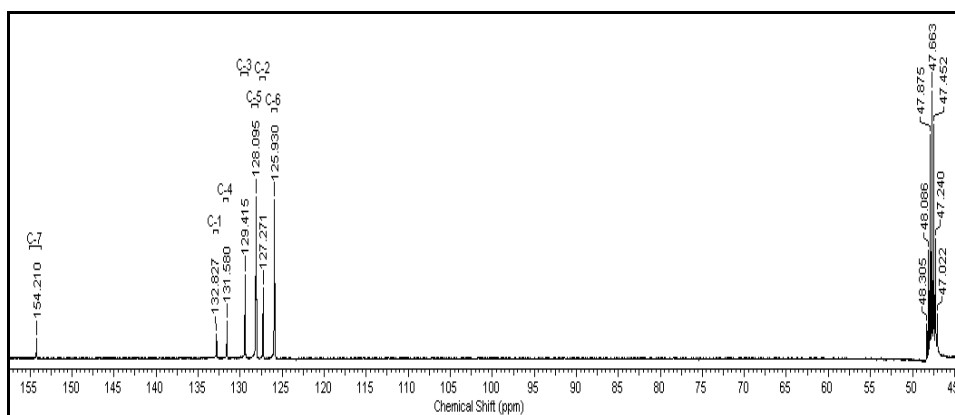
Espectro 41. Espectro de IV da benzamidoxima **54**.



Espectro 42. Espectro de massa da benzoimidoxima **54**.



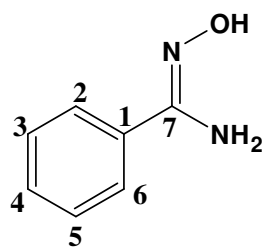
Espectro 43. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) da benzoimidoxima **54**.



Espectro 44. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) da benzoimidoxima **54**.

Tabela 20. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para banzamidoxima **54**.

Posição	Benzamidoxima ($\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{OD}$) 400MHz	
	$\delta \text{H}(\text{ppm}); \text{J} (\text{Hz})$	$\delta \text{C}(\text{ppm})$
1	7,64 (m, 2H)	132,83(CH)
2	7,64 (m, 2H)	127,27(CH)
3	7,41 (m , 3H)	129,42CH)
4	7,41 (m , 3H)	132,58(CH)
5	7,41 (m , 3H)	128,09(CH)
6	125,93(CH)
7	154,21(CH)
NH₂	5,00 (s, 2H)
OH	8,24 (s, 1H)



benzamidoxima **54**

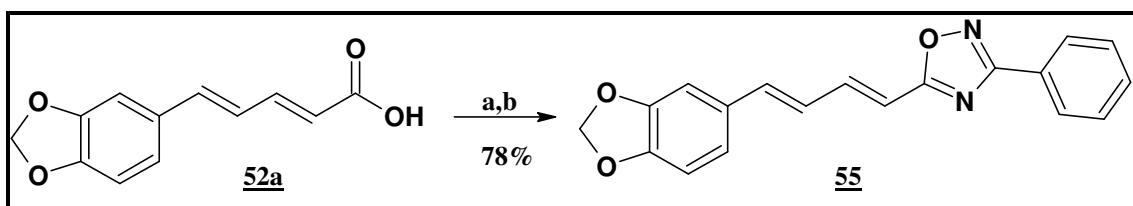
5.15. Preparação dos novos derivados 1,2,4-oxadiazólicos.

✓ **Metodologia geral** adaptada do trabalho descrito por Chiou&Shine (1989).

Em um balão de 10 mL de capacidade, acoplado a um borbulhador, foram adicionados 1,37 mmol do ácido carboxílico e 2,0 mL (excesso: 2,95g ; 22,81 mmol) de cloreto de oxalila (COCl)₂. A reação foi mantida à temperatura ambiente e agitação magnética, sendo acompanhada por CCF (do éster metílico correspondente, formado através da reação instantânea de uma alíquota do cloreto de acila com metanol) e pelo desprendimento de CO₂(g) durante aproximadamente 1 hora. O excesso de (COCl)₂ foi removido em evaporador rotatório, restando apenas o cloreto de acila que foi utilizado sem tratamento, devido à sua instabilidade em atmosfera úmida.

Paralelamente, em outro balão de 10 mL, foram adicionados 3 mL de piridina (anidra) e 0,155 g (1,14 mmol) de benzamidoxima **54**, mantidos sobre agitação magnética, atmosfera inerte de nitrogênio e temperatura ambiente. Solubilizou-se então o cloreto de ácido em 2mL de CH₂Cl₂ (anidro) e adicionou-se, com o auxílio de uma seringa, esta solução contendo o cloreto de acila àquela contendo a benzamidoxima **54**. Foi nítida a liberação de gás HCl, (vide proposta mecanística na página xx), o que causou a corrosão dos septos, assim como o aquecimento do meio reacional (reação exotérmica), controlado com um banho de água fria. Após 15 minutos de agitação, observou-se por CCF a formação de uma mancha com perfil diferente dos reagentes, porém relativamente polar, que ficou evidenciado ser o intermediário *O*-acilado após isolamento (ver experimental na **página xx**) e caracterização (**Espectros x e x, páginas xx e xx**). Esta averiguação foi feita apenas para o derivado piperínico **55**. Em seguida adaptou-se um condensador ao sistema e iniciou-se o refluxo. Após cerca de 2-6h, a CCF indicou todo o consumo da mancha mais polar, dando origem a uma mancha menos polar (**derivados 1,2,4-oxadiazólicos**). Adicionou-se 25 mL água após o resfriamento do meio reacional, havendo imediata precipitação do oxadiazol. O respectivo sólido foi filtrado a vácuo, lavado com água gelada e em seguida recristalizado em etanol.

5.15.1. Preparação do 3-fenil-5-[4-(3,4-metilenodioxifenil)-1(E)-3(E)-butadienil]-1,2,4-oxadiazol (55).



Reagentes: a) $(\text{COCl})_2$, b) benzamidoxima 54, py, refluxo, 2h

Conforme a **Metodologia Geral**, 0,500 g (2,29 mmol) do ácido piperínico 52a reagiu para produzir o cloreto de acila 53a na forma de um sólido castanho, o qual reagiu com 0,259g (1.90mmol) a benzamidoxima 54 e forneceu 0,521 g (78%) do respectivo derivado oxadiazólico 55 na forma de um sólido amorfo amarelo.

P.f.: 152-154 °C

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 3066 (anel aromático)

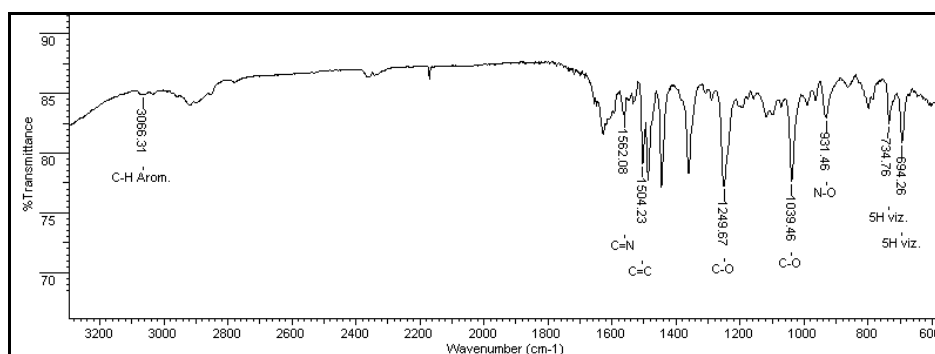
$\nu_{\text{C=N}}$ (Csp^2) = 1562 (anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp^2) = 1504 (anel oxadiazólico/anel aromático)

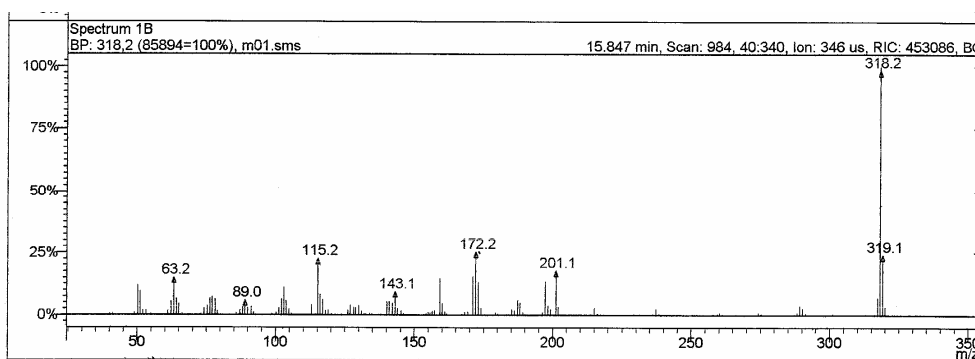
$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ (C-O) = 1249 / 1039 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{N-O}}$ = 931 (anel oxadiazólico)

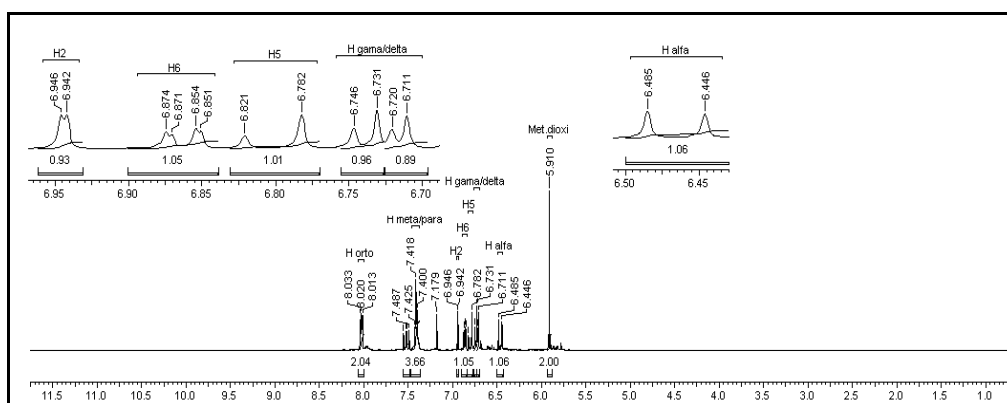
$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 734/649 (dobramento de $5\text{H}_{\text{arom.}}$ vizinhos)



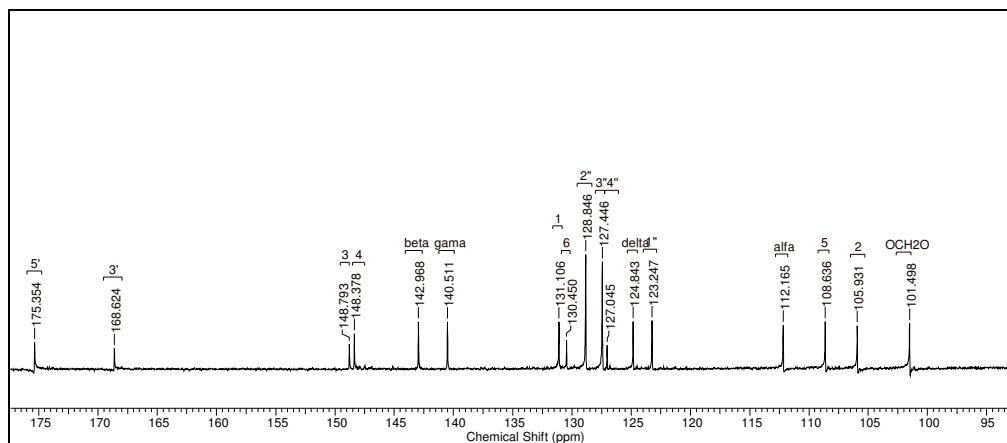
Espectro 45. Espectro de IV do derivado 55.



Espectro 46. Espectro de massas do derivado 55.



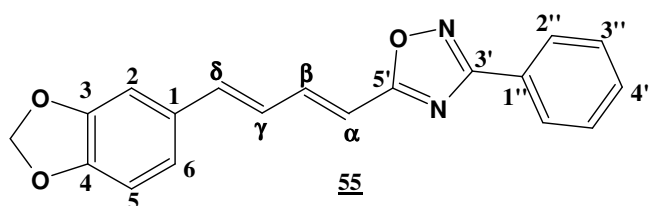
Espectro 47. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de 55.



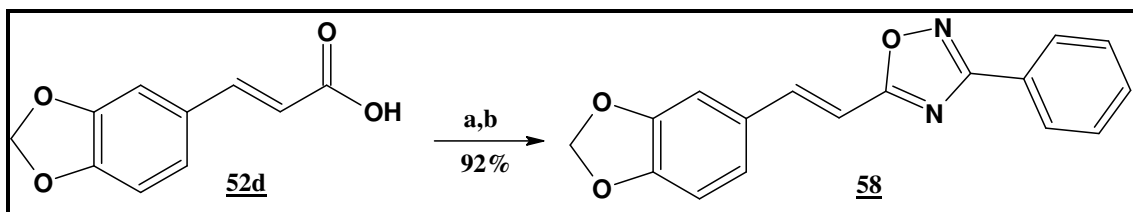
Espectro 48. Espectro de RMN ¹³C (400 MHz, CD₃OD) de 55.

Tabela 21. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado 55.

Posição	<u>55</u> (CDCl_3) 400MHz	
	δH (ppm); J (Hz)	δC (ppm)
CH(α)	6,47 (d; J=15,56; 1H)	112,16(CH)
CH(β)	7,52 (dd; J=15,30 e 10,54; 1H)	142,36(CH)
CH(γ)	6,73 (m; 1H)	140,51(CH)
CH(δ)	6,73 (m; 1H)	124,84(CH)
3'	168,62(C)
5'	175,35(C)
1	131,11(C)
2	6,94 (d; J=1,51; 1H)	105,93(CH)
3	148,79(C)
4	148,37(C)
5	6,80 (d; J=8,00; 1H)	108,64(CH)
6	6,86 (dd; J=8,03 e 1,51; 1H)	130,45(CH)
1''	123,24(C)
2''	8,03 (m; 2H)	128,84(CH)
3''	7,41 (m; 2H)	127,45(CH)
4''	7,41 (m; 1H)	127,05(CH)
OCH ₂ O	5,92 (s; 2H)	101,50(CH ₂)



5.15.2. Preparação de 3-fenil-5-[2-(3,4-metilenodioxifenil)-(E)-etenil]-1,2,4-oxadiazol (**58**).



Reagentes: a) $(\text{COCl})_2$, b) benzamidoxima **54**, py, refluxo, 2h.

Conforme a **Metodologia Geral**, 0,500 g (2,55 mmol) do ácido cinâmico **52d** reagiu para produzir o cloreto de acila **53d** na forma de um sólido amarelo, o qual reagiu com 0,295g (2,16mmol) a benzamidoxima **54** e forneceu 0,702 g (92%) do respectivo derivado oxadiazólico **58** na forma de agulhas castanho claras. P.f.: 150-152 °C

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 3070 (anel aromático)

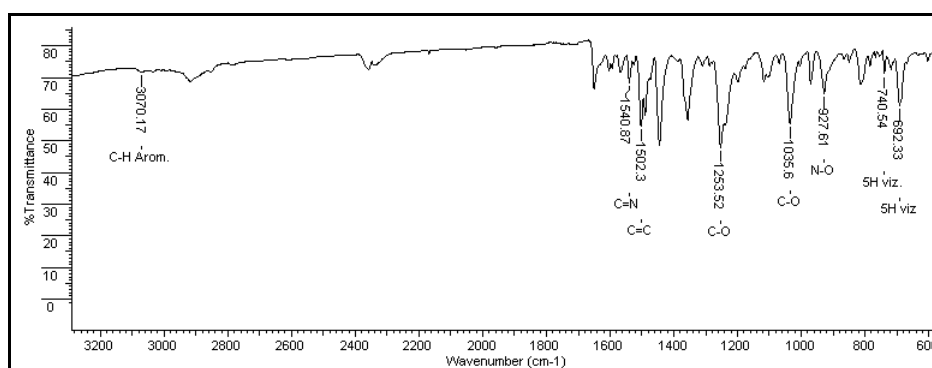
$\nu_{\text{C=N}}$ (Csp^2) = 1540 (anel oxadiazólico)

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

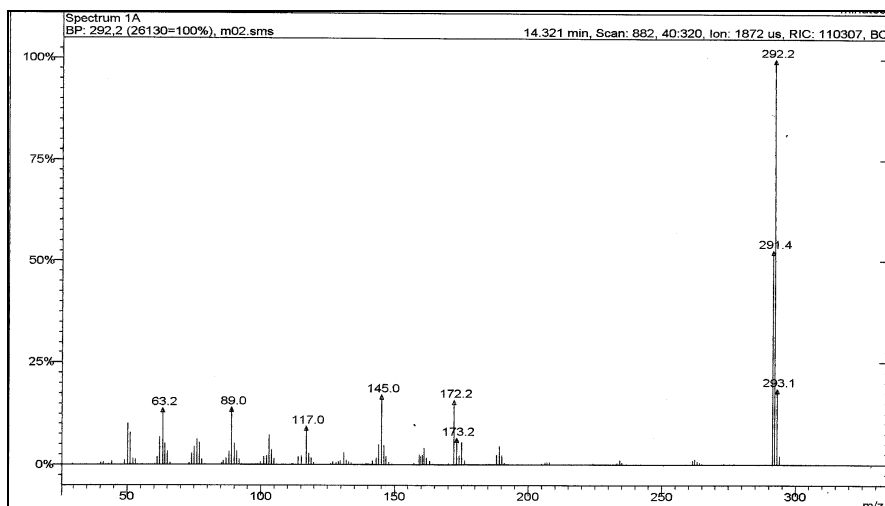
$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ (C-O) = 1253 / 1035 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{N-O}}$ = 927 (anel oxadiazólico)

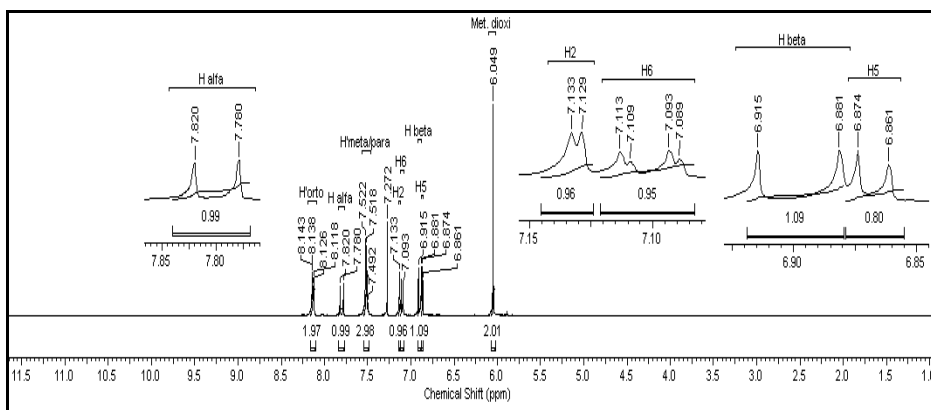
$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 740/692 (dobramento de $5\text{H}_{\text{arom. vizinhos}}$)



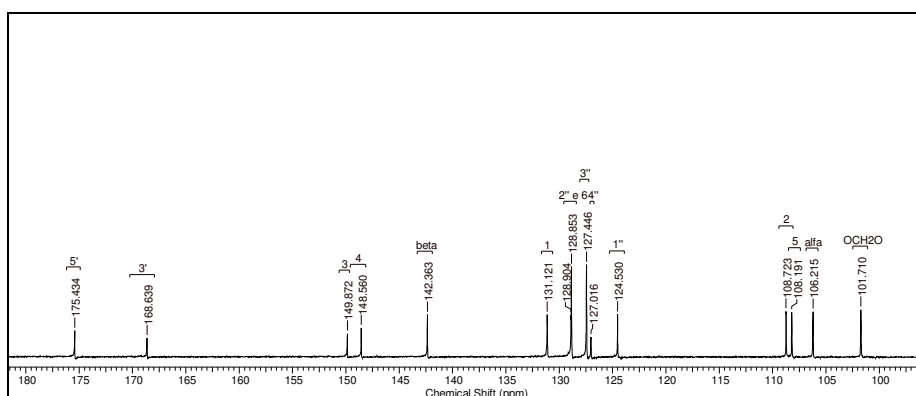
Espectro 49. Espectro de IV de **58**.



Espectro 50. Espectro de massas de **58**.



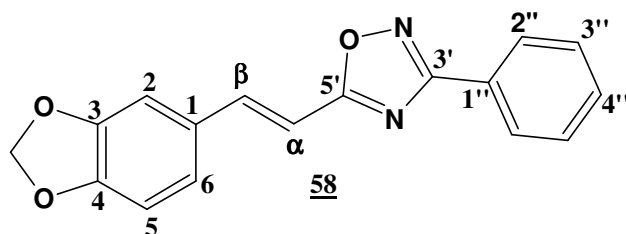
Espectro 51. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de **58**.



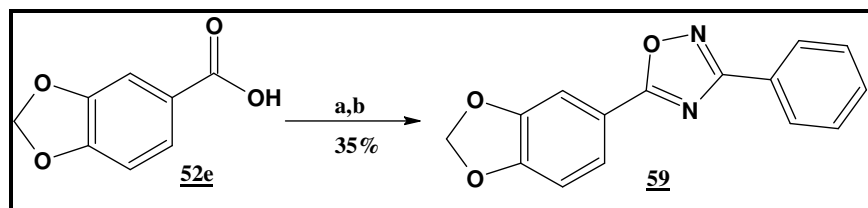
Espectro 52. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **58**.

Tabela 22. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **58**.

Posição	58 (CDCl_3) 400MHz	
	δH (ppm); J (Hz)	δC (ppm)
CH(α)	7,80 (d; J=16.06; 1H)	106,22(CH)
CH(β)	6,87 (d; J=15.30; 1H)	142,36(CH)
3'	168,63(C)
5'	175,43(C)
1	131,12(C)
2	7,13 (d; J=1.37; 1H)	108,72(CH)
3	149,82(C)
4	148,56(C)
5	6,87 (d; J=7.02; 1H)	108,19(CH)
6	7,10 (dd; J=6.78 e 1,13; 1H)	128,85(CH)
1''	124,53(C)
2''	8,13 (m; 2H)	128,85(CH)
3''	7,51 (m; 2H)	127,44(CH)
4''	7,51 (m; 1H)	127,01(CH)
OCH ₂ O	6,05 (s; 2H)	101,71(CH ₂)



5.15.3. Preparação do 3-fenil-5-(3,4-metilenodioxifenil)-1,2,4-oxadiazol (**59**).



Reagentes: a) $(\text{COCl})_2$, b) benzamidoxima **54**, py, refluxo, 2h.

Conforme a **Metodologia Geral**, 0,300 g (1,807 mmol) do ácido piperonílico **52e** reagiu para produzir o cloreto de acila **53e** na forma de um óleo amarelo, o qual reagiu com 0,123g (1,206mmol) a benzamidoxima **54** e forneceu 0,125 g (35%) do respectivo derivado oxadiazólico **59** na forma de agulhas de cor creme.

P.f.: 148-150 °C.

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3052$ (anel aromático)

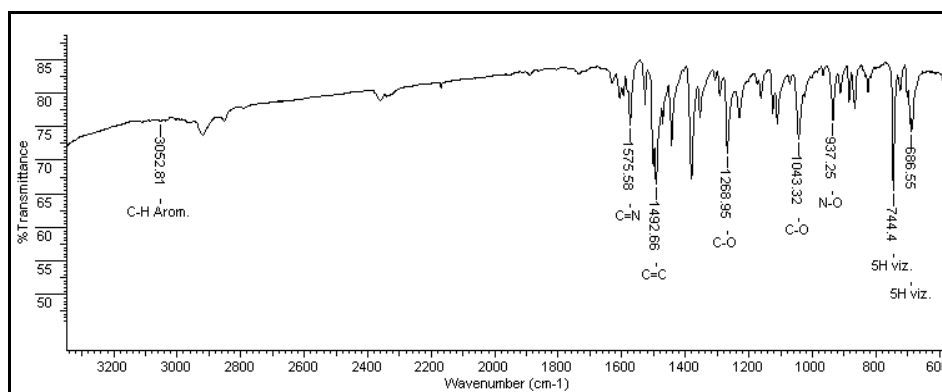
$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1575$ (anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1492$ (anel oxadiazólico/anel aromático)

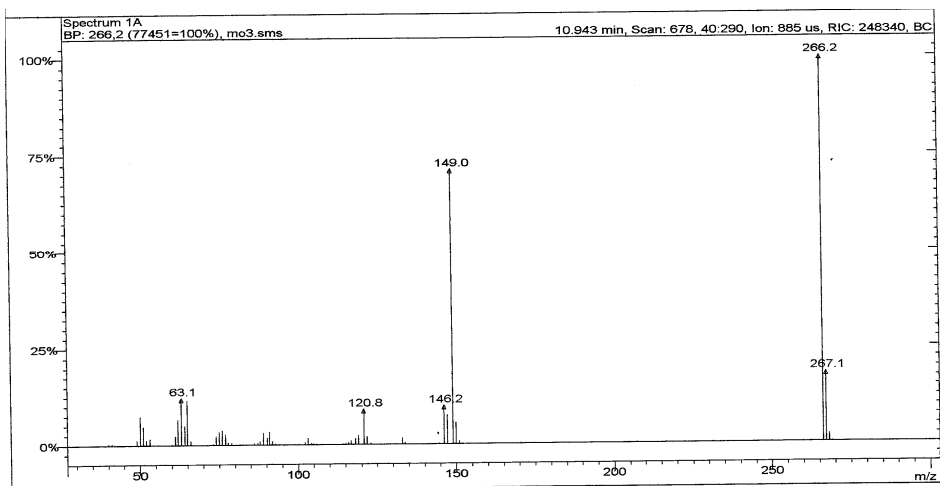
$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}} (\text{C-O}) = 1266 / 1043$ (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{N-O}} = 937$ (anel oxadiazólico)

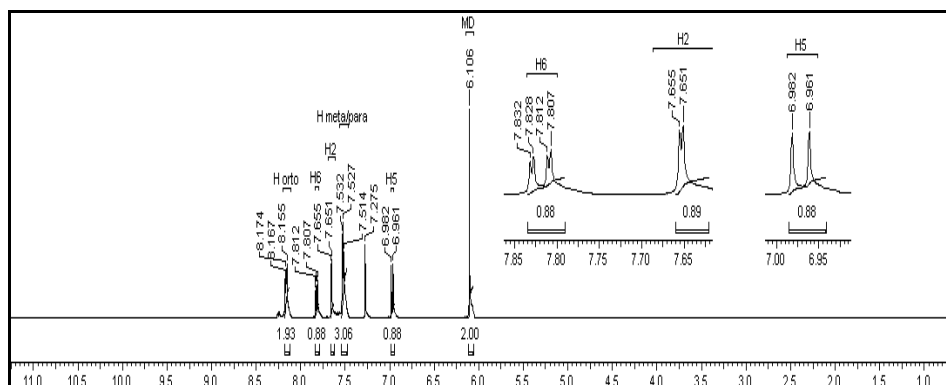
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 744/686$ (dobramento de $5\text{H}_{\text{arom.}}$ vizinhos)



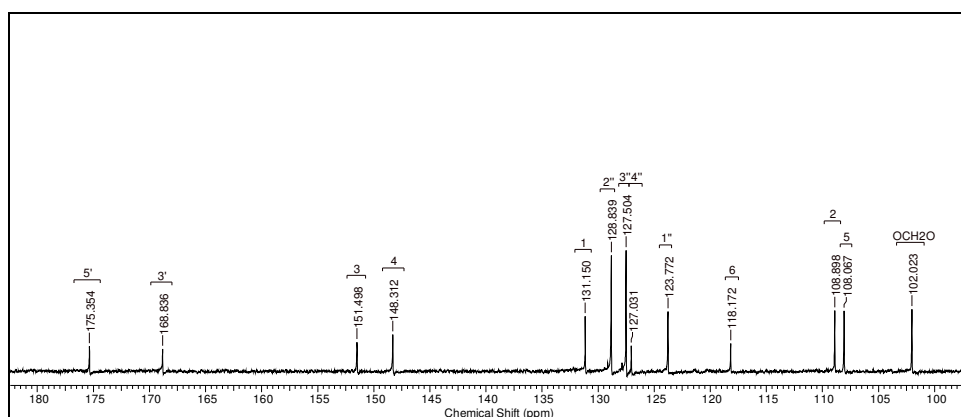
Espectro 53. Espectro de IV de **59**.



Espectro 54. Espectro de massas de **59**.



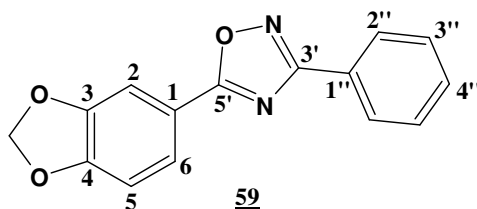
Espectro 55. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de **59**.



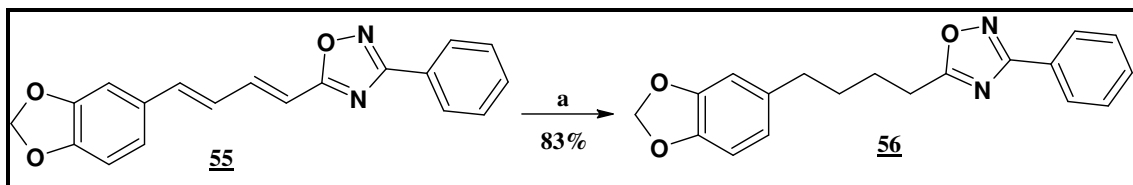
Espectro 56. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **59**.

Tabela 23. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado (**59**).

Posição	59 (CDCl_3) 400MHz	
	δ H(ppm); J (Hz)	δ C(ppm)
3'	175,35(C)
5'	168,83(C)
1	131,15(C)
2	7,65 (d; J=1.76; 1H)	108,89(CH)
3	151,46(C)
4	148,31(C)
5	6,97 (d; J=8.28; 1H)	108,89(CH)
6	7,82 (dd; J=8.16 e 1,63; 1H)	118,17(CH)
1''	123,77(C)
2''	8,17 (m; 2H)	128,83(CH)
3''	7,52 (m; 2H)	127,50(CH)
4''	7,52 (m; 1H)	127,03(CH)
OCH₂O	6,11 (s; 2H)	102,02(CH ₂)



5.15.4. Preparação de 3-fenil-5-[4-(3,4-metilenodioxifenil)-butil]-1,2,4-oxadiazol (**56**).



Reagentes: a) H₂(g), Pd/C; acetato de etila, t.a., 2h

Num balão de 10 mL de capacidade, foi feita uma solução de 70 mg (0,22mmol) de **55** em 5 mL de acetato de etila, sobre a qual foi adicionado 0,05 g do catalisador Pd/C. Esta suspensão foi mantida sob agitação, à temperatura ambiente, por alguns minutos. Selou-se o balão com um septo, retirando-se o ar presente no balão com um bolhometro e fixou-se um balão contendo hidrogênio fixado ao septo. O sistema então permaneceu por 3 horas sob atmosfera de hidrogênio e agitação magnética. Após o término da reação (acompanhada por CCF), o meio reacional foi filtrado numa seringa empacotada com sílica gel, para retirar o catalisador. Após concentração em evaporador-rotatório, foram obtidos 57 mg de **56** em forma de cristais amareladas (83%). P.f. : 70-72 °C.

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

$\nu_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 3070$ (anel aromático)

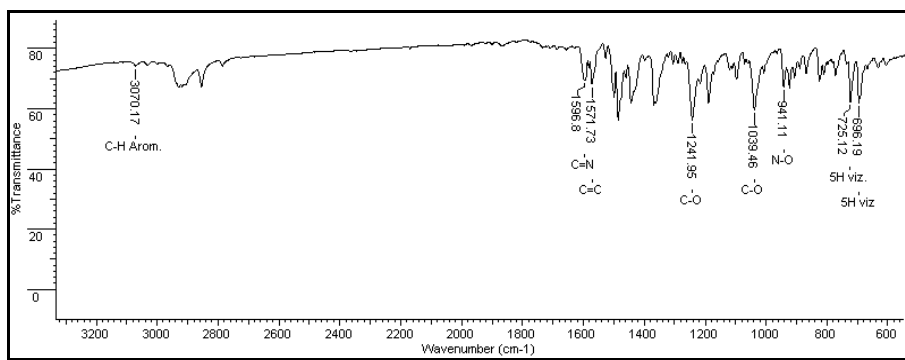
$\nu_{\text{C=N}} (\text{Csp}^2) = 1596$ (anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{C=C}} (\text{Csp}^2) = 1517$ (anel oxadiazólico/anel aromático)

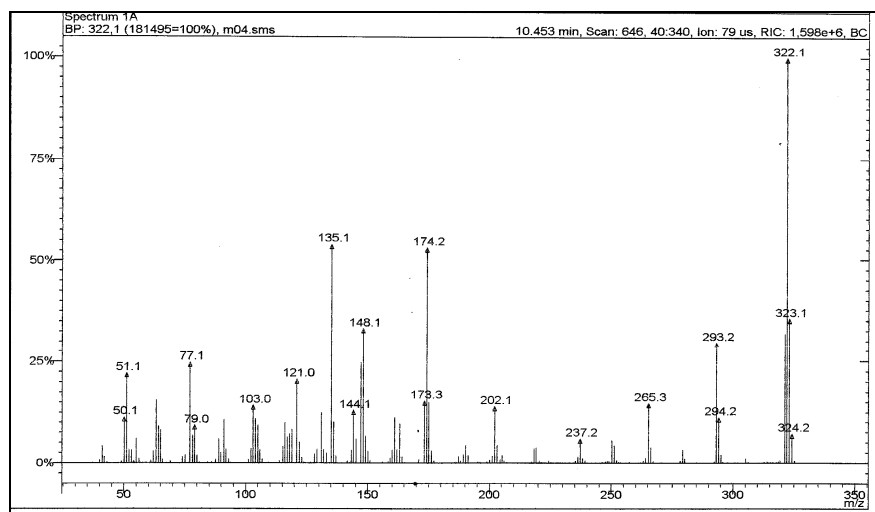
$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}} (\text{C-O}) = 1241 / 1039$ (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{N-O}} = 941$ (anel oxadiazólico)

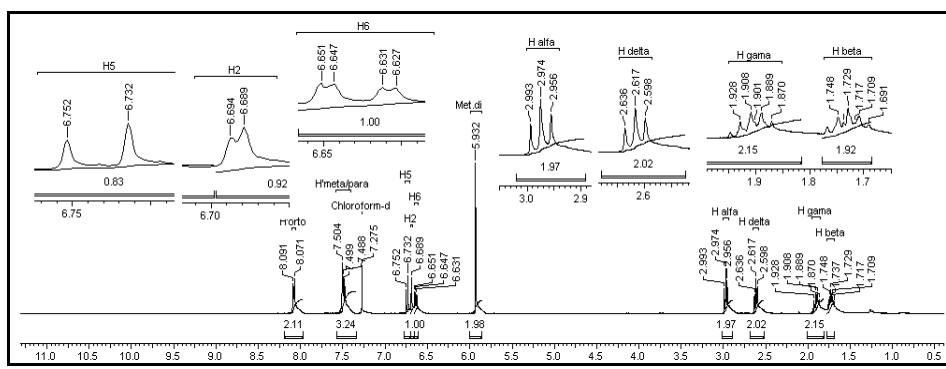
$\sigma_{\text{C-H}} (\text{Csp}^2) = 752/696$ (dobramento de 5H_{arom.} vizinhos)



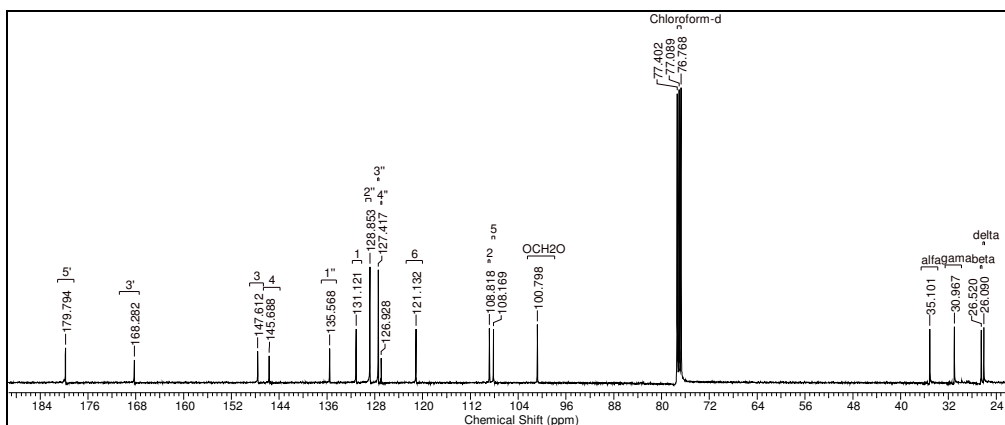
Espectro 57. Espectro de IV de **56**.



Espectro 58. Espectro de massas de **56**.



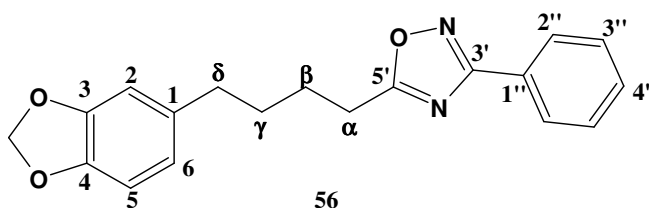
Espectro 59. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de **56**.



Espectro 60. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **56**.

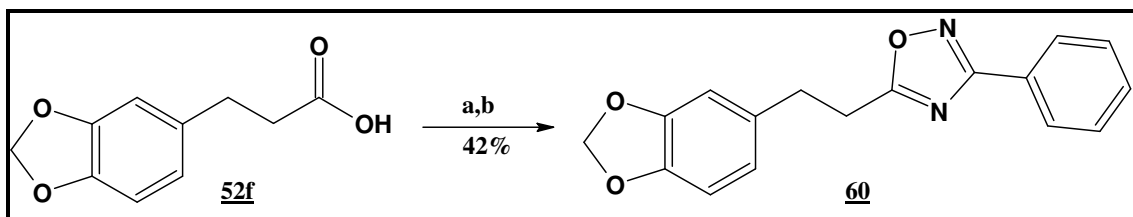
Tabela 24 Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **56**.

Posição	56 (CDCl_3) 400MHz	
	δ H(ppm); J (Hz)	δ C(ppm)
$\text{CH}_2(\alpha)$	2,97 (t; J=7,53;2H)	35,10(CH_2)
$\text{CH}_2(\beta)$	1,72(m; 2H)	26,52(CH_2)
$\text{CH}_2(\gamma)$	1,90(m; 2H)	30,97(CH_2)
$\text{CH}_2(\delta)$	2,62 (t; J=7.53; 2H)	26,09(CH_2)
3'	168,28(C)
5'	179,79(C)
1	131,12(C)
2	6,69 (d; J=1.76; 1H)	108,82(CH)
3	147,61(C)
4	145,68(C)
5	6,74 (d; J=7.00; 1H)	108,17(CH)
6	6,64 (dd; J=7.91 e 1,63; 1H)	121,13(CH)
1''	135,57(C)
2''	8,08 (m; 2H)	128,85(CH)
3''	7,49 (m; 2H)	127,42(CH)
4''	7,49 (m; 1H)	126,93(CH)
OCH_2O	5.93 (s; 2H)	100,79(CH_2)



5.15.5. Preparação de 3-fenil-5-[2-(3,4-metilenodioxifenil)-etil]-1,2,4-oxadiazol (**60**).

Obs¹: Tentou-se sintetizar este derivado através da redução catalítica de **58**, porém a reação não logrou êxito, já que o perfil cromatográfico do produto mostrou-se diferente do esperado (mais polar que o produto de partida). Logo, optou-se por uma via alternativa, partindo do ácido diidrocinâmico **52f**.



Reagentes: a) $(\text{COCl})_2$, b) benzamidoxima **54**, py, refluxo, 6h.

Conforme a **Metodologia Geral**, 0,350 g (1.804 mmol) do ácido diidrocinâmico **52f** reagiu para produzir o cloreto de acila **53f** na forma de um óleo verde, o qual reagiu com 0,204g (1,5034mmol) a benzamidoxima **54** e forneceu 0,221 g (42%) do respectivo derivado oxadiazólico **60** na forma de cristais amorfos creme.

P.f.: 93-95 °C

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 3066 (anel aromático)

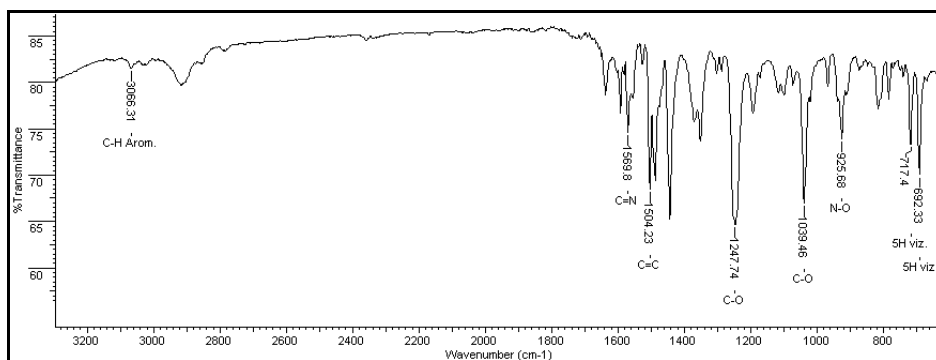
$\nu_{\text{C=N}}$ (Csp^2) = 1569 (anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp^2) = 1504 (anel oxadiazólico/anel aromático)

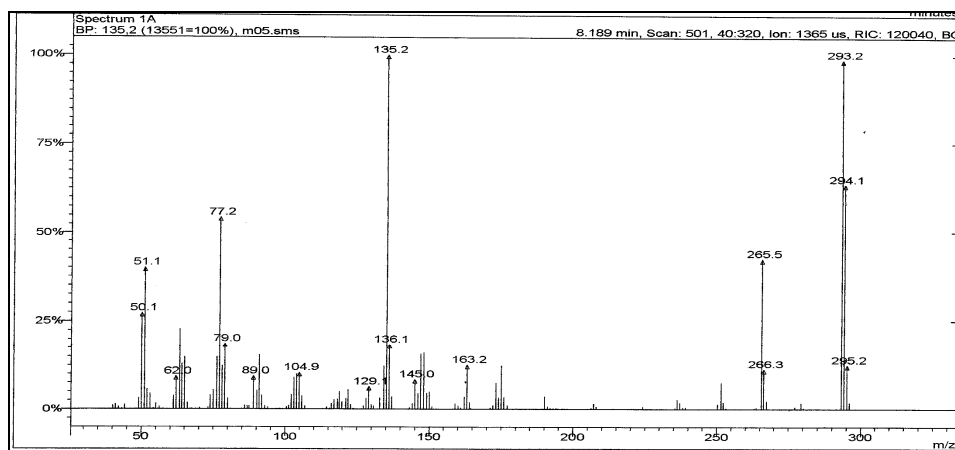
$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ (C-O) = 1247 /1039 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

$\nu_{\text{N-O}}$ = 925 (anel oxadiazólico)

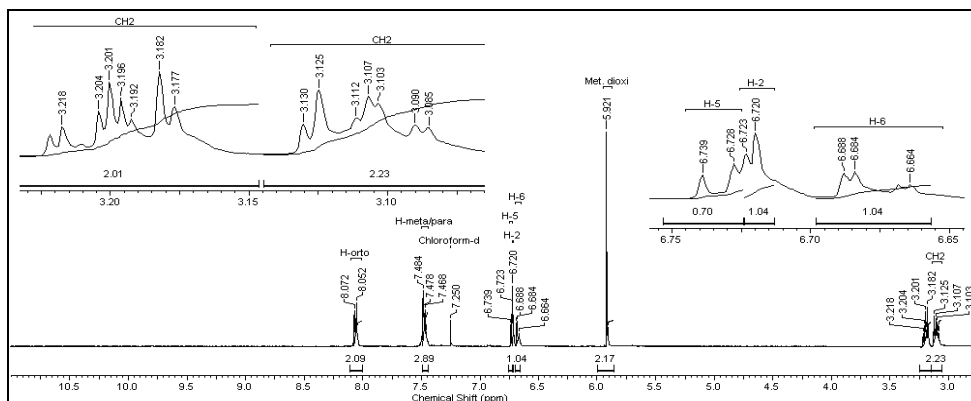
$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 717/692 (dobramento de $5\text{H}_{\text{arom.}}$ vizinhos)



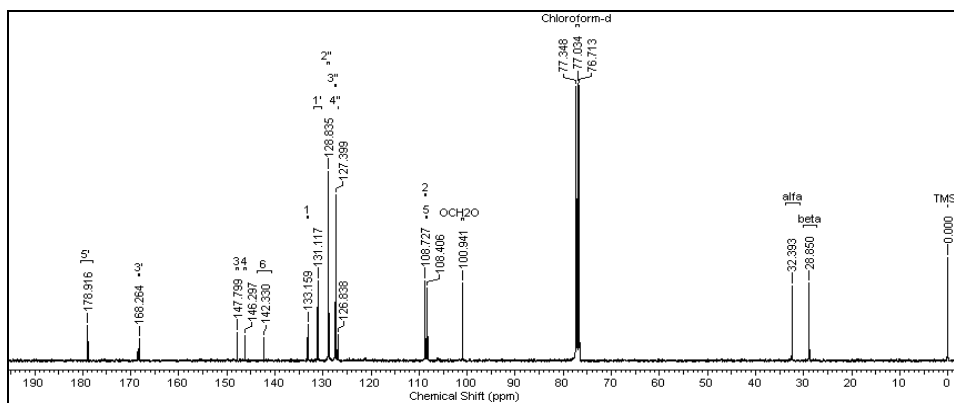
Espectro 61. Espectro de IV de **60**.



Espectro 62. Espectro de massas de **60**.



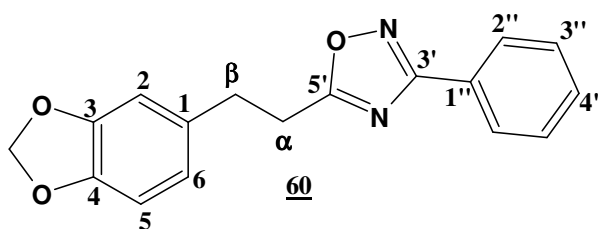
Espectro 63. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de **60**.



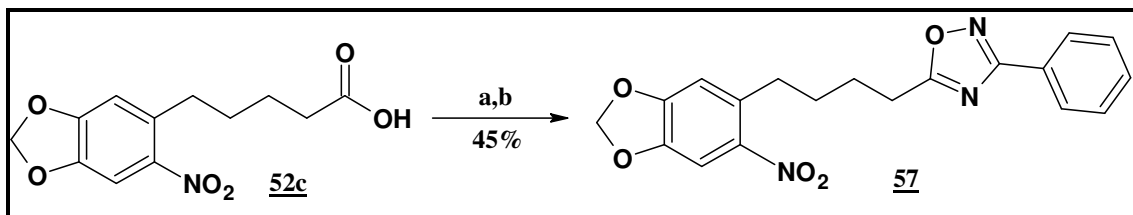
Espectro 64. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **60**.

Tabela 25. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **60**.

Posição	60 (CDCl_3) 400MHz	
	δ H(ppm); J (Hz)	δ C(ppm)
$\text{CH}_2(\alpha)$	3,20 (t; 2H)	28,85(CH_2)
$\text{CH}_2(\beta)$	3,11 (t; 2H)	32,39(CH_2)
3'	168,26(C)
5'	178,92(C)
1	133,16(C)
2	6,72 (d; J=1.25; 1H)	108,73(CH)
3	147,80(C)
4	146,30(C)
5	6,74 (d, J=4.52; 1H)	108,41(CH)
6	6,68 (dd, J=5.04 e 1,06; 1H)	142,33(CH)
1''	131,12(C)
2''	8,06 (m; 2H)	128,84(CH)
3''	7,51 (m; 2H)	127,40(CH)
4''	7,51 (m; 1H)	126,84(CH)
OCH_2O	5,92 (s; 2H)	100,94(CH_2)



5.15.6. Preparação de 4-fenil-5-[4-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-butil]-1,2,4-oxadiazol (57).



Reagentes: a) (COCl)₂, b) benzamidoxima 54, py, refluxo, 4h.

Conforme a **Metodologia Geral**, 0,250 g (0,932 mmol) do ácido 6-nitrotetrahidropiperínico 52c reagiu para produzir o cloreto de acila 53c na forma de um óleo castanho, o qual reagiu com 0,105g (0,777mmol) a benzamidoxima 54 e forneceu 0,153 g (45%) do respectivo derivado oxadiazólico 57 na forma de agulhas castanho claras. P.f.: 88-90 °C

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp²) = 3064 (anel aromático)

$\nu_{\text{C=N}}$ (Csp²) = 1571 (anel oxadiazólico)

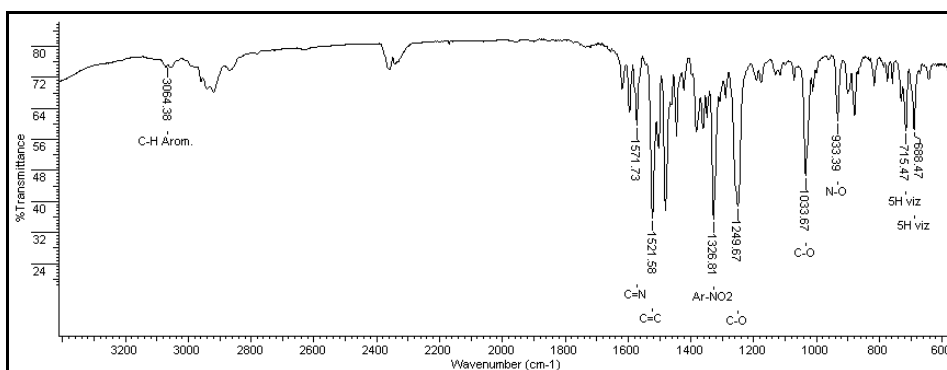
$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp²) = 1521 (anel oxadiazólico/anel aromático)

$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ (C-O) = 1249 /1033 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

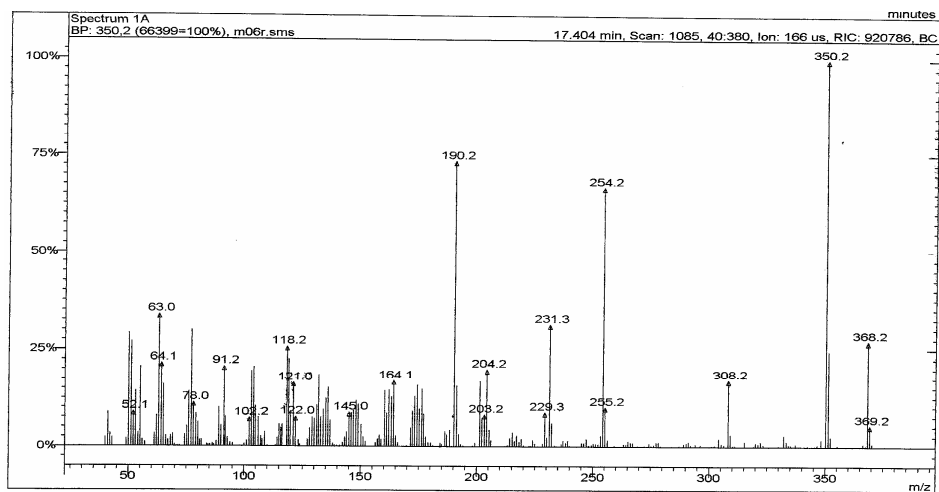
$\nu_{\text{N-O}}$ = 933 (anel oxadiazólico)

$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp²) = 715/688 (dobramento de 5H_{arom.} vizinhos)

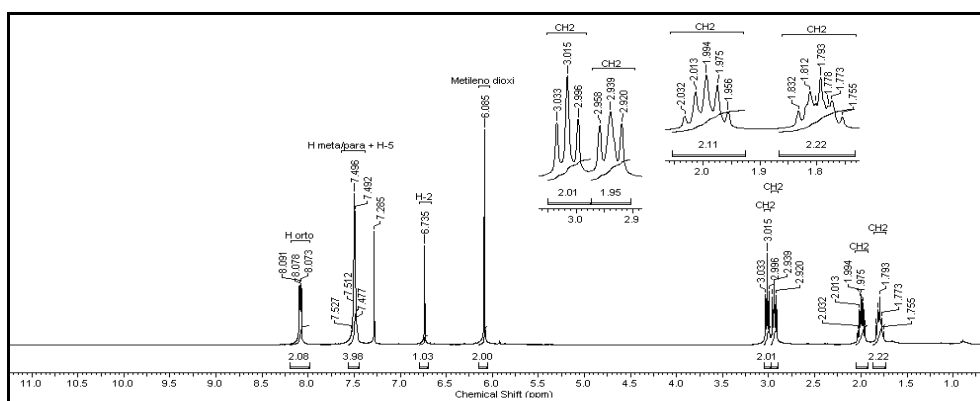
ν_{s} (Ar-NO₂) = 1326 (grupo nitro)



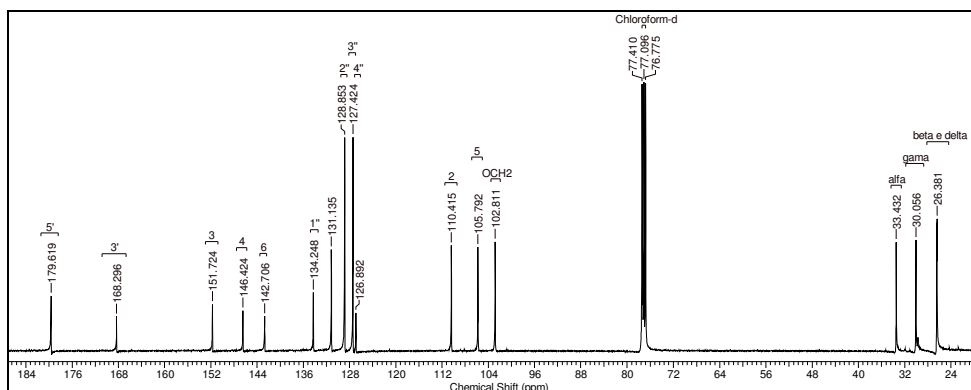
Espectro 65. Espectro de IV de 57.



Espectro 66. Espectro de massas de 57.



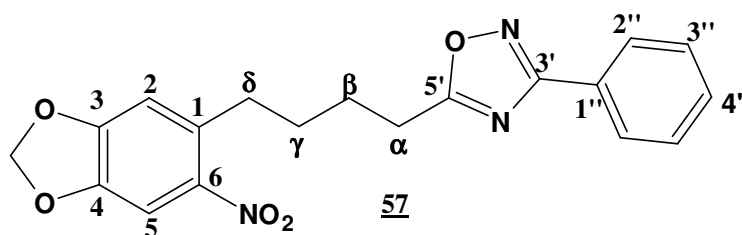
Espectro 67. Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) de 57.



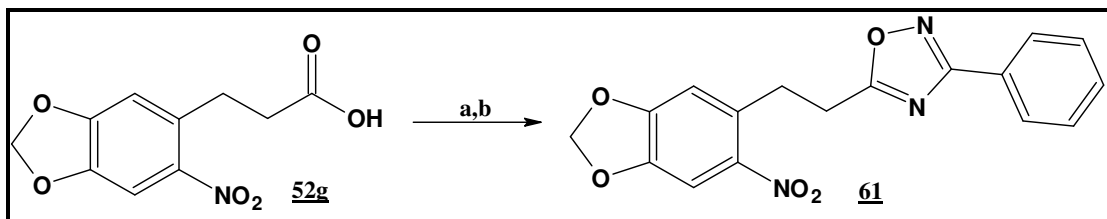
Espectro 68. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de 57.

Tabela 26. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado 57.

Posição	<u>57</u> (CDCl_3) 400MHz	
	δ H(ppm); J (Hz)	δ C(ppm)
CH2- α	3,01 (t; J=7,40; 2H)	33,43(CH ₂)
CH2- β	1,79 (m; 2H)	26,38(CH ₂)
CH2- γ	1,99 (m; 2H)	26,38(CH ₂)
CH2- δ	2,94 (t; J=7,40; 2H)	30,06(CH ₂)
3'	168,30(C)
5'	7,49 (m; 1H)	179,62(CH)
1	131,14(CH)
2	6,73 (s;1H)	110,41(CH)
3	146,42(C)
4	142,71(C)
5	105,79(C)
6	151,72(C)
1''	134,25(C)
2''	8,08 (m; 2H)	128,85(CH)
3''	7,49 (m; 2H)	127,42(CH)
4''	7,49 (m; 2H)	126,89(CH)
OCH ₂ O	6,09(s; 2H)	102,81(CH ₂)



5.15.7. Preparação de 4-fenil-5-[2-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-etil]-1,2,4-oxadiazol (**61**).



Reagentes: a) (COCl)₂, b) benzamidoxima **54**, py, refluxo, 4h.

Conforme a **Metodologia Geral 1**, 0,300 g (1.252 mmol) do ácido 6-nitrodiidrocinâmico **52g** reagiu para produzir o cloreto de acila **53g** na forma de um sólido castanho, o qual reagiu com 0,141g (1,043mmol) a benzamidoxima **54** e forneceu 0,195 g (46%) do respectivo derivado oxadiazólico **61** na forma de agulhas de cor castanho.

Obs: Na etapa de adição de água destilada para precipitação do oxadiazol, não houve a esperada precipitação. Então diluiu-se a solução resultante em 20 mL de acetato de etila e tratou-se com solução 5% de HCl (3x15mL) e posteriormente com solução 10% de CuSO₄, afim de eliminar a piridina residual. Após retirada do resíduo de água da fase orgânica com Na₂SO₄ (anidro), concentrou-se a solução em rota-vapor. O resultado foi um sólido castanho, que foi submetido a purificação por recristalização em EtOH. Finalmente, obteve-se 0,195g de um sólido creme. (46%). P.f. : 117-119 °C.

Infravermelho (KBr, cm⁻¹):

ν_{C-H} (Csp²) = 3074 (anel aromático)

$\nu_{C=N}$ (Csp²) = 1573 (anel oxadiazólico)

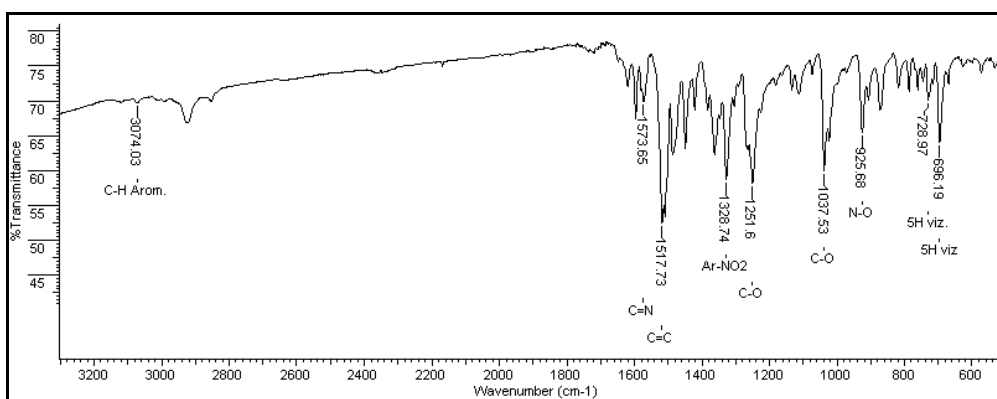
$\nu_{C=C}$ (Csp²) = 1517 (anel oxadiazólico/anel aromático)

ν_{as/ν_s} (C-O) = 1251 /1037 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

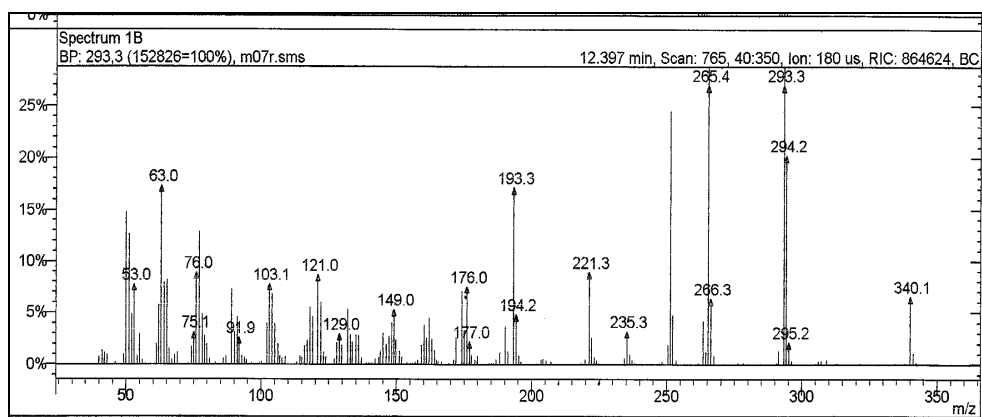
ν_{N-O} = 925 (anel oxadiazólico)

σ_{C-H} (Csp²) = 728/696 (dobramento de 5H_{arom.} vizinhos)

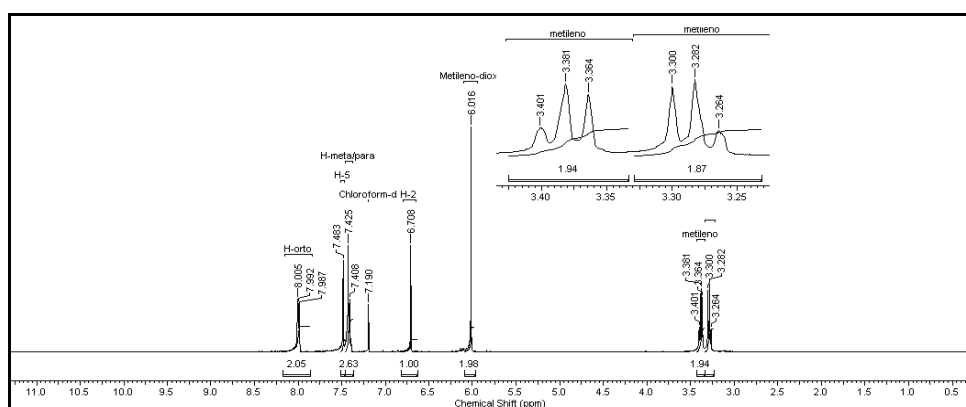
ν_s (Ar-NO₂) = 1328 (grupo nitro)



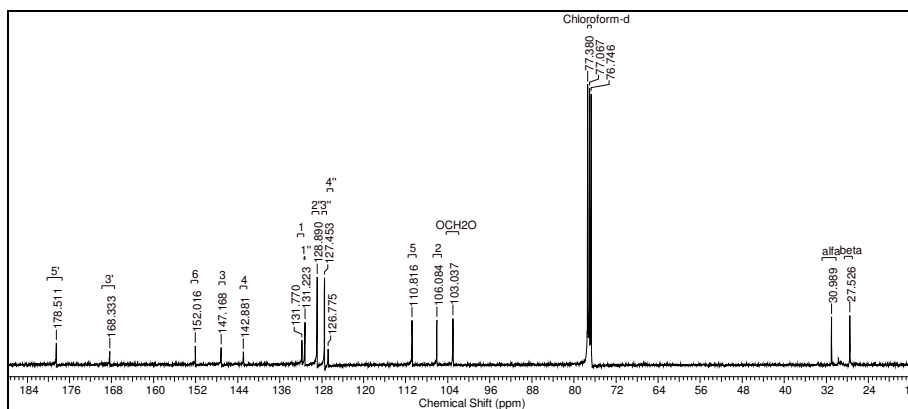
Espectro 69. Espectro de massas de **61**.



Espectro 70. Espectro de massas de **61**.



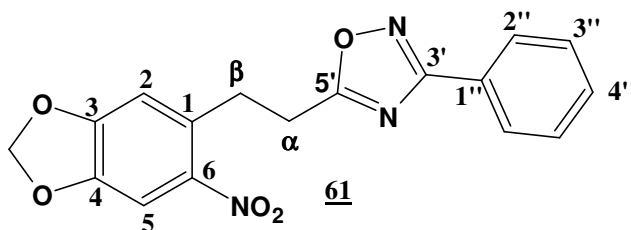
Espectro 71. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de **61**.



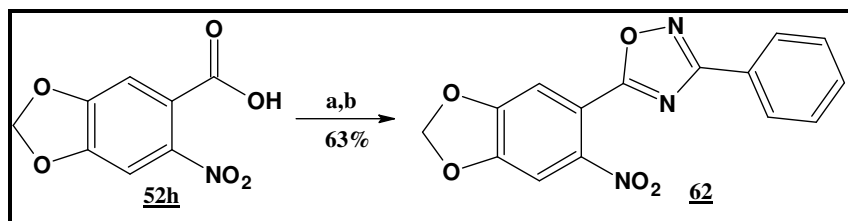
Espectro 72. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **61**.

Tabela 27. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **61**.

Posição	61 (CDCl_3) 400MHz	
	$\delta \text{H}(\text{ppm}); \text{J}(\text{Hz})$	$\delta \text{C}(\text{ppm})$
$\text{CH}_2(\alpha)$	3,38 (t; 2H)	27,53(CH_2)
$\text{CH}_2(\beta)$	3,28 (t; 2H)	30,99(CH_2)
3'	168,33(C)
5'	178,51(C)
1	131,77(C)
2	6,71 (s; 1H)	110,82(CH)
3	147,16(C)
4	142,88(C)
5	7,48 (s; 1H)	106,08(CH)
6	152,02(C)
1''	131,22(C)
2''	8,00 (m; 2H)	128,89(CH)
3''	7,48 (m; 2H)	127,45(CH)
4''	7,48 (m; 1H)	126,78(CH)
OCH_2O	6,02 (s; 2H)	103,04(CH_2)



5.15.8. Preparação de 4-fenil-5-(6-nitro-3,4-metilenodioxifenil)-1,2,4-oxadiazol (**62**).



Reagentes: a) $(\text{COCl})_2$, b) benzamidoxima **54**, py, refluxo, 5h.

Conforme a **Metodologia Geral 1**, 0,310 g (1.462 mmol) do ácido 6-nitropiperonílico **52h** reagiu para produzir o cloreto de acila **53h** na forma de um sólido castanho, o qual reagiu com 0,165g (1,218mmol) a benzamidoxima **54** e forneceu 0,287 g (63%) do respectivo derivado oxadiazólico **62** na forma de agulhas de cor creme.
P.f.: 170-172 °C.

Infravermelho (KBr, cm^{-1}):

$\nu_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 3068 (anel aromático)

$\nu_{\text{C=N}}$ (Csp^2) = 1535 (anel oxadiazólico)

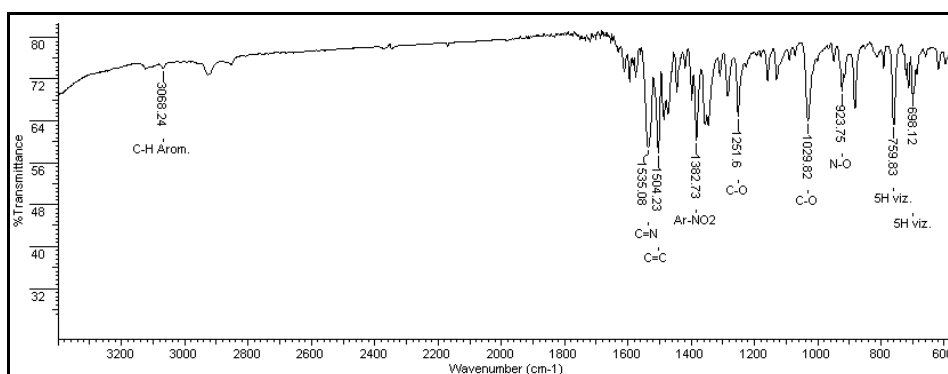
$\nu_{\text{C=C}}$ (Csp^2) = 1504 (anel oxadiazólico/anel aromático)

$\nu_{\text{as}}/\nu_{\text{s}}$ (C-O) = 1251 /1029 (metileno dioxi/anel oxadiazólico)

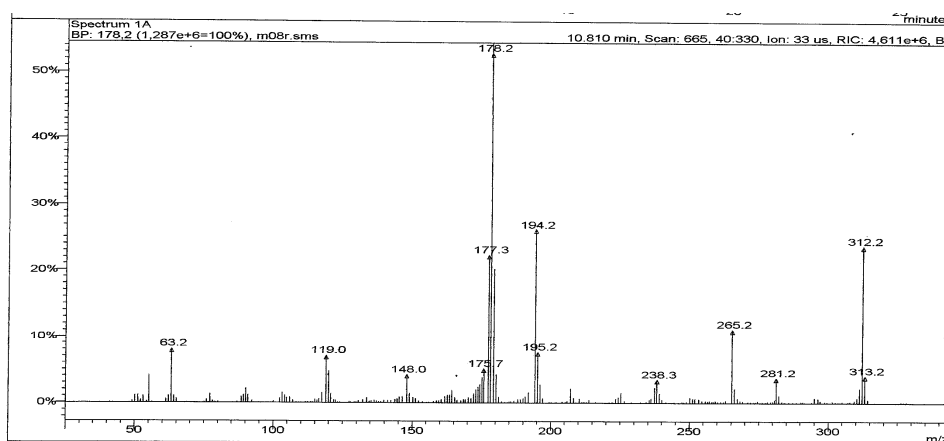
$\nu_{\text{N-O}}$ = 923 (anel oxadiazólico)

$\sigma_{\text{C-H}}$ (Csp^2) = 759/698 (dobramento de $5\text{H}_{\text{arom.}}$ vizinhos)

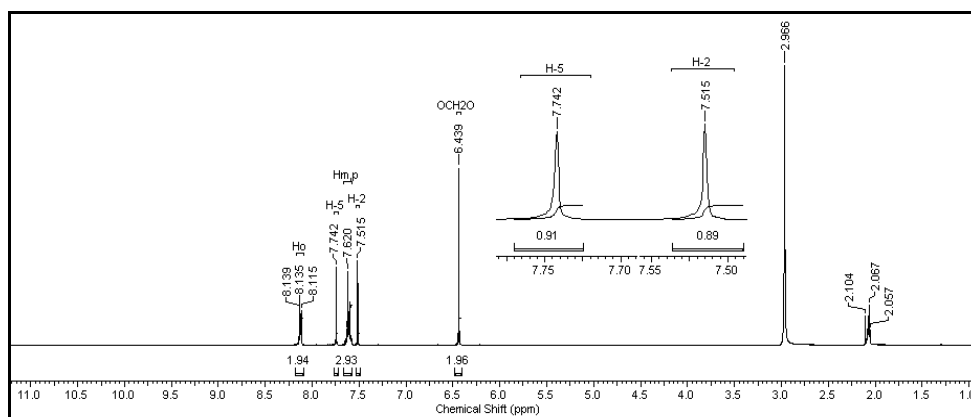
ν_{s} (Ar- NO_2) = 1382 (grupo nitro)



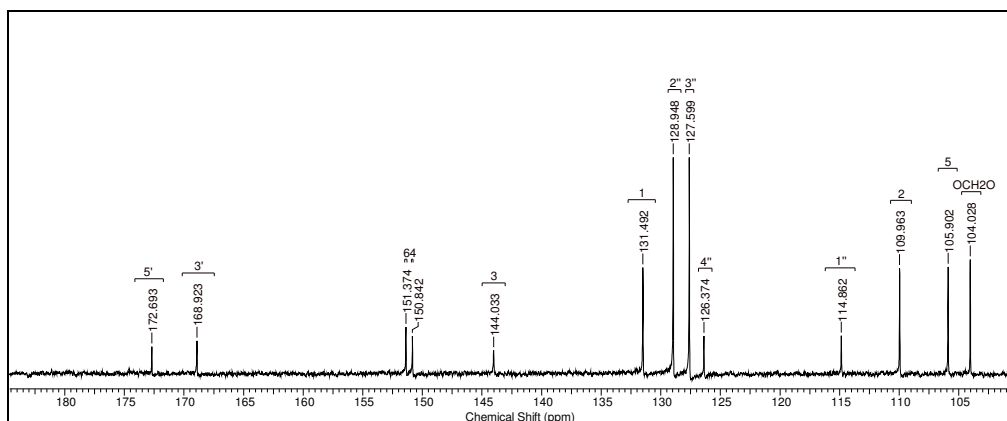
Espectro 73. Espectro IV de 62.



Espectro 74. Espectro de massas de 62.



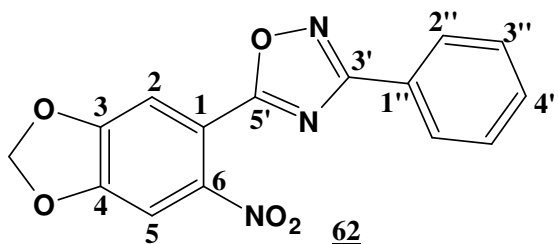
Espectro 75. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) de 62.



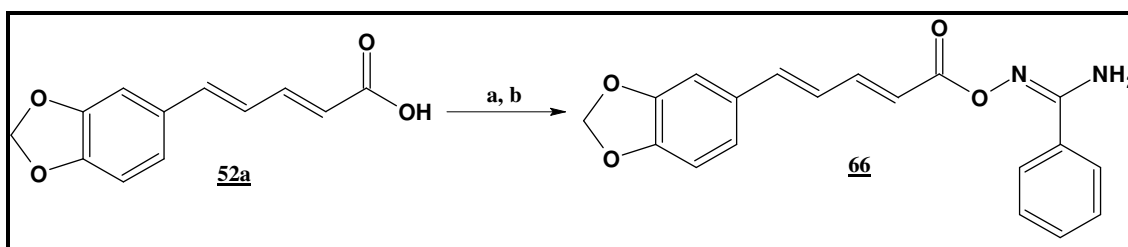
Espectro 76. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, CD_3OD) de **62**.

Tabela 28. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **62**.

Posição	62 (Acetona- d_6 / CDCl_3) 400MHz	
	$\delta \text{H}(\text{ppm}); \text{J} (\text{Hz})$	$\delta \text{C}(\text{ppm})$
3'	175,35(C)
5'	168,83(C)
1	131,15(C)
2	7,51 (s; 1H)	108,89(CH)
3	151,46(C)
4	148,31(C)
5	7,74 (s; 1H)	108,89(CH)
6	118,17(CH)
1''	123,77(C)
2''	8,13 (m; 2H)	128,83(CH)
3''	7,62 (m; 2H)	127,50(CH)
4''	7,62 (m; 1H)	127,03(CH)
OCH ₂ O	6,44 (s; 2H)	102,02(CH ₂)



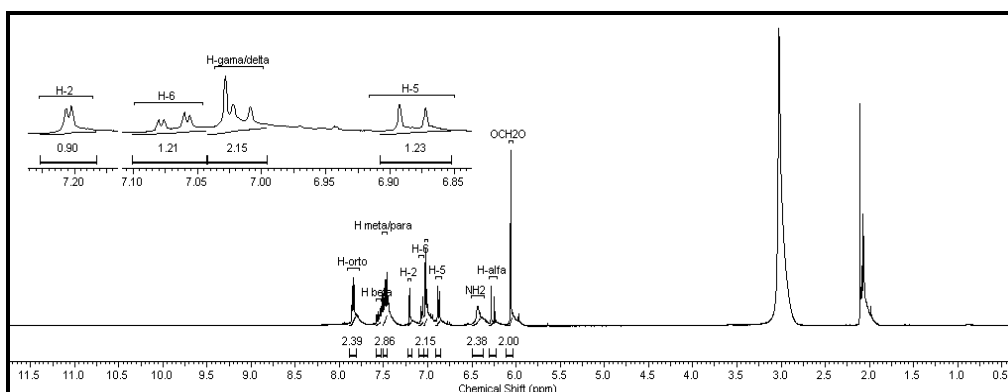
5.15.9. Preparação da *N'*-{[(2*E*,4*E*)-5-(1,3-benzodioxol-5-il)penta-2,4-dienoil]oxi}benzenocarboximidamida (intermediário *O*-acilado) (66**).**



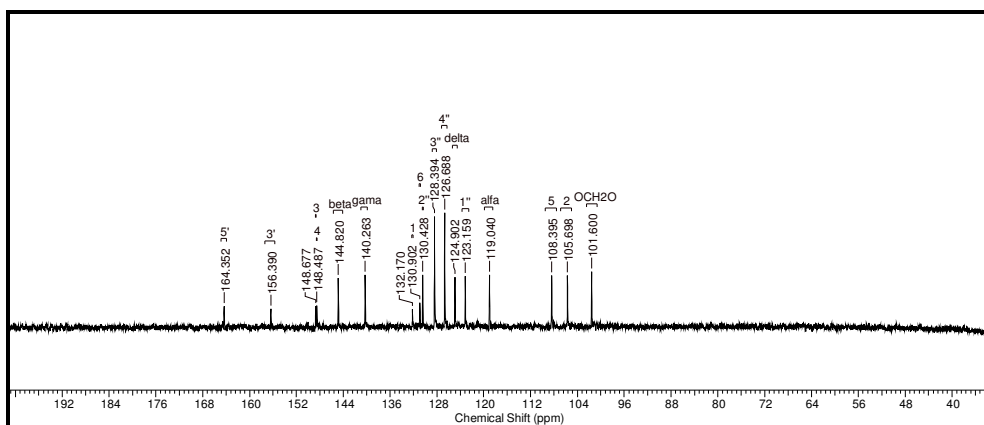
Reagentes: a) (COCl)₂, b) benzamidoxima **54**, py, 0°C.

Na preparação deste derivado, a metodologia empregada foi bem semelhante a **Metodologia Geral** descrita para os oito derivados oxadiazólicos, diferindo apenas na etapa de adição cloreto de ácido **52a** a solução da benzamidoxima **54**. Nesta caso essa adição foi feita em banho de gelo, afim de impedir uma possível ciclização.

Num balão de 25mL de capacidade 0,3g (1.376 mmol) do ácido piperínico **52a** reagiu para produzir o cloreto de acila **53a** na forma de um sólido vermelho, o qual reagiu com 0,136g (1,376mmol) da benzamidoxima **54**, havendo liberação de gás e formação de uma solução castanho-escuro heterogênea. Após cerca de 20 minutos de agitação, uma CCF confirmou o consumo total dos reagentes. Esta solução foi diluída em 15 mL de diclorometano e tratada com solução 10% de HCl num funil de separação (6x10 mL), afim de eliminar toda piridina residual. Posteriormente a solução orgânica resultante foi seca com adição de NaSO₄ anidro, filtrada, concentrada em rota-vapor, e purificada utilizando uma coluna cromatográfica aberta (hexano/acetato 9:1), fornecendo 0,184g (40%) do intermediário *o*-acilado **66** na forma de um sólido amarelo. P.f.: 164-166 °C



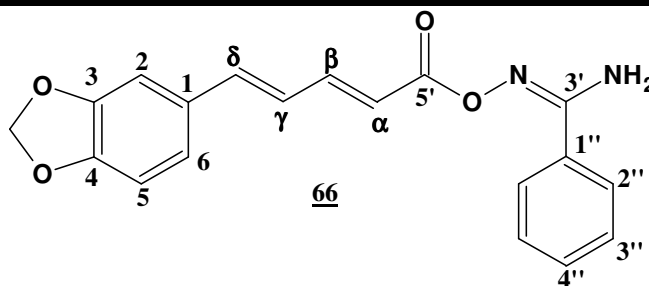
Espectro 77. Espectro de RMN ¹H (400 MHz, acetona-d₆) de **66**.



Espectro 78. Espectro de RMN ^{13}C (400 MHz, acetona- d_6) de **66**.

Tabela 29. Deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C para o derivado **66**.

Posição	66 (Acetona-d_6) 400MHz	
	δH (ppm); J (Hz)	δC (ppm)
CH(α)	6,26 (d; J=15,41; 1H)	119,03(CH)
CH(β)	7,55 (m; 1H)	144,82(CH)
CH(γ)	7,01 (m; 1H)	140,26(CH)
CH(δ)	7,01 (m; 1H)	124,90(CH)
3'	156,39(C)
5'	164,35(C)
1	132,17(C)
2	7,20 (d; J=1,32; 1H)	105,69(CH)
3	148,67(C)
4	148,48(C)
5	6,88 (d; J=8,23; 1H)	108,39(CH)
6	7,07 (dd; J=8,17 e 1,34; 1H)	130,90(CH)
1''	123,15(C)
2''	7,83 (m; 2H)	130,42(CH)
3''	7,48 (m; 2H)	128,39(CH)
4''	7,48 (m; 1H)	126,68(CH)
NH ₂	7,02 (s; 2H)
OCH ₂ O	6,06 (s; 2H)	101,60(CH ₂)



5.16. Avaliação da atividade tóxica contra *Trypanosoma cruzi* (Ribeiro *et al.*, 2004) (Ferreira *et al.*, 2008)

5.16.1. Manutenção das formas epimastigotas

Formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, amostra DM28c (Contreras *et al.*, 1985), foram mantidas a 28° C em meio composto por (g.L⁻¹): BHI (37) (Difco, Maryland, MA, U.S.A), hemina (0,01) (Sigma[®], St. Louis, MO, U.S.A) e ácido fólico (0,02) (Sigma[®], St. Louis, MO, U.S.A), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Gibco, BRL[®]). Os parasitos foram subcultivados no meio de cultura descrito acima a cada 5 dias com inóculos de 10%.

5.16.2. Atividade Anti-Epimastigota

A inibição do crescimento de formas epimastigotas foi avaliada frente à piperina **1**, ao benzonidazol (fármaco disponível no mercado,) e aos oito novos derivados oxadiazólicos **55** a **62** sintetizados (**Figura 30, página 71**) em concentrações crescentes (0,5 – 20 µg. mL⁻¹). Os parasitas (2,0 x 10⁵ células.mL⁻¹) foram cultivados durante 10 dias em placas de 96 poços à 28° C, e o crescimento avaliado por contagem direta em Câmara de Neubauer. Os poços foram quantificados no terceiro, quinto, sétimo e décimo dias de cultivo. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados são expressos em parasitas por mililitro ± DP e comparados aos controles tratados com DMSO 0,005% final.

6- Referências bibliográficas.

AFIATPOUR, P. ; SRIVASTAVA, R. M. Analgesic and antiinflammatory effects of 3-[3-(phenyl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl] propionic acid. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 27 (6), 1403, **1994**.

ALDRICH. Catalog Handbook of fine chemicals Aldrich. **2005-2006**.

AINSWORTH, C. Thermanl fragmentation of 1,2,4-oxadiazoles. *J. Heterocycl. Chem.* 3 (4), 470 ,**1966**.

ATAL, C. K., DHAR, K. L., SINGH, J. Chemistry of Indian *Piper* species. *Loydia- J. Nat. Prod.* 38 (3): 256-264, **1975**.

BANO, G., RAINA, R. K., ZUTSHI, U., BEDI, K. L., JOHRI, R. K., SHARMA, S. C. Effect of piperine on bioavailability and pharmacokinetics of propranolol and theophylline in healthy-volunteers. *Eur. J. Clin. Pharm.* 41 (6): 615-617, **1991**.

BAKER, D. D.; CHU, M.; OZA, U.; RAJGARHIA, V. The value of natural products to future pharmaceutical discovery. *Nat. Prod. Rep.* 24, 1225, **2007**.

BEHR, L. C., in “*The Chemistry oh Heterocyclic Compounds*”(A. Weissberger, ed.), Vol. 17, pp. 245-262. Wiley, New York, **1962**.

BHAT, B. G., CHANDRASEKHARA, N. Interaction of piperine with rat-liver microsomes. *Toxicology* 44 (1): 91-98, **1987**.

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M., ARAÚJO Jr., J. X. O uso de materias-primas vegetais para a síntese de fármacos. In: *Simões, C.M.O. (Ed.) et al., Farmacognosia: da planta ao medicamento*, Florianópolis: Ed. Universidade/Ed. Da UFSC: 123-142, **1999**.

- BARRETO, L. M., CARMO, E. H. Determinantes das condições de saúde e problemas prioritários no país. In: 11^a Conferência Nacional de Saúde, Disponível no endereço eletrônico: <http://www.datasus.gov.br>. **1994**.
- BARRETO-JUNIOR, C. B. Abordagem para a síntese de amidas naturais bioativas e seus análogos. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ, **2005**.
- BAZÁN, P. C. ; LO PRESTI, M. S. ; RIVAROLA, H. W.; TRIQUELL, M. F.; FRETES, R.; FERNÁNDEZ, A.; R. ENDERS, J. ;OLIVA, P. Chemotherapy of chronic indeterminate Chagas disease: a novel approach to treatment. *Parasitol Res.* 103:663–669, **2008**.
- BENLTIFA, M. ; VIDAL, S. ; GUEYRARD, D. 1,3-Dipolar cycloaddition reactions on carbohydrate-based templates: synthesis of spiro-isoxazolines and 1,2,4-oxadiazoles as glycogen phosphorylase inhibitors. *Tetrahedron Letters.* 47 , 6143–6147, **2006**.
- BORA, R. O. & FAROOQUI, M. Synthesis os substituted 1,2,4-oxadiazoles from substituted acid chlorides and amidoximes under mild conditions. *J. Heterocyclic Chem.* 44, 645, **2007**.
- BOYER, J. H., in “*Heterocyclic Compounds*” (R. C. Ederfield, ed.) Vol. 7, pp. 462-540. Wiley, New York, **1962**.
- BRENER, Z., ANDRADE, Z. A. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. *Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1979*.
- BREUER, H. Nitroherocycles. I. Nitrofuryl-substituted- 3-amino-1,2,4-oxadiazoles and 5-amino-1,2,4-oxadiazoles. *J. Med. Chem.* **1969**.
- CHIOU, S. & SHINE, H. J. A simplified procedure for preparing 3,5- disubstituted-1,2,4-oxadiazoles by reaction of amidoximes with acyl chlorides in pyridine solutions. *J. Heterocycl. Chem.*, 26 (125) **1989**.

- CIAPETTI, P. & GIETHLEN, B. Molecular Variations Based on Isosteric Replacements in *Wermuth's The Practice of Medicinal Chemistry*. Cap. 15, 3^a Ed. pp. 311-312, **2008**.
- CLAPP, L. B. In *Advances in Heterocyclic Chemistry*; Katritzky, A. R., Boulton, A. J., Eds.; Academic Press: New York,; Vol. 20, pp 65–116, **1976**.
- CONLEY, R. T. & MIKULSKI, F. Abnormal Beckman rearrangements in poliphosphoric acid. 1. Benzil monoximes and related oximes. *J. Org. Chem.* 24, 97, **1959**.
- CONTRERAS, V. T., SALLES, J. M., THOMAS, N., MOREL, C. M. & CHAN, J. H. In vitro differentiation of *Trypanosoma cruzi* under chemically defined conditions. *Mol. Biochem. Parasitol.* 16: 315-327, **1985**.
- COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo de reatividade e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. *Química Nova.* 23 (3), **2000**.
- COTTRELL, D.M.; CAPERS, J.; SALEM, M.S.; DeLUCA-FRADLEY, K.; CROFT, S.L.; WERBOVETZ, K.A. Antikinetoplastid activity of aryl-5-thiocyanatomethyl-1,2,4-oxadiazoles, *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 2815-2824. **2004**.
- COURA, J. R., DE CASTRO, S. L. A Critical review on Chagas disease chemotherapy. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 97 (1): 3-24, **2002**.
- CORRÊA, A. G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. *Quim. Nova*, 18: 460-467, **1995**.
- 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* 44(3): 559-561, **1997**.

- D'HOOGE, R., PEI, Y. Q., RAES, A., LEBRUM, P., VANBOGAERT, P. P., DE DEYN, P. P. Anticonvulsant activity of piperine on seizures induced by excitatory amino acid receptor agonists. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 46 (6): 557-560, **1996**.
- 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.* 56 (2): 168-174, **2000**.
- DIANA, G. D.; VOLKOTS, D. L.; NITZ, T. J.; BAILEY, T. R.; LONG, M. A.; VESCIO, N.; ALDOUS, S.; PEVEAR, D. C.; DUTKO, F. J. Oxadiazoles as Ester Bioisosteric Replacements in Compounds Related to Disoxaril. Antirhinovirus Activity *J. Med. Chem.* **1994**, 37, 2421–2436.
- DUSCHAK, V.G.;COUTO, A. S. An Insight on Targets and Patented Drugs for Chemotherapy of Chagas Disease. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 2, 19-51, **2007**.
- ELOY, F. *Fortschr. Chem. Fortsch.* 4, 807-876, **1965**.
- FERREIRA, W. S. Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2- fenilaminas. . Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ, **2005**.
- FERREIRA, W. S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; SARAIVA, V. B.; ALISSON-SILVA, F.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; 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. *Bioorg. Med. Chem.* 16, 6, 2984-2991. **2008**.
- FREIRE-DE-LIMA, L.; RIBEIRO, T. S.; ROCHA, G. M.; BRANDÃO, B. A.; ROMEIRO, A.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O.; LIMA, M. E. F.; CARVALHO, T. M.; HEISE, N. The toxic effects of piperine against *Trypanosoma cruzi*: ultrastructural alterations and reversible blockage of cytokinesis in epimastigote forms. *Parasitol. Res.*, 102, 5, 1059-1067. **2008**.

GADEBUSCH, H. H. ; BREUER, G. L. ; BASCH, H. I. ; SEMAR, R. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 280, **1969**.

GEISLER, J. G., GROSS, G. G. The biosynthesis of piperine in *Piper nigrum*. *Phytochemistry* 29 (2): 489-492, **1990**.

GEISMAN, T. A., CROUT, D. H. G. Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism. *Freenar Cooper, San Francisco*: 170, **1969**.

GFESSER, G. A.; ZHANG, H. ; DINGES, J. ; FOX, G. B. ; PAN, J. B. Structure-relationship of non-imidazole H3 receptor ligands. Part 3: 5-Substituted 3-phenyl-1,2,4-oxadiazoles as potent antagonists. *Bioorg. Med. Chem Lett.*, 14, 673-676, **2004**.

GHOSHAL, S., PRASAD, B. N. K., LAKSIMI, V. Antiamoebic activity of *Piper longum* fruits against *Entamoeba histolytica* *in vitro* and *in vivo*. *J. Ethnopharm.* 50 (3): 167-170, **1996**.

HAVENS, C. ; BRYANT, N. ; ASHER, L. ; LAMOREAUX, L. ; PERFETTO, S. ; BRENDLE, J. ; WERBOVETZ, K. *Mol. Biochem. Parasitol.* 110, 223-236, **2000**.

HYNES, J. B. & GRATZ, R. F. Hydroxylamine Derivatives as Potential Antimalarial Agents. 3. 1,2,4-Oxadiazoles. *J. Med. Chem.*, 15 , 11, 1198, **1972**.

HOLTON, R. A., KIM, H. B., SOMOZA, C., LIANG, F., BIEDIGER, R. J., BOATMAN, P. D., SHINDO, M., SMITH, C. C., KIM, S. C., NADIZADEH, H., SUZUKI, Y., TAO, C. L., VU, P., TANG, S. H., ZHANG, P. S., MURTHI, K. K., GENTILE, L. N., LIU, J. H. First total synthesis of Taxol. 2. completion of the C-ring and D-ring. *J. Am. Chem. Soc.* 116 (4): 1597-1598, **1994a**.

HOLTON, R. A., KIM, H. B., SOMOZA, C., LIANG, F., BIEDIGER, R. J., BOATMAN, P. D., SHINDO, M., SMITH, C. C., KIM, S. C., NADIZADEH, H., SUZUKI, Y., TAO, C. L., VU, P., TANG, S. H., ZHANG, P. S., MURTHI, K. K.,

GENTILE, L. N., LIU, J. H. First total synthesis of Taxol. 1. functionalization of the B-ring. *J. Am. Chem. Soc.* 116 (4): 1599-1600, **1994b**.

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

JAKOPIN, Z. ; ROSKAR, R.; DOLENC, M. S. Synthesis of 3,5-disubstituted 1,2,4-oxadiazoles as peptidomimetic building blocks. *Tetrahedron Letters*. 48, 1465–1468, **2007**.

JOHRI, R. K., THUSU, N., KHAJURIA, A., ZUTSHI, U. Piperine-mediated changes in the permeability of rat intestinal epithelial-cells the status of gamma-glutamyl transpeptidase activity, uptake of amino-acid and lipid-peroxidation. *Biochem. Pharmacol.* 43 (7): 1401-1407, **1992**.

KAPIL, A. Piperine: a potent inhibitor of *Leishmania donovani* promastigotes *in vitro*, *Planta Medica*, 59: 474, **1993**.

KOUL, S., KOUL, J. L., TANEJA, S. C., DHAR, K. L., JAMWAL, D. S., SINGH, K., REEN, R. R., SINGH, J. Structure-activity relationship of piperine and its synthetic analogues for their inhibitory potentials of rat hepatic microsomal constitutive and inducible cytochrome P450 activities. *J. Bioorg. Med. Chem.* 8 (1): 251-268, **2000**.

KUMAR, D.; PATEL, G.; JOHNSON, E. O. ; SHAH, K. Synthesis and anticancer activities of novel 3,5-disubstituted-1,2,4-oxadiazoles. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 19 , 2739–2741, **2009**.

KUSAMA, H., HARA, R., KAWAHARA, S., NISHIMORI, T., KASHIMA, H., NAKAMURA, N., MORIHIRA, K., KUWAJIMA, I. Enantioselective total synthesis of (-)-taxol. *J. Am. Chem. Soc.* 122: 3811-3820, **2000**.

- LEE, S. A., HONG, S. S., HAN, X. H., HWANG, J. S., OH, G. J. LEE, S. K. Peperine from the Fruits of *Piper longum* with Inhibitory Effect on Monoamine Oxidase and Antidepressant-Like Activity. *Chem. Pharm. Bull.* 53 (7): 832-835, **2005**.
- LEE, S. E., PARK, B. S., KIM, M. K., CHOI, W. S., KIM, H. T., CHO, K. Y., LEE, S. G., LEE, H. S. Fungicidal activity of piperonadine, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum L.*, against phytopathogenic fungi. *Crop. Protec.* 20: 523-528, **2001**.
- LIN, Z. X., HOULT, J. R. S., BENNET, D. C., RAMAN, A. Stimulation of mouse melanocyte proliferation by *Piper nigrum* fruit extract and its main alkaloid, piperine. *Planta Medica* 65: 600, **1999**.
- LIU, G. Q., ALGERI, S., CECI, A., GARATTINI, S., GOBBI, M., MURAI, S. Stimulation of serotonin synthesis in rat-brain after antiepilepsirine, antiepileptic piperine derivative. *Biochem. Pharmacol.* 33 (23): 3883-3886, **1984**.
- LEANDRI, G. *Boll. Sci. Fac. Chim. Ind. Bologna*, 14, 80, **1956**.
- LEWINSONHN, T. M.; PRADO, P. I.; *Biodiversidade Brasileira – Síntese do Estado Atual do Conhecimento*, 1ª. ed., Ed. Pinsky: São Paulo, **2002**, cap. 1, p. 17-25.
- LEWINSOHN, R. Doença de Chagas: paradoxos e ilações. <http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/11.shtml>, **2005**.
- LIMA, L. M.& BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. *Current Medicinal Chemistry.* 12 (1), 23-49, **2005**.
- LIU, G. Q., ALGERI, S., CECI, A., GARATTINI, S., GOBBI, M., MURAI, S. Stimulation of serotonin synthesis in rat-brain after antiepilepsirine, antiepileptic piperine derivative. *Biochem. Pharmacol.* 33 (23): 3883-3886, **1984**.
- LOMBARDINO, J. G.; LOWE III, J. A. The role of the medicinal chemist in drug discovery - then and now. *Nat. Rev. Drug Discov.* 3, 853, **2004**.

- LOROSA, E. S.; VALENTE, M. V. M. P. ; VANDA CUNHA, V.; LENT, H.; JURBERG, J. Laboratório Nacional e Internacional de Referência em Taxonomia de Triatomíneos, Departamento de Entomologia Foco de Doença de Chagas em Arcádia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 98(7): 885-887, **2003**
- MANN, J.; *Murder, Magic, and Medicine*, Oxford University Press: Oxford, p. 1-16. **1992**.
- MARCH, J. *Advanced Organic Chemistry-Reactions, Mechanism and Structure. John Wiley & Sons*, 3^oed.: 388, 437, 438, 1095, 1099, 1100 e 1101, **1985**.
- MITSCHER, L. A.; GRACEY, H. E.; CLARK III, G. W.; SUZUKI, T. Quinolone antimicrobial agents. 1. Versatile new synthesis of 1-alkyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline carboxylic acids. *J. Med. Chem.* 21 (5), 487, **1978**.
- MEDEBIELLE, M.; AIT-MOHAND, S.; BURKHLÖDER, C.; DOLBIER, W. R., JR.; LAUMOND, G.; AUBERTIN, A.-M. Syntheses of new difluoromethylene bezoxazole and 1,2,4-oxadiazole derivatives, as potent non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptases inhibitors. *J. Fluorine Chem.* **2005**, 126, 535–542.
- NEWMANN, H. Photochemistry of 3,5-diphenyl-1,2,4-oxadiazole. 2. Photolysis in aprotic media. *Tetrahedron Lett.* 20, 2421, **1968**.
- NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M., SNADER, K. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Period 1981-2002. *J. Nat. Prod.* 66: 1022-1037, **2003**.
- NICOLAIDES, D. N.; FYLAKTAKIDOU K. C., KONSTANTINOS E. LITINAS, K. E.; HADJIPAVLOU-LITINAB, D. Synthesis and biological evaluation of several coumarin-4-carboxamidoxime and 3-(coumarin-4-yl)-1,2,4-oxadiazole derivatives. *Eur. J. Med. Chem.* 33, 715-724, **1998**.
- NICOLAOU, K. C., YANG, Z., LIU, J. J., UENO, H., NANTERMET, P. G., GUY, R. K., CLALBORNE, C. F., RENAUD, J., COULADOUROS, E. A.,

PAULVANNAN, K., SORENSEN, E. Total synthesis of Taxol. *Nature* 367: 630-634, **1994**.

OLENSEN, P.H.; TONDER, J.E.; HANSEN, J.B.; HOLER, C.H.; RIMVALL, K. Bioisosteric replacement strategy for the synthesis of 1-azacyclic compounds with high affinity for the central nicotinic cholinergic receptors. *J. Bioorg. Med. Chem.* 8, 1443-1450. **2000**.

OOI, N. S. & WILSON, S. Formation and thermal reaction of O-(N-acetylbenzimidoyl) bezamidoxime. Comparison with the formation of 3,5-disubstituted 1,2,4-oxadiazole from O-acetylarylamidoximes and aroylamidoximes. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, 12,1792, **1980**.

OUTIRITE, M.; LEBRINI, M. ; BENTISS, F. New one step synthesis of 3,5-disubstituted 1,2,4-oxadiazoles. *J. Heterocyclic Chem.* 44, 1529, **2007**.

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.*, 50 (7), 1866-1870, **2002**.

PARMAR, V. S., JAIN, S. C., BISHT, K. S., JAIN, TANEJA, P., JHA, A., TYAGI, O. D., PRASAD, A. K., WENGEL, J., OLSEN, C. E., BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46 (4): 597-673, **1997**.

PARMAR, V. S., JAIN, S. C., GUPTA, S., TALWAR, S., RAJWANSSHI, V. K., KUMAR, R., AZIM, A., MALHOTRA, S., KUMAR, N., JAIN, R., SHARMA, NN. K., TYAGI, O. D., LAWRIE, S. J., ERRINGTON, W., HOWART, O. W., OLSEN, C. E., SINGH, S. K., WENGEL, J. Polyphenols and alkaloids from *Piper* species. *Phytochemistry* 49 (4): 1069-1078, **1998**.

PERRIN, D. D.; ARMAREJO, W. L. F.; PERRIN, D. R. Purification of Laboratory Chemicals. Pergamon Press. **1966**.

- PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. Dissertação de mestrado, UFRuralRJ, **2006**.
- RASCADO, M. F. N. Utilização do safrol na síntese de derivados do núcleo pirroloquinolina, potencialmente úteis como antineoplásicos. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ, **1997**.
- RAAY, B., MEDDA, S., MUKHOPADHYAY, S., BASU, M. K. Targetin of piperine intercalated in mannose-coated liposomes in experimental leishmaniasis. *Indian J. Biochem. Biopharmacol.* 36 (4): 248-251, **1999**.
- REEN, R. K., WIEBEL, F. J., SINGH, J. Piperine inhibits aflatoxin B-1-induced cytotoxicity and genotoxicity in V79 Chinese hamster cells genetically engineered to express rat cytochrome P4502B1. *J. Ethnopharm.* 58 (3): 165-173, **1997**.
- RIBEIRO, T. S.; FREIRE-DE-LIMA, L.; PREVIATO, J. O.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; HEISE, N.; LIMA, M. E. F. Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Biorg&Med. Chem. Letts.* 14, 3555-3558, **2004**.
- RIBEIRO, T. S., Transformações químicas no alcalóide natural piperina e avaliação da atividade tóxica sobre *Trypanosoma cruzi*. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ, **2004**.
- RODIG, O. R., BELL-JR, D. E., CLARK, A. K., Organic Chemistry Laboratory, Standard & Microscale Experiments. *Saunders College Publishing*, 215, **1990**.
- SANTOS, A. P. Piperina: Modificações Estruturais, Síntese de análogos e Avaliação Citotóxica. Dissertação de Mestrado, UFRuralRJ, **1999**.
- SCHMUNIS, G. A. A tripanossomíase americana e seus impactos na saúde pública das Américas. In: BRENER, Z., ANDRADE, Z. A., BARRAL-NETO, M. (eds). *Trypanosoma cruzi* e Doença de chagas. *Rio de Janeiro: Guanabara Koogan*, 2^a ed. Cap. 1, **2000**.

- SCHMUNIS, G. A. Epidemiology of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration Pan American Health Organization/World Health Organization, 525 23rd Street, NW Washington, DC 20037, US. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. **2007**.
- SCOTT, W. P., MCKIBBEN, G. H. Toxicity of black pepper extract to boll weevils. *J. Econ. Entomol.* 71 (2): 343-344, **1978**.
- SHOBA, G., JOY, D., THANGAM, J., MAJEED, M., RAGENDRAN, R., SRINIVAS, P. S. R. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. *Planta Medica* 64 (4): 353-356, **1998**.
- SEMLER, U., GROSS, G. G. Distribution of piperine in vegetative parts of *Piper nigrum*. *Phytochemistry* 27 (5): 1566-1567, **1988**.
- SILVA, E. F., CANTO-CAVALHEIRO, M. M., BRAZ, V. R., CYSNE-FINKELSTEIN, L., LEON, L. L., ECHEVARRIA, A. Synthesis and biological evaluation of new 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine derivatives against *Leishmania amazonensis* promastigotes and amastigotes.. *Eur. J. Med. Chem.* 37: 979-984, **2002**.
- SONDENGAM, B. L. Organic and Bio-Organic Chemistry. *J. Chem. Soc., Perkin Transactions* 1 (6): 1219-1221, **1983**.
- SRIVASTAVA, R.M., BRINN. I.M., MACHUCA-HERRERA, J.O., FARIA, H.B., CARPENTER. J.B., ANDRADE, D., VENKATESH, C.G., MORAIS, L.P.F. Benzamidoximes: structural, conformation and spectroscopic studies. I *J. Molecular Structure.* 406, 159-167, **1997**.
- SRIVASTAVA, R. M.; LIMA, A. A.; VIANA, O. S. Antiinflammatory Property of 3-Aryl-5-(n-propyl)- 1,2,4-oxadiazoles and Antimicrobial Property of 3-Aryl-5-(n-propyl)-4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles: Their Syntheses and Spectroscopic Studies. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 11, 1821–1827, **2003**.

- SRIVASTAVA, R.M. Mass spectrometric analysis of 1,2,4-oxadiazoles and 4,5-dihydro-1,2,4-oxadiazoles. *Mass Spectrometric Reviews*, 24, 328-346, **2005**.
- SUNILA, E. S., KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of *Piper longum* L. and piperine. *J. Ethnopharm.* 90: 339-346, **2004**.
- TIEMANN, F.& KRUGER, P. *Ber.* 17, 1685, **1884**.
- TROUILLER, P., OLLIARO, P., TORREELE, E., ORBINSKI, J., LAING, R., FORD, N. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *The Lancet.* 359, **2002**.
- URBINA, J. A. Chemotherapy of Chagas' disease: the how and the why. *J. Mol. Med.* 77:332-338, **1999**.
- URBINA, J. A. & DOCAMPO, R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *Trends in Parasitology.* Vol. 19, No 11, **2003**.
- VELLAICHAMY, L.; BALAKRISHNAN, S.; PANJAMURTHY, K.; MANOHARAN, S.; ALIAS, L. M. Chemopreventive potential of piperine in 7,12-dimethylbenz[a]anthracene-induced skin carcinogenesis in Swiss albino mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28, 11-18, **2009**.
- VENKATASAMY, R., FAAS, L., YOUNG, A. R., RAMAN, A., HIDER, R. C. Effects of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. *Bioorg. Med. Chem.* 12: 1905-1920, **2004**.
- VIEGAS, C. J., DA SILVA, V. B. Os Produtos Naturais e a Química Medicinal Moderna. *Quim. Nova* 29 (2): 326-337, **2006**.
- YUNES, R. A., PEDROSA, R. C., CECHINEL FILHO, V., Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim. Nova* 24 (1): 147-152, **2001**.
- WEISSMANN, G. *Aspirin.* *Sci. Am.* 264 (1): 84-90, **1991**

WHO-World Health Organization, Chagas disease: Thirteenth Programme Report, UNDP/TDR, Geneva **1997**.

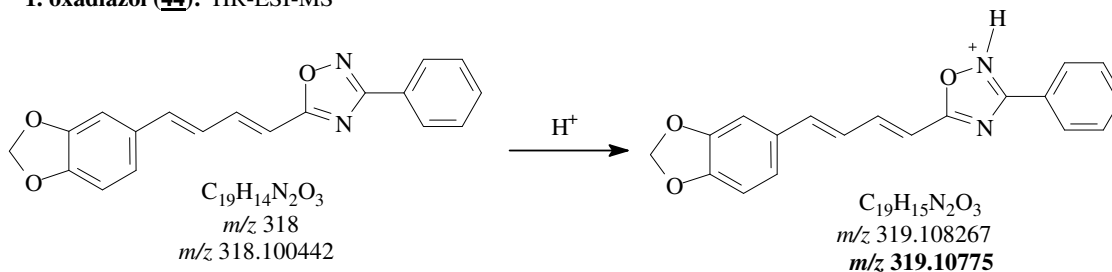
WHO-World Health Organization. *Tech. Rep. Ser.* , 905, 1, **2002**

ZAVITZ, K. H.; BARTEL, P. L.; HOBDEN, A. N. Drug targets, target identification, validation and screening *in Wermuth's The Practice of Medicinal Chemistry*. Cap. 5, 3^a Ed. pp. 118, **2008**.

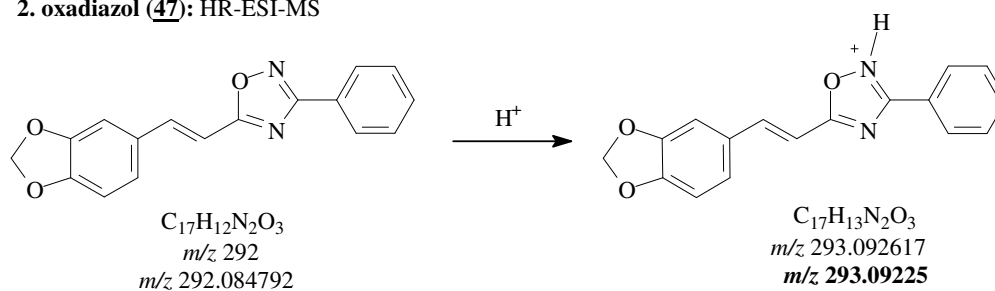
7- ANEXO

➤ Análise dos espectros de massa de alta resolução dos produtos finais

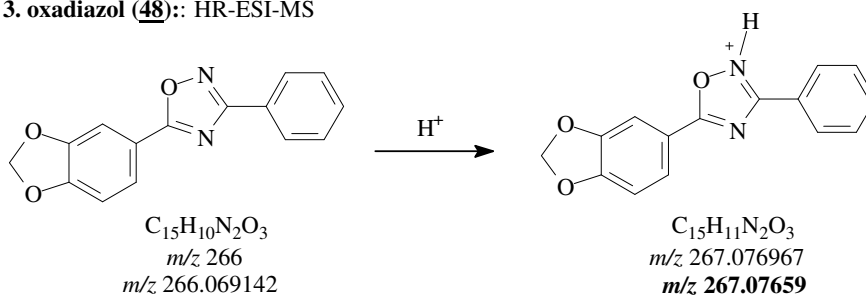
1. oxadiazol (44): HR-ESI-MS



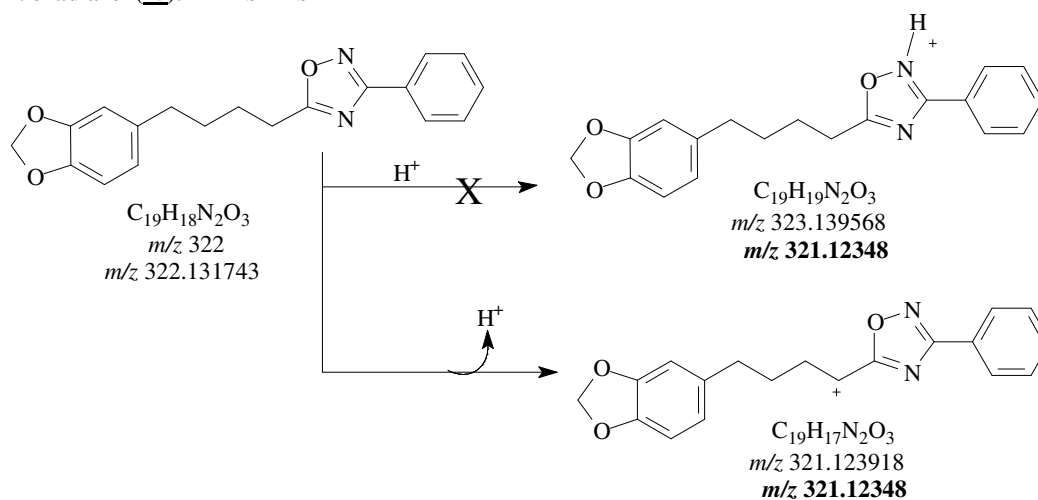
2. oxadiazol (47): HR-ESI-MS



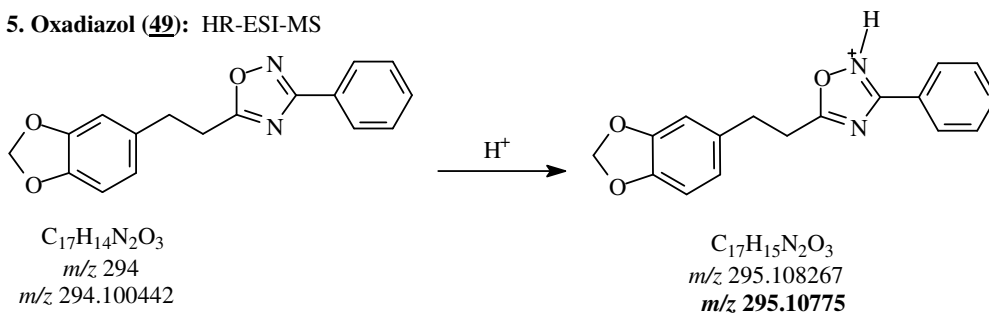
3. oxadiazol (48): HR-ESI-MS



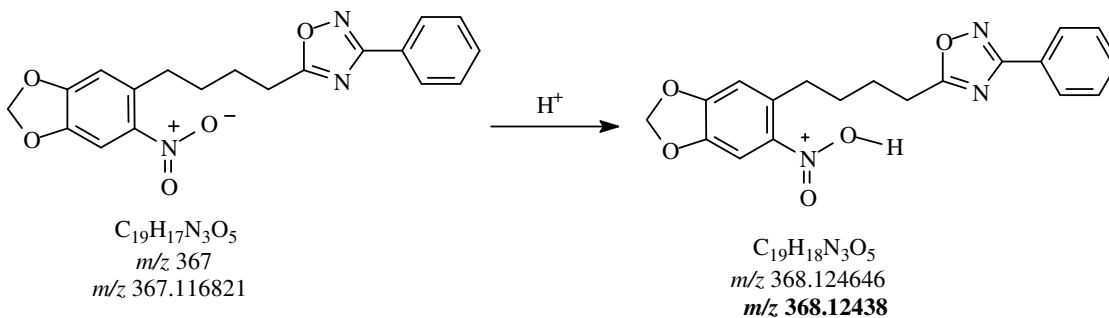
4. oxadiazol (45): HR-ESI-MS



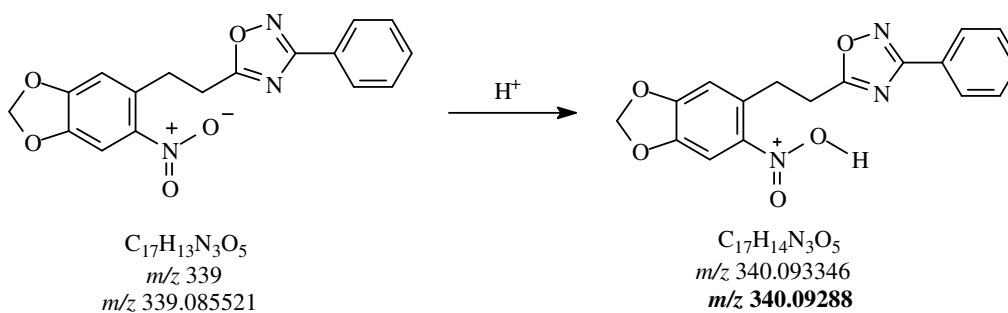
5. Oxadiazol (49): HR-ESI-MS



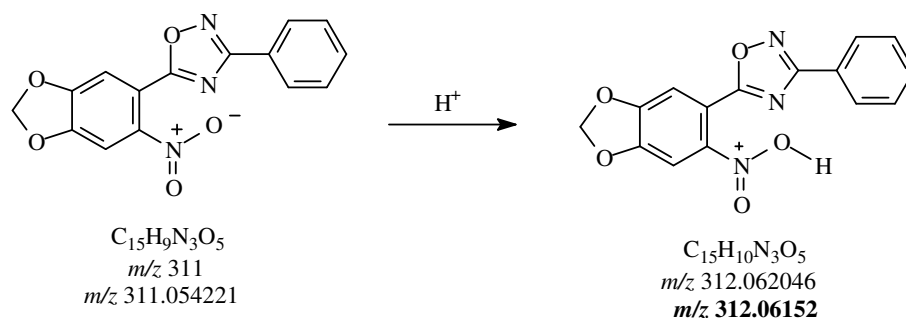
6. Oxadiazol (46): : HR-ESI-MS

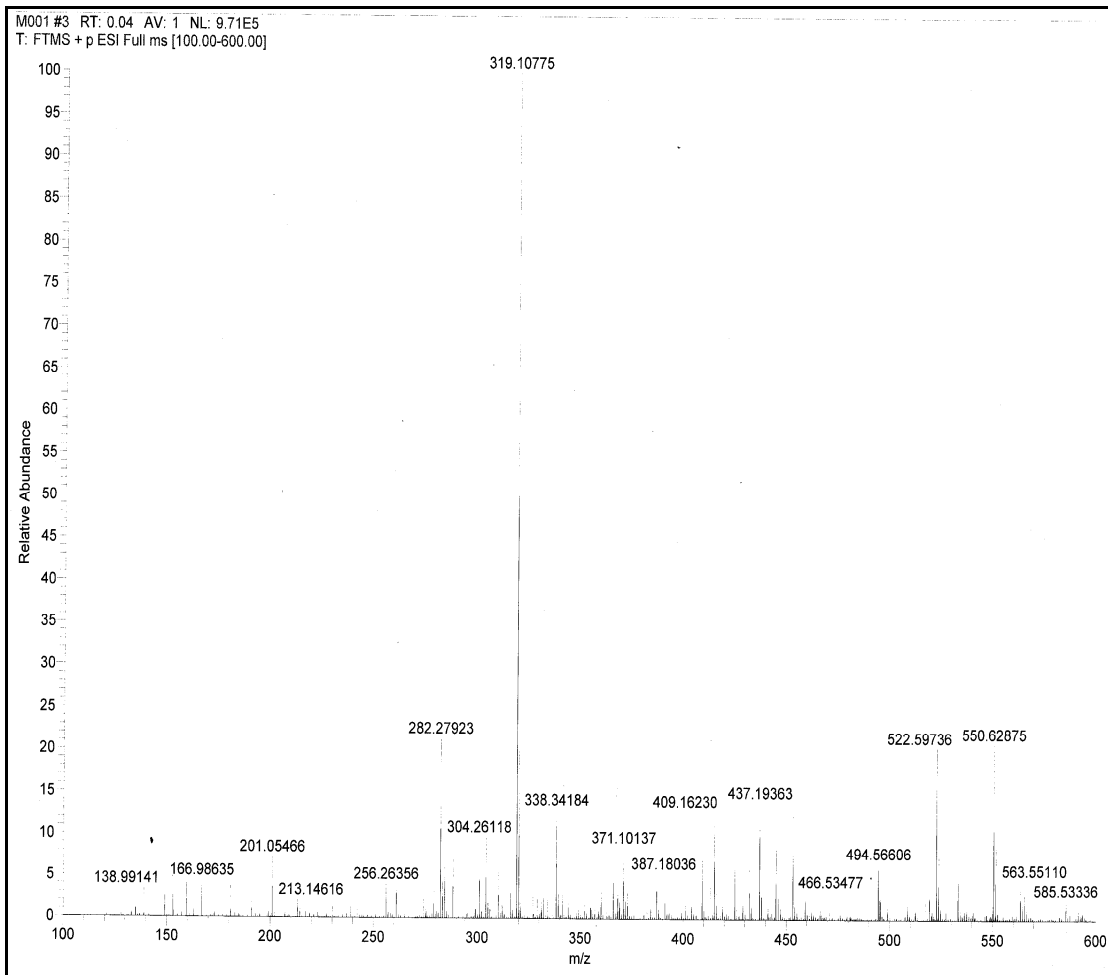


7. Oxadiazol (50): HR-ESI-MS

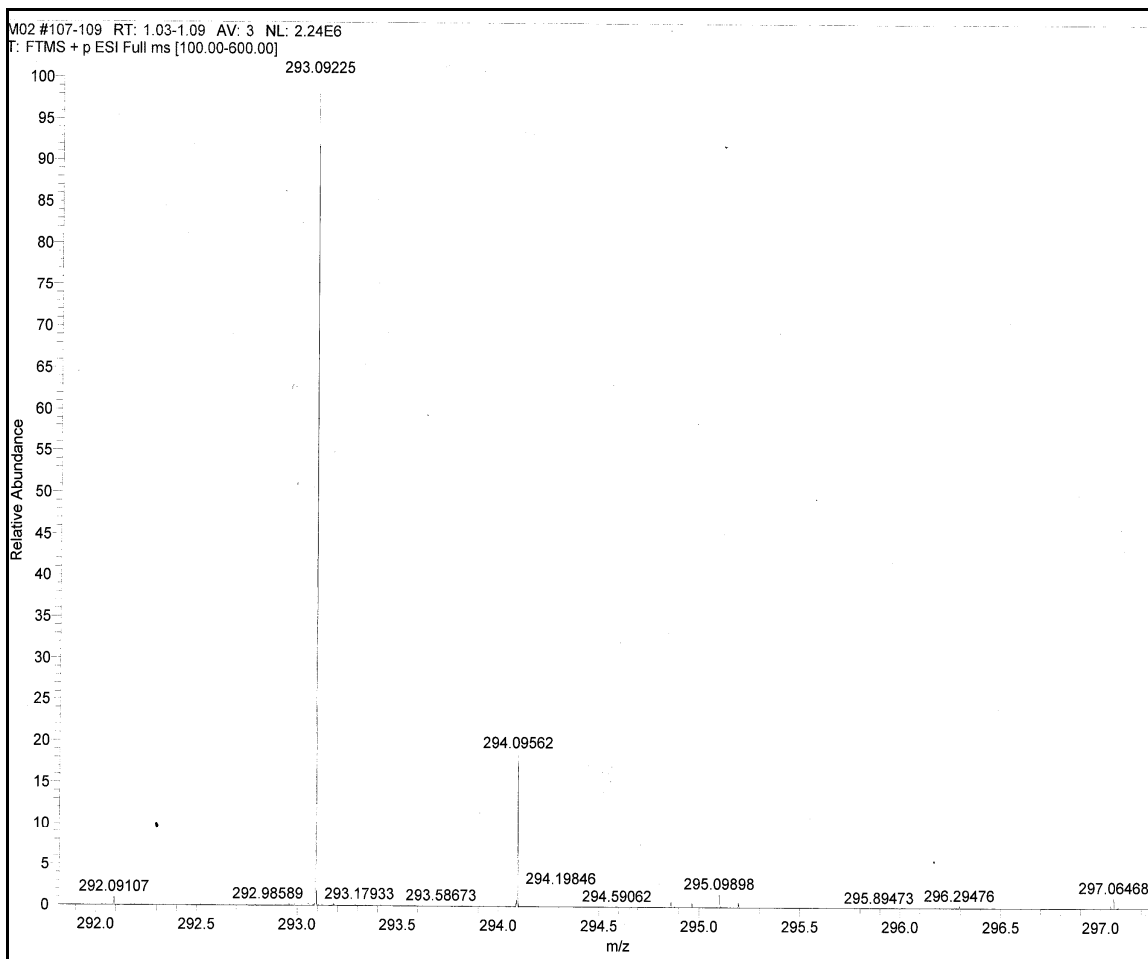


8. Oxadiazol (51): HR-ESI-MS

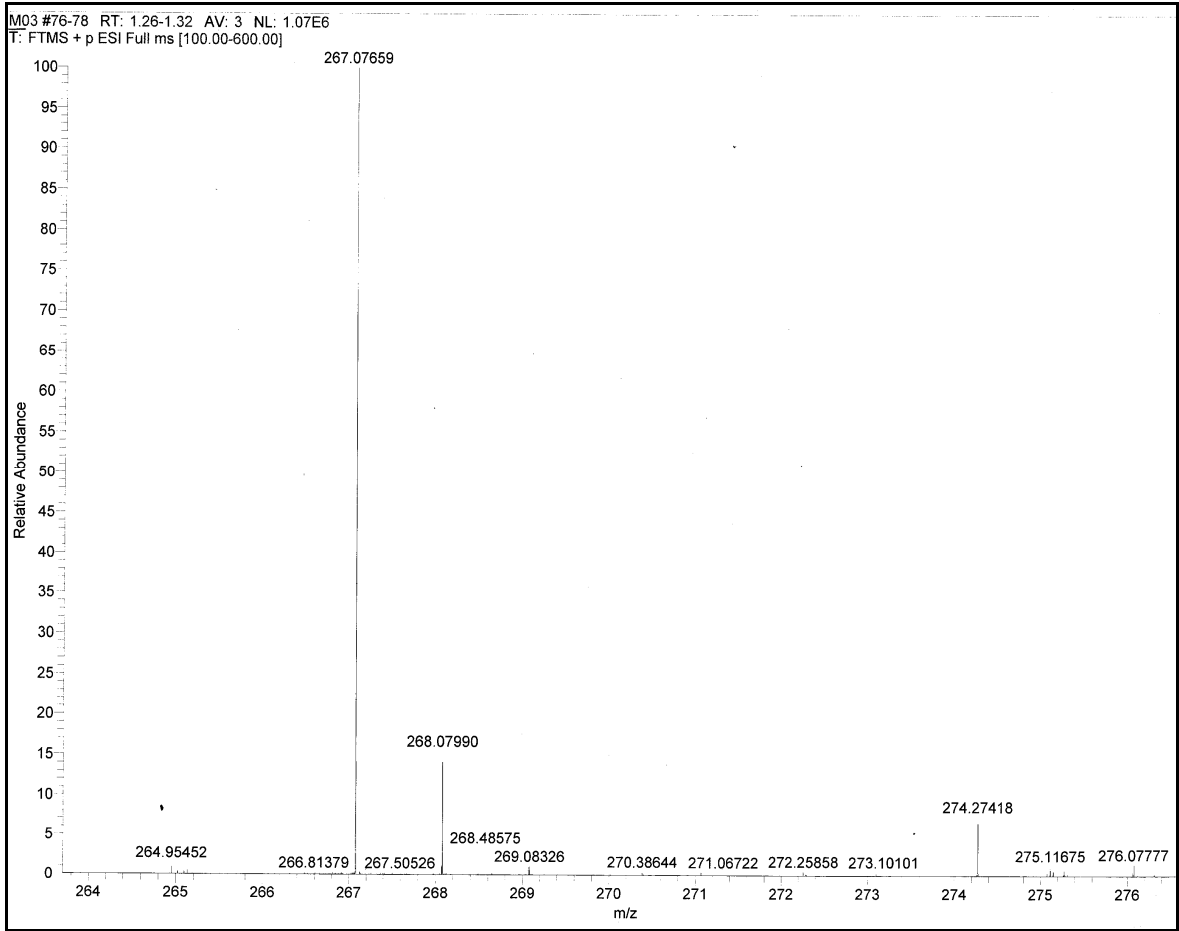




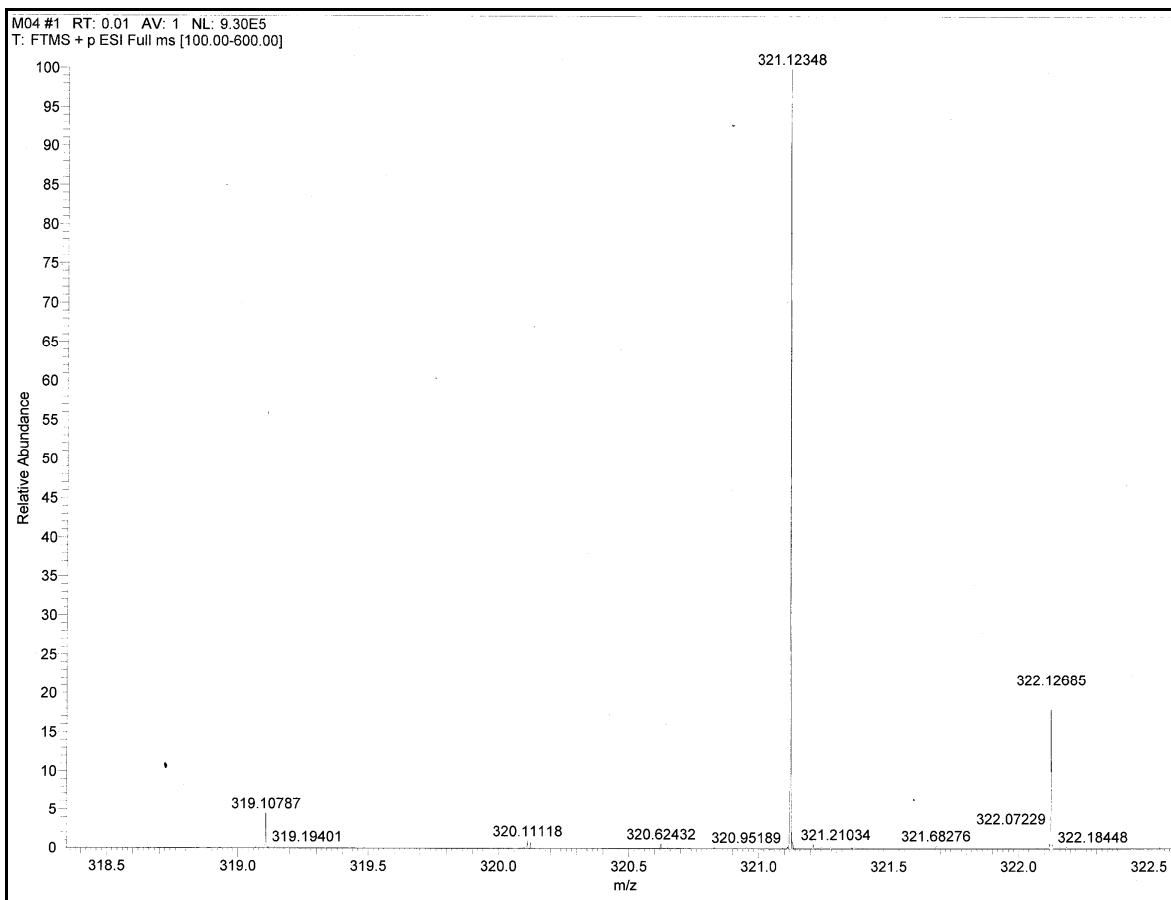
Espectro HR1. Referente ao derivado 55.



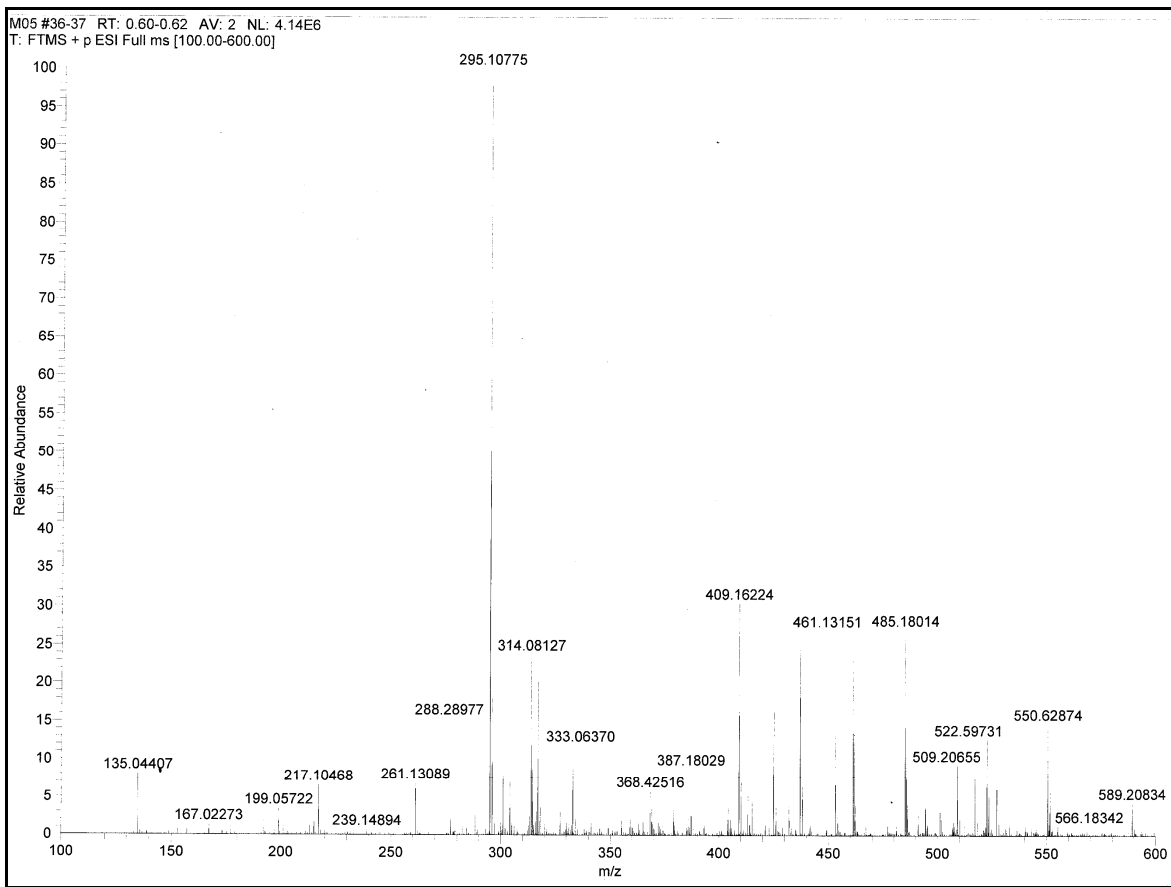
Espectro HR2. Referente ao derivado 58.



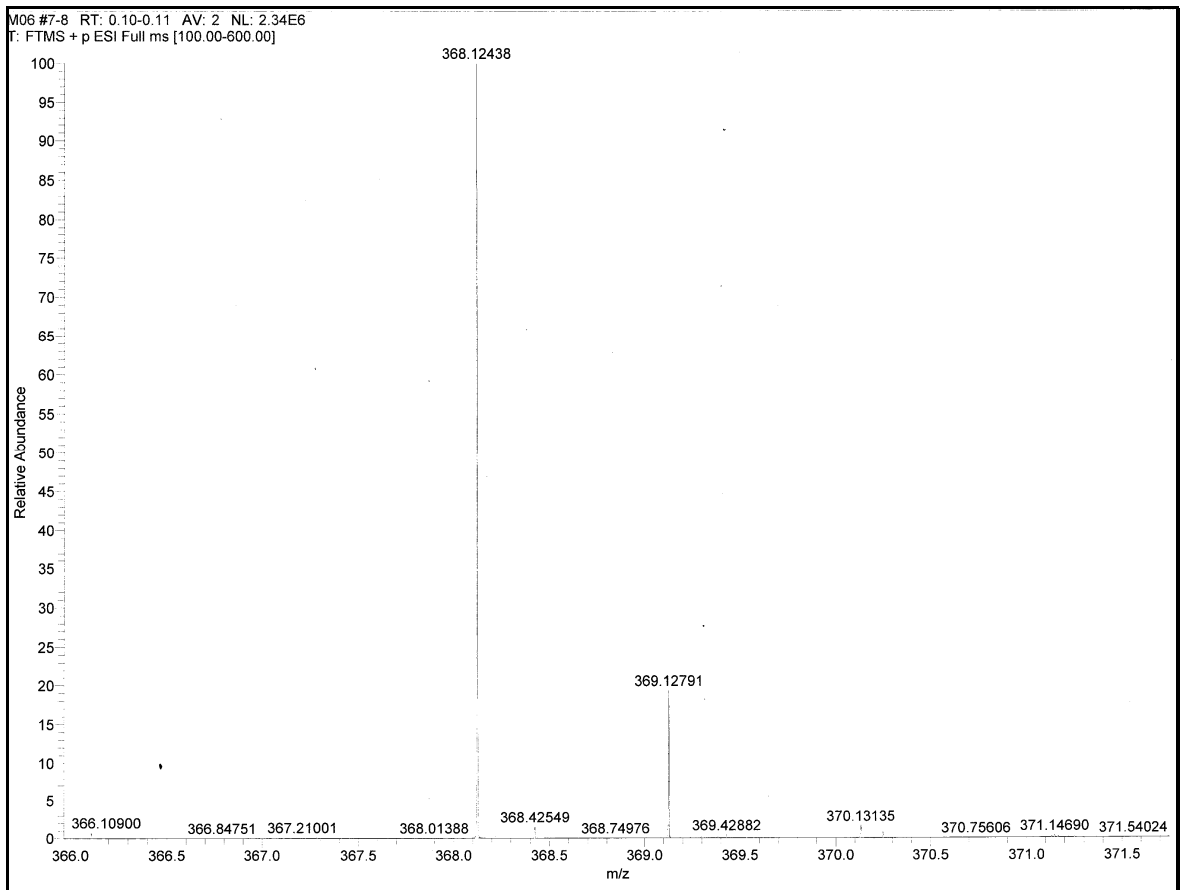
Espectro HR3. Referente ao derivado 59.



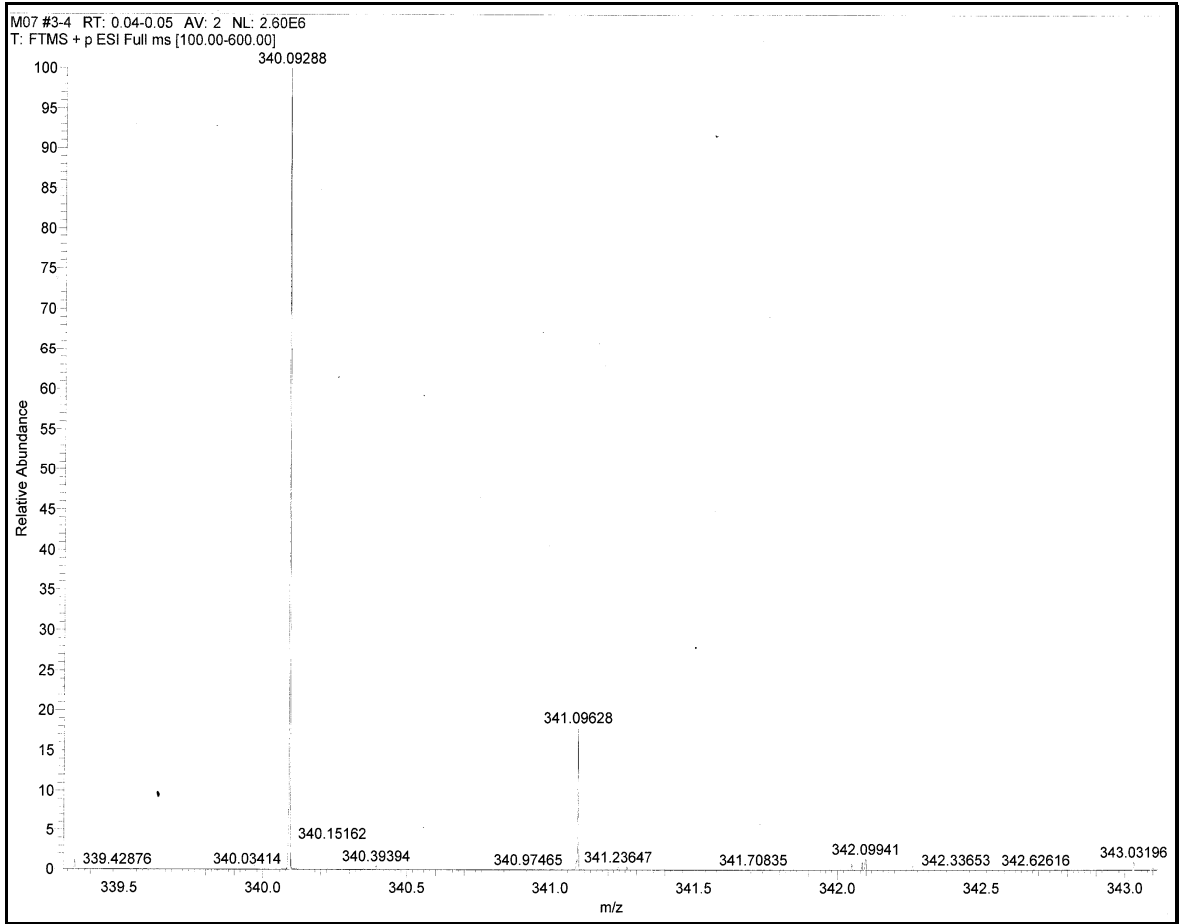
Espectro HR4. Referente ao derivado 56.



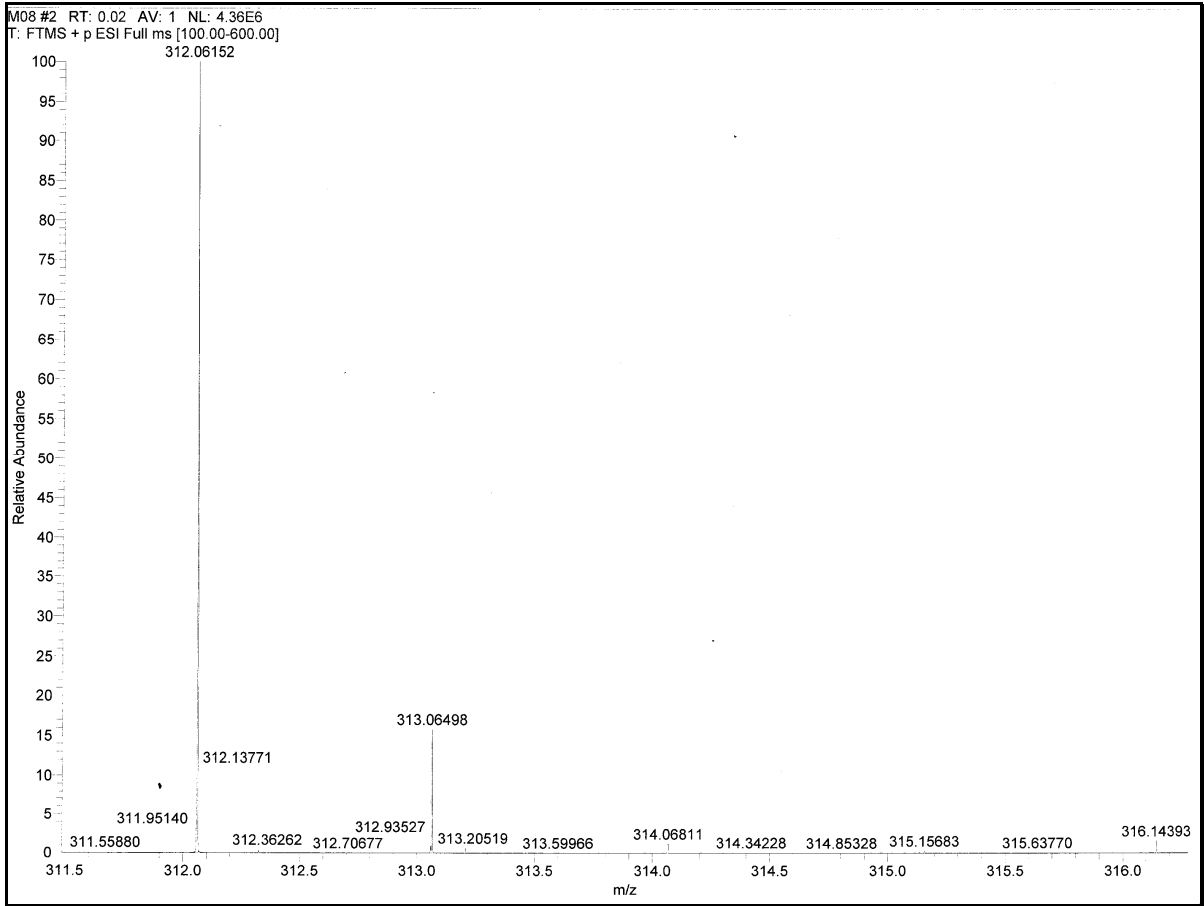
Espectro HR5. Referente ao derivado 60.



Espectro HR6. Referente ao derivado 57.



Espectro HR7. Referente ao derivado 61.



Espectro HR8. Referente ao derivado 62.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)