



**UFRPE UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**

**DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

**CURSO DE LICENCIATURA EM QUÍMICA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ANÁLOGOS DA PIPERINA**

**LEONARDO ALEXANDRE BARROS BEZERRA**

**RECIFE**

**2018**

**LEONARDO ALEXANDRE BARROS BEZERRA**

**ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE ANÁLOGOS DA PIPERINA**

Monografia apresentada ao Departamento de química da  
Universidade Federa Rural de Pernambuco, como parte  
dos requisitos para obtenção do título de Licenciado em  
química por LEONARDO ALEXANDRE BARROS  
BEZERRA para conclusão do curso de licenciatura em  
Química.

Professor Orientador: Prof. Dr. Clécio Souza Ramos

RECIFE

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE  
Bibliotecário(a): Ana Catarina Macêdo – CRB-4 1781

B574a Bezerra, Leonardo Alexandre Barros.  
Atividade antimicrobiana de análogos da piperina  
/ Leonardo Alexandre Barros Bezerra. - Recife,  
2018.  
60 f.; il.

Orientador(a): Clécio Souza Ramos.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco,  
Licenciatura em Química, Recife, BR-PE, 2024.

Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).

1. Fitoquímicos. 2. Compostos químicos. 3.  
Bactericidas. 4. Luminescência 5.  
Química farmacêutica. I. Ramos, Clécio Souza,  
orient. II. Título

CDD 540

**LEONARDO ALEXANDRE BARROS BEZERRA**

**ATIVIDADE MICROBIANA DE ANALOGOS DA PIPERINA**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Clécio Souza Ramos – UFRPE (Sede)**

**Orientador**

---

**Prof. Dr. João Rufino de Freitas Filho**

**Examinador**

---

**Prof. Dr. Queila Patrícia da Silva Barbosa Freitas**

**Examinador**

Dedico esse trabalho a Deus, meus pais,  
minha família, minha namorada, amigos,  
colegas de laboratório e faculdade por  
todo o apoio que me fizeram chegar até  
aqui, Obrigado!

“Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos por impulso quase insano a procurar prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia.”

Johann Joachim Becher, *Physica Subterrânea* (1667)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela dádiva da vida e por todas as coisas boas e ruins que me fizeram chegar até aqui e moldaram quem eu sou.

Ao meu Orientador Clécio Souza Ramos e ao prof. João Rufino por terem-me acolhido em seus grupos de pesquisas para desenvolvimento desse trabalho, na qual serei eternamente grato pela experiência, pelo aprendizado, pela paciência e que me perdoem por todo incômodo que posso ter vos causados.

Aos meus pais Ana Regina e Leonardo Cicero, pela dedicação e paciência por toda a minha vida, por serem compreensivos e mesmo diante de dificuldades permitiram seguir meus sonhos. A minha namorada, Thais Pontes, pelo seu apoio e sorriso que me motivam a seguir em frente.

Aos demais membros da minha família em especial a minha madrinha Valdenice Alexandre.

Aos meus colegas e Ex-colegas de Laboratório do LEQS, Piper (Eterna mascote), Marcilio, Rodrigo, Gissele, Audiceia, Mauriceia, Rafaela, Jessica, Hisla, Renato Luiz, Queila, Luiz Aberto, Juliana C., Juliana L, Juliana M., Aqueline, Jadson, Drielly, Deyvson, Andreza, e diversos outros, pela ajuda, conselhos, motivação e aprendizados, Obrigado!

Aos meus colegas e amigos conquistados na graduação em especial: Tchiara, Lays, Elivelton, F. Calado, Edson, Thiago, Renata, Marquinhos, Vanessa, Bianca, Marcio, Marylhes e Samyr..

A todos os pesquisadores e funcionários que me emprestaram alguma coisa ou me fizeram algum favor, para o andamento da Pesquisa.

Aos Funcionários da UFRPE, da COZZI e SOL pelos seus serviços que mantem a universidade.

Aos funcionários da COZZI em especial, Silvio, Fernanda e Maria Cleide.

A toda UFRPE, em especial ao Departamento de química por serem esse lugar que aprendi amar e a considerar como minha segunda casa. Muito Obrigado por tudo e a Todos!

## RESUMO

A modificação estrutural de compostos naturais é de significativa importância para química medicinal, de 1981 a 2014 foram aprovados para comercialização 1328 medicamentos, destes 51,5% são de origem natural e 26,8% derivados de fitoquímicos. Um exemplo é a amida natural piperina, que é alvo de diversas investigações biológicas, e que tem demonstrado potencial para atuar como precursora de novos compostos com aplicação na modulação de fenômenos biológicos com o núcleo 1,2,4 oxadiazol, que são uma classe de heterocíclico que apresentam uma gama de atividades biológicas e que podem ser usados para a síntese potenciais agentes microbianos. Este Trabalho tem por objetivo relatar a extração da piperina por micro-ondas. A hidrólise por refluxo da piperina para obtenção do ácido piperínico com rendimentos moderados. A obtenção dos ésteres piperininato de etila e 3,4 metilenodioxi cinamato de etila com excelentes rendimentos. A síntese de amidoximas usando a metodologia de convencional de agitação com cloridrato de hidroxalamina, carbonato de sódio e as correspondentes nitrilas com os substituintes (*p*-nitro, *p*-toluil, *m*-toluil, benzo, piperonil, 4-piridina) com rendimentos de 37% -98%. Utilizando a metodologia de síntese de oxadiazol por micro-ondas utilizando os ésteres etil ciano acetato com a piperonilamidoxima, e o éster 3,4 metilenodioxi cinamato de etila com a 4-piridine e *p*-toluil amidoxima na presença de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e DMF. Todos os precursores dos oxadiazol foram elucidados por IV e os 1,2,4 oxadiazóis sintetizados caracterizados por RMN H<sup>1</sup> e C<sup>13</sup>, alguns compostos foram testadas atividades bactericida, onde os 1,2,4 oxadiazóis apresentaram excelentes resultados frente as *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella pneumoniae* e um dos compostos apresentou atividade luminescente uma propriedade pouco relatada nos 1,2,4 oxadiazóis.

Palavra Chaves: Piperina; 1,2,4 oxadiazóis; bactericida; luminescentes.



## ABSTRACT

The structural modification of natural compounds is of significant importance for medicinal chemistry, from 1981 to 2014 1328 medicines were approved for commercialization, of which 51.5% are of natural origin and 26.8% are derived from phytochemicals. An example is the natural amide piperine, which is the target of several biological investigations, and which has demonstrated the potential to act as a precursor to new compounds with application in the modulation of biological phenomena with the 1,2,4 oxadiazole nucleus, which are a class of heterocyclic that exhibit a range of biological activities and that can be used for the synthesis of potential microbial agents. This work aims to report the extraction of piperine by microwave. Reflux hydrolysis of piperine to obtain piperinic acid in moderate yields. Obtaining the ethyl piperinate esters and 3,4 methylenedioxy ethyl cinnamate with excellent yields. The synthesis of amidoximes using the conventional methodology of stirring with hydroxylamine hydrochloride, sodium carbonate and the corresponding nitriles with the substituents (*p*-nitro, *p*-toluyl, *m*-toluyl, benzo, piperonyl, 4-pyridine) in yields of 37% -98%. Using the methodology of synthesis of oxadiazole by microwave using ethyl cyano acetate esters with piperonylamidoxime, ethyl ester 3,4-methylenedioxy cinnamate with 4-pyridine and *p*-toluyl amidoxime in the presence of K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> and DMF. All oxadiazol precursors were elucidated by IV and the 1,2,4-oxadiazoles synthesized characterized by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR. Some compounds were tested bactericidal activities, where the 1,2,4-oxadiazoles presented excellent results against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* and one of the compounds presented luminescent activity a little reported in the 1,2,4 oxadiazoles.

Key Words: Piperine ; 1,2,4-oxadiazoles; antibacterial; luminescent.

## SUMÁRIO

<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>9</b>
<b>1.0 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>15</b>
<b>1.1 PRODUTOS NATURAIS E A MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL</b> .....	<b>16</b>
<b>1.2 A PIPERINA</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3 1,2,4 OXADIAZOIS</b> .....	<b>20</b>
<b>1.4 MICRO-ONDAS E A SÍNTESE ORGÂNICA</b> .....	<b>24</b>
<b>2.1 OBJETIVO GERAL</b> .....	<b>29</b>
<b>3.0 METODOLOGIA</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1 MATERIAIS</b> .....	<b>30</b>
<b>3.2 INSTRUMENTOS</b> .....	<b>30</b>
<b>3.3 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DA PIPERINA DAS SEMENTES DA <i>PIPER NIGRUM</i></b> . .....	<b>31</b>
<b>3.4 SÍNTESE DO ÁCIDO PIPERINICO (HAMMAD;2014)</b> .....	<b>32</b>
<b>3.5 SÍNTESE DO ÉSTER PIPERININATO DE ETILA</b> .....	<b>32</b>
<b>3.6 SÍNTESE DO 3,4 (METILENODIOXI) CINAMATO DE ETILA</b> .....	<b>33</b>
<b>3.7 SÍNTESE DAS AMIDOXIMAS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.8 SÍNTESE DO 1,2,4 OXADIAZÓIS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS COMPOSTOS</b> . .....	<b>35</b>
<b>4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>36</b>
<b>4.1 EXTRAÇÃO DA PIPERINA POR MICRO-ONDAS</b> . .....	<b>36</b>
<b>4.2 SÍNTESE ÁCIDO PIPERINICO</b> .....	<b>36</b>
<b>4.2 SÍNTESE DO ÉSTER PIPERINATO DE ETILA</b> .....	<b>38</b>
<b>4.3 SÍNTESE DO 3,4 METILENDIOXICINAMATO DE ETILA</b> .....	<b>39</b>
<b>4.4 SÍNTESE DAS AMIDOXIMAS</b> .....	<b>42</b>
<b>4.5 SÍNTESE DOS 1,2,4 OXADIAZÓIS</b> . .....	<b>43</b>
<b>4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA</b> .....	<b>50</b>
<b>6.0 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>52</b>

## LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIACÕES

DMSO	Dimetilsulfóxido
DDQ	<i>2,3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona</i>
TEA	Trietilamina
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
AcOEt	Acetato de Etila
CDCl <sub>3</sub>	Clorofórmio Deuterado
TMS	Trimetilsilano
IV	Infravermelho
Hex	Hexano
DMF	Dimetilformamida
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrognio
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono-13
p.f.	Ponto de Fusão
$\delta$	Deslocamento Químico
M.O	Micro-ondas
MHz	Mega-hertz
ppm	Parte por milhão
C°	Grau celsius
$\epsilon'$	Constante dielétrica
$\epsilon''$	Perda de energia
Tan $\delta$	Fator de dissipacão

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Constante dielétrica, fator de perda dielétrica e fator de dissipação de algumas substâncias (25 C° e 3 GHz). .....	27
<b>Tabela 2:</b> Materiais e reagentes. ....	30
<b>Tabela 3:</b> Tempo reacional e fase moveis usadas nas reações dos 1,2,4 oxadiazóis.....	35
<b>Tabela 4:</b> Rendimentos reacionais para obtenção das amidoximas.....	42
<b>Tabela 5:</b> Tempo reacional e rendimento da síntese do 1,2,4 oxadiazóis .....	44
<b>Tabela 6:</b> CMI dos compostos testados em µg/mL. ....	50

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estruturas dos compostos comercializados como fármaco bactericida. ....	17
<b>Figura 2:</b> cristais de piperina, estrutura molecular e a P. Nigrum. ....	18
<b>Figura 3:</b> Derivados da curcumina combinados com a derivado piperínico com forte atividade bactericida. ....	19
<b>Figura 4:</b> Estruturas dos isômeros dos oxadiazóis. ....	20
<b>Figura 5:</b> 1,2,4 oxadiazol com propriedade luminescente. ....	21
<b>Figura 6:</b> 1,2,4 Oxadiazóis com atividades biológicas proeminentes. ....	22
<b>Figura 7:</b> fármacos com o núcleo 1,2,4 oxadiazol. ....	23
<b>Figura 8:</b> Localização da região dos micro-ondas no espectro eletromagnético. ....	25
<b>Figura 9:</b> Representação das moléculas de água com e sem campo eletromagnético. ....	26
<b>Figura 10:</b> Espectro de IV da piperina em KBr. ....	36
<b>Figura 11:</b> Espectro de IV do ácido piperínico em KBr. ....	37
<b>Figura 12:</b> Espectro de IV do éster piperinato de etila em KBr. ....	38
<b>Figura 13:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 17. ....	40
<b>Figura 14:</b> Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do composto 17. ....	41
<b>Figura 15:</b> espectro de IV do éster 3,4metilenodioxi cinamato de etila em KBr. ....	41
<b>Figura 16:</b> Espectro de IV da p-toluilamidoxima em Kbr. ....	43
<b>Figura 17:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 20. ....	46
<b>Figura 18:</b> Espectro de RMN <sup>13</sup> C do composto 21. ....	47
<b>Figura 19:</b> Espectro de RMN <sup>1</sup> H do composto 21. ....	48
<b>Figura 20:</b> Propriedade luminescente do composto 21. ....	48

**Figura 21:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 22.....49

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>Esquema 1:</b> Mecanismo de reação para formação do 1,2,4-oxadiazol. ....	24
<b>Esquema 2:</b> Proposta de síntese do ácido piperínico.....	37
<b>Esquema 3 :</b> Proposta de síntese do éster piperinato de etila. ....	38
<b>Esquema 4:</b> Proposta de síntese do éster 3,4 metienodioxicinamato de etila. ....	39
<b>Esquema 5:</b> Proposta de síntese das amidoximas.....	42
<b>Esquema 6:</b> Proposta de síntese dos 1,2,4 oxadiazóis análogos da piperina.....	44

## 1.0 INTRODUÇÃO

A modificação estrutural de compostos naturais é de significativa importância para química medicinal, seja pela busca de novos fármacos bioativos ou por investigação da influência dos grupos funcionais tem nas propriedades biológicas, nos últimos 31 anos diversos compostos foram transformados em fármacos, destaque para os derivados sintéticos de produtos naturais onde são os maiores representantes nas drogas anti-infecciosas (25,5%) e drogas anticâncer comercializadas (38,22%) (NEWMAN,2016).

A amida piperina é um composto presente majoritariamente nas sementes da Piperacea *Piper nigrum* conhecida como pimenta do reino, famosa especiaria cobiçada no período das grandes navegações, por suas propriedades conservantes e paliativas, usada na medicina tradicional chinesa para tratamento de epilepsia desde tempos remotos (D'Hooger *et al.*, 1996), foi isolada pioneiramente por Hans Christian Oestes em 1819 ela vem sendo alvo de estudos por suas imensas gamas de atividades biológicas e podem ser usados como modelo para o obtenção de novas moléculas bioativas, incluindo moléculas com anel oxadiazólico.

Os 1,2,4 oxadiazóis são uma classe de heterocíclicos conhecidas por suas propriedades biológicas e na química dos materiais, sintetizados pela primeira vez por Tiemann e Krüger em 1884, porém o interesse por parte da comunidade científica ocorreu na década de 50 quando verificaram a capacidade desses compostos realizarem rearranjos moleculares. Há diversas metodologias relatadas para obtenção de 1,2,4 oxadiazóis, sendo a síntese por irradiação em micro-ondas bastante usada devido a otimização de tempo e bons rendimentos reacionais.

A irradiação por micro-ondas na química orgânica é algo que vem despertando interesse da comunidade científica por ser uma síntese limpa, rápida e com poucos produtos indesejados, da síntese orgânica a química dos produtos naturais sua versatilidade e vantagens a tornam uma ferramenta útil em laboratórios de química que visam uma prática mais econômica e que segue os princípios da química verde.



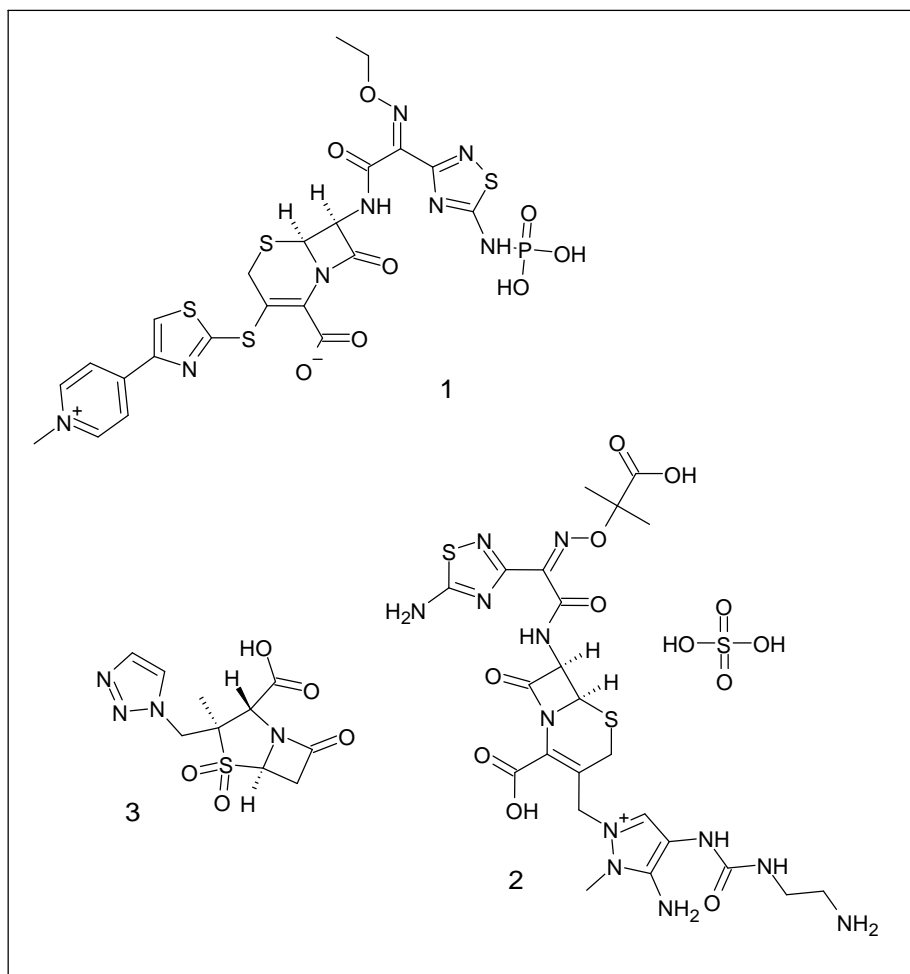
## 1.1 PRODUTOS NATURAIS E A MODIFICAÇÃO ESTRUTURAL

A utilização de compostos biologicamente ativos de origem natural, é algo intrínseco a manutenção da vida de todos os seres vivos, uma infinidade de compostos orgânicos não diretamente essenciais, conhecidos como metabólicos secundários, auxiliam a defesa, comunicação e reprodução dos seres que a produzem, e essas substâncias possuem efeitos biológicos em outros seres vivos benéficos ou maléficos, e são procurados desde os primórdios da humanidade para diversos fins, sendo o Reino Vegetal que tem contribuído de forma mais significativa para o fornecimento de substâncias usadas no tratamento de doenças que afetam os seres humanos (MONTANARI,2001).

Em 2016, Newman e Cragg, publicaram uma revisão, onde analisaram todos os fármacos comerciais aprovados no período de 31 anos que compreende de 1981 a 2014, dos 1328 medicamentos aprovados 515 (51.5 %) são de origem natural, sendo destes 268 derivados sintéticos de produtos naturais (26.8%). Fármacos derivados de produtos naturais foram predominantes nas drogas antitumorais e anti-infecciosas, com destaque para atividade bactericida onde representam 50,71% dos fármacos lançados, destes 71 fármacos são pequenas moléculas.

No período de janeiro de 2011 a dezembro de 2014, dois derivados de produtos naturais foram lançados como fármacos bactericidas dentro do grupo de pequenas moléculas, a Ceftarolina **1** uma cefalosporina (classe de compostos análogos da penicilina) e o cetolozano **2** combinado com tazobactan **3**, sendo esse último um composto inibidor da enzima beta lactamase (Figura 1).

**Figura 1:** Estruturas dos compostos comercializados como fármaco bactericida.



## 1.2 A PIPERINA

A piperina é um alcaloide natural, presente em diversas plantas do gênero *Piper*, sendo mais abundante nos frutos da *Piper nigrum*, planta nativa do subcontinente indiano, no Brasil é conhecida como pimenta do reino sendo utilizada como tempero alimentar pelo seu sabor pungente, tem uso bastante difundido na medicina tradicional indiana e vem motivando estudos científicos há quase duzentos anos (FERREIRA *et al*, 2012). foi isolada pela primeira vez em 1819 por Hans Christian Oersted (ZACHARIAH,2008), a posteriori sendo realizada

elucidação estrutural desta amida natural, como sendo N-[5- (1,3-benzodioxola-4-il-1-oxo-penta-2*E*,4*E*-dienil)]- piperidina (figura 2).

O Brasil é uns maiores produtores mundiais de pimenta do reino, com 35.120 toneladas colhidas no ano de 2006, apesar de ser uma planta exótica, destaca-se como principal produtor o estado do Pará (78%), seguido pelo Espírito Santo (16%). Outro ponto relevante em relação a este produto natural é a sua abundância, sendo extraído em rendimentos de cerca de 3-7%, a partir dos frutos secos da planta (FERREIRA *et al*, 2012).

**Figura 2:** cristais de piperina, estrutura molecular e a *P. Nigrum*.



A amida piperina tem sido amplamente investigada devido ao seu potencial biológico, apresentando uma ampla variedade de atividades biológicas como anti-inflamatória, analgésico, inseticida, imunomodulador, antitireóide, termogênica, antipirético, antitumoral, antidepressivo, antiapoptóticos, anticonvulsiva, antitumoral, anti-úlceras e antioxidante, protetora do sistema nervoso central, hepatoprotetora (VASAVIRAMA, *et al.*, 2014; FERREIRA *et al.*, 2012). Em um estudo, Wattanathorn *et al.* (2008), demonstraram que a piperina também afeta o humor e o transtornos cognitivos. Soares (2011) realizou testes antiparasitários com a piperina frente ao epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, onde observou maior atividade da amida natural do que o fármaco comercial Benzonidazol, esse efeito nesses microrganismos foi observado em outros trabalhos anteriores (SOARES, 2011 *apud* RIBEIRO *et al.*, 2004; FERREIRA *et al.*, 2008).

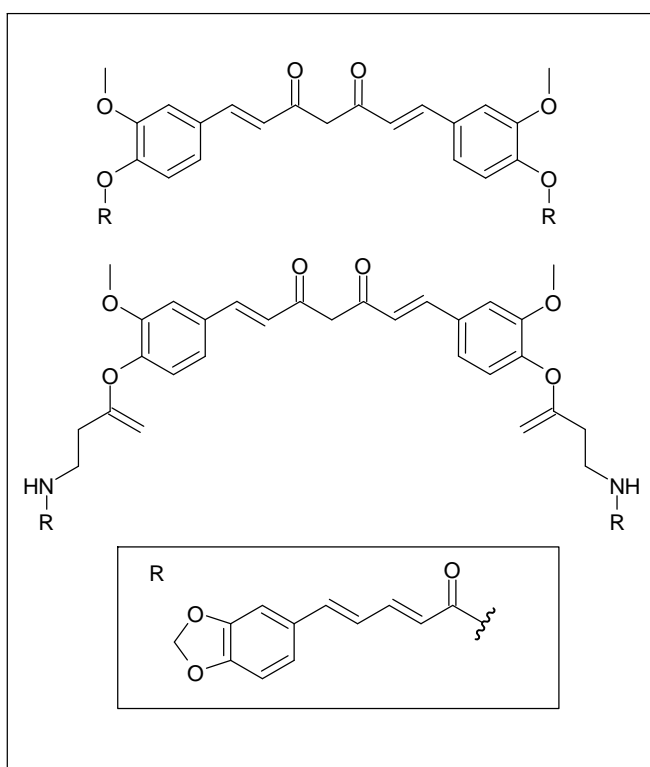
Na China, a pimenta do reino é utilizada pela medicina tradicional no tratamento da epilepsia desde tempos antigos (D'HOOPER *et al.*, 1996; LIU *et al.*, 1984). Liu e

colaboradores, em 1984 realizaram um estudo comparativo, demonstraram que a piperina é capaz de induzir a síntese da serotonina prevenindo convulsões.

Em testes *in vivo* a piperina apresenta a propriedade de inibir enzimas como a Citocromo P450 envolvida no metabolismo de fármacos, deste modo aumentando a biodisponibilidade de vários compostos e a eficiência de alguns medicamentos (ATAL *et al.*, 1985).

Existem diversos relatos de atividades biológicas envolvendo derivados sintéticos da piperina, o ácido piperínico com efeito antioxidante maior que a da piperina e propriedades bactericida especialmente contra gram negativas (ZARAI *et al.*, 2013) podendo ser considerado contra patógenos de origem alimentar. Derivados da piperina combinados com a curcumina e derivados descritos na figura 2 tiveram ótimos resultados bactericidas (MISHRA S. *et al* 2005) apresentaram atividade fungicida frente *Candida albicans* apresentando melhor resultado *in vitro* que o Fluconazol (figura 3).

**Figura 3:** Derivados da curcumina combinados com a derivado piperínico com forte atividade bactericida

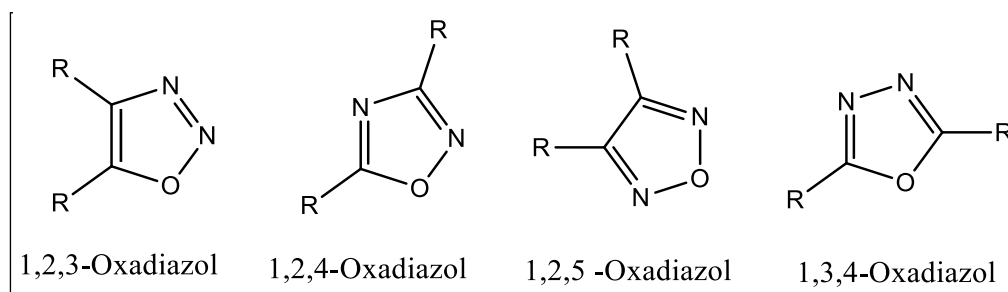


Os ésteres pipéridínicos e outros análogos da piperina apresentaram forte atividade para tratamento de vitiligo, já em 1999 os extratos aquosos das sementes de *Piper Nigrum L.* demonstraram potencial para estimular a produção de melanócitos (VENKATASAMY *et al* 2004).

### 1.3 1,2,4 OXADIAZOIS

Os oxadiazóis são heterocíclicos de cinco membros formado por um átomo de oxigênio e dois átomos de nitrogênio, como um sistema conjugado com baixa aromaticidade (FREITAS *et. al*, 2012). Há 4 possibilidades isoméricas para o anel do oxadiazol podemos citar os 1,2,3-oxadiazóis, 1,2,4-oxadiazóis, 1,2,5-oxadiazóis, 1,3,4-oxadiazóis (Figura 4).

**Figura 4:** Estruturas dos isômeros dos oxadiazóis.

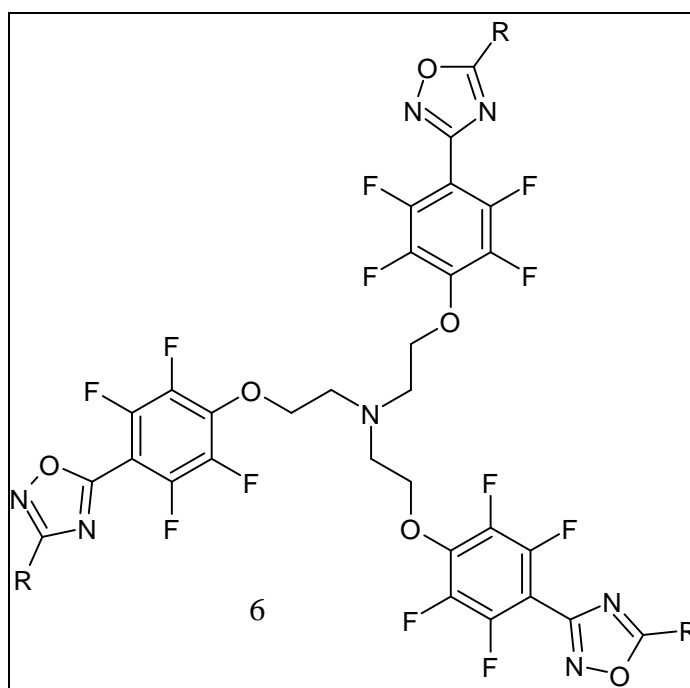


Os principais estudos decorrentes de oxadiazóis são na área de matérias, sendo descritos na literatura oxadiazóis com propriedades de cristais líquidos e líquidos iônicos (PARRA; HIDALGO e ELGUETA, 2008), e principalmente oxadiazóis bioativos.

A fotoluminescência de 1,3,4-oxadiazóis é bem conhecida, os 1,2,4-oxadiazóis raramente são relatados, e geralmente com baixos rendimentos quânticos, que mostre a fluorescência na região visível (PACE e PIERRO,2009). Neste contexto, uma comparação interessante entre a fluorescência de dois idênticas séries substituídas de 1,2,4- e 1,3,4-

oxadiazoles foi relatado (PARRA *et al*, 2006). Buscemi e colaboradores (2006) relataram a síntese de 1,2,4 oxadiazóis fluorinados com propriedades luminescentes no UV (Figura 5), antes desse trabalho o único registro de 1,2,4 oxadiazóis com essa propriedade foi feito por Taguchi (BUSCEMI *et al*,2006 apud Taguchi).

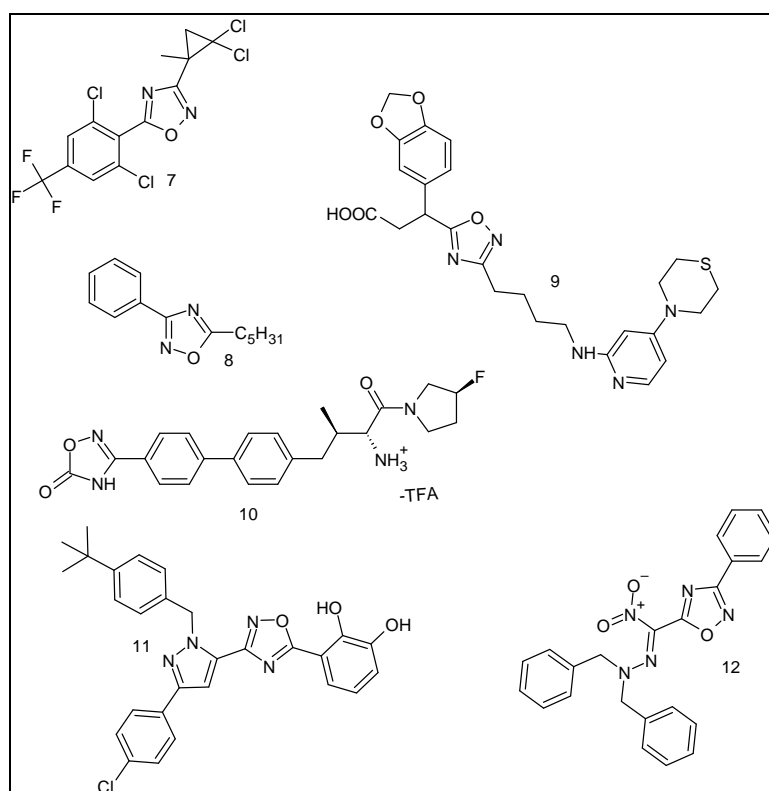
**Figura 5:** 1,2,4 oxadiazol com propriedade luminescente.



As aplicações de 1,2,4-oxadiazóis com atividade biológica são variadas, desde atividade inseticida (**7**) (YOSHIHISA 2000), anti-inflamatórios (**8**) (BEZERRA, *et. al* 2005), antimicrobianos (**12**) (PARRA *et al*, 2006) e antidiabética (**9**) (PACE e PIERRO,2009), compostos com atividade anticâncer (**10**)(**11**) (Xu *et al*,2005) (VUJASNOVIC *et al.*, 2012) e, nestes compostos observaram-se atividade anticâncer em linhagens de células cancerosas

humanas, de câncer de próstata, mama e do pâncreas (CUNHA e DE AGUIAR, 2015)( figura 6).

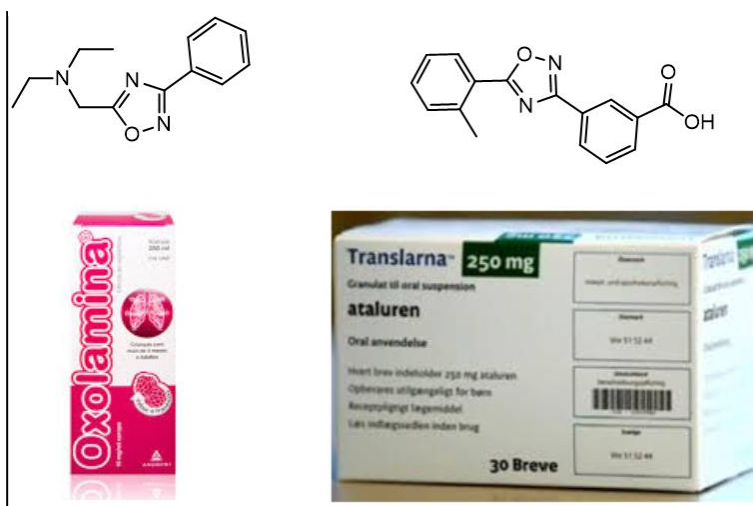
**Figura 6:** 1,2,4 Oxadiazóis com atividades biológicas proeminentes.



Em 2011 Carbone e colaboradores relataram dois alcaloides, Fidianidina A e B, com o núcleo 1,2,4-oxadiazol ligado ao sistema indol em sua estrutura, isolados do molusco *Phidiana militaris*. As fidianidinas apresentaram alta citotoxicidade contra linhagens celulares tumorais e não tumorais em ensaios *in vitro*.

Fármacos comerciais com o heterocíclico são notórios, destacando o fármaco comercial oxolamina<sup>TM</sup> um antitussígeno e o Ataluren (comercializado como Translarna<sup>TM</sup>) usado para tratamento de doenças genéticas como distrofia muscular de Duchenne (NEWMAN E CRAGG, 2014) (figura 7).

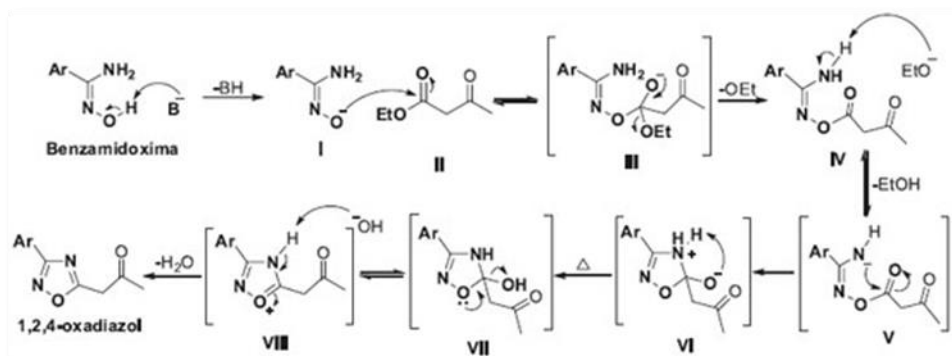
**Figura 7:** fármacos com o núcleo 1,2,4 oxadiazol.



Os 1,2,4 Oxadiazóis podem ser obtidos por duas rotas sintéticas: rota -I) reação de ciclo adição 1,3 dipolar de nitrilas e *N*-óxidos de nitrilas, nesta não se detecta a formação de intermediários, enquanto a Rota -II) a mais utilizada, se baseia na acilação da amidoxima com derivados de ácidos carboxílicos (ésteres, cloretos ácidos, anidros e outros), formando o intermediário O-acilamidoxima, seguido de uma ciclodesidratação do intermediário, formando o anel 1,2,4 oxadiazol. (FREITAS *et al*, 2012), para ocorrer a ciclodesidratação é preciso emprego de temperatura (ROSA, MORCELLI e LOBO, 2015) (esquema 1).



**Esquema 1:** Mecanismo de reação para formação do 1,2,4-oxadiazol.



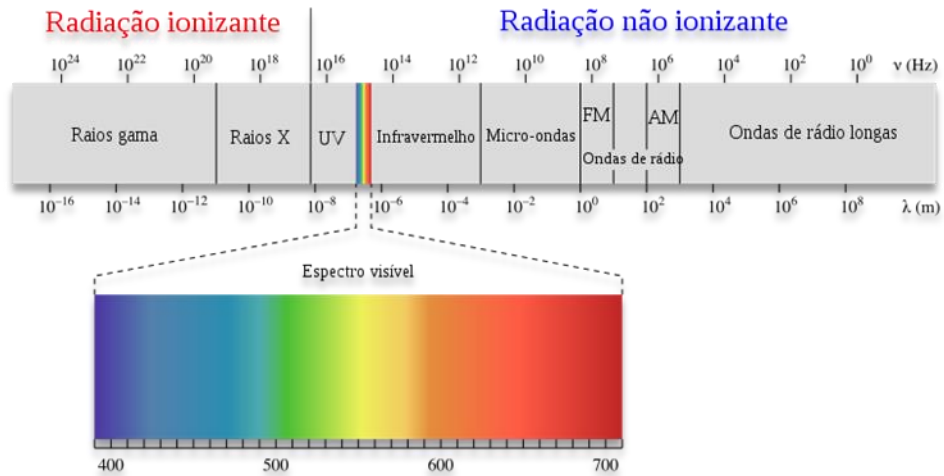
Fonte: REGUEIRA; FREITAS; FREITAS FILHO, (2016)

Os 1,2,4 oxadiazóis com derivados da piperina foi sintetizado por Soares (2009) reagindo os cloretos ácidos dos derivados com a benzoamidoxima, desses compostos foi observada atividade antiparasitária frente a *Trypanosoma cruzi* porém nenhum dos heterocíclicos apresentou maior potência inibitória que a amida natural piperina.

#### 1.4 MICRO-ONDAS E A SÍNTESE ORGÂNICA

As micro-ondas é como se denomina a radiação eletromagnética não ionizante, cuja frequência compreende de 300 a 300.000 MHz e que corresponde ao comprimento de onda de 1 mm a 1m, situando-se entre a região do infravermelho e as ondas de rádio no espectro eletromagnético (SANSEVERINO, 2002). (Figura 8)

**Figura 8:** Localização da região dos micro-ondas no espectro eletromagnético.

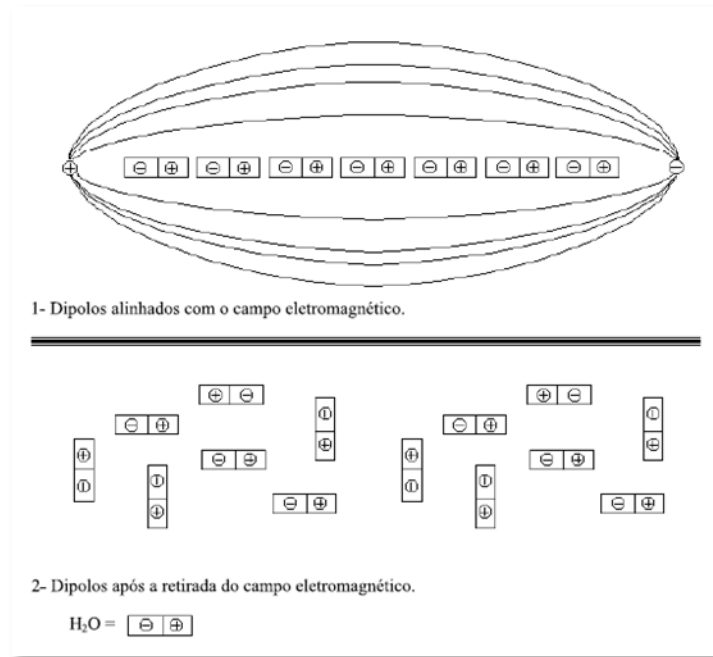


Fonte: Wikipedia.com (2018)

Em fornos convencionais a transferência de calor para substâncias e alimentos se dar por condução térmica, convecção ou irradiação, já por micro-ondas ocorre por um fenômeno chamado aquecimento dielétrico, sendo a conversão de energia eletromagnética em calor, existem dois mecanismos relevantes que explicam o fenômeno, que se distinguem pela natureza da substância (SANSEVERINO,2002).

O primeiro denominado rotação de dipolo, remete o ordenamento das moléculas (que possuem dipolo induzido ou permanente) com o campo eletromagnético aplicado. Quando o campo é removido as moléculas retornam ao estado desordenado, liberando assim a energia absorvida para a organização na forma de calor. Como um campo elétrico na frequência de 3,2 GHz oscila (muda de sinal)  $6,4 \cdot 10^9$  vezes por segundo, ocorre um rápido aquecimento dessas moléculas. Uma representação esquemática é mostrada na figura 9, onde se usou a água como exemplo.

**Figura 9:** Representação das moléculas de água com e sem campo eletromagnético.



Fonte: Sanseverino, (2002)

O segundo mecanismo denominado condução iônica, nele o calor é gerado por perdas de fricção, que ocorrem através do deslocamento de íons dissolvidos que estão sob a ação de um campo eletromagnético. Estas perdas variam da carga, do tamanho, condutividade dos íons dissolvidos e interação desses com o solvente (SANSEVERINO, 2002).

A propriedade de uma substância converter radiação eletromagnética em calor é chamada fator de dissipação (numericamente igual a  $\tan \delta$ ), calculada pela razão do fator de perda de energia ( $\epsilon''$ ) pela constante dielétrica da substância ( $\epsilon'$ ) que indica sua polaridade (Equação 1) (ZLOTORZYNSKI,1995).

**Equação 1:** Equação do Fator de dissipação

$$\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon'$$

Quanto maior o valor do fator de dissipação mais a substância é aquecida por micro-ondas. Na tabela 1 mostra algumas substâncias e os parâmetros mencionados.

**Tabela 1:** Constante dielétrica, fator de perda dielétrica e fator de dissipação de algumas substâncias (25 C° e 3 GHz).

Substância	$\epsilon'$	$\epsilon''$	Tan $\delta * 10^4$
Gelo	3,2	0,00288	9
Água a 25 C°	76,7	12,0419	1570
Solução aquosa NaCl 0.1 mol/L	75,5	18,12	2400
Solução aquosa NaCl 0,5 mol/L	67,0	41,875	6250
Metanol	23,9	15,296	6400
Etanol	6,5	1,625	2500
Propanol	3,7	2,479	6700
CCl <sub>4</sub>	2,2	0,00088	4
heptano	1.9	0,00019	1

O gelo praticamente não é aquecido por micro-ondas, pois é uma substância cristalina e ordenada (Tan  $\delta * 10^4 = 9$ ), a água, porém é rapidamente aquecida por micro-ondas pelo mecanismo de rotação dipolo. Nas soluções aquosas de NaCl (ou qualquer meio com íons) ocorrem os dois mecanismos de aquecimento rotação dipolo e condução iônica, que na água pura, quanto maior a concentração de eletrólitos maior é o aquecimento.

Em geral substâncias polares tais como, etilenoglicol, metanol e propanol absorvem bem irradiação e micro-ondas. Substâncias apolares como heptano, CCl<sub>4</sub>, hexano não sofrem aquecimento por micro-ondas. Substâncias como teflon e vidro pirex são inertes as micro-ondas, os metais refletem as micro-ondas (SANSEVERINO,2002).

As primeiras descrições de reações orgânicas via forno micro-ondas doméstico ocorreram em 1986 em dois trabalhos independentes de Gedye e Giguere. As reações foram realizadas em recipientes fechados, comparando com o aquecimento convencional, sem controle de pressão. Os primeiros relatos de reações em micro-ondas doméstico relatam os primeiros acidentes, pois alguns recipientes deformaram ou explodiram devido as irradiações (GEDYE *et al*,1986).

Em 1986 Ganzler e colaboradores, relataram o uso de micro-ondas para extração de compostos de diversas matrizes vegetais como fermento, feijão fava e sementes de algodão comparando com a extração em soxhlex, a extração por micro-ondas demonstraram resultados vantajosos com menor tempo de extração e pouca variação da concentração dos compostos entre os métodos.

Desde então vem crescendo sua relevância e utilidade em laboratórios por promover a redução do tempo reacional e de extração, a diminuição de produtos indesejados e gastos extensos de energia. Além de propiciar reações na ausência de solvente, favorecendo uma síntese limpa e se enquadrando nos princípios da Química Verde.

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Sintetizar análogos da piperina contendo núcleo 1,2,4 oxadiazol com potencial antimicrobiano.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Sintetizar diferentes amidoximas;
- Sintetizar ésteres análogos da piperina.
- Sintetizar uma série de novos análogos da piperina contendo um núcleo 1,2,4-oxadiazólico;
- Caracterizar os compostos sintetizados por IV, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  e análise elementar;
- Avaliar o potencial antimicrobiano dos compostos sintetizados.

### 3.0 METODOLOGIA

#### 3.1 MATERIAIS

Os reagentes e solventes utilizados no procedimento experimental estão listados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Materiais e reagentes.

<b>Reagentes/Solventes</b>	<b>Procedência</b>
<b>Água destilada</b>	-
<b>Hidróxido de potássio P.A</b>	Vetec
<b>Piperina 97%</b>	Sigma-Aldrich
<b>Pimenta do reino</b>	
<b>Etanol P.A.</b>	Exodo
<b>Metanol P.A.</b>	Neon
<b>cloridrato de hidroxilamina</b>	Dinâmica
<b>carbonato de sódio</b>	-
<i>p</i> -nitronitrila	Sigma-Aldrich
<i>piperonilnitrila</i>	Sigma-Aldrich
<b>Benzonitrila</b>	Sigma-Aldrich
<b>toluinitrila</b>	Sigma-Aldrich
<b>Piridinenitrila</b>	Sigma Aldrich
<b>Sulfato de sódio anidro</b>	Sigma-Aldrich
<b>Acido clorídrico P.A</b>	
<b>Acido Sulfurico P.A</b>	
<b>Ácido 3,4 metilenodioxi cinamico</b>	Alfa Aesar
<b>Etil ciano acetato</b>	

#### 3.2 INSTRUMENTOS

O micro-ondas utilizado para as sínteses dos 1,2,4-oxadiazóis foi da marca Eleltrolux, modelo MTO30 (850W e 220V).

Foi utilizado lâmpadas UV de 254 e 365 nm, para acompanhar as reações por CCD (cromatografia em camada delgada) e vapores de iodo.

As análises espectroscópicas de ressonância magnética nuclear (RMN), tanto de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , foram realizadas no equipamento Varian Models Unity Plus 100 e 300 MHz do Departamento de Química Fundamental (DQF) da UFPE usando como solvente das amostras clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) e trimetilsilano (TMS) como padrão interno.

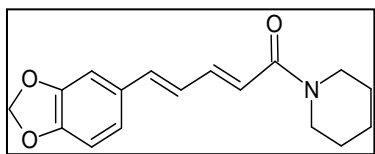
Os espectros de infravermelho (IV) foram feitos no CENAPESQ (Centro de Apoio à Pesquisa) da UFRPE no equipamento Varian modelo 640 FTIR (Fourier Transform infrared). Nas amostras que foram analisadas em uma frequência na região de  $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$  do infravermelho foram aplicadas pastilhas de brometo de potássio (KBr).

### **3.3 EXTRAÇÃO ASSISTIDA POR MICRO-ONDAS DA PIPERINA DAS SEMENTES DA *PIPER NIGRUM*.**

As sementes de pimenta do reino obtidas no mercado de São José Recife- PE, foram secas em estufa a  $50\text{ }^\circ\text{C}$  por 24hrs e trituradas num moinho de facas, 100g do pó da semente do reino foi colocada num erlenmeyer e em seguida adicionou-se 150 mL de etanol. Com o auxílio de um bastão de vidro agitou-se a mistura para retirar bolhas de ar, tampou-se o erlenmeyer com papel filme furado e colocou-se em um micro-ondas doméstico a 400W por 5 min, quando ocorreu ebulição brusca da mistura pausou-se o procedimento por alguns segundos, após o tempo determinado filtrou-se o extrato e rotaevaporou-se para concentração, repetiu-se o processo 4 vezes reutilizando o solvente recuperado do rotaevaporador. Ao fim da extração, diluiu-se 6g de KOH (hidróxido de potássio) em 50 mL de etanol adicionou-se a solução ao extrato, deixou-se descansar por algumas horas e filtrou-se o extrato, ao filtrado foi adicionado 60 mL água gelada lentamente onde observou-se a formação de um precipitado amarelo, deixou-se descansar por algumas horas e filtrou-se a vácuo, obtendo um sólido amorfo amarelo, colocou-se o sólido para recristalizar em isopropanol quente onde após a recristalização lavou-se o sólido com isopropanol gelado, obtendo um cristal amarelo, que foi caracterizado por IV.

N-[5- (1,3-benzodioxola-4-il-1-oxo-penta-2E,4E-dienil)]- Piperidina, Piperina (**13**)





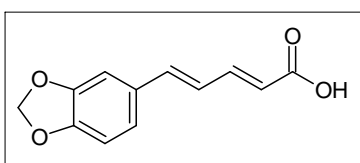
Sólido amarelo pálido. ponto de fusão: 130°C (Lit.: 127-129°C – Soares, 2009); IV (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3200 (C-H arom); 2957-2858 (C-H anel piperidínico); 1644 (C=O), 1563-1440 (aril); 1246 ( $\text{OCH}_2\text{O}$ ), 1124 ( $\text{OCH}_2\text{O}$ ).

Rendimento: 3% recristalizado

### 3.4 SÍNTESE DO ÁCIDO PIPERÍNICO (HAMMAD;2014).

Dissolveu-se 1,0g de piperina em 100 mL de 2M de hidróxido de potássio em refluxo por 25 horas, a reação foi monitorada por CCD 7:3 hexano/acetato de etila. Ao término da reação, adicionou-se 50 mL de água quente para solubilização dos sais de potássio remanescentes, formando assim uma suspensão, adicionou-se uma solução de HCl 6 M até o  $\text{pH} < 1$ , filtrou-se a vácuo, lavando a vácuo precipitado com uma solução fria de 1:1 etanol/água, após seco obteve-se um sólido amarelado foi caracterizado por IV.

Ácido(2E,4E)-5-(3,4metilenodioxifenil)pentadienóico, ácido piperínico (**14**)



Sólido amarelado, ponto de fusão: 189°C; IV (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 3400-3200 (O-H); 2922 (C-H metilenodioxi); 1679 (C=O), 1605-1496 (aril); 1259 ( $\text{OCH}_2\text{O}$ ).

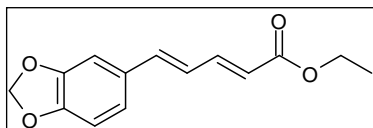
Rendimento: 61%

### 3.5 SÍNTESE DO ÉSTER PIPERININATO DE ETILA

Foi utilizado 1,0 g de ácido piperínico foi adicionado em 100 mL de etanol P.A, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, em seguida a mistura reacional foi adicionada a um sistema de refluxo por 5 horas, monitorada por CCD em um sistema de 7:3 hexano/acetato de etila, após o termino da reação, a mistura foi rotaevaporada para retirada do excesso do álcool e tratada com uma solução concentrada de carbonato de sódio até o pH ficar básico (7 ou 8), em seguida foi colocada em funil de separação com acetado de etila, onde foi

extraída (3x 15 mL), a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio e filtrada com papel de filtro, o filtrado foi rotaevaporado, onde se obteve um sólido marrom de aroma adocicado, onde foi caracterizado por IV.

(2*E*,4*E*)-5-(2*H*-1,3-benzodioxol-5-il)penta-2,4 dienoato de etila (**15**)



Sólido amarelo, ponto de Fusão: 68-70 °C, IV (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ):

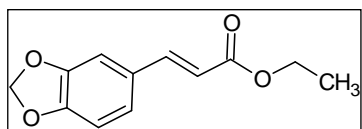
1706 (C=O), 2904 (CH<sub>2</sub>), 1619 (C=C), 1033 e 3000 (C-H sp<sup>2</sup>)

Rendimento: 98%

### 3.6 SÍNTESE DO 3,4 (METILENODIOXI) CINAMATO DE ETILA

Em um balão de fundo redondo adicionou-se 1g do ácido 3,4 (metilenodioxo) cinâmico, 50 mL de etanol e lentamente 2 mL de ácido sulfúrico concentrado, a mistura reacional foi submetida a um sistema de refluxo por um período de 4 horas, monitorada por CCD sistema 7:3 Hexano/acetado de etila, após o tempo reacional a mistura foi rotaevaporada para retirada do excesso do álcool, adicionou-se lentamente um solução saturada de Carbonato de sódio, até o pH da mistura ficar levemente básico (7 ou 8), a mistura foi extraída com acetado de etila (3 x 20 mL) num funil de separação, a fase orgânica foi recolhida e seca por sulfato de sódio anidro e filtrada em seguida, o filtrado foi posto em um balão e rotaevaporado, onde obteve-se um sólido branco onde foi caracterizado por IV, RMN <sup>13</sup>C e RMN <sup>1</sup>H.

(2*E*)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)acrilato de etila (**17**)



(3,4-(metilenodioxo) trans-cinamato de etila), sólido branco, ponto de fusão: 65°C, IV (KBr,  $\nu/\text{cm}^{-1}$ ): 1703 (C=O), 1624 (C=C), 1496 (aril), 1455 (aril), 1256 (OCH<sub>2</sub>O), 1174 (OCH<sub>2</sub>O);

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.58 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 7.02 (d,  $J = 1.7$  Hz, 1H), 7.00 (dd,  $J = 8.0, 1.7$  Hz, 1H), 6.80 (d,  $J = 7.9$  Hz, 1H), 6.25 (d,  $J = 15.9$  Hz, 1H), 6.08 – 5.93 (m, 2H), 4.25 (q,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 1.32 (t,  $J = 7.1$  Hz, 3H).

RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 167.12, 149.50, 148.28, 144.21, 128.87, 124.30, 116.19, 108.48, 106.44, 101.48, 77.40, 60.34, 14.30.

Rendimento: 97%

### 3.7 SÍNTESE DAS AMIDOXIMAS

Em um erlenmeyer de 150 mL dissolveu-se (equivalente em mol) de nitrilas (*p*-toluil, *m*-toluil, benzo, 4-piridina, *p*-Bromo e *p*-cloro) dissolvendo-as em etanol, em outro erlenmeyer misturou-se 3 eq. do cloridrato de hidroxilamina e 1,5 eq. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> em água destilada até dissolução completa. As soluções foram misturadas e mantida em agitação magnética por 24 horas, a reação foi monitorada por CCD com eluente clorofórmio/acetato de etila 1:1. Em um rotaevaporador a mistura reacional foi concentrada a vácuo, em seguida mantida em banho de gelo para a precipitação das amidoximas. As amidoximas com baixa pureza foram recristalizadas em clorofórmio, os compostos **18a-f** obtidos foram caracterizados através da técnica de IV.

### 3.8 SÍNTESE DO 1,2,4 OXADIAZÓIS

Em um reator de vidro, adicionou-se 1.0 eq. dos ésteres, 1.3 eq. das amidoximas e 1.5 eq. do carbonato de potássio anidro, adicionou-se 7 a 10 gotas de DMF e com o auxílio de uma espátula homogenizou-se o a mistura, a reação foi conduzida por micro-ondas na potência máxima do aparelho. As reações foram acompanhadas por CCD com sistemas distintos para cada reação, após o término da reação, tratou-se a reação com água destilada e extraiu-se com acetato de etila, a reação B foi extraída com clorofórmio (3 x 20 mL), secou-se a fase orgânica com sulfato de sódio anidro filtrou-se e pôs a rotaevaporação até a retirada do solvente, em seguida realizou-se a purificação por cromatografia em coluna de sílica gel, utilizando fase moveis distintos para cada (tabela 3). Os compostos obtidos foram caracterizados por RMN <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H.

**Tabela 3:** Tempo reacional e fase moveis usadas nas reações dos 1,2,4 oxadiazóis.

<b>Reação</b>	<b>Tempo reacional</b>	<b>Fase móvel CCD</b>	<b>Fase móvel coluna</b>
<b>Reação A</b>	5 segundos	Hexano/acetato de etila 7:3	95% Hexano / 5% acetato de etila
<b>Reação B</b>	5 minutos	Hexano/acetato de etila 7:3	80% Hexano / 20% acetato de etila
<b>Reação C</b>	5 minutos e 30 segundos	Clorofórmio/Hexano 8:2	90% hexano / 10% acetato de etila

### **3.9 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS COMPOSTOS.**

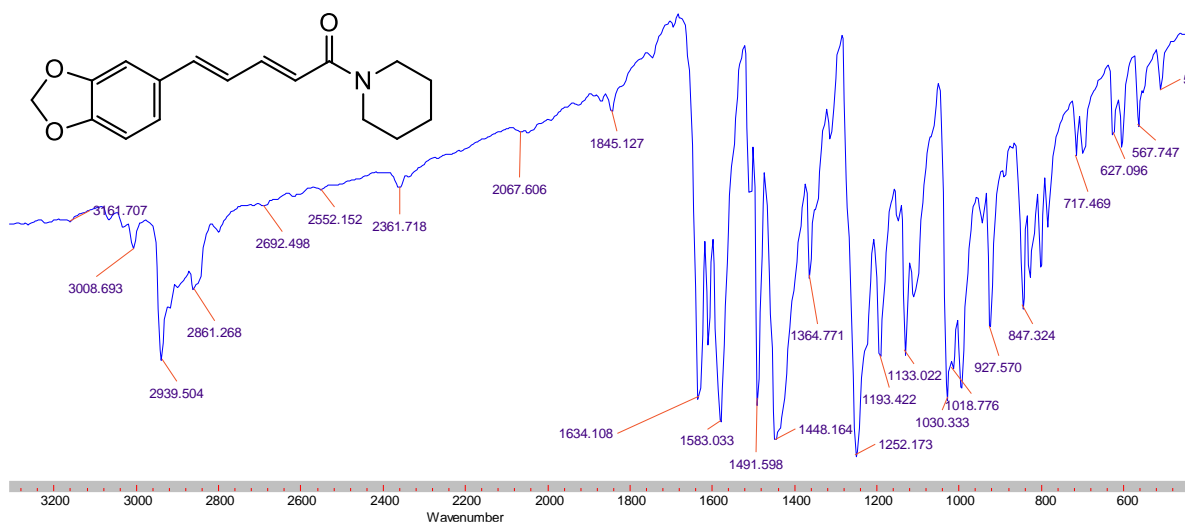
A atividade antimicrobiano foi realizada pelo método CMI (concentração mínima inibitória) através da técnica de micro diluição em multiplacas com 96 poços, conforme o Clinical and Laboratory Standards Institute, utilizando o meio liquido MH (Mueller Hinton) para as bactérias e o fármaco Metronidazol como padrão, os microrganismo testados foram *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*, os compostos foram diluídos em DMSO (dimetilsulfoxido) nas concentrações de 2550; 1250; 625; 312,5; 156,2; 78,1; 39,0; 19,5µg/µL, as microplacas foram cultivadas em estufa a 37 C° por 18 a 24 horas. Os compostos testados foram **31, 32, 35, 39 e 21**.

## 4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 EXTRAÇÃO DA PIPERINA POR MICRO-ONDAS.

A piperina foi obtida como um cristal amarelado com rendimento de 3 % recristalizado. O material cristalino apresentou um ponto de fusão de 130 C°, idêntico ao relatado para piperina, seu o espectro de IV do recristalizado apresentou bandas 3008 cm<sup>-1</sup> de estiramento C-H aromático, estiramento simétrico e assimétrico do da dupla ligação em 1634 cm<sup>-1</sup>e 1608 cm<sup>-1</sup>, estiramento simétrico e assimétrico do CH<sub>2</sub> do grupo 1,3 benzodioxol em 2938 e 2861 cm<sup>-1</sup>, estiramento OC-N 1634 cm<sup>-1</sup> (Figura 10).

Figura 10: Espectro de IV da piperina em KBr.

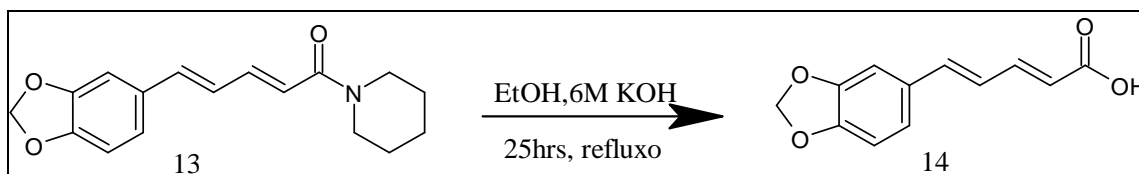


### 4.2 SÍNTESE ÁCIDO PIPERÍNICO

O ácido piperínico foi obtido como um sólido de coloração marrom amarelado com rendimento reacional de 61 %. O valor do ponto de fusão para o ácido foi de 189 °C em acordo com o valor relatado previamente na literatura (TAKAO; MIYASHIRO; SUGITA, 2015).

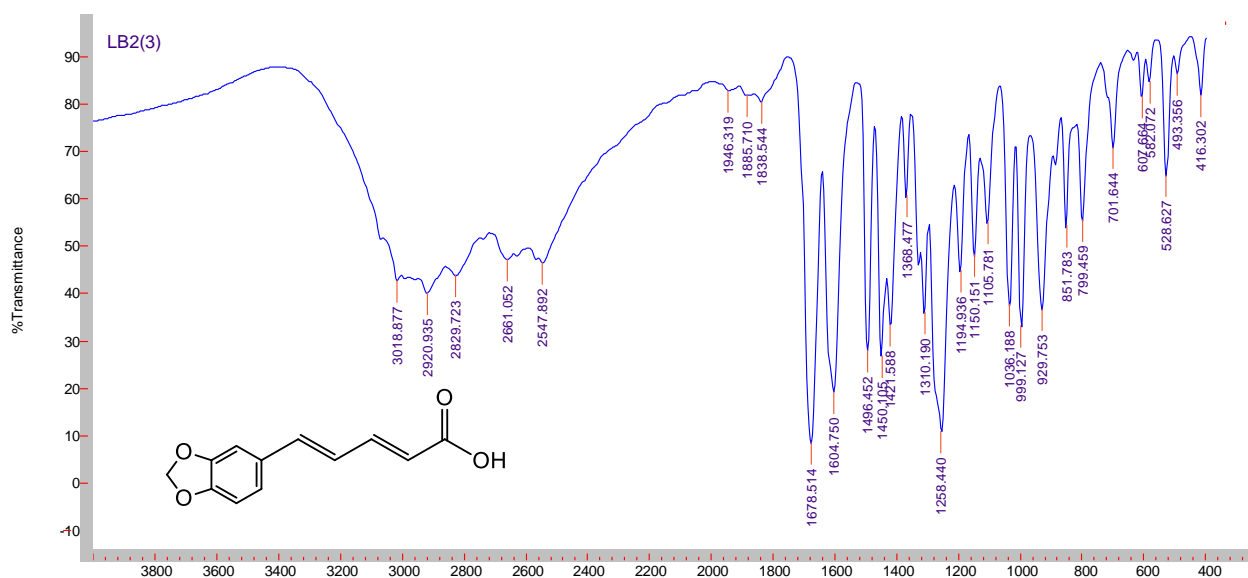
**Esquema 2:** Proposta de síntese do ácido piperínico

**Esquema 2:** Proposta de síntese do ácido piperínico.



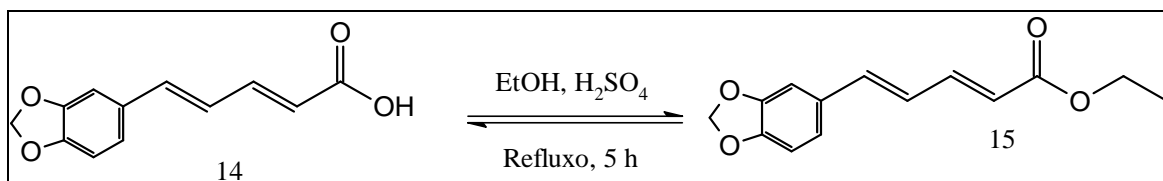
No espectro de IV (Figura 11) observa-se as bandas de O-H de ácidos carboxílicos em 2500 a 3200  $\text{cm}^{-1}$ , o estiramento simétrico e assimétrico do  $\text{CH}_2$  do grupo 3,4 metilenodioxil em 2920  $\text{cm}^{-1}$  e o estiramento característico C-O do anel em 1258  $\text{cm}^{-1}$ , o estiramento largo do C=O conjugado em 1679  $\text{cm}^{-1}$ , em 1678  $\text{cm}^{-1}$  o estiramento das C=C das insaturações conjugadas com a carbonila e em 3018  $\text{cm}^{-1}$  estiramento C-H de alceno sobreposto a banda de O-H o que causa o espectro característico desse composto observado na literatura na região 3400 a 2400  $\text{cm}^{-1}$ .

**Figura 11:** Espectro de IV do ácido piperínico em KBr.



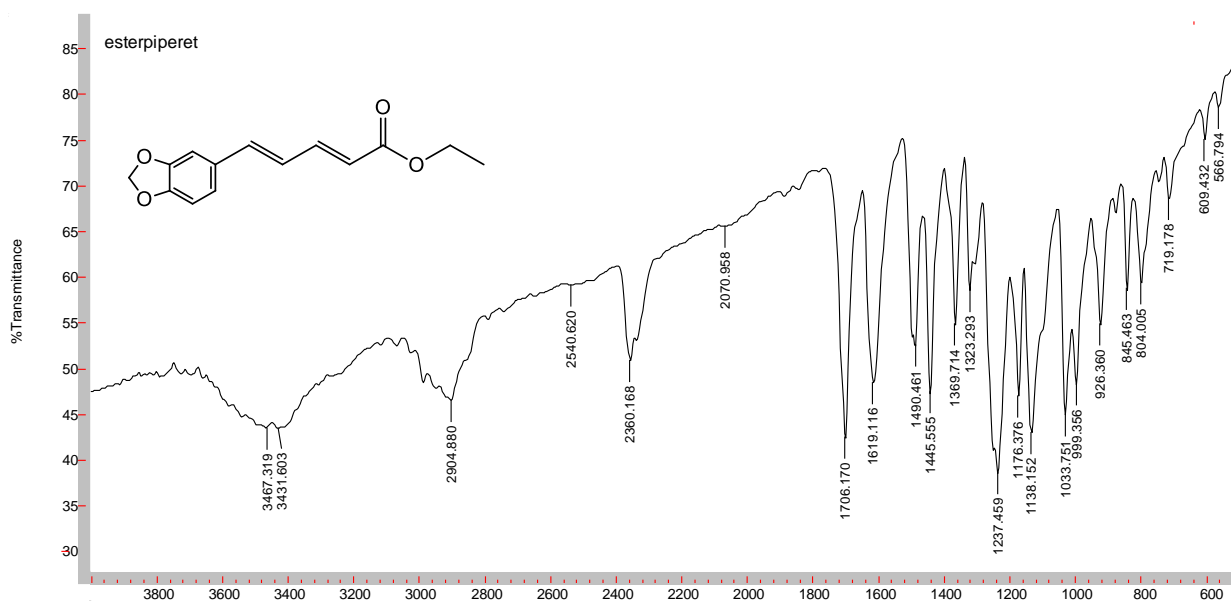
## 4.2 SÍNTESE DO ÉSTER PIPERINATO DE ETILA

Esquema 3 : Proposta de síntese do éster piperinato de etila.



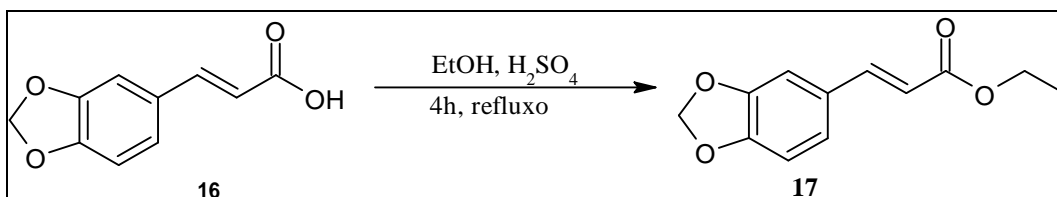
Foi obtido um sólido amarronzado com ponto de fusão de 50 C° e rendimento de 98%. O sólido foi caracterizado por IV e seu espectro apresentou bandas (figura 12) em 1706 cm<sup>-1</sup> o estiramento referente C=O carbonila do éster conjugada com a instaurações, estiramento simétrico e assimétrico do CH<sub>2</sub> do grupo 3,4 metilenodioxil 2904 cm<sup>-1</sup>, em 1619 cm<sup>-1</sup> estiramento da conjugação C=C e em 1033 cm<sup>-1</sup> e 3000 cm<sup>-1</sup> estiramento C-H característico de alceno, estiramento da ligação C-O do éter arílico do grupo piperonil em 1237 cm<sup>-1</sup>.

Figura 12: Espectro de IV do éster piperinato de etila em KBr.



### 4.3 SÍNTESE DO 3,4 METILENDIOXICINAMATO DE ETILA.

**Esquema 4:** Proposta de síntese do éster 3,4 metienodioxicinamato de etila.

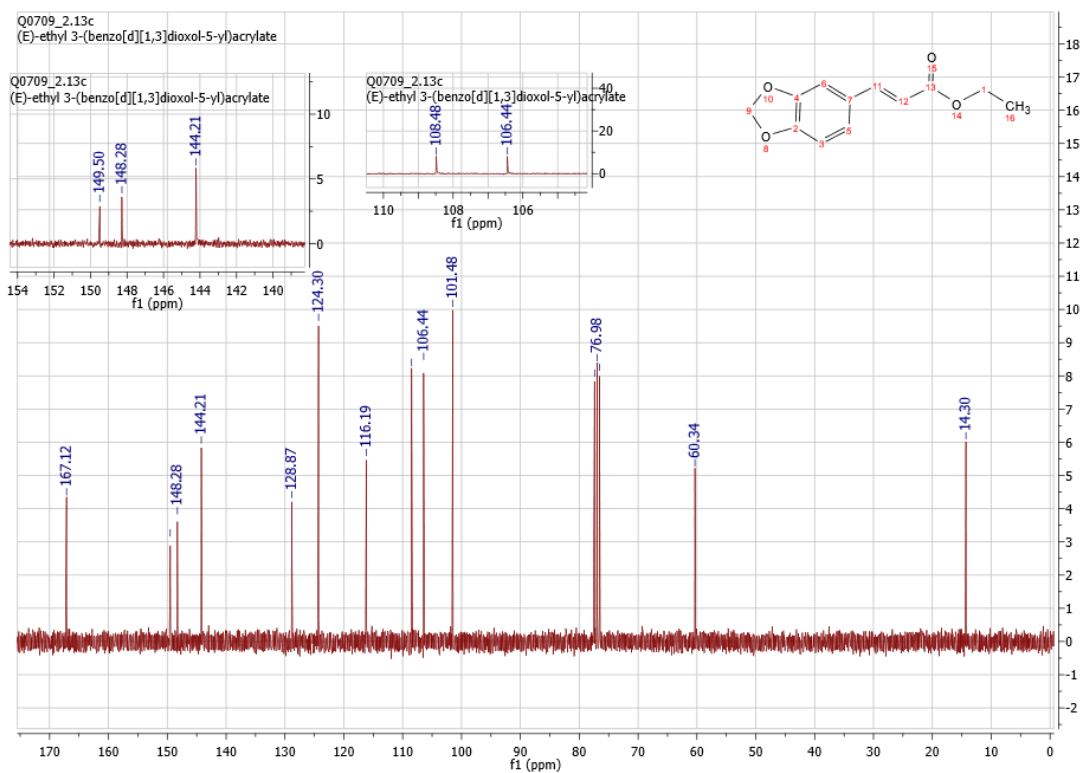


Foi obtido um sólido branco cristalino, de aroma adocicado, com rendimento de 97% e ponto de fusão 65 C°, que foi caracterizado por IV, RMN de <sup>13</sup>C e <sup>1</sup>H. O espectro de IV (figura 13) mostrou o estiramento simétrico e assimétrico do CH<sub>2</sub> do grupo 3,4 metilenodioxil em 2990 cm<sup>-1</sup> e em 1243 cm<sup>-1</sup> o estiramento do C-O do éter arílico do grupo piperonil, o estiramento C=O de ésteres conjugados 1702 cm<sup>-1</sup>, 3054cm<sup>-1</sup> estiramento C-H de alcenos.

No RMN de <sup>13</sup>C (figura 13) foi observado o sinal em δ101,48 ppm referente a CH<sub>2</sub> do metilenodioxil, em δ149,5 e δ148,2 ppm os carbonos quaternário na posição 3 e 4 no aromático ligados ao oxigênio, em δ 106,4; δ124,3 e δ108 ppm as metinas CH do aromático, em δ 128,87 ppm o carbono quaternário ligado a cadeia aberta, em δ144 e δ 116,19 ppm as metinas sp<sup>2</sup> da insaturação da cadeia aberta, em δ 167,12 ppm o sinal referente ao carbonila de éster conjugada e em δ 60,34 ppm o metileno e em δ14,30 ppm a metila do grupo etila do éster.



**Figura 13:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 17.



No RMN de  $^1\text{H}$  (figura14) foi observado um simpleto (s) em  $\delta$  6,0 ppm referente a  $\text{CH}_2$  do metilenodioxil, observamos dois dupletos (d)  $\delta$ 6,81 e  $\delta$ 7,02 ppm e um simpleto em  $\delta$  7,26 ppm referente aos hidrogênios aromáticos, na cadeia aberta confirmamos dois dupletos em  $\delta$ 7,56 e  $\delta$  6,28 ppm dos carbonos  $\text{sp}^2$  das insaturações, um quadrupeto  $\delta$ 4,23 ppm e um tripleto  $\delta$  1,32 ppm referente a etila do éster.



#### 4.4 SÍNTESE DAS AMIDOXIMAS

A tabela 4 mostra os rendimentos das sínteses das amidoximas. As análises dos espectros de IV (ver apêndice figuras 18-24), indicou ausência da banda característica das nitrilas de estiramento 2260 a 2220  $\text{cm}^{-1}$ , e a presença de estiramento da ligação C-N em 1360-1250  $\text{cm}^{-1}$  e o das ligações das aminas primárias em 3600 e 3200  $\text{cm}^{-1}$  típicas do grupo funcional amidoxima, como podemos observar no exemplo (figura 16).

Esquema 5: Proposta de síntese das amidoximas

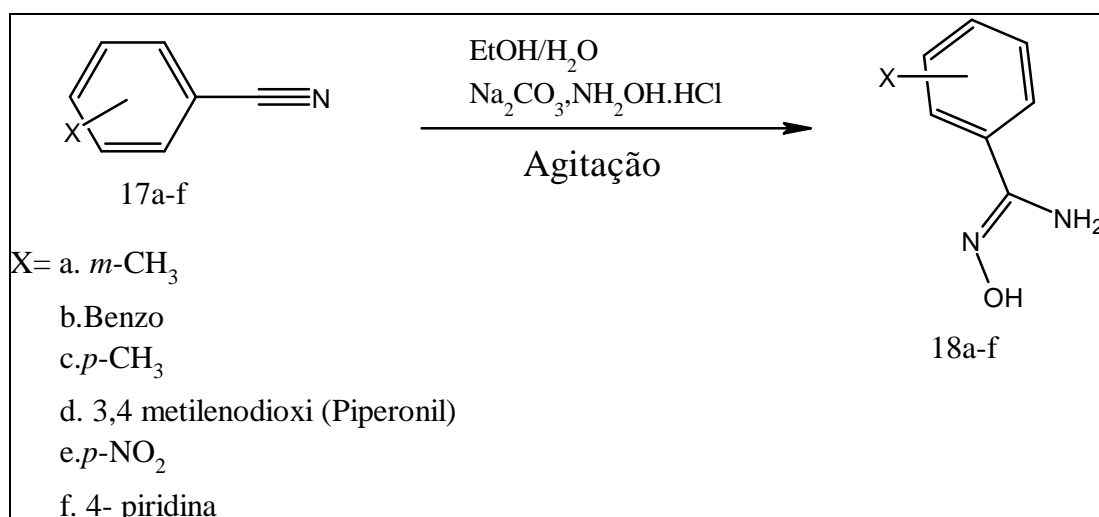
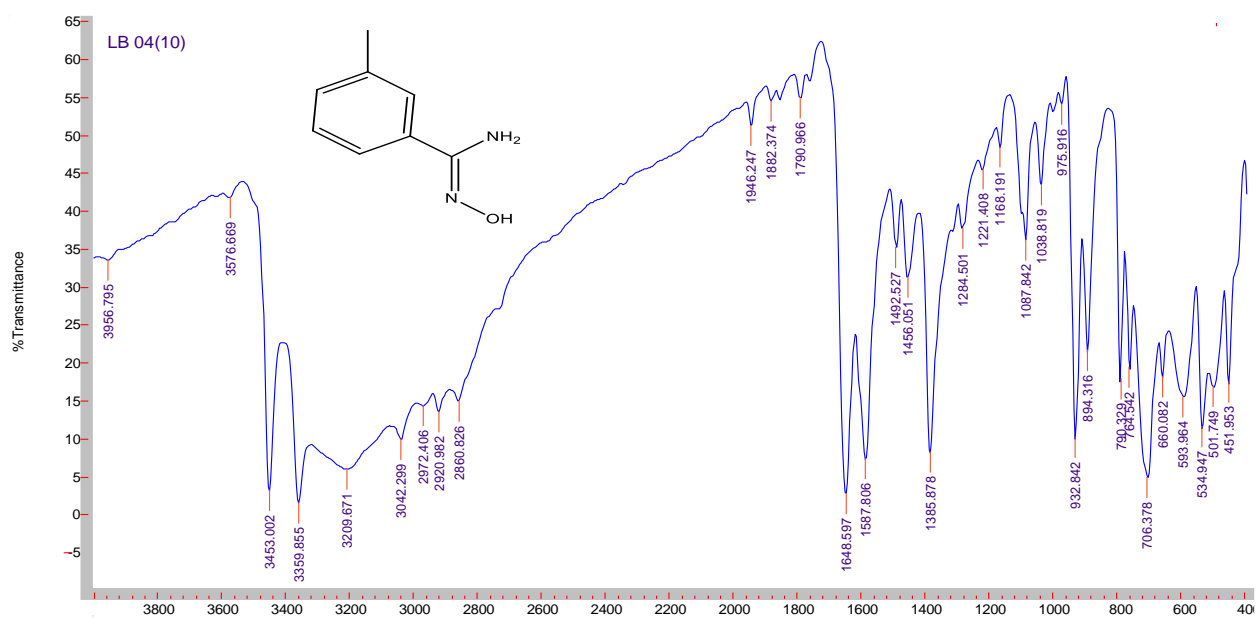


Tabela 4: Rendimentos reacionais para obtenção das amidoximas

amidoxima	Rendimentos
<i>m</i> -toluil (18a)	87,50%
Benzo (18b)	52%
<i>p</i> -toluil (18c)	68%

<b>Piperonil (18d)</b>	37%
<b>p-nitro (18e)</b>	98%
<b>4-piridina (18f)</b>	84%

**Figura 16:** Espectro de IV da p-toluilamidoxima em Kbr.

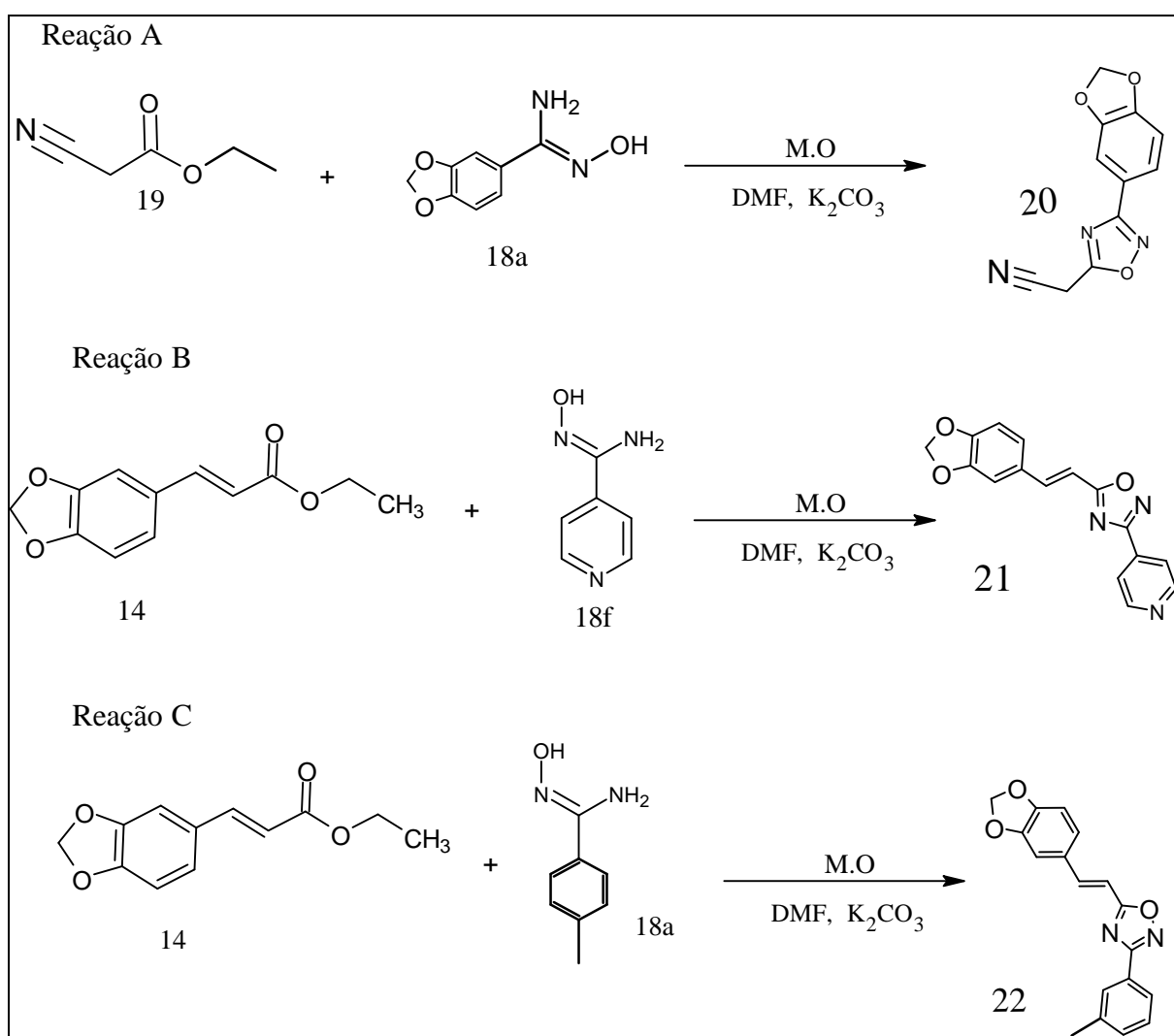


#### 4.5 SÍNTESE DOS 1,2,4 OXADIAZÓIS.

Seguindo a metodologia descrita por Freitas Filho *et al* (2007), os 1,2,4 oxadiazóis foram obtidos com rendimentos moderados e bons (tabela 5). As reações com o 3,4 metilenodioxi cinamato de etila (**35**) foi realizada com pausa para evitar superaquecimento e degradação do material reacional. O monitoramento das reações com o éster (**35**) foi realizada por CCD usando a fase móvel clorofórmio/hexano.

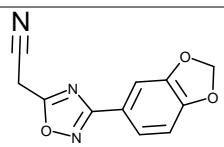
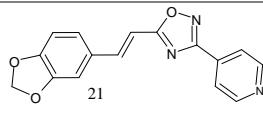
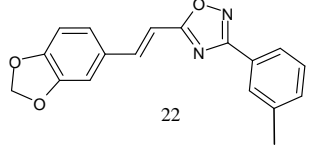
**Esquema 5:** Proposta de síntese dos 1,2,4 oxadiazóis análogos da piperina.

**Esquema 6:** Proposta de síntese dos 1,2,4 oxadiazóis análogos da piperina.



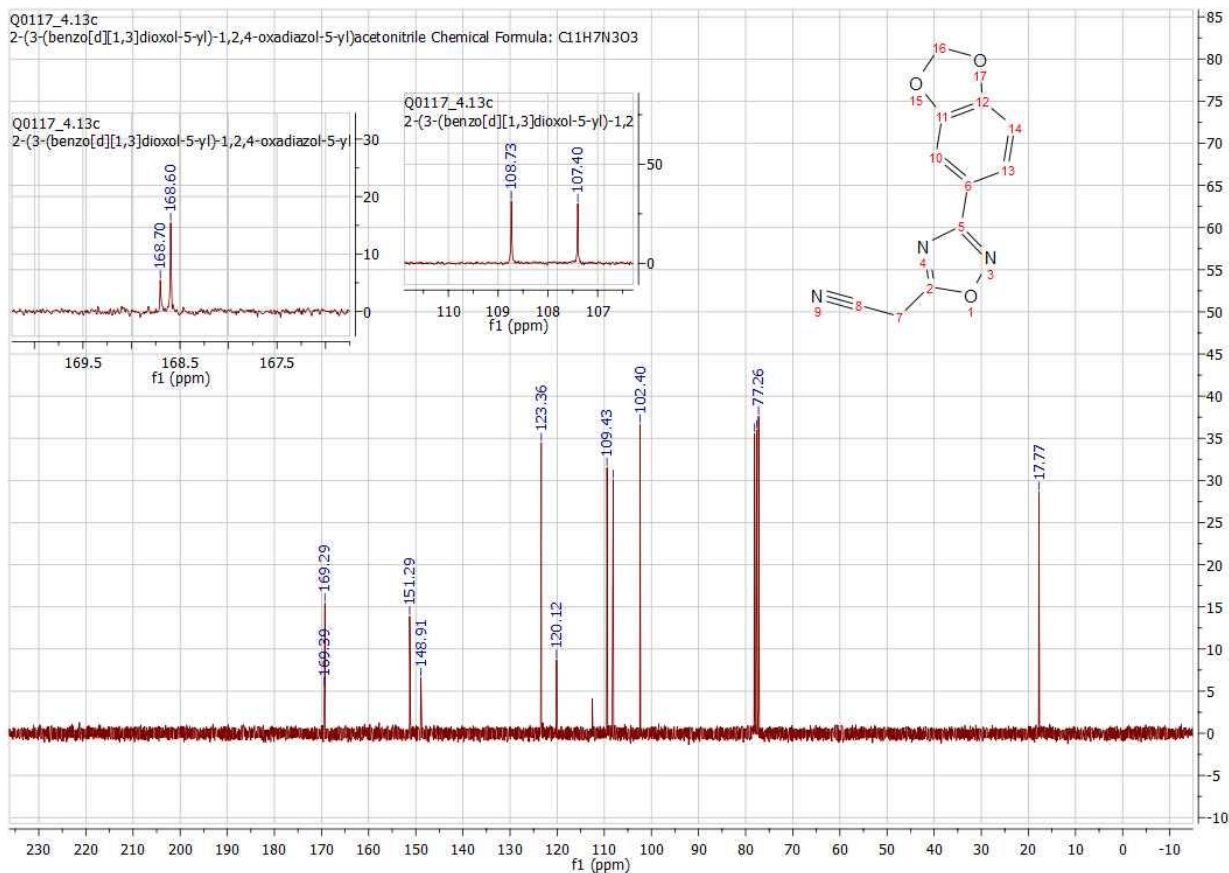
**Tabela 5:** Tempo reacional e rendimento da síntese do 1,2,4 oxadiazóis

Reação	Produtos	Rendimentos	Tempo
--------	----------	-------------	-------

			reacional
A	 20	25,16%	5 segundos
B	 21	84%	5 minutos
C	 22	45%	5 minutos e 30 segundos

O composto **20** apresentou um aspecto de sólido branco, com P.F >400 C° enquanto o seu espectro de RMN <sup>13</sup>C (Figura 17) revelou sinais em δ 101 ppm associado ao CH<sub>2</sub> do grupo metilenodioxo, sinal em δ 150 e 148 ppm de carbonos quaternários aromáticos ligados aos oxigênios, δ 107, 122 e 108 ppm referentes as metinas do aromático, em δ 119 ppm do carbono quaternário e δ 17,08 ppm ambos ligados ao heterocíclico, δ 168 e 168,7 ppm os carbonos do núcleo oxadiazol, em δ 119 ppm o carbono da nitrila.

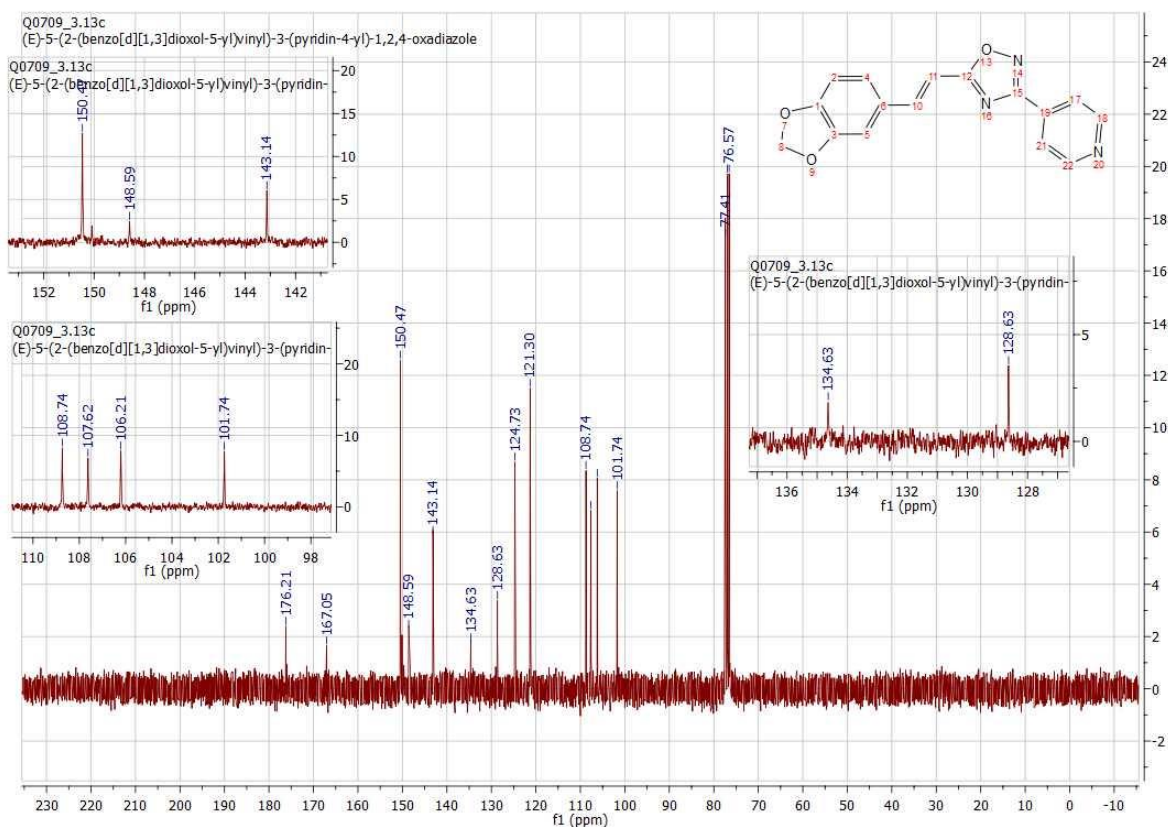
Figura 17: Espectro de RMN <sup>13</sup>C do composto 20.



No RMN <sup>1</sup>H observamos o simpleto  $\delta$  6,0 ppm do metileno do grupo 1,3 benzodioxolil, o simpleto  $\delta$  7,5 ppm e os dupletos  $\delta$  7,52 e  $\delta$  6,62 ppm do aromático e o simpleto  $\delta$  4,0 ppm do metileno entre o carbono da nitrila e o heterocíclico.

O composto **21** foi obtido como um sólido branco, pouco solúvel em acetato de etila e P.F 200 C°. A análise de RMN <sup>13</sup>C (Figura 18) revelou em  $\delta$  101,7 ppm o CH<sub>2</sub> do grupo metilenodioxil, em  $\delta$  148,3 e 143,4 ppm os carbonos quaternários aromáticos ligados aos oxigênios e em  $\delta$  128,62 ppm o carbono quaternário do ligado a cadeia insaturada,  $\delta$  107; 122 e 108 ppm referente as metinas do aromático, em  $\delta$  134,6 e 124,8 ppm picos dos carbonos sp<sup>2</sup> da cadeia, em 167 e  $\delta$  176,05 ppm os carbonos do núcleo oxadiazol, em  $\delta$  128ppm o carbono quaternário do anel piridínico e suas metinas em  $\delta$  121,3 ppm e 150,47ppm.

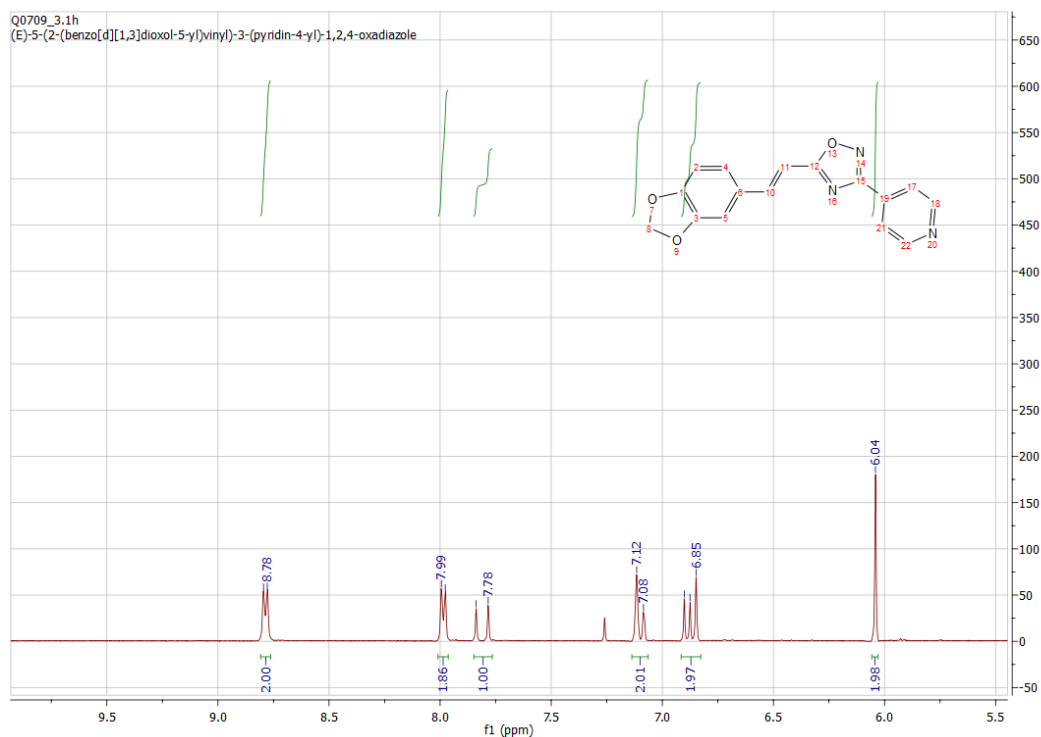
Figura 18: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 21.



No RMN  $^1\text{H}$  (Figura 19) observou-se o simpleto  $\delta$  6,07 ppm do metileno do metilenodioxil, os dois dupletos em  $\delta$  7,78 e  $\delta$  7,12 ppm e simpleto  $\delta$  7,26 ppm do aromático 1,3 benzodioxolil; os dois dupletos da insaturação da cadeia em  $\delta$  6,88 e  $\delta$  7,8 ppm; e os dois dupletos do anel piridínico referente a suas quatro metinas em  $\delta$  7,99 e  $\delta$  8,78 ppm.



**Figura 19:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do composto 21



Foi observado que o composto **21** possui propriedades luminescentes quando exposto a luz UV em 365 nm refletindo a luz azul como pode ser observado na figura 20.

**Figura 20:** Propriedade luminescente do composto 21.

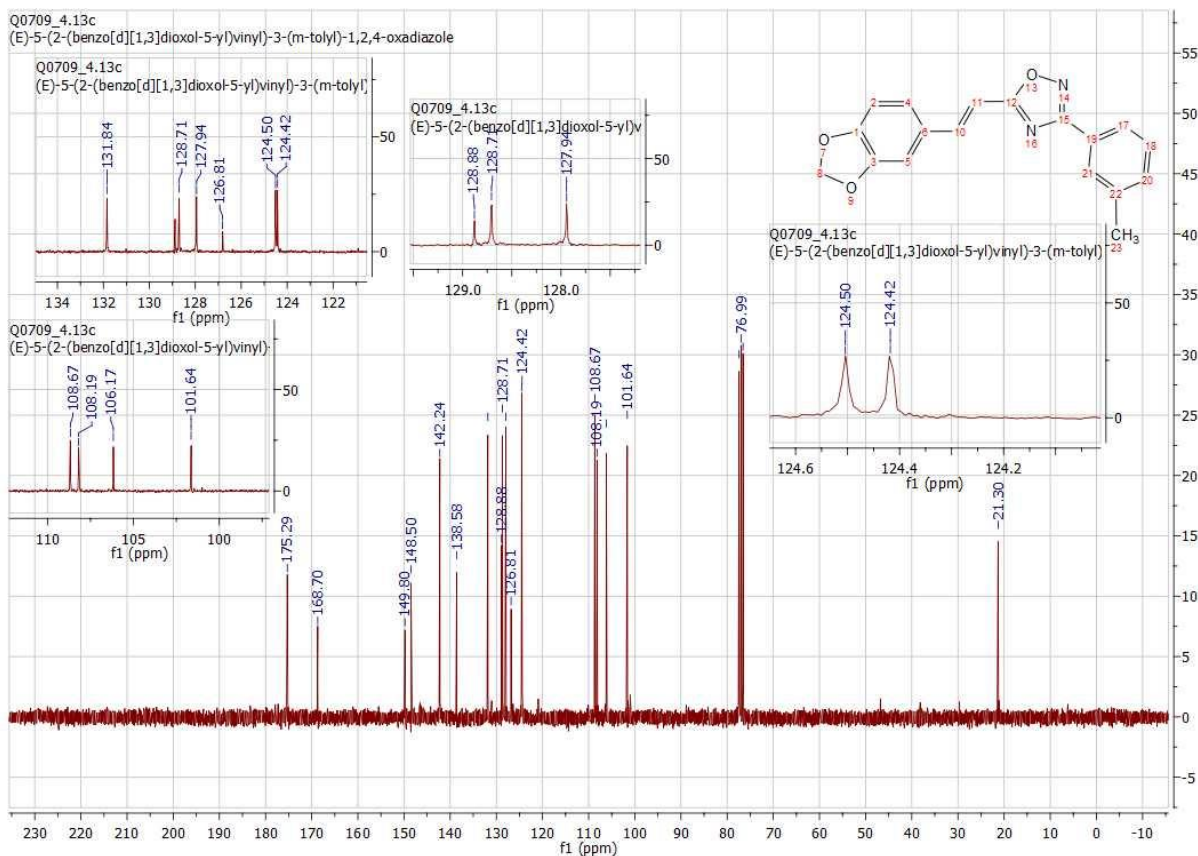


Essa propriedade é bastante conhecida do 1,3,4 oxadiazóis, porém pouco observada em 1,2,4 oxadiazóis (PACE e PIERRO,2009), tendo poucos registros dessa propriedade (BUSCEMI *et al*,2006 apud Taguchi; GALLARDO *et al* 2008), destes a maioria registrada na literatura é com metais ligantes (LIU *et al* 2015). Li e colaboradores em 2014, sintetizaram

1,3,4 oxadiazol com o anel 2-piridinico para utilização em identificação fluorescente de íons  $\text{Ag}^+$ , a possibilidade de complexação do composto **21** com íons metálicos com afinidade com a piridina pode ser uma alternativa para investigar a potencialidade tanto da fluorescência quanto de atividades biológicas.

O Composto **22**, um sólido branco, com P.F 135-136  $^{\circ}\text{C}$ . A análise do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 21) revelou em  $\delta$  101,64 ppm o  $\text{CH}_2$  do grupo metilenodioxil, o grupo 1,3 benzodioxolil é identificado pelos picos  $\delta$ 149 e  $\delta$ 148 ppm os carbonos quaternários ligados ao oxigênio do sendo em  $\delta$ 128,7 ppm o carbono quaternário do aromático ligado a cadeia insaturada e em  $\delta$ 108,67 ;  $\delta$  106 e  $\delta$  124,42 ppm as metilas desse grupo, os picos  $\delta$ 131,52 e  $\delta$  108 ppm atribuídos aos carbonos  $\text{sp}^2$  da insaturação da cadeia, em  $\delta$  168 e 175 ppm os carbonos do heterocíclico 1,2,4 oxadiazol, em  $\delta$  128,9 ppm o carbono quaternário do aromático meta substituído ligado ao heterocíclico e em  $\delta$  138 ppm o pico referente ao quaternário ligado a metila na posição meta, essa que é localizada no  $\delta$  21ppm e em  $\delta$ 131;  $\delta$ 127;  $\delta$ 124 ppm os picos referentes as metinas do anel aromático.

**Figura 21:** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do composto 22.



#### 4.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Os compostos 13, 14, 16, 20 e 21 foram testados contra bactérias gram positivas e negativas por determinação de suas respectivas CMI (Tabela 6).

**Tabela 6:** CMI dos compostos testados em µg/mL.

BACTÉRIAS/ COMPOSTOS	13	14	16	20	21
<i>S. aureus</i> (02)	1250µg/mL	312,5µg/mL	2500µg/mL	19,5µg/mL	19,5µg/mL
<i>B. subtilis</i> (86)	312,5µg/mL	625µg/mL	2500 µg/mL	625 µg/mL	2500 µg/mL
<i>E. coli</i> (224)	2500 µg/mL	625µg/mL	1250µg/mL	2500µg/mL	2500µg/mL
<i>K. pneumoniae</i> (396)	156,2µg/mL	312,5µg/mL	1250µg/mL	312,5µg/mL	19,5µg/mL
<i>E. faecalis</i> (138)	78,1µg/mL	312,5µg/mL	2500µg/mL	2500µg/mL	2500µg/mL

O composto **13**, a piperina, apresentou moderada atividade contra a *Bacillus Subtilis* e *Klebsiella pneumoniae*, e boa atividade frente *Enterococcus faecalis*. O composto **14**, o ácido piperínico, apresentou fraca atividade contra *Bacillus Subtilis* e *Escherichia coli* e moderada atividade para a *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, essas atividades podem ser melhoradas se complexado com íon metálicos como o  $zn^{+2}$  que potencializem essa atividade (ZIANA *et al*, 2013). O composto **16**, o éster 3,4 metilenodioxi

cinamato de etila, foi inativo nos testes de CMI para bactérias, porém há registro na literatura de atividade antifúngica (SHARMA et al., 2013). Os 1,2,4 oxadiazóis testados obtiveram ótimos resultados, inibindo o crescimento na menor concentração testada, a bactéria *Staphylococcus aureus*, o composto **20** mostrou atividade moderada com a *B. subtilis* e *K. pneumoniae*, o composto **21** apresentou forte atividade frente a *S. aureus*.

## 5.0 CONCLUSÃO

Este Trabalho relata a extração da piperina por micro-ondas método rápido, eficiente e barato. A hidrólise por refluxo da piperina para obtenção do ácido pipéridico com rendimentos moderados. A obtenção dos ésteres piperininato de etila e 3,4 metilenodioxo cinamato de etila com excelentes rendimentos. A obtenção das amidoximas **18a-f** com rendimentos 37%-98%.

A síntese dos 1,2,4 oxadiazóis se mostrou eficiente por micro-ondas com rendimentos moderados e bons 25%, o composto **22** apresentou forte atividade contra *S. aureus*, *B. subtilis* e *K. pneumoniae*, o **21** apresentou propriedade luminescente e uma forte atividade contra a bactérias *S. aureus* e *K. pneumoniae*,

## 6.0 REFERÊNCIAS

ATAL C. K.; DUBEY R. K.; SINGH J. *Biochemical basis of enhanced drug bioavailability by piperine: evidence that piperine is a potent inhibitor of drug metabolism. JPharmacolExpTher*, v. 232, p. 258–62, 1985.

BEZERRA, Natércia M. Miranda; DE OLIVEIRA, Shalom P.; SRIVASTAVA, Rajendra M.; *et al.* Synthesis of 3-aryl-5-decapentyl-1,2,4-oxadiazoles possessing antiinflammatory and antitumor properties. **II Farmaco**, v. 60, n. 11–12, p. 955–960, 2005.

CARBONE, M.; LI, Y.; IRACE, C.; MOLLO, E.; CASTELLUCCIO, F.; PASCALE, A. D.; CIMINO, G.; SANTAMARIA, R.; GUO, Y.; GAVAGNIN, M. *Structure and Cytotoxicity of Phidianidines A and B: First Finding of 1,2,4-oxadiazole System in a Marine Natural Product. Organic Letters*, v.13, n°10, p. 2516-2519, 2011.

CUNHA, F. S; DE AGUIAR, A. P.; *Síntese e bioatividade de 1,2,4-oxadiazóis. Revista virtual de química*, vol.7, n°6,2509-2530 ,2015

D'HOOGHE, R. *et al.* **Anticonvulsant activity of piperine on seizures induced by excitatory amino acid receptor agonists**. *Arzneim. Forsch./Drug Res.* 46 (6): 557-560, 1996.

FERREIRA *et al.* **Piperina e seus Análogos e derivados: Potencial como antiparasitários.** *Rev.Virtual Quim.*4(3),208-224,2012.

FERREIRA, W. S. *et al.* **Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como antiparasitários.** *Rev. Virtual Quim.*v. 4, p. 208-224, 2012.

FIGUEREDO, A. S.,**Planejamento, síntese e avaliação da atividade anticolinesterásica de análogos de piperina**, 2013, 169p, Dissertação (mestrado em ciências moleculares),Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.

FREITAS, J. J. R *et al.*,**1,2,4, oxadiazóis: síntese e aplicações.** *Revista virtual de química*, ,4,670,2012.

FREITAS, J. J. R.; FREITAS, C. R. F.; SILVA, L. P.; FREITAS FILHO, J. R.; KIMURA, G. Y. V.; SRIVASTAVA, R. M. *Microwave induced one-pot synthesis of 4[3-(aryl)-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-butan-2-ones under solvent free conditions. Tetrahedron Letters*, v. 48, p. 6195-6198, 2007.

GALLARDO, H. *et al.* Non-symmetrical luminescent 1,2,4-oxadiazole-based liquid crystals. **Liquid Crystals**, v. 35, n. 7, p. 857–863, 1 jul. 2008.

GANZLER, K; SALGÒ A.;VALKÒ K., Microwave extraction a nove sample preparation method for chromatography. **Journal of Chromatography**.371,299-306,1986.

GEDYE, R. *et al.* Use of Microwave ovens for rapid organic synthesis. **Tetrahedron Lett.**, 27, 279,1986.

GIGUERE, R. J *et al.* Application of comercial microwaveovens to organic sythesis. **Tetrahedron Lett.**1986, 27, 4945, 1986.

HAMMAD, A.; MUNUSAMY, S.; KHALIL, A. *Synthesis and Characterization of Novel Piperine Derivatives. p. 1, 2014.*

LI, H.-Y. et al. Syntheses, photoluminescence and electroluminescence of four heteroleptic iridium complexes with 2-(5-phenyl-1,3,4-oxadiazol-2-yl)-phenol derivatives as ancillary ligands. **J. Mater. Chem. C**, v. 2, n. 6, p. 1116–1124, 2014.

LIU, G. Q, *Et al.* **Stimulation of serotonin synthesis in rat-brain after antiepilepsirine, antiepileptic piperine derivative.** Biochem. Pharmacol. 33 (23): 3883-3886, 1984.

M. L. Parra, P. I. Hidalgo & E. Y. Elgueta (2008). Synthesis and mesomorphic properties of oxadiazole esters derived from (R)-2-octanol, (S)-2-*n*-octyloxypropanol and (2S,3S)-2-chloro-3-methylpentanol, Liquid Crystals, 35:7, 823-832, DOI: [10.1080/02678290802211114](https://doi.org/10.1080/02678290802211114)

M. Parra, P. Hidalgo, E. Carrasco, J. Barberá & L. Silvino (2006) New 1,2,4- and 1,3,4-oxadiazole materials: synthesis, and mesomorphic and luminescence properties, Liquid Crystals, 33:8, 875-882, DOI: 10.1080/02678290600871614

MONTANARI C. A., *Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais.* Quím. Nova vol.24 no.1 São Paulo Jan./Feb. 2001

NEWMAN D. J.; CRAGG G. M., *Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014.*J.Nat. Prod. 79, 629–661,2016.

PACE, A.; PIERRO, P. The new era of 1,2,4-oxadiazoles. **Organic e Biomolecular Chemistry**. v. 7, p. 4337-4348. 2009.

REGUEIRA, J. L. L. F.; FREITAS, J. J. R. DE; FREITAS FILHO, J. R. DE. PREPARATION OF 1,2,4-OXADIAZOLES: TEACHING-LEARNING SEQUENCE APPLIED TO THE COURSE ON ORGANIC SYNTHESIS IN UNDERGRADUATE STUDIES. **Química Nova**, 2016.

ROSA, M.F.; MORCELLI, A. C. T.; LOBO,V. S. **1,2,4 oxadiazole: a brief review from the literature about the synthesis and pharmacological applications**, visão acadêmica, Curitiba,vol 16, nº2,2015

SANSEVERINO, A. M. **Microondas em síntese orgânica.** Quim. Nova, Vol. 25, No. 4, 660-667, 2002.

SHARMA, U. K. et al. Synthesis and SAR investigation of natural phenylpropene-derived methoxylated cinnamaldehydes and their novel Schiff bases as potent antimicrobial and antioxidant agents. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, n. 11, p. 5129–5140, nov. 2013.

SOARES, B. A. **Síntese e avaliação de atividade tripanocida de novos heterociclos da classe dos 1,2,4-oxadiazóis, derivados e análogos da amida natural piperina.** 2009. 183 f. dissertação (Mestre em Ciências em Química). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica.

TAKAO, K.; MIYASHIRO, T.; SUGITA, Y. Synthesis and Biological Evaluation of Piperic Acid Amides as Free Radical Scavengers and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors. **CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN**, v. 63, n. 5, p. 326–333, 2015.

TIEMANN, F.; KRÜGER, P. **Ueber Amidoxime und Azoxime**, *Ber.*, 17, 1685-1698, 1884.

VASAVIRAMA, K. et al. **Piperine a valuable alkaloid from piper species**. *Int J Pharm PharmSci*, v. 6, n. 4, p. 34-38, 2014

VENKATASAMY, R. et al; **effects of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation**; *Bioorganic & Medicinal Chemistry* V12(8), P1905-1920; 2004.

VUJASINOVIĆ, Ines; PARAVIĆ-RADIČEVIĆ, Andrea; MLINARIĆ-MAJERSKI, Kata; et al. Synthesis and biological validation of novel pyrazole derivatives with anticancer activity guided by 3D-QSAR analysis. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 6, p. 2101–2110, 2012.

WATTANATHORN J. et al. **Piperine, the potential functional food for mood and cognitive disorders**. *Food Chem Technol*, v. 46, p. 3106–3110, 2008

XU, Jinyou; WEI, Lan; MATHVINK, Robert; et al. Discovery of potent and selective phenylalanine based dipeptidyl peptidase IV inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 10, p. 2533–2536, 2005.

YOSHIHISA, O et al ; **Fipronil-Related Heterocyclic Compounds: Structure–Activity Relationships for Interaction with  $\gamma$ -Aminobutyric Acid- and Voltage-Gated Ion Channels and Insecticidal Action Pestic**. *Biochem. Physiol.* vol. 66, pp. 92–104, 2000.

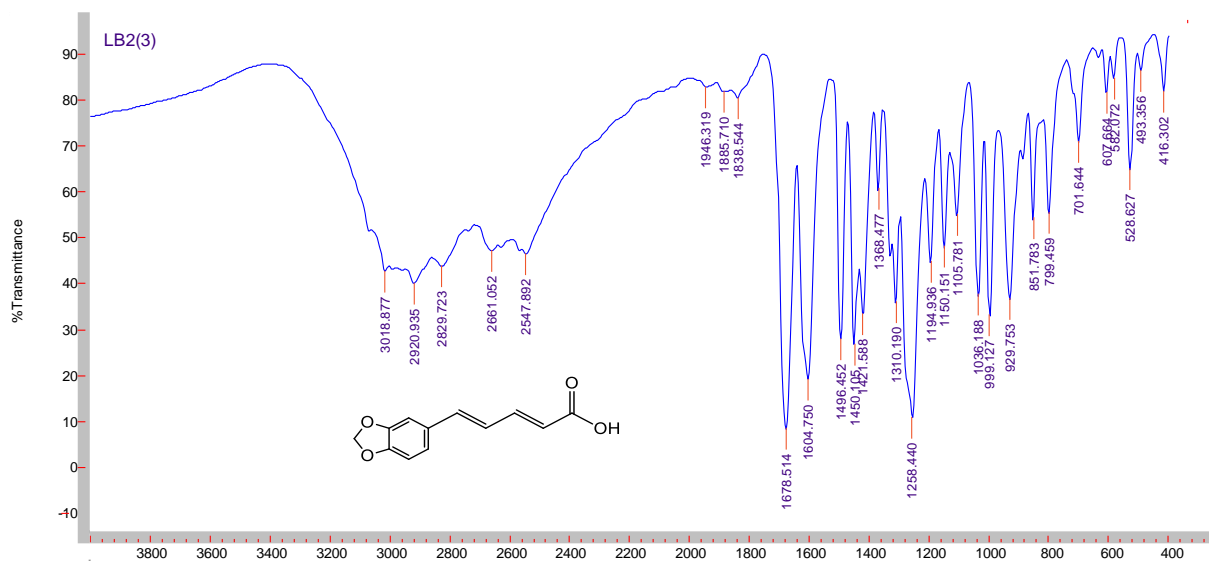
ZACHARIAH, T. J.; PARTHASARATHY, V. A. **Em Chemistry of Spices**; Parthasarathy, V. A.; Chempakam, B.; Zachariah, T.J., eds; CAB International: Oxfordshire, cap. 2, 2008.

ZIANNA, A. et al. Zinc complexes of salicylaldehydes: Synthesis, characterization and DNA-binding properties. **Journal of Inorganic Biochemistry** 127,116–126,2013.

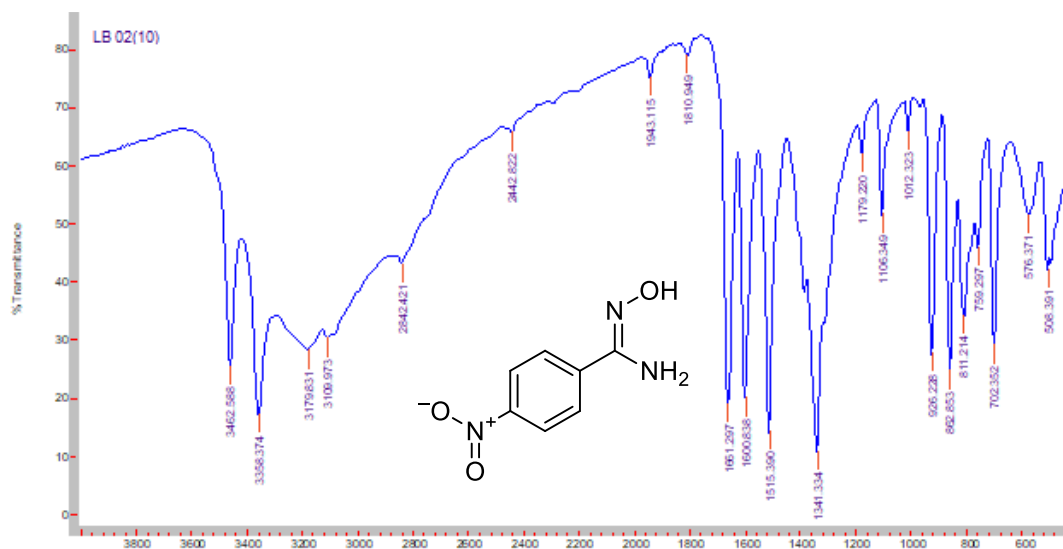
ZLOTORZYNSKI, A., The Application of Microwave Radiation to Analytical and Environmental Chemistry. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, 25(1):43-76 .1995

## ANEXOS/APÊNDICES

**Figura 18:** Espectro de IV do ácido (2E,4E)-5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)penta-2,4-dienoico

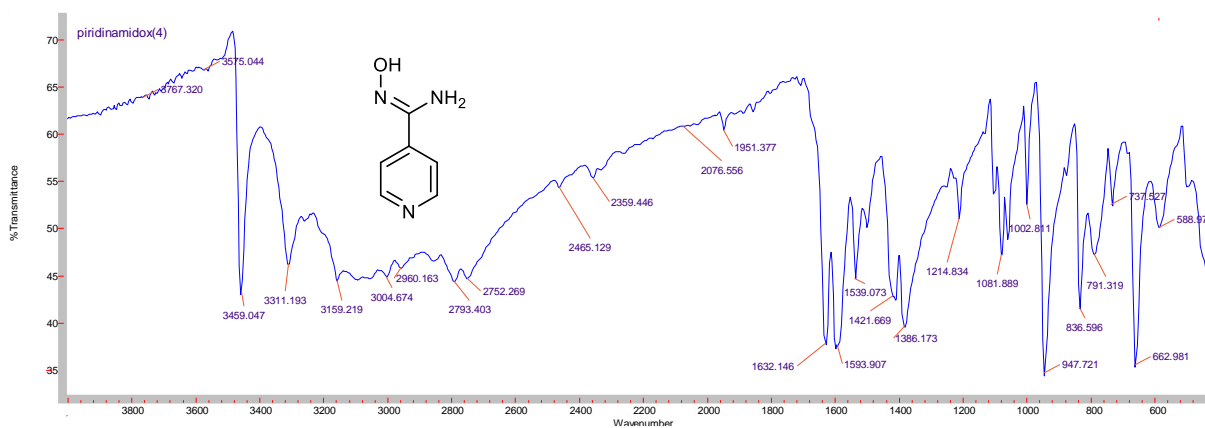


**Figura 19:** Espectro de IV do *N*'-hydroxy-4-nitrobenzene-1-carboximidamide (*p*-nitroarilamidoxima.)

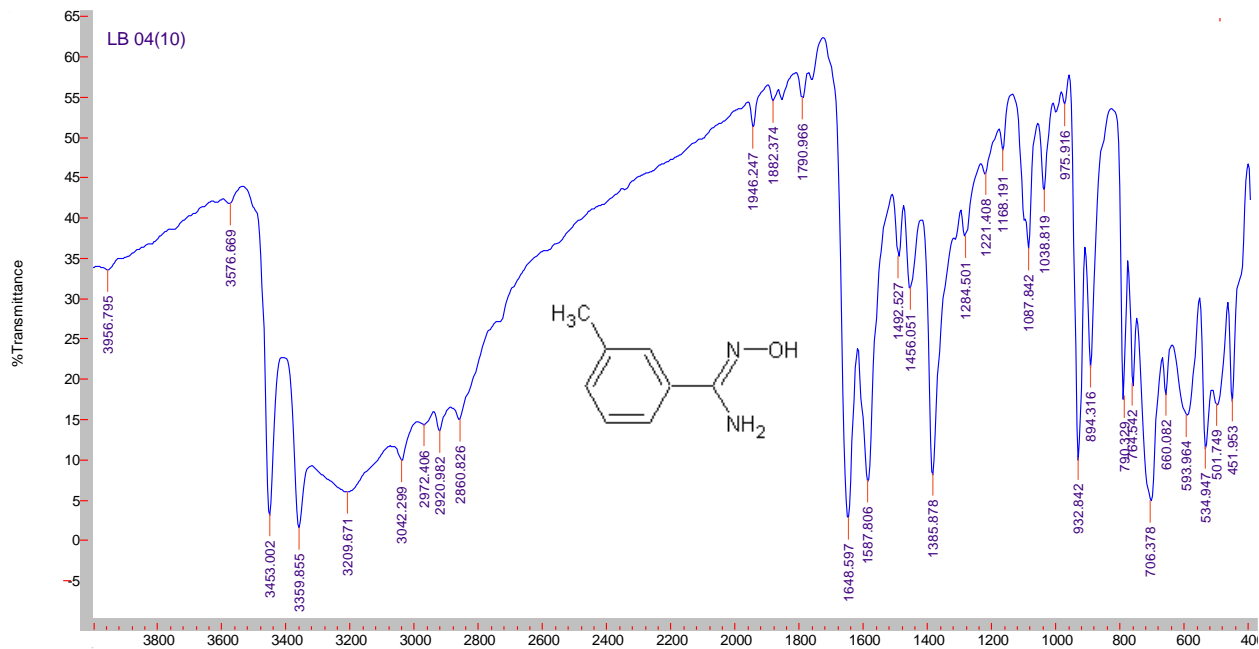




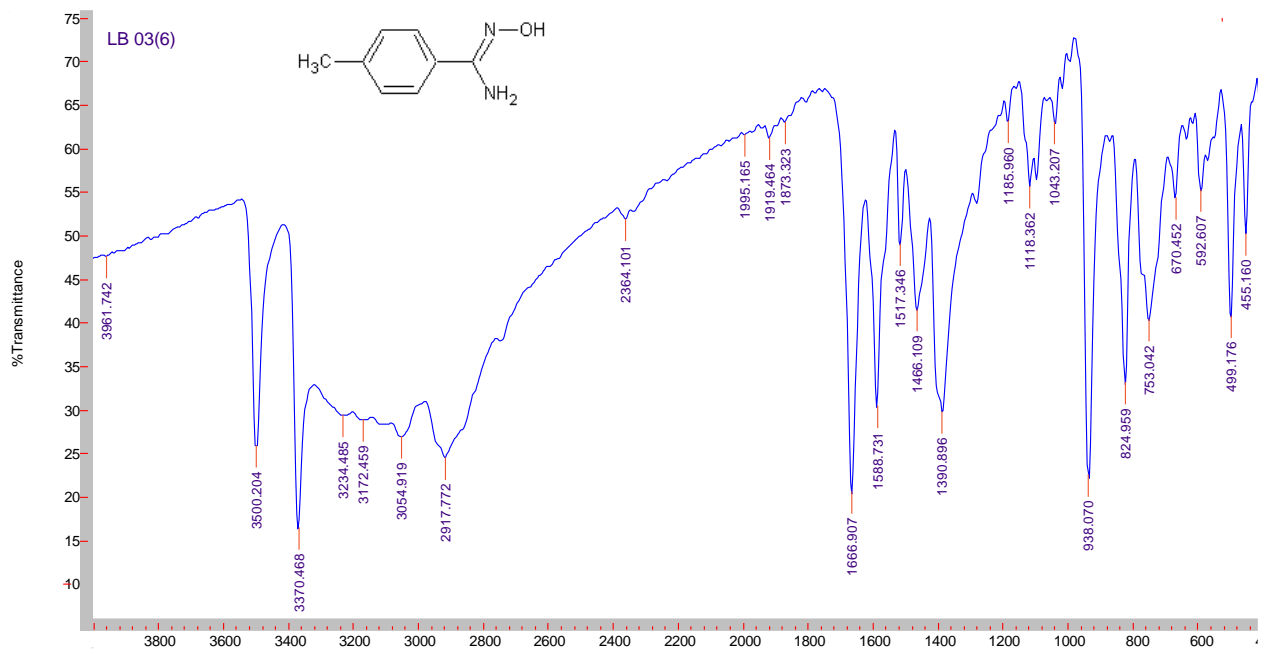
**Figura 20:** Espectro de IV do (Z)-N'-hydroxyisonicotinimidamide.(4-Piridineamidoxima)



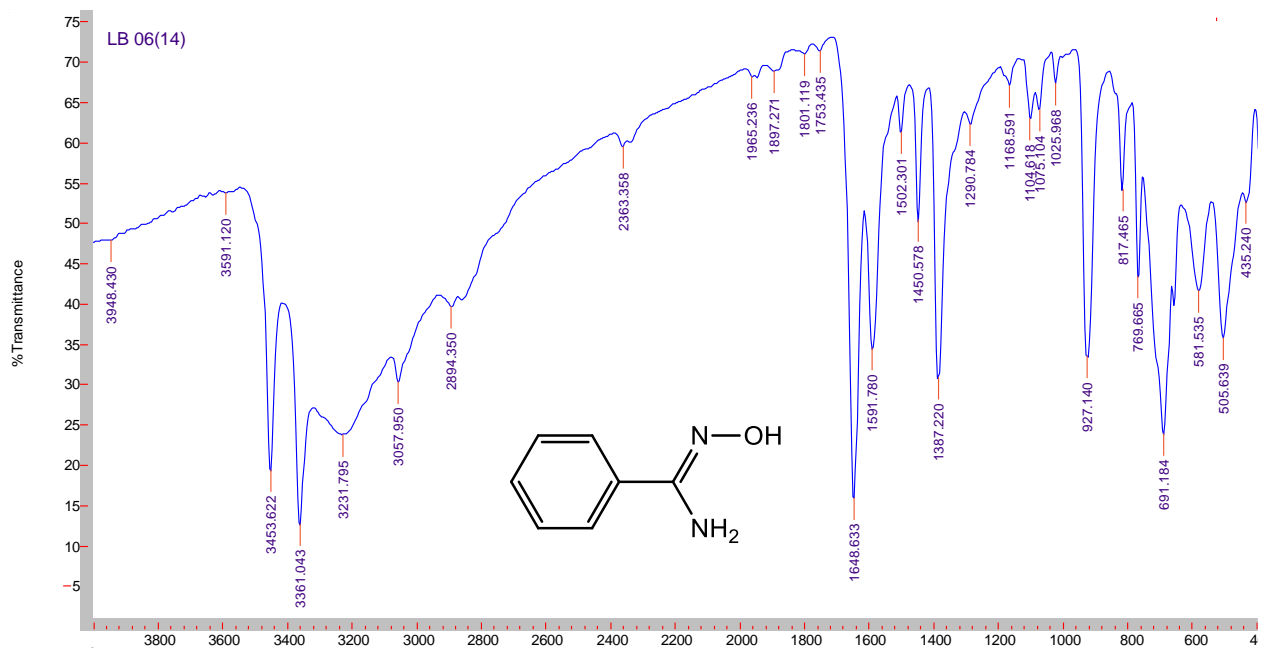
**Figura 21:** Espectro de IV do N'-hydroxy-3-methylbenzene-1-carboximidamide (*m*-toluilarilamidoxima).



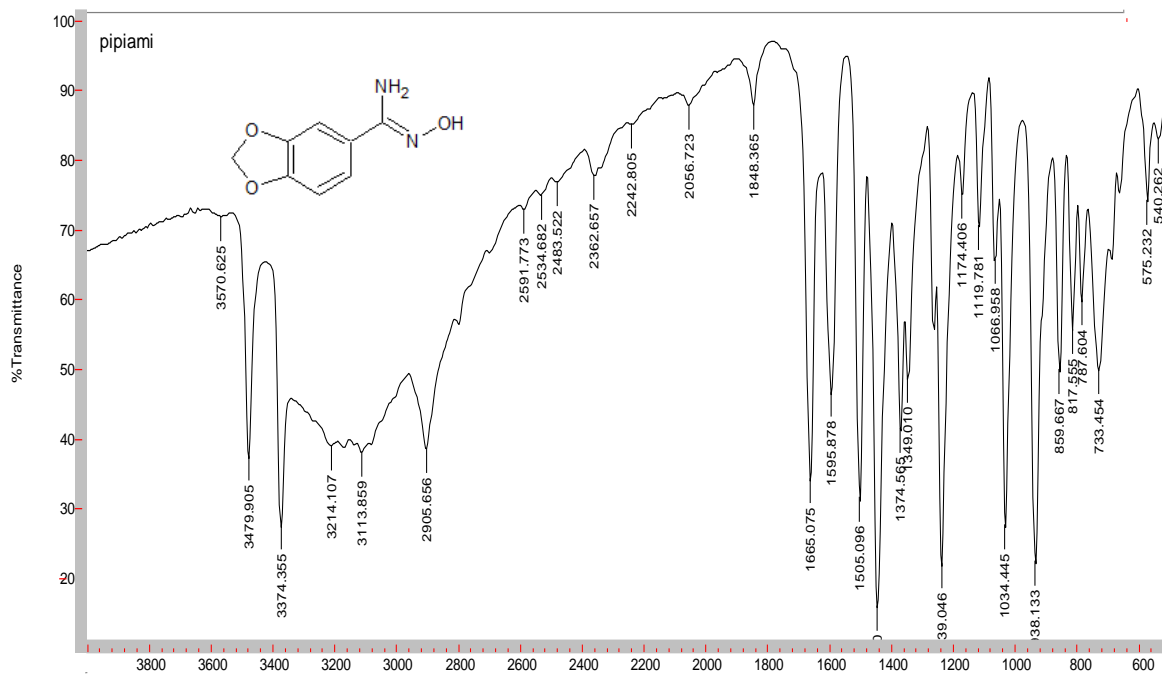
**Figura 22:** espectro de IV do N'-hydroxy-4-methylbenzene-1-carboximidamida (*p*-toluilarilmaidoxima)



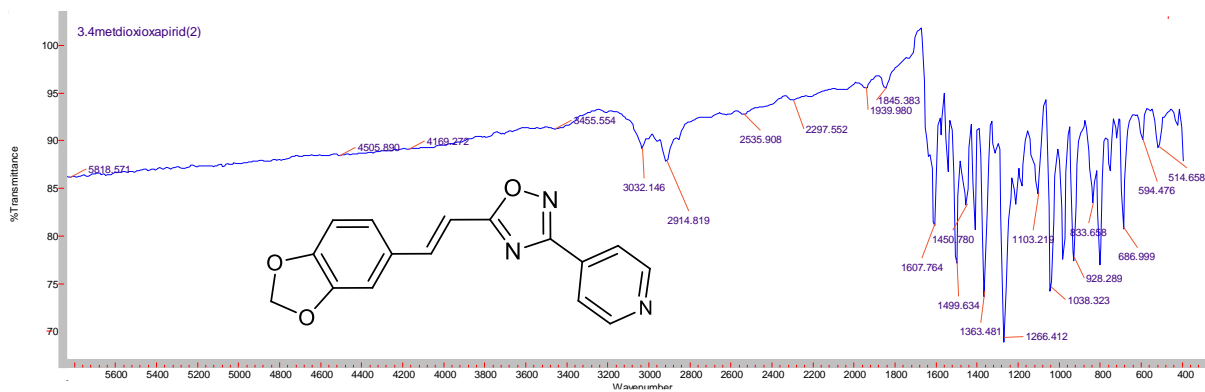
**Figura 23:** espectro de IV do *N*-hidroxibenzenocarboximidamida (Benzoamidoxima)



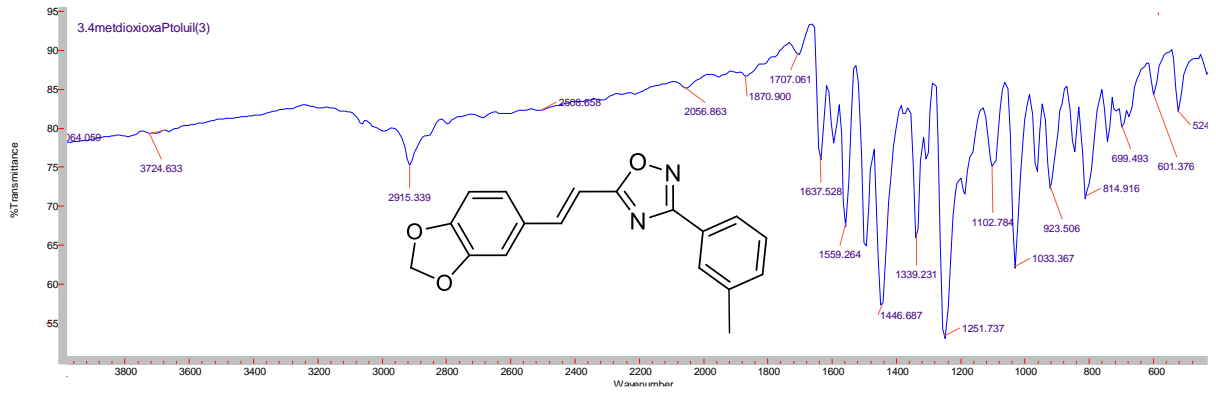
**Figura 24:** espectro de IV da *N*'-hidroxi-2*H*-1,3-benzodioxol-5-carboximidamida (piperonilamidoxima)



**Figura 25:** espectro de IV da (E)-5-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)vinil)-3-(piridin-4-il)-1,2,4-oxadiazol



**Figura 26:** espectro de IV da (E)-5-(2-(benzo[d][1,3] dioxol-5-yl)vinil)-3-(m-toluil)-1,2,4-oxadiazol



**Figura 30:** Espectro de RMN <sup>1</sup>H do (E)-5-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)vinil)-3-(m-toluil)-1,2,4-oxadiazol

