

Preparação de derivados semi-sintéticos a partir de dilapiol

Karla Lagos NOGUEIRA¹; Ana Cristina da Silva PINTO²; Adrian Martin POHLIT³; Warderli Pedro TADEI⁴; Francisco Célio Maia CHAVES⁵.

¹Bolsista PIBIC INPA/FAPEAM; ²Co-orientadora UFAM/PPGBiotec; ³Orientador INPA/CPN; ⁴Pesquisador INPA/CPCS; ⁵Pesquisador EMBRAPA/CPAA.

A espécie *Piper aduncum* tem sido muito estudada devido a inúmeras atividades biológicas (Morandim *et al.*, 2006). O óleo de *P. aduncum* produz dilapiol como princípio ativo majoritário (Maia, 1998), uma substância não tóxica, sinérgica com piretróides e com propriedades inseticidas (Maia *et al.*, 1998). O dilapiol (**1**) e seus derivados semi-sintéticos já conhecidos na literatura foram ativos contra algumas espécies de insetos como, por exemplo, o besouro de farinha, *Tribolium castaneum* e de mosquitos, como *Aedes atropalpus* (Tomar *et al.*, 1979). Desta forma, o presente projeto visou a semi-síntese e avaliação em laboratório de derivados com potencial avaliação geral da toxicidade em *Artemia franciscana* e inseticida no vetor local *Aedes aegypti*, vetor do vírus que causa dengue hemorrágica na região. Dentre os derivados sintetizados a partir de **1**, temos o isodilapiol (**2**), o dihidróxi dilapiol **3** e o dibromo dilapiol **4** e a partir do derivado **3** foram sintetizados os derivados monobenzoil-oxi dilapiol **5**, monobenzil-oxi dilapiol **6**, carbonil-dioxi dilapiol **7**, diacetil-oxi dialpiol **8**, 2",2"-dimetilmetilenodioxo dilapiol **9** e aldeído dilapiol **10** (Figura 1). O derivado **2** foi preparado a partir de **1** (2,25 mmol) em solução de KOH 17 % em etanol (20 mL) sob agitação e refluxo por 24 h. A solução foi extraída com EtOH e H₂O e após purificação por CC obteve-se derivado isômero (403,6 mg, 80,6 %, 1,8 mmol). O derivado **3** foi preparado a partir de **1** em KMnO₄ (160 mL) e acetona (180 mL) sob agitação por 24 h em temperatura ambiente. A solução foi filtrada e extraída com CH₂Cl₂ e seca com Na₂SO₄. Após purificação por CC obteve-se o derivado oxidado (1514,0 mg; 63 %; 5,9 mmol). O derivado **4** foi preparado a partir de **1** (0,2 mmol) em CH₂Cl₂ (25 µL) com 1 eq-g de Br₂ (12,5 µL) sob agitação por 24 h em t.a. A solução foi extraída com CH₂Cl₂ e após a purificação por CC obteve-se o derivado bromado (13,5 mg; 15,6 %; 3,5x10⁻² mmol). O derivado **5** foi preparado a partir de **3** (0,4 mmol) em piridina (2 mL) e cloreto de benzoila (187,5 µL) sob agitação por 139 h. A solução foi extraída com CH₂Cl₂, lavada com HCl 0,1 N, NaHCO₃ saturado, NaCl saturado, H₂O e seca com MgSO₄. Após purificação por CC obteve-se uma mistura de monobenzoilados com 54,7 mg; 32 %; 0,1 mmol. O derivado **6** foi preparado a partir de **3** (0,4 mmol) e K₂CO₃ (64,9 mg) em DMF (500 µL), e 4 eq-g de brometo de benzila (225 µL) sob agitação por 7 dias a t.a. A solução foi extraída com CH₂Cl₂, lavada com H₂O e solução saturada de NaCl, seca com MgSO₄ e após purificação por CC obteve-se uma mistura de monobenzilados com 2,9 mg; 2,1 %; 8,4x10⁻³ mmol. O derivado **7** foi preparado a partir de **3** (0,4 mmol) e trisfogênio (58,1 mg) em CH₂Cl₂ (2,5 mL) e trietilamina (337,5 µL) sob agitação, ambiente nitrogenado e em banho de gelo por sete dias a t.a. A solução foi extraída CH₂Cl₂, seguida de lavagem com HCl 0,1 N, NaHCO₃ saturado, NaCl saturado, H₂O e seca com MgSO₄. Após purificação por CC obteve-se o derivado carbonilado **7** (43,3 mg; 39,2 %; 0,1 mmol). O derivado **8** foi preparado a partir de **3** (0,4 mmol) em piridina (0,5 mL) e 4 eq-g de anidrido acético (150 µL) sob agitação, ambiente nitrogenado a temperatura ambiente por 5 dias. A solução foi extraída com CH₂Cl₂, lavada com HCl 0,1 N, NaHCO₃ saturado, NaCl saturado, H₂O e seca com MgSO₄. Após purificação por CC obteve-se o derivado acetilado **8** (84,3 mg; 58,3 %; 0,2 mmol). O derivado **9** foi preparado a partir de **3** (0,4 mmol) e 1 eq-g de ácido p-tolueno-sulfônico (74 mg) em 4 eq-g de 2,2-dimetoxipropano (200 µL) sob agitação, ambiente nitrogenado por 5 dias a temperatura ambiente. A solução foi extraída com CH₂Cl₂, lavada com NaHCO₃ 5% e H₂O. Após purificação por CC obteve-se o derivado **9** (109,5 mg; 94,7 %; 0,4 mmol). O derivado **10** foi preparado a partir de **2** (0,5 mmol) em acetona (11,4 mL) e KMnO₄ (144,8 mg) em H₂O (12 mL). A solução foi filtrada e extraída com CHCl₃ e éter etílico. Após a purificação por CC obteve-se o derivado **10** (61,9 mg; 65,4 %; 0,3 mmol). Os derivados semi-sintéticos isolados (Figura 1) foram submetidos à espectroscopia de RMN ¹³C e terem sua identidades elucidadas foram submetidos aos testes biológicos. Os testes biológicos foram realizados com a avaliação dos derivados frente a larvas de *Artemia franciscana*. Para isso, os ovos foram incubados em placas de Petri em solução salina por 48 h. Logo após, grupos de 10 larvas foram transferidos para poços de microplacas com V_f de 1 mL. O *screening* foi realizado em triplicata na C= 100 µg/mL após 24 h de incubação. A avaliação da concentração letal mediana (CL₅₀) é determinada em várias diluições em triplicata. Os valores de mortalidade obtidos são convertidos em

valores Probit e plotados contra o log das concentrações. Após análise de regressão linear, o valor de CL_{50} é obtido por interpolação gráfica. O procedimento análogo foi realizado com larvas do 3º estágio de *A. aegypti* e os resultados estão resumidos na tabela.

Dentre os derivados sintetizados, o E-isodilapiol (**2**) foi o mais ativo, em relação aos demais provenientes da mesma substância de partida (**1**) sendo mais letal para larvas de *A. franciscana* que o dilapiol e possuindo letalidade comparável ao dilapiol em *A. aegypti*.

Tabela- Atividade biológica do dilapiol e seus derivados semi-sintéticos.

Composto	Rendimento (%)	<i>A. franciscana</i> * (%)	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	<i>A. aegypti</i> # (%)	CL_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
1	85,3	100	36,7	100	79,8
2	80,6	100	5,5	100	106,1
3	63,0	0	-	0	-
4	15,6	97	52,1	100	-
5	32,0	47	269,3	0	-
6	2,1	63	-	-	-
7	39,2	3	-	3	-
8	58,3	10	-	0	-
9	94,7	-	-	-	-
10	65,4	-	-	-	-

* C = 200 $\mu\text{g/mL}$; #C = 100 $\mu\text{g/mL}$; - não determinado.

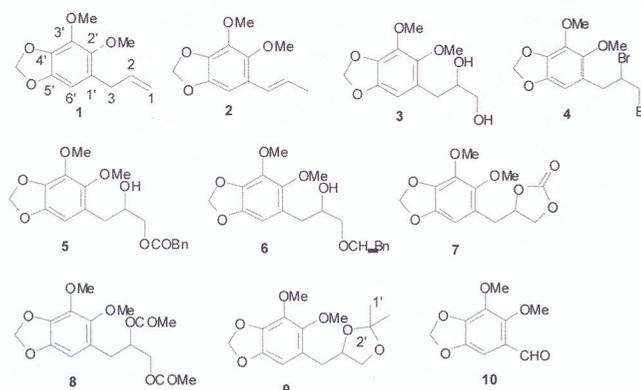


Figura 1 - Derivados sintetizados a partir de dilapiol e dihidróxi dilapiol.

Palavras-chave: *Aedes aegypti*; *P. aduncum*; larvicida; citotoxicidade.

Bibliografias Citadas:

Maia, J.G.S. *et al.*, 1998. Constituents of the oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. *Flavour and Fragrance Journal*, 13:269-272.

Morandim, A. A. de. *et al.*, 2006. Purificação parcial de preniltransferases de *Piper aduncum* L. (Piperaceae). 29º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química.

Tomar, S.S., Maheshwari M.L., Mukerjee, S.K., 1979. Syntheses and synergistic activity of some pyrethrum synergists from dillapiole. *Agricultural and Biological Chemistry*, 43:1479-1483.