

MAURO LONGUE FILHO

SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA
DE DERIVADOS DA PIPERAZINA

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do curso de Agroquímica,
para obtenção do título de “Magister
Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
AGOSTO - 1998

A Deus.

Aos meus pais Mauro e Therezinha.

Às minhas irmãs Cecília e Marina.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química, pela oportunidade de realização deste trabalho de pesquisa.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e International Fundation for Science (IFS), pelo auxílio financeiro.

Ao Professor Antônio Jacinto Demuner, por sua orientação competente, pela dedicação, amizade e atenção durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Luiz C. A. Barbosa, pela amizade e por sua brilhante colaboração na realização deste trabalho.

Às Professoras Célia Regina e Mayura, pela amizade e pelas sugestões que contribuíram para a melhoria deste trabalho.

À Professora Maria Amelia, pela disposição, pela valiosa colaboração na realização dos ensaios biológicos e pelas sugestões.

À Geyse, pelo carinho, pelo amor, pela paciência e pelo estímulo constante.

Ao Estudante de Iniciação Científica Leandro Coelho Dalvi, pela amizade e fundamental colaboração prestada na realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA), em especial a Adilson, Fernando Barcelos, Larissa, Jeferson, Vanderlúcia, Maria Lúcia, Remilson, Carlos, Vagner, Leonardo, Flávia, Bárbara, Pedro, Vanessa, Alessandra, Almir, Patrícia e Géssy, pela amizade e convivência agradável.

Aos técnicos do LASA, Sr. Antônio e Ricardo, pela atenção, amizade e disponibilidade.

À secretária da Pós-Graduação Solange Starling, pela dedicação e pelo auxílio.

A todos os meus amigos do Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa, em especial a Ana Maria, Cherrine, Luciana e Nilva.

A toda a minha família, que sempre me deu força nesta jornada.

Finalmente, a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

MAURO LONGUE FILHO, filho de Mauro Longue e Maria Therezinha Costa Longue, nasceu em Cachoeiro de Itapemirim, Espírito Santo, em 18 de setembro de 1974.

Em 1992, ingressou na Universidade Federal de Viçosa (UFV), onde, em dezembro de 1995, recebeu o título de Bacharel em Química.

Em março de 1996, iniciou os estudos no curso de Mestrado em Agroquímica, área de concentração em Química de Produtos Naturais e Síntese de Agroquímicos, na Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	ix
EXTRATO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 1	
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS DERIVADOS DA PIPERAZINA.....	3
1. INTRODUÇÃO.....	3
1.1. Os nematóides.....	4
1.2. Controle biológico.....	8
1.3. Controle químico.....	11
1.4. A piperazina e análogos.....	13
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
2.1 Generalidades metodológicas.....	18
2.2. Reação de formação do composto 1,4-dietanoilpiperazina [19].....	20

	Página
2.3. Reação de formação do cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoi)l)piperazina [20].....	21
2.4. Reação de formação do composto 1,4-dibenzoilpiperazina [21].....	22
2.5. Formação do éster octadecanoato de 4-clorobutila [22].....	23
2.6. Tentativa de produção do composto 1,4-bis-(trifluoroetanoil)piperazina [24].....	28
2.7. Reação de formação dos compostos 1-(metoxicarbonil)piperazina [30] e 1,4-bis-(metoxicarbonil)piperazina [31].....	29
2.8. Tentativa de reação entre o cloreto de etanoíla e 1-(metoxicarbonil)piperazina [30].....	30
2.9. Tentativa de formação do composto 1-(3,5-dinitrobenzoi)l)piperazina [33].....	33
2.10. Reação entre o 1-(metoxicarbonil)piperazina [30] e o cloreto de benzoíla.....	34
2.11. Tentativa de formação do composto 1-octanoilpiperazina [35].....	36
2.12. Tentativa de formação do composto 1-oleilpiperazina [36].....	37
2.13. Preparação do composto 1-(3,5-dinitrobenzoi)l)-4-metilpiperazina [37].....	38
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
3.1. Preparo do 1,4-dietanoilpiperazina [19].....	41
3.2. Preparo do cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoi)l)piperazina [20].....	49
3.3. Preparo do 1,4-dibenzoilpiperazina [21].....	52
3.4. Tentativa de preparo do composto 1,4-bis(trifluoroetanoil)-piperazina.....	53
3.5. Preparo dos compostos 1-(metoxicarbonil)piperazina [30] e 1,4-bis-(metoxicarbonil)piperazina [31] e posteriores reações de [30] com cloretos de ácido.....	56

	Página
3.6. Reação de formação do composto 1-metil-4-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [37].....	60
3.7. Tentativa de reação dos compostos derivados de ácidos carboxílicos com a piperazina.....	63
4. CONCLUSÕES.....	71
CAPÍTULO 2	
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA DE AMIDAS E ÉSTERES.....	72
1. INTRODUÇÃO.....	72
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	74
2.1. Obtenção de juvenis do 2º estágio dos nematóides estudados.....	74
2.2. Ensaio biológico.....	75
2.3. Atividade nematicida.....	76
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
4. CONCLUSÕES.....	85
RESUMO E CONCLUSÕES.....	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88

LISTA DE ABREVIATURAS

Ar	grupo aril
CCD	cromatografia em camada delgada
DCM	diclorometano
DMSO	dimetilsulfóxido
DMSO-d6	dimetilsulfóxido deuterado
d	duplete
Hz	Hertz
IV	infravermelho
J	constante de acoplamento em Hertz
MM	massa molar
MHz	Megahertz
m	multiplete
m/z	razão entre a massa do fragmento e sua carga elétrica
PENDANT	polarization enhancement nurtured during attached nucleus testing
Ph	grupo fenila
Rf	fator de retenção
RMN de ^{13}C	ressonância magnética nuclear de carbono 13

RMN de ^1H	ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	simpleto
sl	simpleto largo
t	tripeto
Tf	temperatura de fusão
THF	tetraidrofurano
UV	ultravioleta
δ	deslocamento químico

EXTRATO

LONGUE FILHO, Mauro, M.S., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 1998. **Síntese e avaliação da atividade nematicida de derivados da piperazina.** Orientador: Antônio Jacinto Demuner. Conselheiros: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Maria Amelia dos Santos.

A busca de soluções para o controle de fitonematóides é um trabalho constante conduzido pela pesquisa química. No presente estudo foram sintetizadas as amidas 1,4-dietanoilpiperazina [19, 89,2%], cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [20, 67,1%], 1,4-dibenzoilpiperazina [21, 52%], 1-(metoxycarbonil)piperazina [30, 46%], 1,4-bis(metoxycarbonil)piperazina [31, 24%], 1-benzoil-4-(metoxycarbonil)piperazina [34 a, 59,1%], 1-(3,5-dinitrobenzoil)-4-metilpiperazina [37, 58%], além do trifluoroacetato de piperazina [19]. As amidas dissustituídas foram preparadas a partir de reações diretas entre a piperazina e os cloretos de acila, utilizando-se THF anidro como solvente. Para a síntese dos compostos monossustituídos, a piperazina teve, primeiramente, um dos seus grupos NH protegidos através de reação com o cloroformato de metila. Após a produção da amida em reação com o cloreto de ácido, o produto foi desprotegido através de hidrólise ácida. Uma vez que alguns cloretos de acila não se encontravam disponíveis, a sua síntese foi realizada reagindo-se o correspondente ácido carboxílico com cloreto de tionila. Todavia,

uma vez formados os cloretos de acila, estes sofreram reação com o THF, produzindo-se os ésteres octadecanoato de 4-clorobutila [22, 38%], oleato de 4-clorobutila [23, 39,6%], octanoato de 4-clorobutila [25, 77,9%], cinamoato de 4-clorobutila [27, 67,1%] e hexadecanoato de 4-clorobutila [38, 41,7%]. A avaliação da atividade nematicida desses produtos, da metilpiperazina, fenilpiperazina e dos ácidos octanóico, esteárico, cinâmico, gálico, oleico e propanóico foi feita em ensaios, sob condições de laboratório, com os fitonematóides *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita* raça 3, utilizando-se uma dose fixa de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do composto sintetizado. Nesses bioensaios, os índices de mortalidade variaram de 0 a 71% para o fitonematóide *Meloidogyne incognita* e de 7 a 58% para o *Heterodera glycines*. Em vista desses resultados, torna-se necessária a realização de novos ensaios, com outras concentrações e outros fitonematóides, testando-se outras formulações e doses, a fim de se obter conclusão definitiva sobre o potencial nematicida dos novos compostos analisados.

ABSTRACT

LONGUE FILHO, Mauro, M.S., Universidade Federal de Viçosa, August 1998.
Synthesis and evaluation of nematocidal activity of piperazine derivatives.
Adviser: Antônio Jacinto Demuner. Committee members: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa and Maria Amelia dos Santos.

Finding solution to control phyto-nematodes is an endless job. The following amides were synthesised: 1,4-diethanoylpiperazine [19, 89,2%], chloride 1,4-bis(3,5-dinitrobenzoyl)piperazine [20, 67,1%], 1,4-dibenzoylpiperazine [21, 52%], 1-(methoxycarbonyl)piperazine [30, 46%], 1,4-bis(methoxycarbonyl)piperazine [31, 24%], 1-(3,5-dinitrobenzoyl)-4-methylpiperazine [37, 58%], and trifluoroacetate piperazine [19]. The disubstituted amides were prepared from direct reactions between piperazines and acyl chloride in anhydrous THF. In order to synthesise the monosubstituted compounds, piperazine had one of its NH groups protected through a reaction with methyl chloroformate. The amides were obtained after reaction with acid chloride and hydrolysis. As some of the acyl chlorides were not available they were synthesised by reaction of correspondent carboxylic acid with thionyl chloride. In reaction with THF, the acyl chlorides produced the esters octadecanoate 4-chlorobutyl [22, 38%], oleate 4-chlorobutyl [23, 39,6%], octanoate 4-chlorobutyl [25, 77,9%], cinnamate 4-chlorobutyl [27, 67,1%] and

hexadecanoate 4-chlorobutyl [38, 41,75%]. The evaluation of the effectiveness of those following products: 1-methylpiperazine, 1-phenylpiperazine and acids such as octanoic, estearic, cinnamic, gallic, oleic and propanoic on controlling nematodes were carried out trials under laboratory conditions, using *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita* race-3 which received 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of the synthesised compound. The rate of mortality varied from 0 to 71% for *Meloidogyne incognita* and 7 to 58% for *Heterodera glycines*. According to the present results new trials should be carried out with different phyto-nematodes, formulations and doses in order to obtain a definite conclusion about the potential of the new compounds on the control of phytonematodes.

INTRODUÇÃO

As Nações Unidas estimaram que, para o ano 2030, a população mundial poderá chegar a aproximadamente 8,9 bilhões de habitantes e que um total de 11,5 bilhões deverá ser alcançado no ano 2150 (Haub e Riche, citados por MAZUR, 1994). Esses dados estatísticos indicam que a produção agrícola mundial necessita de atenção para que possa ser evitada uma eventual falta de alimentos.

É de conhecimento geral que grande parte da produção agrícola é perdida antes da colheita, devido à ação de pragas, doenças e plantas daninhas. Assim, a agricultura mundial necessita ser mais eficiente, para que melhores resultados possam ser obtidos em relação à qualidade dos alimentos e à produtividade. A utilização de agrotóxicos tem sido o método mais comum de proteção à agricultura moderna, para minimizar perdas nas safras (LUCHINI, 1987).

Dentre os principais problemas fitossanitários, destacam-se os fitonematóides. Esses organismos causam grandes prejuízos à agricultura, reduzindo colheitas, afetando sobremaneira a qualidade do produto colhido, limitando o uso do solo com a sua presença e levando a gastos adicionais com fertilizantes e defensivos agrícolas. Vários trabalhos apresentam estimativas da importância econômica dos nematóides parasitas de plantas na produção das

culturas, no Brasil e no mundo, mas valores precisos não são estimados (TIHOHOD, 1993).

A piperazina é usada como anti-helmíntico para animais, apresenta baixa toxicidade ao homem e não causa danos ao meio ambiente (BHATT et al., 1990).

Foram objetivos deste trabalho sintetizar amidas mono e dissustituídas derivadas da piperazina e avaliar sua atividade nematicida através de ensaios preliminares, em condições laboratoriais, contra os nematóides *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*.

Desse modo, este estudo está apresentado em dois capítulos. No primeiro encontram-se as sínteses de todos os compostos obtidos e, no segundo, estão apresentados os resultados dos testes de avaliação da atividade nematicida dos compostos analisados.

CAPÍTULO 1

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE COMPOSTOS DERIVADOS DA PIPERAZINA

1. INTRODUÇÃO

O aumento da população mundial gera uma grande demanda na produção de alimentos. Dados estatísticos revelam que a produção mundial aumenta a uma taxa de 200.000 indivíduos por dia. Portanto, é evidente a necessidade de se incrementar a produção de alimentos com vistas à melhoria na qualidade e quantidade dos mesmos. A agricultura mundial precisa tornar-se eficiente, de modo a equilibrar o crescimento populacional e a produção agrícola.

O aumento da produção de alimentos e da produtividade de várias culturas acontece principalmente em razão da maior eficácia no controle das pragas e doenças dessas culturas. Nesse sentido, ainda hoje, os produtos químicos sintéticos continuam sendo os maiores agentes de proteção de plantas contra insetos, plantas daninhas e fitopatógenos (DUKE et al., 1992).

Visto que os países do Terceiro Mundo concentram cerca de 55% das terras cultiváveis (DOLLACKER, 1991), é extremamente necessário difundir em tais países técnicas agrícolas modernas, como irrigação e adubação, e uso racional de agrotóxicos, a fim de que a produção de alimentos aumente (CREMLYN, 1990).

Estima-se que 35% da safra mundial seja perdida devido à ação de plantas daninhas, insetos-praga e patógenos e, ainda, que mais 15% sejam perdidos entre a colheita e a comercialização, o que significa um prejuízo de metade do potencial total agrícola.

Dentre os principais patógenos que causam grandes prejuízos às plantas cultivadas de interesse para o homem encontram-se os nematóides. A grande maioria dos produtos químicos utilizados no controle de nematóides afeta grandemente o meio ambiente e a saúde humana (CHITWOOD, 1992) e, devido a esses fatores, muitos deles já foram retirados do mercado ou têm seu uso restrito.

1.1. Os Nematóides

Os nematóides, cujo nome deriva do grego *nema*, *nematis*, que significa fio, são organismos fusiformes ou vermiformes (Figura 1-g), pertencentes ao filo Nemata ou Nematoda. São organismos tubulares e alongados, isto é, o corpo é de seção transversal circular praticamente constante ao longo do comprimento, afinando-se de maneira gradual ou abrupta para as extremidades (BERGAMIN FILHO et al., 1995).

As maiores variações observadas na forma do corpo ocorrem nos parasitos, especialmente nos fitoparasitos. Em alguns gêneros, as fêmeas podem ter o corpo com largura notavelmente aumentada, resultando em formas obesas semelhantes à da pêra (*Meloidogyne*, *Globodera*), do limão (*Heterodera*), do rim (*Tylenchulus*) e de outros (Figura 1). O tamanho dos nematóides parasitas de plantas, conhecidos como fitonematóides, está na faixa de 0,3 a 3,0 mm de comprimento.

Os nematóides são organismos aquáticos que vivem nas águas marinhas, nas águas doces e do solo. A maioria é de vida livre, alimentando-se de microrganismos. Alguns são parasitas de plantas superiores (fitoparasitas), atacando principalmente seus órgãos subterrâneos (raízes, rizomas, tubérculos, bulbos e fruto hipógeo). Outros são parasitas de animais e do homem.

Os fitonematóides são alvo de constante preocupação para a agricultura, pois acarretam consideráveis perdas econômicas. No início, a infestação das culturas não é evidente para os agricultores, pois o nematóide é um inimigo oculto que chega à lavoura ou já está presente em níveis considerados baixos, multiplicando-se rapidamente. Desse modo, o agricultor detecta anomalias e irregularidades nas culturas apenas quando a população dos nematóides alcançou níveis bastante elevados, tornando-se de difícil controle.

A maioria dos fitonematóides ataca as raízes das plantas hospedeiras, interferindo na absorção de água e nutrientes do solo. Esse ataque vai se acentuando a cada ano, até que chega a um nível tal que as raízes ficam totalmente comprometidas. Por conseguinte, manifestam-se sintomas como amarelecimento de folhas, redução da planta e murcha, principalmente nas horas mais quentes do dia.

Os prejuízos anuais causados pelas perdas na agricultura em função do ataque dos nematóides atingem a cifra de 100 bilhões de dólares no mundo inteiro (CHITWOOD, 1992). Estas perdas são especialmente maiores em regiões tropicais e subtropicais, onde fatores ambientais como temperatura, tipo do solo, vegetação e estações chuvosas favorecem o desenvolvimento, a reprodução e a sobrevivência dos nematóides (LUC et al., 1990).

Nas regiões tropicais, a presença de fitonematóides muitas vezes em solos de alta fertilidade acarreta elevados prejuízos aos agricultores, tanto pela redução da colheita como pela desvalorização da propriedade rural para fins de crédito bancário. Em tais situações, a produção de alimentos e de outros produtos agrícolas é severamente afetada (MOURA, 1996).

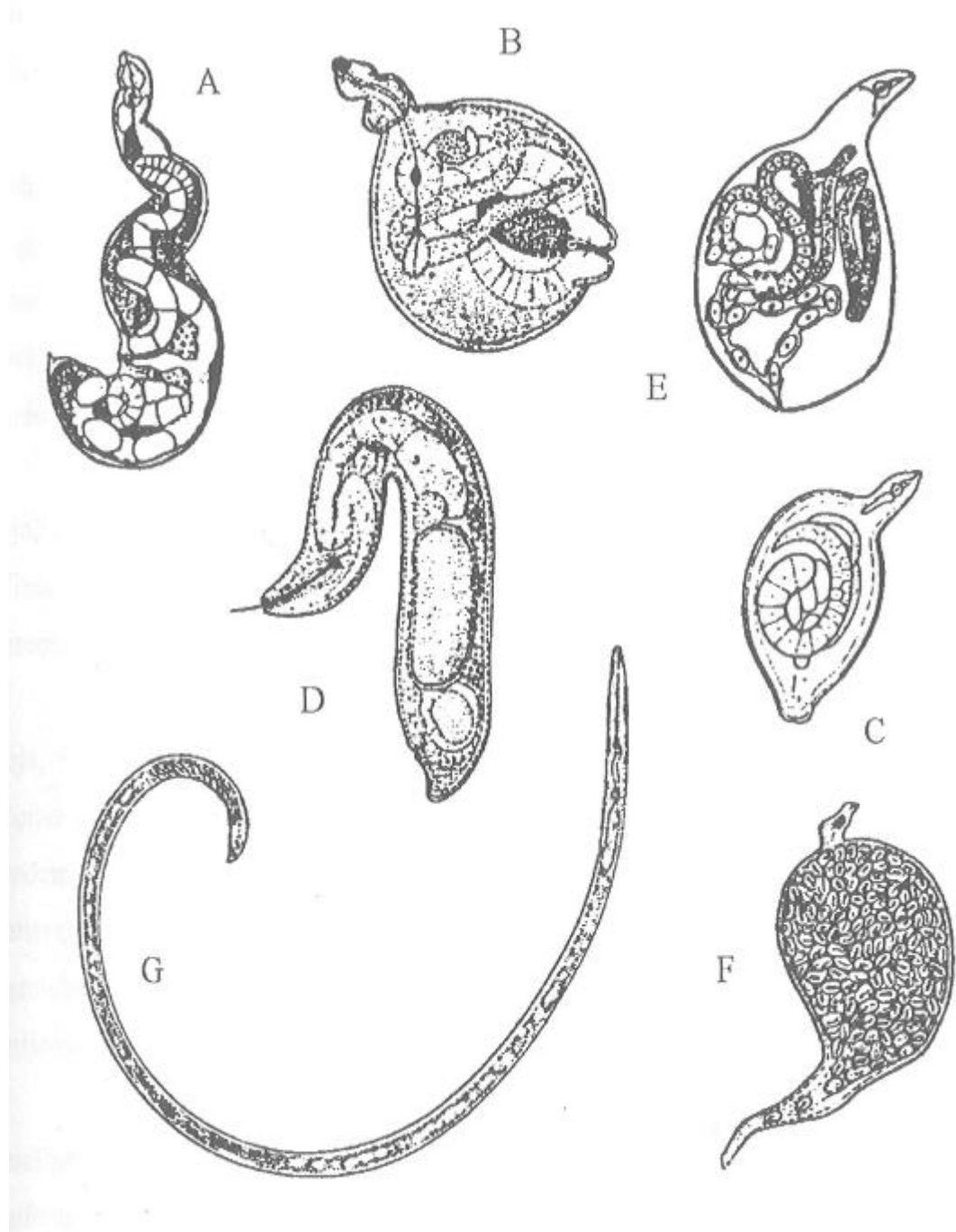


Figura 1 - Formato de corpo de fitonematóides: obeso ou globoso (A, B, C, D, E e F) e vermiforme ou fusiforme (G).

Deve-se ressaltar que as perdas causadas pelos fitonematóides não são apenas quantitativas, podendo ser também qualitativas.

Sasser e Freckman, citados por MOURA (1996), concluíram que, entre os principais fitonematóides em diferentes regiões do mundo, os gêneros *Meloidogyne* e *Heterodera* ocupavam, respectivamente, a primeira e a terceira posição de importância. Na Europa, a presença dos nematóides do gênero *Heterodera* parasitando as principais culturas, como os cereais, a batata, a beterraba açucareira e a soja, possibilita ao gênero maior importância.

No Brasil, entre os fitonematóides mais importantes encontram-se, também, os fitonematóides *Meloidogyne* spp. e *Heterodera glycines* causadores de galhas e cistos, respectivamente (TSAI et al., 1991; LUC et al., 1990). No Estado do Mato Grosso do Sul a safra de soja de 1995 ficou comprometida em mais de 10% devido ao ataque de nematóides desses dois gêneros (Folha de São Paulo, 18/04/95).

Heterodera glycines, também conhecida como nematóide do cisto da soja, foi detectada pela primeira vez no Brasil, na safra 91/92, nos Estados de Minas Gerais, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, sendo mais tarde detectada nos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul.

Esse nematóide, na fase de juvenil de 2º estágio, penetra nas raízes da soja, seu principal hospedeiro, dificultando a absorção de água e nutrientes. Como consequência, as plantas apresentam sinais de desnutrição e, na lavoura, podem ser observadas manchas (reboleiras) constituídas por plantas raquíticas, amareladas, com poucas vagens ou mortas (Figura 2). Dentre outras culturas que também podem multiplicar o nematóide *Heterodera glycines*, destacam-se o feijoeiro e a ervilha.

Nos Estados Unidos, o nematóide *Heterodera glycines* infesta alguns dos melhores solos em 22 estados. Alguns dos solos têm sido tão severamente infestados que a produção de soja não é economicamente possível. Em 1979 as perdas causadas pelo nematóide foram estimadas em 56 milhões de toneladas, correspondendo a um valor de 352 milhões de dólares (NIBLACK et al., 1992).

O potencial de dano de fitonematóides pode ser observado na Figura 3, onde, em experimento realizado em cafeeiro, observa-se marcante diferença entre plantas de pé franco (suscetíveis) e enxertadas (resistentes).

1.2. Controle biológico

Segundo MAUCH e FERRAZ (1997), o emprego de plantas com efeito antagônico a determinadas espécies de nematóides, em plantio intercalado, consorciado ou em rotação de culturas, constitui, sem dúvida, um dos métodos mais promissores de controle de tais organismos, e inúmeros trabalhos nesta área são encontrados na literatura.

O efeito das plantas antagônicas sobre os nematóides pode ser exercido pelos exsudatos radiculares tóxicos (Tarjan, Miller e Ahrens, citado por MAUCH e FERRAZ, 1997) e, ou, por mecanismos de resistência que impedem o desenvolvimento e a reprodução do nematóide no sistema radicular (Peacock, citado por MAUCH e FERRAZ, 1997).

Em seu recente estudo, VALLE et al. (1996) utilizaram vasos contendo solo naturalmente infestado por *Heterodera glycines* raça 3 e avaliaram a eficiência de algumas gramíneas forrageiras no controle deste nematóide, como também de mucuna-preta (*Mucuna aterrima*) e soja 'Cristalina' (*Glycine max*), como testemunhas resistente e suscetível, respectivamente. Também foram mantidos alguns vasos sem plantas, simulando-se o alqueive. As gramíneas reduziram a população dos nematóides no solo em relação à soja, sendo tão eficientes quanto a mucuna-preta e mais eficientes que o alqueive no controle de *H. glycines*.



Figura 2 - Reboleira em área com o nematóide de cisto da soja.



Figura 3 - Cafeeiros cultivados suscetíveis (à esquerda) e resistentes aos fitonematóides do gênero *Meloidogyne*.

BARCELOS (1997) isolou e caracterizou, de extratos de raiz e caule da mucuna-preta (*Mucuna aterrima*), dentre outros compostos, ácidos e ésteres de ácidos graxos. Os ensaios biológicos realizados com as misturas destes compostos, além dos extratos a quente e a frio da raiz e das partes aéreas desta planta, revelaram inibição da eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita* raça 3, sendo o extrato a frio obtido da raiz o mais eficiente.

1.3. Controle químico

Os compostos nematicidas, como o próprio nome sugere, são aqueles que apresentam atividade deletéria contra os nematóides.

Os compostos nematicidas podem, de forma geral, ser divididos em dois grupos: os fumigantes e os não-fumigantes e sistêmicos. Os fumigantes, que se subdividem em compostos halogenados e liberadores de metilisotiocianato, agem liberando gases tóxicos no solo. Os não-fumigantes não liberam gases tóxicos e são subdivididos em organofosforados e organocarbamatos. Eles inibem a atividade da enzima acetilcolinesterase dos nematóides, estando largamente disponíveis no mercado. Como exemplo de fumigantes podem ser citados o brometo de metila (1), cloropicrina (2), 1,3-dicloropropeno e 1,2-dicloropropano (3), metilisotiocianato (4) e o metil ditiocarbamato de sódio (5).



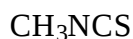
(1)



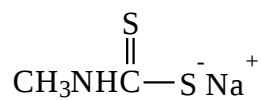
(2)



(3)

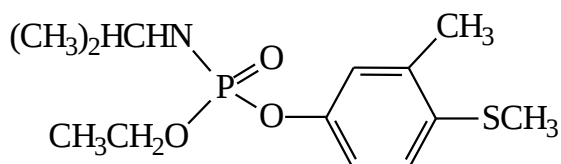


(4)

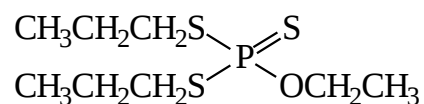


(5)

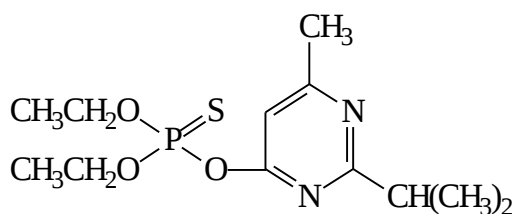
Do segundo grupo (não-fumigantes e sistêmicos) merecem destaque fenamifos (6), mocap (7), diazinom (8) e paration (9), como organofosforados, e aldicarb (10), oxamil (11) e carbofuran (12), como organocarbamatos (BARBERÁ, 1974; LORDELLO, 1988).



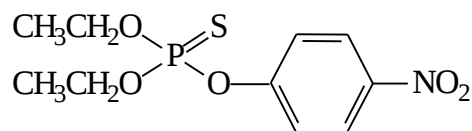
(6)



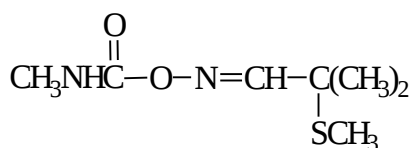
(7)



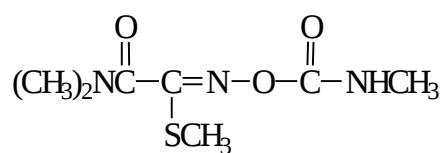
(8)



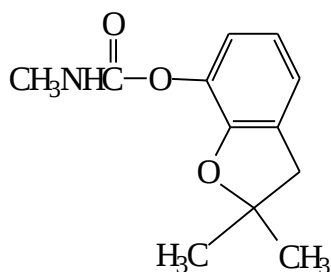
(9)



(10)



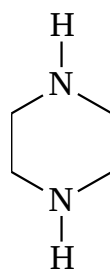
(11)



(12)

1.4. A piperazina e análogos

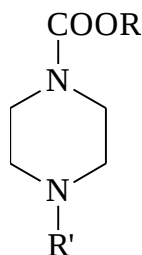
A piperazina [13] é um sólido branco, higroscópico, que apresenta odor característico de aminas, sendo ainda um composto muito ativo, com toxicidade mínima, quimicamente estável, não apresentando efeitos colaterais e de baixo custo.



[13]

A versátil reatividade da piperazina estimulou extensivas pesquisas, e encontram-se na literatura numerosos estudos detalhados de suas reações. Embora a sua atividade anti-helmíntica seja responsável pelo seu principal uso comercial, existem numerosos estudos sobre a sua aplicabilidade em outras áreas industriais e farmacêuticas, como analgésicos, antimaláricos, sedativos, anestésicos, aditivos contra a corrosão de superfícies metálicas, estabilizantes, resinas poliméricas, resinas trocadoras de íons, etc. (BHATT et al., 1990).

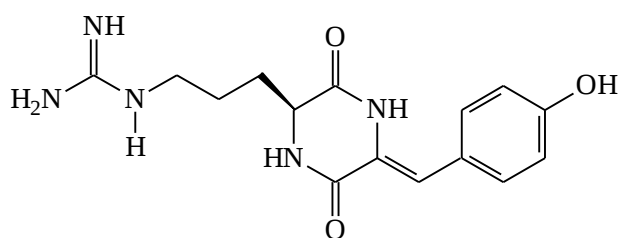
Alguns dos primeiros estudos sobre a atividade anti-helmíntica da piperazina em animais foram realizados por STEWART et al. (1948). Em um deles foram sintetizados vários derivados da piperazina com a seguinte estrutura:



Todos os compostos foram submetidos a testes biológicos para a verificação da atividade antilarial. A maior atividade foi observada para composto 1-carboxi-4-metilpiperazina.

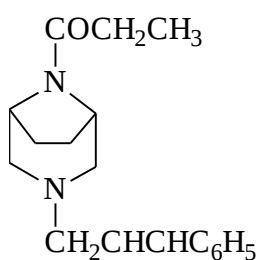
A piperazina rapidamente ganhou aceitação como anti-helmíntico, consolidando-se no mercado, sendo geralmente administrada na forma de sal. Os sais mais freqüentemente usados são o fosfato, o citrato, o monoclreto, o dicloreto e o sulfato de piperazina.

TSUKAMOTO et al. (1995) isolaram do extrato metanólico da alga marinha *Anthosigmella* aff. *raromicrosclera* uma nova dicetopiperazina, ciclo-(L-Arg-deidrotirosina) [14], um composto que, em concentrações de 50 µmol/L, foi capaz de induzir a metamorfose em 50 % das larvas de *Halocynthia roretzi* utilizadas no ensaio biológico.

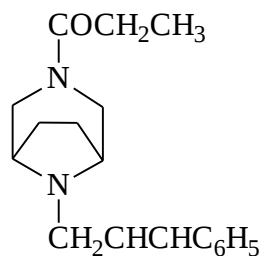


[14]

BALLABIO et al. (1997) relataram que o 3-cinamil-8 propionil-3,8-diazabicyclo [3.2.1]octano [15a], e seu isômero [15b], mostraram ser potentes agentes opióides µ-seletivos, cuja seletividade pode ser comparada à da morfina.

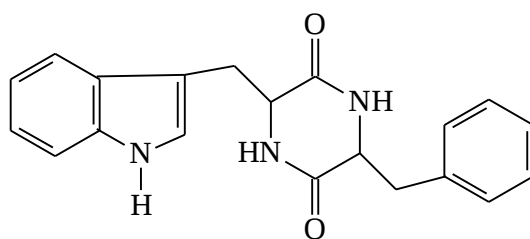


[15a]



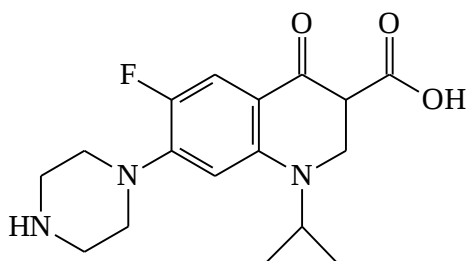
[15b]

KIMURA et al. (1996), estudando metabólitos de fungos com propriedades regulatórias do crescimento de plantas, isolaram o composto ciclo-(L-triptofil-L-fenilalanil) [17] de uma espécie não identificada do gênero *Penicillium*. O ciclo-(L-triptofil-L-fenilalanil) e seus componentes, L-triptofano e L-fenilalanina, exibiram diferentes resultados nos testes com pinho, alface, agrião e sementes de arroz. Logo, a atividade biológica exibida pelo ciclo-(L-triptofil-L-fenilalanil) resultou do composto intacto e não da ação do L-triptofano e L-fenilalanina, metabólitos de degradação.

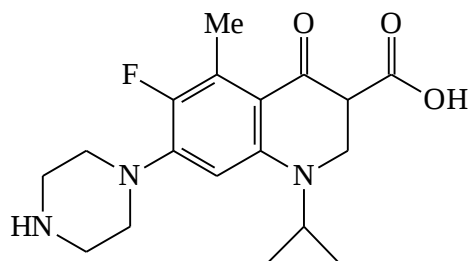


[16]

As fluoroquinonas são bactericidas sintéticos derivados da piperazina e, segundo BRICKNER (1996), inibem a DNA girase (topoisomerase II) e topoisomerase IV. Existe grande número de novas drogas do tipo fluoroquinolonas em avançado estágio de desenvolvimento clínico e, dentre elas, podem ser citadas a ciprofloxacina [17] e a grepafloxacina [18].



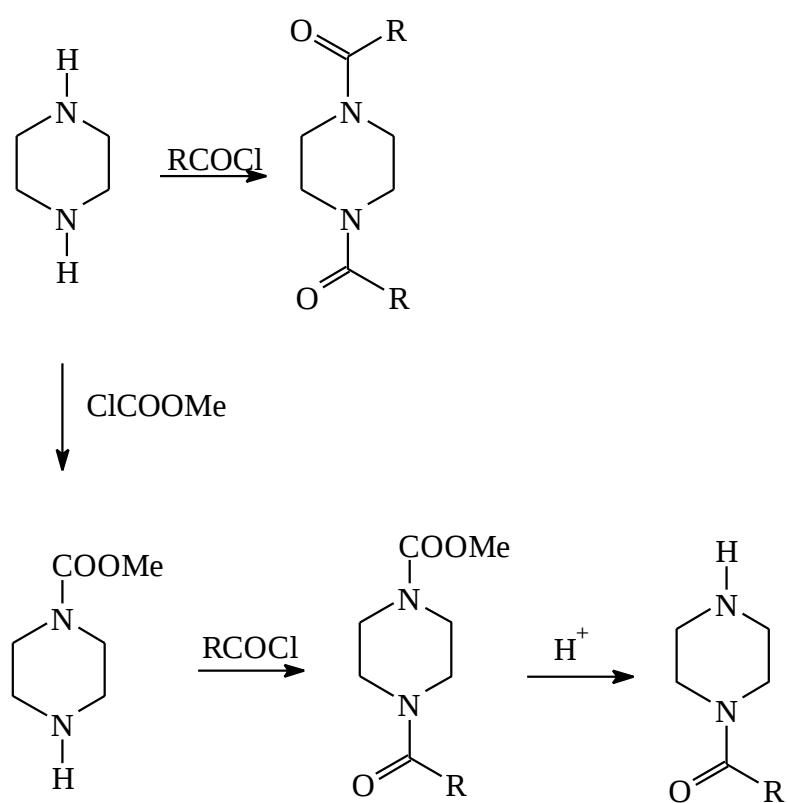
[17]



[18]

Apesar de a literatura reportar o uso da piperazina [13] e de seus derivados em diversas áreas (BHATT et al., 1990), inclusive contra nematóides de animais, não há registro do uso desses compostos contra fitonematóides. Assim, neste trabalho teve-se como objetivo a síntese de compostos do tipo 1-acil e 1,4-diacilpiperazínicos, seguindo-se a rota sintética descrita a seguir, além da realização dos ensaios biológicos para testar a sua atividade nematicida contra os nematóides de galhas (*Meloidogyne incognita*) e de cisto (*Heterodera glycines*).

Os resultados dos ensaios biológicos possibilitariam a obtenção de um fator de comparação para avaliar tanto a influência dos diversos grupos R quanto a presença do NH nos compostos.



R	
propanoil	octanoil
acetil	hexadecanoil
trifluoroacetil	2-nitrobenzoil
3,5-dinitrobenzoil	4-nitrobenzoil
benzoil	dodecanoil
estearil	cinamoil
oleil	

Figura 4 - Proposta de síntese de compostos derivados da piperazina.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Generalidades metodológicas

Para as análises em cromatografia em camada delgada utilizaram-se placas de sílica-gel com indicador de fluorescência UV₂₅₄ (MERCK Kieselgel 60 F₂₅₄, com 0,25 mm) ou placas preparadas com sílica-gel 60 G.

Após a eluição, as placas cromatográficas foram inicialmente visualizadas sob luz ultravioleta ($\lambda = 254$ nm) e, posteriormente, reveladas com solução de ácido fosfomolibdico em etanol, preparada de acordo com CASEY et al. (1990).

Para todas as análises cromatográficas em coluna utilizou-se, como fase estacionária, sílica-gel 60 (70-230 Mesh-ASTM, Merck).

Nas reações foram utilizados solventes de grau P.A. devidamente purificados e armazenados adequadamente, segundo PERRIN e ARMAREGO (1988).

Os pontos de fusão foram determinados em aparelho MQATF-301, com as devidas correções.

Os espectros no infravermelho foram obtidos nos espectrômetros PERKIM ELMER SPECTRUM 1000 e MATTSON INSTRUMENTS FTIR, nos

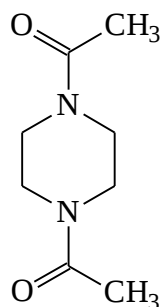
Departamentos de Química da Universidade Federal de Viçosa e Universidade Federal de Minas Gerais, respectivamente. Para amostras sólidas foram obtidos espectros a partir de pastilhas de KBr, e em células de NaCl no caso de amostras oleosas.

Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (400 e 200 MHz) e carbono 13 (100 e 50 MHz) foram obtidos, respectivamente, nos espectrômetros BRUKER DRX 400 e DPX 200 no Departamento de Química - ICEX - UFMG, Belo Horizonte. Os solventes utilizados foram CDCl_3 , D_2O , DMSO- d_6 e CD_3OD , e o tetrametilsilano (TMS) foi utilizado como padrão interno de referência ($\delta=0$).

Os espectros de massas foram obtidos em espectrômetro HP - 5989 A, no Departamento de Química - ICEX - UFMG, Belo Horizonte.

Em adição à purificação por cromatografia em coluna de sílica-gel, os compostos foram submetidos à recristalização, segundo método descrito por GONÇALVES et al. (1988).

2.2. Reação de formação do composto 1,4-dietanoilpiperazina [19]



[19]

Em um balão de fundo redondo bitubulado (125 mL), à temperatura ambiente, foram adicionados piperazina (860 mg; 10 mmol) e THF (15 mL). O sistema foi mantido sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética. Em seguida foi acrescentado cloreto de etanoíla (785 mg; 10 mmol; 0,7 mL) dissolvido em THF (5 mL).

Houve a formação imediata de um precipitado branco. O sistema permaneceu sob agitação por mais 90 minutos, quando a mistura foi filtrada e o sólido obtido lavado com éter dietílico (2x20 mL), obtendo-se 1,314 g de um sólido branco.

Foram dissolvidos 500 mg deste sólido em água destilada (15 mL). A esse sistema foi adicionada solução de NaOH 2M até pH 9 e foram feitas extrações com DCM (4x20 mL). A fase orgânica foi concentrada, fornecendo novamente um sólido branco, que foi recristalizado em hexano/DCM (4:1) e caracterizado como sendo o produto esperado [19] (278 mg, 1,64 mmol, 89,2 %).

CCD: Rf = 0,49 (éter dietílico/metanol, 1:4).

Tf: 53-55 °C.

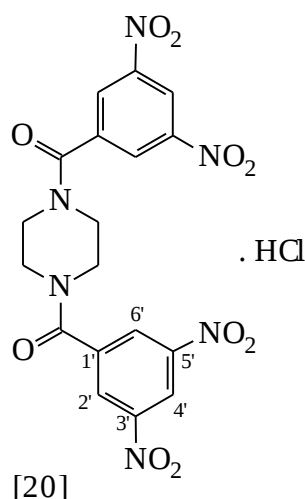
IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.000, 2.920, 2.880, 1.620, 1.490, 1.450, 1.420, 1.360, 1.250 e 1.000.

RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) d: 2,10 (s, 6H, 2x CH_3) e 3,52 (m, 8H, 4x CH_2).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CD_3OD) d: 21,20 e 21,16 (2x CH_3), 42,22; 42,58; 46,88 e 47,19 (4x CH_2); 172,08 e 171,99 (2xCO).

EM (IQ) m/z (%): 170 (M^+ , 8), 155 (3), 127 (5), 99 (2), 85 (69), 69 (64), 56 (88) e 43 (100).

2.3. Reação de formação do cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil) piperazina [20]



Foram adicionados piperazina (860 mg; 10 mmol) e THF (15 mL) em um balão bitubulado de fundo redondo (125 mL), sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura ambiente. Através de um funil de adição, acoplado ao balão, foi adicionada lentamente solução contendo cloreto de 3,5-dinitrobenzoíla (2,305 g; 10 mmol) em THF (10 mL).

Houve formação imediata de um precipitado branco. A agitação foi mantida por 90 minutos, quando, então, a mistura reacional foi filtrada e o precipitado recolhido. A massa do produto obtido [20] foi de 1,590 g (3,35 mmol, 67,1 %).

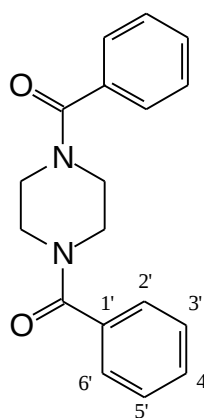
CCD: Rf= 0,85 (metanol/etanol, 10:1).

Tf: superior a 300 °C.

IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.100, 3.030, 3.000, 2.910, 2.800, 2.750, 2.600-2.400, 1.625, 1.590, 1.450, 1.350, 1.080 e 710.

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) d: 3,36 (s, 8H, 4xCH₂); 8,86 (d, 4H, J = 2,29 Hz, 2xH₂, e 2xH₆) e 9,03 (t, 2H, J = 2,25 Hz, 2xH₄).

2.4. Reação de formação do composto 1,4-dibenzoilpiperazina [21]



[21]

A um balão bitubulado de 125 ml, sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e à temperatura ambiente, foram adicionados piperazina (860 mg; 10 mmol) e THF (15 ml). Através de um funil de adição foi acrescentada lentamente solução de cloreto de benzoíla (1,405 g; 10 mmol) em THF (10 mL), havendo formação instantânea de um precipitado branco.

A agitação foi mantida por mais 90 minutos, quando a mistura reacional foi filtrada e o sólido obtido dissolvido em metanol e água. Adicionou-se NaOH 2 mol/L ao sistema até pH 12 e, em seguida, extraiu-se com acetato de etila e éter dietílico na proporção 1:1 (5x30 mL).

A fase orgânica foi concentrada e obteve-se o composto [21] como um sólido branco (762 mg; 2,59 mmol; 61,6 %).

CCD: R_f=0,66 (éter dietílico/metanol, 10:1).

Tf: 194,3-197,1 °C.

IV (KBr, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3.100, 2.990, 2.880, 2.870, 1.625, 1.450, 1.420, 1.380, 1.230, 980, 750 e 680.

RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) d: 3,37 (s, 8H, 4xCH₂) e 7,63 - 7,26 (m, 10H, anéis aromáticos).

RMN de ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) d: 169,7 (CO); 136,0 (C_{1'}); 128,9 (C_{2'} e C_{6'}); 127,5 (C_{3'} e C_{5'}) e 125,8 (C_{6'}) e 40,6; 39,7; 39,5 e 39,3 (4xCH₂).

EM (IQ) m/z (%): 294 (1, M⁺), 189 (4), 105 (100) e 77 (44).

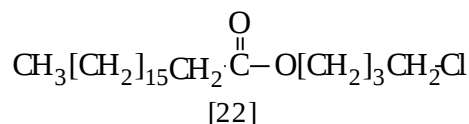
2.5. Formação do éster octadecanoato de 4-clorobutila [22]

Objetivando-se a síntese do 1,4-diestearoilpiperazina, uma solução de ácido esteárico (2,0 g; 7,04 mmol) dissolvido em THF (15 mL) foi adicionada a um balão bitubulado de 125 mL. Sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e refluxo (75-80 °C), iniciou-se a adição de solução do cloreto de tionila (0,7 mL; 10 mmol; 1,190 g) em THF (15 mL). A adição durou 45 minutos e a agitação foi mantida por mais duas horas, quando o cloreto de tionila residual foi eliminado por destilação a 80 °C.

Obteve-se um óleo de coloração marrom-escura, que foi dissolvido em THF (5 mL) e transferido para um funil de adição. Em seguida, acoplou-se o funil a um balão bitubulado contendo piperazina (430 mg; 5 mmol) e THF (15 mL), sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura ambiente.

Após a adição do conteúdo do funil, a agitação foi mantida por aproximadamente 18 horas, quando se concentrou a mistura reacional, obtendo um material oleoso, que foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando-se hexano/éter dietílico (8:1) como eluente.

Obteve-se como resultado o éster octadecanoato de 4-clorobutila [22], um sólido branco que foi, ainda, recristalizado em etanol (995 mg; 2,65 mmol; 38 %).



CCD: R_f=0,58 (hexano/éter etílico, 8:1).

Tf: 38-39 °C.

IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2.980, 2.920, 2.850, 1.740, .1.400, 1.180 e 1.150.

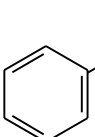
RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) d: 4,10 (t, 2H, J = 6,10 Hz, O-CH₂); 3,57 (t, 2H, J = 6,10 Hz, Cl-CH₂); 2,29 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂C=O); 1,87 - 1,77 (m, 4H, 2xCH₂); 1,61 (t, 2H, J = 7,23, CH₂); 1,20 - 1,35 (m, 308H, 15xCH₂) e 0,88 (t, 3H, J = 6,6 Hz, CH₃).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) d: 173,88 (CO); 63,35 (C-O); 44,46 (CH₂-Cl); 34,35 (CH₂C=O); 31,94; 29,88; 29,57; 29,56; 29,53; 29,48; 29,43; 29,37; 29,28; 29,21; 29,18; 26,14; 25,00; 22,70 (CH₂ cadeia carbônica) e 14,1 (CH₃).

EM (IQ) m/z (%): 41 (18); 42 (5); 43 (28); 55 (40); 57 (15) e 91 (100).

A metodologia utilizada nas sínteses dos compostos [23], [25], [26] e [27] foi realizada de acordo com o procedimento de obtenção do composto [22]. Novamente, pela análise dos espectros de massas, IV, RMN de ^1H e ^{13}C , observou-se que as amidas esperadas não foram obtidas. Os produtos sintetizados também foram ésteres derivados da clivagem do anel furânico. Um resumo das condições utilizadas está descrito no Quadro 1.

Quadro 1 - Condições reacionais para obtenção dos compostos [23], [25], [27] e [38]

Composto obtido	Condições
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_7\text{CH}=\text{CH}[\text{CH}_2]_7-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}[\text{CH}_2]_3\text{CH}_2-\text{Cl}$ [23] 39,6 %	Ácido oleico (7 mmol), cloreto de tionila (10 mmol), THF, refluxo (75-80°C), 45 minutos; piperazina (5 mmol), THF, temp. ambiente, 18 horas.
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_6-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}[\text{CH}_2]_3\text{CH}_2-\text{Cl}$ [25] 77,9 %	Ácido octanóico (13,87 mmol), cloreto de tionila (27,6 mmol), THF, refluxo (70°C), 45 minutos; piperazina (13,87 mmol), THF, temp. ambiente, 24 horas.
 [27] 67,1 %	Ácido cinâmico (7 mmol), cloreto de tionila (10 mmol), THF, refluxo (70°C), 2 horas; piperazina (5 mmol), THF, temp. ambiente, 16 horas.
$\text{CH}_3[\text{CH}_2]_{14}-\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C}-\text{O}[\text{CH}_2]_3\text{CH}_2-\text{Cl}$ [38] 41,7 %	Ácido hexadecanóico (3,9 mmol), cloreto de tionila (7,8 mmol), THF, refluxo (70°C), 12 horas; piperazina (1,95 mmol), THF, temp. ambiente, 12 horas.

Dados físicos e espectroscópicos dos compostos obtidos:

· Oleato de 4-clorobutila [23]

CCD: Rf = 0,40 (hexano/éter dietílico, 20:1).

IV (NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.050, 2.940, 2.850, 1.740, 1.450 e 1.100.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) d: 5,35-5,32 (m, 2H, 2xCH=CH); 4,10 (t, 2H, J = 6,20 Hz, O-CH₂); 3,36 (t, 2H, J = 6,32 Hz, Cl-CH₂); 2,29 (t, 2H, J = 7,5 Hz, CH₂C=O); 2,03 - 1,98 (m, 4H, 2xCH₂); 1,87 - 1,75 (m, 4H, 2xCH₂); 1,71 - 1,58 (m, 2H, 1xCH₂); 1,30 - 1,25 (m, 20H, 10xCH₂) e 0,86 (t, 3H, CH₃, J = 2,6 Hz).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) d: 173,77 e 173,74 (CO); 129,89 e 129,71 (CH=CH); 63,02 (C-O); 44,91 (C-Cl); 36,59 (C-CH=CH); 32,11 (CH₂C=O); 30,39; 27,37; 26,94; 26,86; 26,40; 26,33; 26,23; 26,21; 26,19; 26,00; 24,79; 22,04 (CH₂); 14,03 (CH₃).

EM (IQ) m/z (%): 41 (28); 42 (8); 43 (25); 55 (70) e 91 (100).

Fórmula mínima: C₂₂H₄₁O₂Cl **MM:** 372,5 g/mol

· Octanoato de 4-clorobutila [25]

CCD: Rf = 0,24 (hexano/éter dietílico, 23:1).

IV (NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2.950, 2.920, 2.850, 1.750, 1.460, 1.160 e 1.100.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) d: 4,11 (t, 2H, O-CH₂, J = 6,18 Hz); 3,57 (t, 4H, Cl-CH₂, J = 6,25 Hz); δ 2,30 (t, 2H, CH₂C=O, J = 7,41 Hz); δ 1,90 - 1,68 (m, 4H, 2xCH₂); δ 1,66 - 1,58 (m, 2H, 2xCH₂); δ 1,33 - 1,27 (m, 8H, 4xCH₂); δ 0,89 (t, 3H, CH₃, J = 6,81 Hz).

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) d: 173,78 (CO); 63,20 (C-O); 44,40 (C-Cl); 34,34 (CH₂C=O); 31,49; 29,90; 28,89; 26,13; 26,11; 25,08; 22,59 (CH₂) e 14,00 (CH₃).

EM (IQ) m/z (%): 35 (5); 42 (100); 55 (30); 56 (84); 69(23); 84 (8); 91 (15); 127 (17); 159 (10); 187 (15) e 202 (15).

Fórmula mínima: C₁₂H₂₃O₂Cl **MM:** 372,5 g/mol

• **Cinamoato de 4-clorobutila [27]**

CCD: Rf = 0,62 (hexano/éter dietílico, 2:1).

IV (NaCl, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.058, 3.034, 2.957, 2.924, 2.866, 1.710, 1.636, 1.449, 767 e 711.

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) d: 7,73 (d, 2H, J = 16,02 Hz, $2\times\text{COCH}=\underline{\text{CH}}$); 7,55 - 7,34 (m, 5H, anel aromático); 6,47 (d, 1H, J = 16,02 Hz, $2\times\text{COCH}=\underline{\text{CH}}$); 4,24 - 4,20 (m, 2H, O- CH_2); 3,60 - 3,50 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{-Cl}$); 1,97 - 1,79 (m, 4H, $2\times\text{CH}_2$).

RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) d: 166,93 (CO); 144,92 ($\text{COCH}=\underline{\text{CH}}$); 134,40 (C_1); 130,33 (C_2 e C_6); 128,61 (C_3 e C_5); 125,89 ($\text{COCH}=\underline{\text{CH}}$); 118,23 (C_4); 63,67 (C-O); 44,98 (C-Cl); 29,60 ($\underline{\text{CH}}_2\text{C=O}$), 26,20 ($\underline{\text{CH}}_2\text{CH}_2\text{Cl}$) e 25,67 (O- $\text{CH}_2\underline{\text{CH}}_2$).

Fórmula mínima: $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{Cl}$ **MM:** 238,5 g/mol

• **Hexadecanoato de 4-clorobutila [38]**

T_f: não foi possível a sua determinação devido ao fato de o composto ser altamente higroscópico.

CCD: Rf = 0,29 (hexano/éter dietílico 5:1).

IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2.950, 2.840, 1.740, 1.460, 1.210 e 1.110.

RMN de ^1H (200 MHz, CDCl_3) d: 4,07 (t, 2H, J = 6,29 Hz, O- CH_2), 3,53 (t, 2H, J = 6,34 Hz Cl- CH_2), 2,25 (t, 2H, J = 7,46 Hz, COCH_2), 1,90 - 1,60 (m, 6H, $3\times\text{CH}_2$), 1,58 - 1,50 (m, 2H, CH_2), 1,35 - 1,18 (m, 22H, $11\times\text{CH}_2$) e 0,85 (t, 6H, J = 6,6 Hz, CH_3).

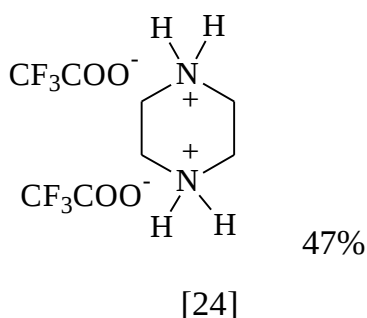
RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) d: 173,82 (CO); 63,30 (O- CH_2); 44,46 ($\text{CH}_2\text{-Cl}$); 34,30 ($\underline{\text{CH}}_2\text{C=O}$); 31,90; 29,66; 29,63; 29,58; 29,54; 29,45; 29,34; 29,24; 29,17; 29,14; 26,10; 24,96 e 22,66 (CH_2); 14,08 (CH_3).

Fórmula mínima: $\text{C}_{20}\text{H}_{39}\text{O}_2\text{Cl}$ **MM:** 346,5 g/mol

2.6. Tentativa de produção do composto 1,4-bis-(trifluoroetanoil) piperazina [24]

A um balão bitubulado, sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura do ambiente, foram adicionados piperazina (860 mg; 10 mmol) e THF (20 mL). Através de um funil de adição foi acrescentada, lentamente, solução de anidrido trifluoroacético (1,8 mL; 2,730 g; 13 mmol) em THF (10 mL).

Houve a formação instantânea de um precipitado branco e, após três horas de agitação magnética, a mistura foi filtrada e o sólido obtido lavado com THF (20 mL), obtendo-se 1,492 g de um sólido branco. A análise dos dados espectroscópicos mostrou que não se tratava do produto esperado e sim do composto indicado a seguir.



Tf: 254,3 - 256,5 °C.

CCD: R_f = 0,40 (metanol).

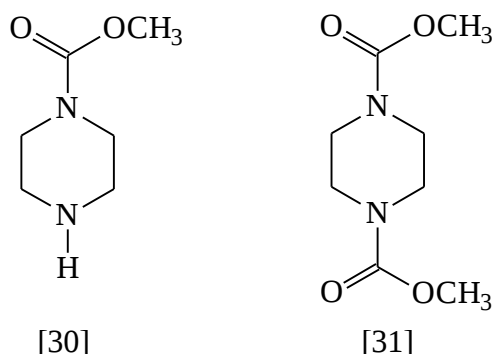
IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.450, 3.200, 2.980, 2.750, 2.450, 1.710, 1.410, 1.200, 1.150, 830, 770, 700 e 600.

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) d: 3,52 (s, CH_2 anel piperazínico).

RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) d: 163,5 (d, CO); 116 (q, J = 22,6 Hz, CF_3); 40,7 (CH_2).

EM (IQ) m/z (%): 44 (83), 45 (100), 69 (75), 85 (28) e 86 (25).

2.7. Reação de formação dos composto 1-(metoxycarbonil)piperazina [30] e 1,4-bis-(metoxycarbonil)piperazina [31]



A um balão bitubulado de 125 mL, equipado com um funil de adição contendo cloroformato de metila (0,75 mL; 10 mmol) dissolvido em etanol 95% (5 mL), sob agitação magnética, atmosfera de nitrogênio e à temperatura ambiente, foi adicionada solução de piperazina (860 mg; 10 mmol) em etanol 95% (50 mL).

A solução de cloroformato de metila foi adicionada, lentamente, por aproximadamente 90 minutos, havendo formação de um precipitado branco de cloreto de piperazina, que foi solubilizado com a adição de água destilada (2 mL).

A agitação foi mantida mais cinco horas, quando a mistura reacional foi concentrada e o sólido branco obtido dissolvido em água destilada (5 mL) e, finalmente, submetido à extração com éter dietílico (3x10 mL). A fase orgânica foi concentrada, fornecendo o composto 1,4-bis-(metoxycarbonil)piperazina [31] (485 mg; 2,4 mmol; 24 %).

A fase aquosa foi retomada e concentrada. Ao sólido obtido foi adicionado etanol absoluto (1 mL), e o precipitado insolúvel foi eliminado por filtração. Sob refrigeração, foi adicionada solução de éter dietílico/acetato de etila (1:1) à solução, o que levou à formação de cristais brancos, caracterizados como o composto 1-(metoxycarbonil)piperazina [30] (669 mg; 4,6 mmol; 46 %).

• **1-(metoxycarbonil)piperazina [30]**

Tf: 173-175 °C.

CCD: Rf = 0,11 (metanol).

IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 3.400, 2.910, 2.850, 1.680, 1.460, 1.415, 1.415 e 1.240.

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) d: 3,14 (t, 4H, J = 5,3 Hz, 2x CH_2); 3,64 (t, 4H, J = 5,3 Hz, 2x CH_2) e 3,67 (s, 3H, CH_3).

RMN de ^{13}C (100 MHz, D_2O) d: 156 (CO), 53 (CH_3) e 43 (CH_2NCO) e 40 (CH_2NH).

• **1,4-bis-(metoxycarbonil)piperazina [31]**

Tf: 79-80 °C.

CCD: Rf = 0,58 (éter dietílico).

IV (KBr, $\bar{\nu}_{\text{máx}}/\text{cm}^{-1}$): 2.980, 2.950, 2.880, 1.700, 1.460, 1.415, 1.240, 1.200, 1.110, 980, 940 e 770.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) d: 3,46 (s, 4x CH_2) e 3,72 (s, 2x CH_3).

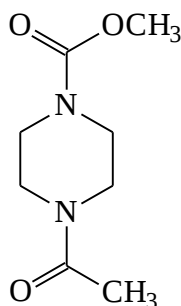
RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) d: 155,8 (CO); 52,6 (CH_3) e 44,1 (CH_2).

2.8. Tentativa de reação entre o cloreto de etanoíla e 1-(metoxycarbonil)piperazina [30]

Procedimento 1

A um balão bitubulado de 125 mL foram adicionados 1-(metoxycarbonil)piperazina (1 mmol; 144 mg) e dioxano (15 mL), sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura ambiente. Através do funil acoplado ao balão foi adicionada solução de cloreto de etanoíla (1 mmol; 78,5 mg; 70 μL) em dioxano (5 mL).

A adição durou aproximadamente 20 minutos e a agitação permaneceu por mais 12 horas. Concentrou-se a mistura e obteve-se um sólido castanho, cujo espectro no infravermelho não mostrou coerência com a estrutura do produto desejado, a seguir indicado.



Repetiu-se a reação sob as mesmas condições citadas anteriormente, variando apenas as proporções do 1-metoxycarbonilpiperazina e cloreto de etanoíla (1:1,5), porém novamente não foi obtido sucesso.

Procedimento 2

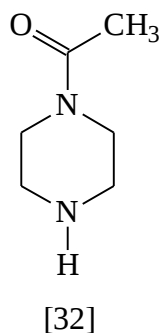
O composto 1-(metoxycarbonil)piperazina (2 mmol; 288 mg) foi dissolvido em dioxano (20 ml) e adicionado a um balão de duas vias equipado com um funil de adição, sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética. A solução de cloreto de etanoíla (4 mmol; 0,314g; 0,29 mL) em dioxano (10 mL) foi adicionada durante 30 minutos através do funil de adição.

A agitação magnética foi mantida por três horas. Em seguida, a solução foi concentrada em evaporador rotatório e adicionada de 10 mL de etanol absoluto.

Dissolveu-se o material resultante em solução de HCl 2 mol/L até pH 1. Em seguida, basificou-se o meio com NaOH 2 mol/L até pH 10.

Extraiu-se com éter dietílico (3x30 mL), concentrando a amostra em evaporador rotatório.

Obteve-se um óleo marrom-claro que, quando recristalizado em etanol absoluto, forneceu como resultado cristais brancos (15 mg). O espectro no infravermelho do composto em questão não estava coerente com a estrutura proposta [32], indicando assim que as reações esperadas não ocorreram.



Procedimento 3

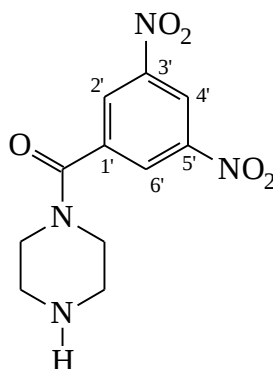
A um balão de duas vias de 125 mL, adicionaram-se 1-(metoxycarbonil)piperazina (2 mmol; 288 mg) e THF (25 mL). A mistura foi submetida a aquecimento (50 °C), sob agitação magnética e atmosfera de nitrogênio.

Uma solução de cloreto de etanoíla (4 mmol; 314 mg; 5 mL) em THF foi adicionada através do funil de adição durante 30 minutos, permanecendo a agitação por mais 24 horas. Após este tempo concentrou-se a solução e obteve-se um sólido branco, que foi dissolvido em água destilada (5 mL).

Acidificou-se o meio com HCl 2 mol/L até pH 2 e, em seguida, basificou-se com NaOH 2 mol/L até pH 12. Extraiu-se com éter dietílico (4x35 mL) e, finalmente, concentrou-se a fase orgânica, obtendo um óleo incolor (192 g).

Pode-se concluir, através da análise dos espectros de RMN de ^1H deste óleo, que não se tratava do produto esperado.

2.9. Tentativa de formação do composto 1-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [33]



[33]

Uma solução de 1-(metoxycarbonil)piperazina (2 mmol; 288 mg) em dioxano (20 mL) foi adicionada a um balão de duas vias (125 mL) e mantida sob atmosfera de nitrogênio e à temperatura ambiente.

Através de funil de adição, foi adicionada uma solução de cloreto de 3,5-dinitrobenzoíla (0,922 g; 4 mmol) em dioxano (15 mL), durante 30 minutos.

Após três horas de reação, concentrou-se a solução, dissolveu-se o sólido obtido em etanol 95 %, acidificou-se o meio com HCl 2 mol/L até pH 2, basificou-se o meio com NaOH 2 mol/L até pH 12 e extraiu-se com éter etílico (3x40 mL).

A fase orgânica foi concentrada, e um óleo denso de coloração esverdeada foi obtido. Este óleo foi cristalizado em etanol absoluto, e o produto final [33] apresentou-se como cristais castanhos (481 mg).

A partir das análises dos espectros no IV, RMN de ^1H e ^{13}C , foi possível concluir que este sólido obtido não se tratava do composto esperado.

2.10. Reação entre o 1-(metoxicarbonil)piperazina [30] e o cloreto de benzoila

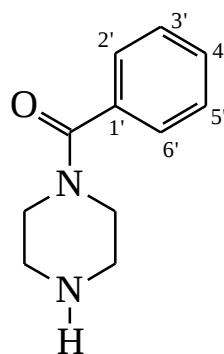
Procedimento 1

A um balão de duas vias de 125 mL, adicionaram-se 1-(metoxicarbonil)piperazina (1,5 mmol; 216 mg) e dioxano (20 mL). O sistema foi mantido sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura ambiente.

Uma solução de cloreto de benzoila (0,4 mL; 3 mmol) em dioxano (10 mL) foi adicionada através de funil de adição, durante 40 minutos. Rapidamente observou-se a formação de um precipitado branco, que foi mantido sob agitação magnética por mais quatro horas.

Filtrou-se a mistura reacional, dissolveu-se o filtrado em água destilada, acidificou-se a solução com HCl 2 mol/L até pH 2, agitou-se a solução por 15 minutos, basificou-se o meio com NaOH 2 mol/L e extraiu-se com éter etílico (3x30 mL).

A fase orgânica foi, então, secada com sulfato de magnésio anidro, filtrada e concentrada a vácuo. Obtiveram-se 94 mg de um óleo castanho-claro. A análise do espectro no infravermelho do composto sintetizado não mostrou coerência com a estrutura esperada [34 b].



[34 b]

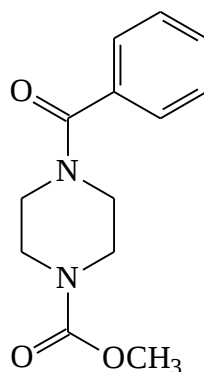
Procedimento 2

Sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética a 50 °C, adicionaram-se, a um balão bitubulado de 125 mL, 1-(metoxycarbonil)piperazina (288 mg, 2 mmol) e THF (30 mL).

Através de um funil, foi adicionada a solução de cloreto de benzoíla (0,56 mL; 4 mmol) em THF (5 mL) durante 30 minutos. Após 18 horas, a mistura reacional foi concentrada.

O sólido obtido foi solubilizado em etanol 95%, acidificando-se a solução com HCl 2 mol/L até pH 2. Posteriormente, basificou-se o meio com NaOH 2mol/L, extraiu-se com éter dietílico (3x35 mL) e concentrou-se a fase orgânica em evaporador rotatório, obtendo-se cristais brancos.

A análise dos dados espectroscópicos indicou que o composto obtido foi o [34 a], 1-benzoil-4-metoxycarbonilpiperazina (275 mg; 1,18 mmol; 59,1 %).



[34a]

Tf: 64,6 - 65,1 °C.

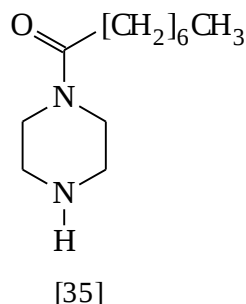
CCD: R_f = 0,50 (metanol).

IV (KBr, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3.069, 2.970, 2.924, 2.866, 1.700, 1.626, 1.438, 1.411, 1.230, 1.008, 768 e 711.

RMN de ¹H (200 MHz, CDCl₃) d: 7,30 - 7,46 (m, 5H, 5xCH aromático), 3,73 (s, 3H, COCH₃) e 3,50 (s l, 8H, 4xCH₂).

RMN de ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) d: 170,6 (COOCH_3); 159,5 (NCOPh), 135,7 ($\text{C}_{1'}$); 129,9 ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$); 128,5 ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$); 126,9 ($\text{C}_{4'}$); 52,8 (CH_3O) e 43,8 ($4\times\text{CH}_2$).

2.11. Tentativa de formação do composto 1-octanoilpiperazina [35]



Para a síntese do cloreto de octanoíla segue-se o procedimento descrito em 2.1.6.1, partindo-se do ácido octanóico (577 mg; 4 mmol) e do cloreto de tionila (0,58 mL; 8 mmol).

O cloreto de octanoíla preparado foi adicionado a um balão bitubulado (125 mL), juntamente com o dioxano (10 mL), sob atmosfera de nitrogênio e agitação magnética.

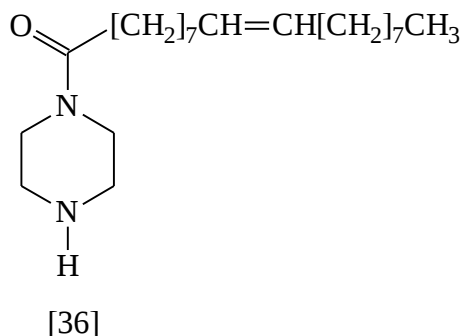
Através do funil de adição, foi adicionada 1-metoxycarbonilpiperazina (288 mg; 2 mmol) dissolvida em dioxano (20 mL), durante dez minutos.

Após quatro horas de reação, a mistura foi concentrada em evaporador rotatório. O sólido obtido foi solubilizado em etanol 95%, acidificado com HCl 2M, basificado com NaOH 2M e extraído com éter dietílico (3x30 mL).

A fase orgânica foi concentrada e obteve-se um óleo de coloração escura, que foi cromatografado em coluna de sílica-gel, usando-se metanol como eluente. Obteve-se um óleo de coloração escura, que, através da análise do seu espectro no infravermelho, pôde-se concluir que não se tratava do composto esperado.

Mais uma tentativa foi realizada, utilizando-se THF em vez de dioxano nas mesmas condições descritas. Novamente o composto 1-octanoilpiperazina [34] não foi obtido.

2.12. Tentativa de formação do composto 1-oleilpiperazina [36]



O cloreto de oleila, preparado a partir do ácido oleico (1,8 mL; 2,4 mmol), foi adicionado a um balão bitubulado de 125 mL, contendo THF (10 mL). A esta solução foi adicionada, com o auxílio de um funil, solução de 1-metoxycarbonilpiperazina (1,25 mmol; 180 mg) em THF (20 mL).

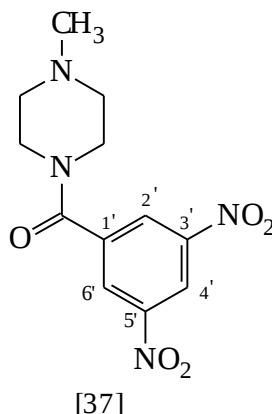
A adição durou 30 minutos e foi realizada sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura de 50 °C.

Após 24 horas de reação, concentrou-se a amostra em evaporador rotatório, solubilizou-se o sólido obtido em 5 mL de água destilada e acidificou-se o meio com solução de HCl 1:1 até pH 1. Basificou-se, em seguida, com solução aquosa de NaOH 20% (p/v) até pH 10 e extraiu-se com éter etílico (3x35 mL).

Concentrou-se a pressão reduzida e obteve-se um óleo de coloração marrom, que foi cromatografado em coluna de sílica-gel, usando-se como eluente hexano/éter dietílico (10:1). O produto principal obtido foi um óleo denso e incolor (419 mg).

A análise dos espectros no infravermelho e de RMN de ^1H e ^{13}C indicou que o composto tratava-se do oleato de 4-clorobutila [23].

2.13. Preparação do composto 1-(3,5-dinitrobenzoi)-4-metilpiperazina [37]



Sob atmosfera de nitrogênio, agitação magnética e à temperatura ambiente, adicionaram-se cloreto de 3,5-dinitrobenzoíla (10 mmol; 2,305 g) e THF (15 mL) a um balão bitubulado de 125 mL.

Por meio de um funil, acoplado ao balão, adicionou-se solução de 1-metilpiperazina (10 mmol; 1,001 g; 1,10 mL) em THF (10 mL). Formou-se imediatamente um precipitado branco, que permaneceu sob agitação magnética por mais quatro horas.

A mistura reacional foi filtrada, fornecendo um sólido branco (2,850 g). Foram dissolvidos 200 mg deste sólido em DMSO e água (1:1). A esta solução foi adicionado NaOH 2 mol/L e foram feitas extrações com DCM (5x40 mL). A fase orgânica foi seca com MgSO₄ e concentrada, fornecendo uma solução avermelhada que, mantida em repouso e sob refrigeração, levou à formação do composto esperado [37] (134 mg, 58 %), como cristais brancos.

Tf: 135,2-138,4 °C.

CCD: R_f = 0,58 (metanol).

IV (KBr, $\bar{\nu}$ /cm⁻¹): 3.090, 3.060, 3.030, 2.910, 2.850, 2.800, 1.640, 1.540, 1.520, 1.460, 1.410, 1.350, 980, 900 e 715.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) d: 2,36 (s, 3H, CH_3); 3,38 - 3,53 (s a, 4H, CH_2NCH_3); 3,75 - 3,96 (s a, 4H, CH_2NCO); 8,6 (d, 2H, $J = 2,06$ Hz, H_2' e H_6') e 9,09 (t, 1H, $J = 2,06$ Hz, H_4').

RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) d: 165,2 (CO); 148,5 ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$), 139,2 ($\text{C}_{1'}$); 127,5 ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$); 120,3 ($\text{C}_{4'}$); 47,8 (CH_2NCO) ; 45,9 (CH_3N) e 42,6 (CH_2NCH_3).

EM (IQ) m/z (%): 294 (2), 195 (3), 99 (18), 70 (100), 71 (15) e 43 (28).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

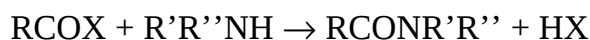
Conforme já descrito anteriormente, a atividade anti-helmíntica da piperazina sobre fitonematóides ainda não tinha sido investigada. Assim, buscou-se, nas sínteses, a produção de amidas derivadas da piperazina, avaliando a atividade nematicida das mesmas.

As reações objetivavam a produção de derivados dissustituídos (através de reação direta da piperazina com cloretos de ácido) e monossustituídos (protegendo-se inicialmente um dos grupos NH com o cloroformato de metila). Dessa forma, seria possível a obtenção de um fator de comparação para avaliar a influência dos grupos NH na atividade nematicida do composto.

Foi produzido também um derivado da 1-metilpiperazina, possibilitando, assim, a investigação da relação entre a presença de um grupo alquila ligado ao nitrogênio e a sua atividade biológica.

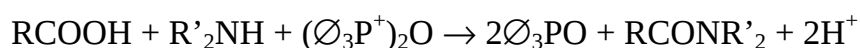
Segundo RUBINGER (1991), o estudo das amidas tem despertado grande interesse, devido tanto às suas propriedades químicas quanto à importância biológica.

Existem vários métodos de produção de amidas, porém o tratamento de haletos de acila com amônia ou aminas primárias ou secundárias é o método mais comum e de maior aplicabilidade para a preparação destes compostos.



Os haletos acilas reagem prontamente, de maneira exotérmica, com as aminas, produzindo a correspondente amida e o haleto de hidrogênio. Nestas reações, é necessário o controle da temperatura (resfriamento) ou a diluição da mistura reagente.

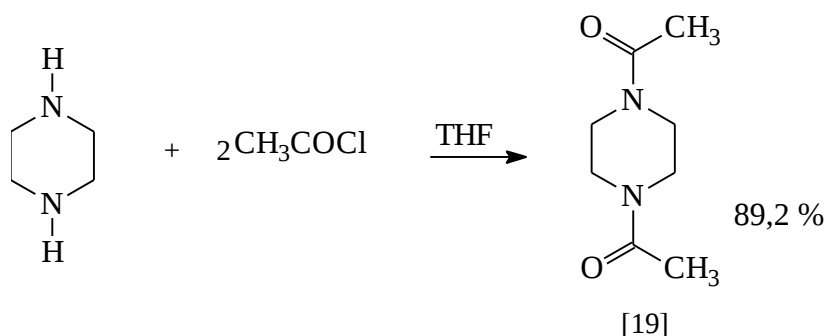
O emprego do ácido carboxílico em reações com aminas também é conhecido, e um exemplo deste tipo de reação pode ser observado no esquema a seguir (HENDRICKSON e HUSSOIN, 1989):



Tani et al., citados por RUBINGER, (1991) também produziram amidas derivadas pela reação direta de ácidos carboxílicos com aminas, em meio básico e presença de $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$. No entanto, o tempo das reações foi bastante longo, variando de 22 a 100 horas, e os rendimentos obtidos foram de 45 a 94%.

Neste trabalho foram obtidas oito amidas mono e dissustituídas derivadas da piperazina. Foram também obtidos cinco ésteres clorados advindos da clivagem do THF, utilizado como solvente, quando se tentou produzir os cloretos de ácidos através da reação do ácido carboxílico com o cloreto de tionila.

3.1. Preparo do 1,4-dietanoilpiperazina [19]



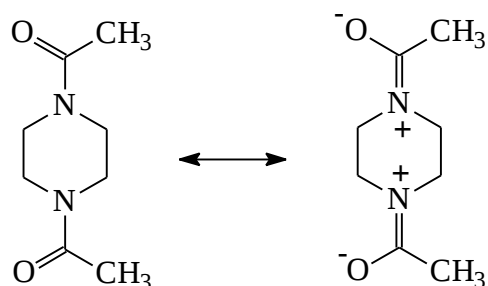
O composto 1,4-dietanoilpiperazina [19] foi sintetizado reagindo-se piperazina e cloreto de etanoíla em THF anidro, conforme indicado anteriormente.

Após a mistura dos reagentes observou-se formação imediata de um precipitado branco. Este precipitado foi dissolvido em água e, com a adição de solução de nitrato de prata, observou-se a formação de um precipitado branco, evidenciando que o composto obtido encontrava-se na forma de cloridrato.

Após a neutralização deste sal com solução de NaOH 2 mol/L, o composto [19] foi identificado através das análises de seus espectros no IV, de massas e de RMN de ^1H e ^{13}C .

Em seu espectro no infravermelho (Figura 6) observou-se o aparecimento de uma banda em 1.620 cm^{-1} , referente ao estiramento da carbonila de amida (NAKANISHI e SOLOMON, 1977; POUCHERT, 1981).

Foram observados no espectro de RMN de ^1H (Figura 7) um simpleto em δ 2,10, correspondente a 6H ($2\times\text{CH}_3\text{CO}$), e um multipeto em δ 3,52, correspondente a 8H ($4\times\text{CH}_2$), sendo esses dados coerentes com os deslocamentos químicos para estes hidrogênios (SILVERSTEIN et al., 1991; POUCHERT, 1983). Entretanto, o sinal em δ 3,52 deveria ser um simpleto, se os hidrogênios fossem equivalentes. Todavia, a ligação C-N das amidas, de acordo com a temperatura, pode apresentar caráter de dupla ligação (ABRAHAM et al., 1988), de acordo com a ressonância:



Assim, a ligação N-C=O torna-se mais rígida e, dessa forma, os grupos CH_2 não são equivalentes, levando, assim, ao multipeto observado em δ 3,52.

A diferenciação entre os grupos CH₂ do anel piperazínico pode ser evidenciada também através do espectro de RMN de ¹³C (Figura 8), onde encontram-se quatro sinais em δ 47,18; 46,88; 42,58 e 42,22. Também podem ser vistos dois sinais para os carbonos carbonílicos (δ 172,08 e 171,99) e dois sinais para os carbonos do grupo metila (δ 21,20 e 21,16), mostrando total assimetria na molécula.

No espectro de RMN de ¹H deste composto podem-se observar sinais referentes ao solvente utilizado. Estes sinais são os dois simpletos em δ 3,34 (CH₃OD) e δ 4,40 (CD₃OH) (SILVERSTEIN et al., 1991).

O espectro de massas do composto [19] (Figura 9) apresentou o sinal relativo ao íon molecular em m/z 170, conforme esperado. A seguir é apresentada uma proposta de fragmentação para alguns dos sinais observados no espectro de massas de [19].

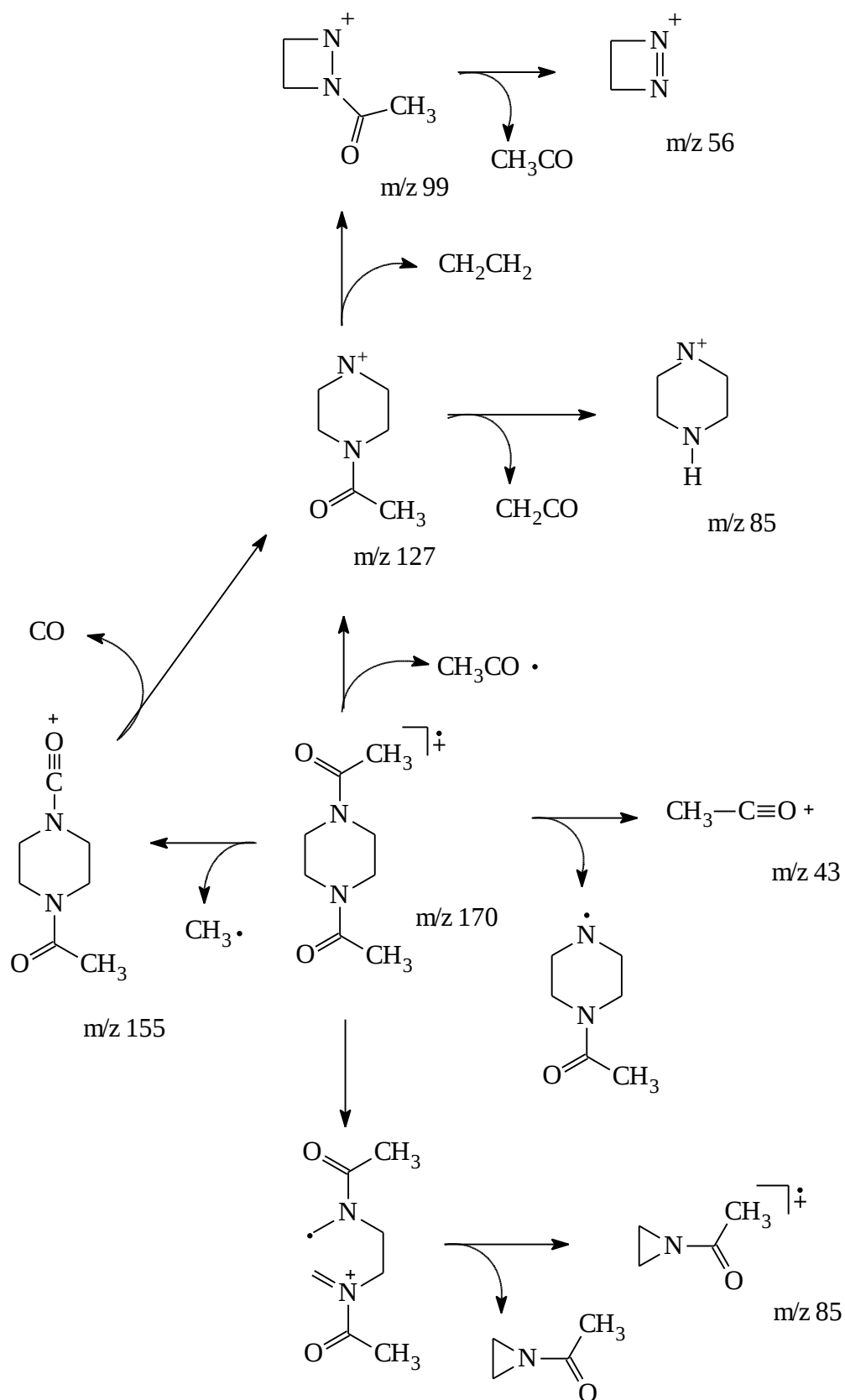


Figura 5 - Fragmentações do composto 1,4-dietanoilpiperazina [19].

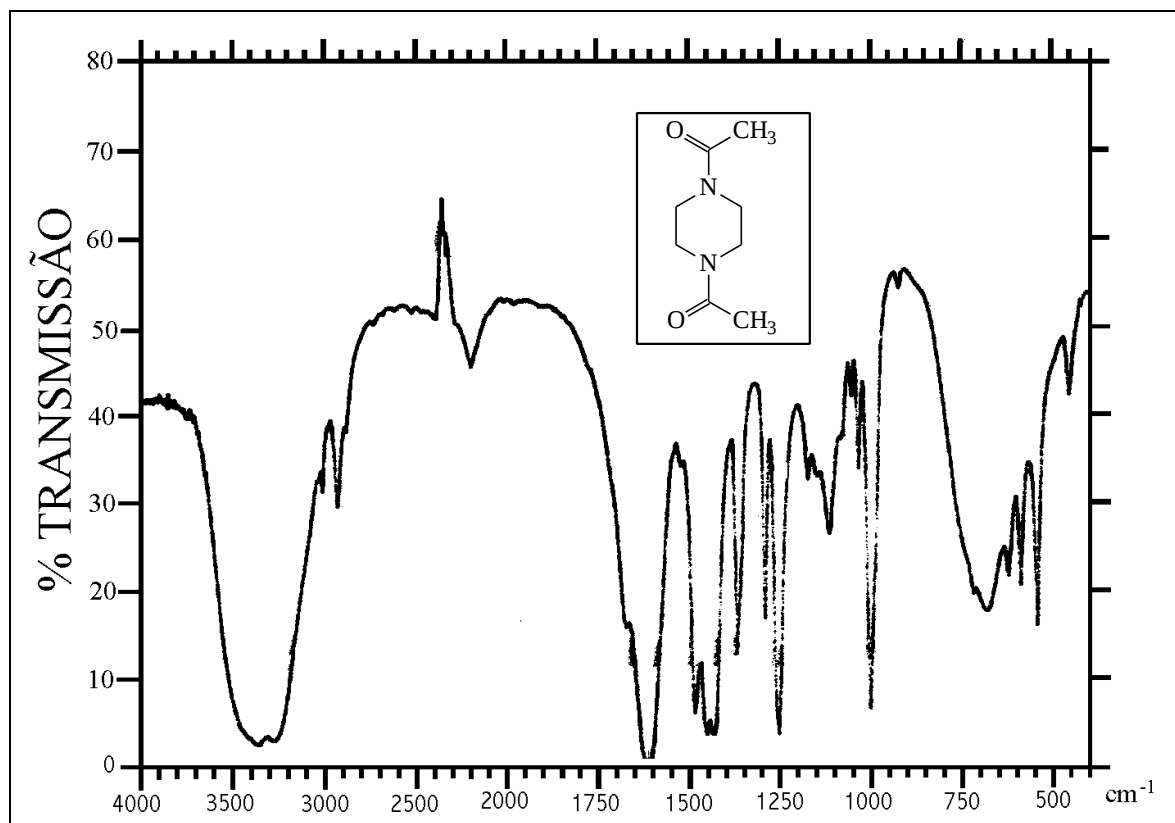


Figura 6 - Espectro no IV (KBr) do composto 1,4-dietanoilpiperazina [19].

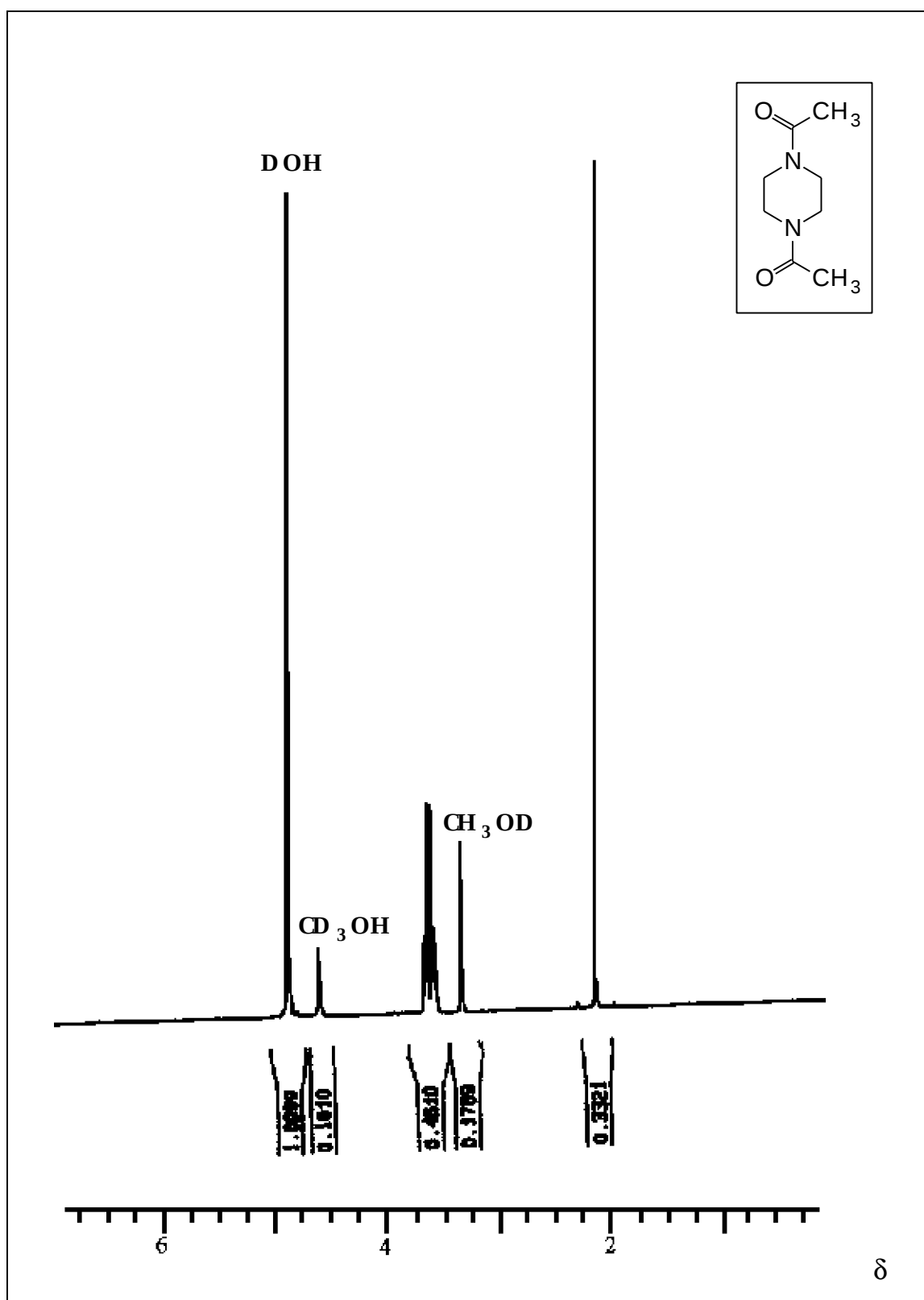


Figura 7 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CD_3OD) do composto 1,4-dietanilpiperazina [19].

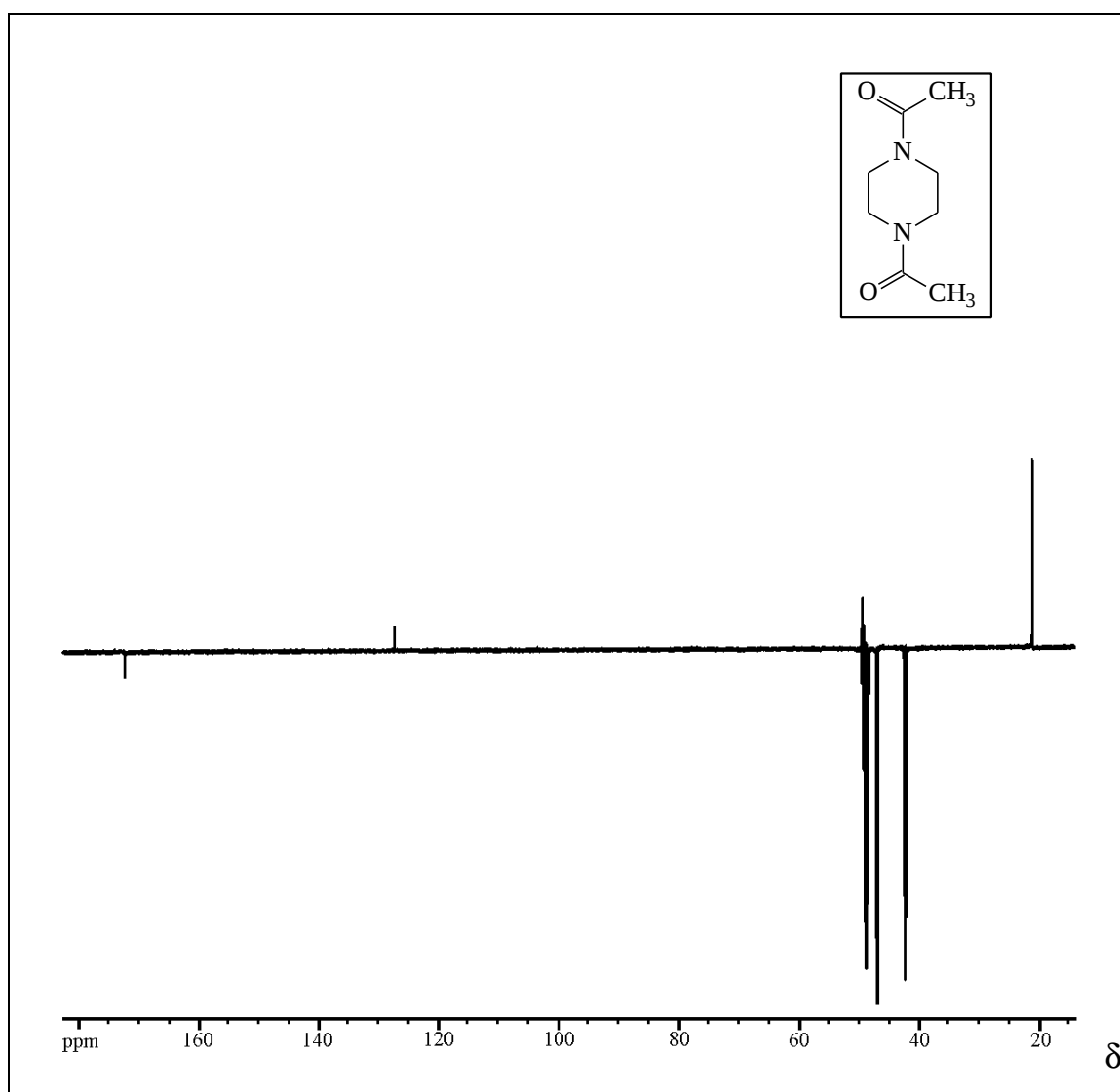


Figura 8 - Espectro de RMN de ^{13}C (PENDANT, 100 MHz, CD_3OD) do composto 1,4-dietanoilpiperazina [19].

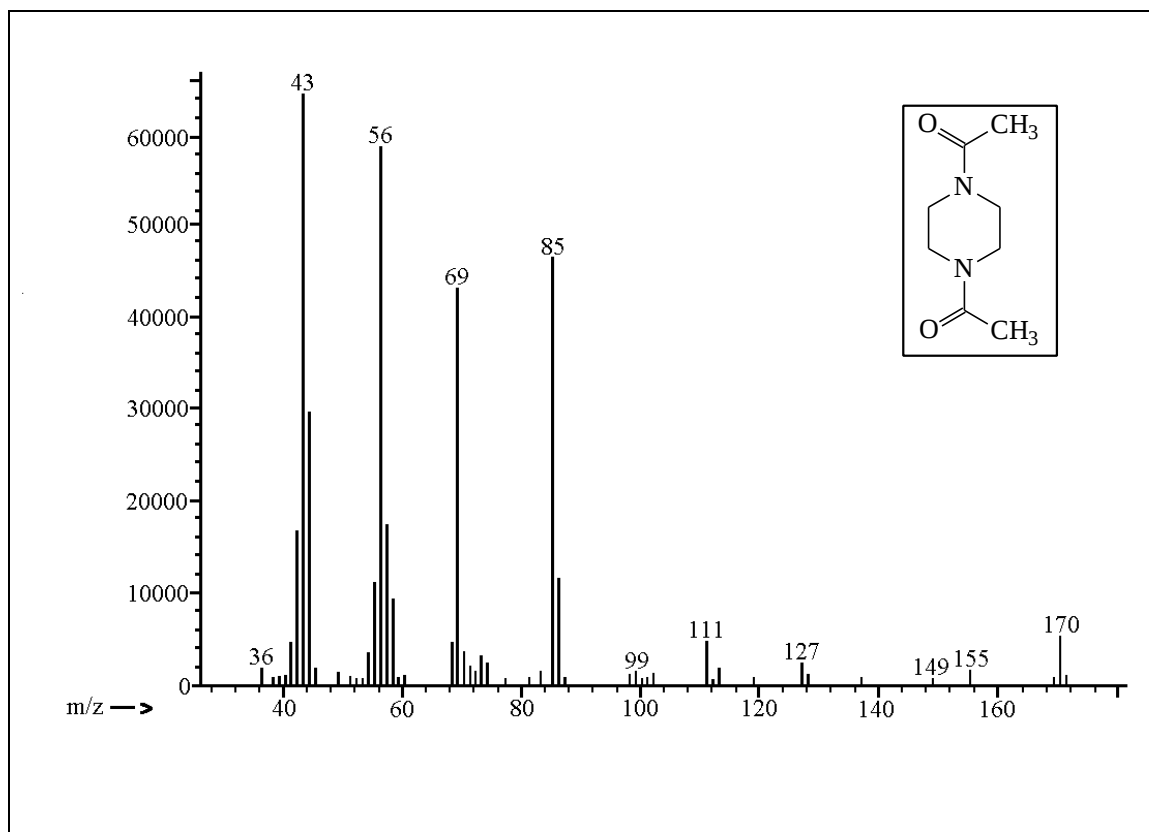
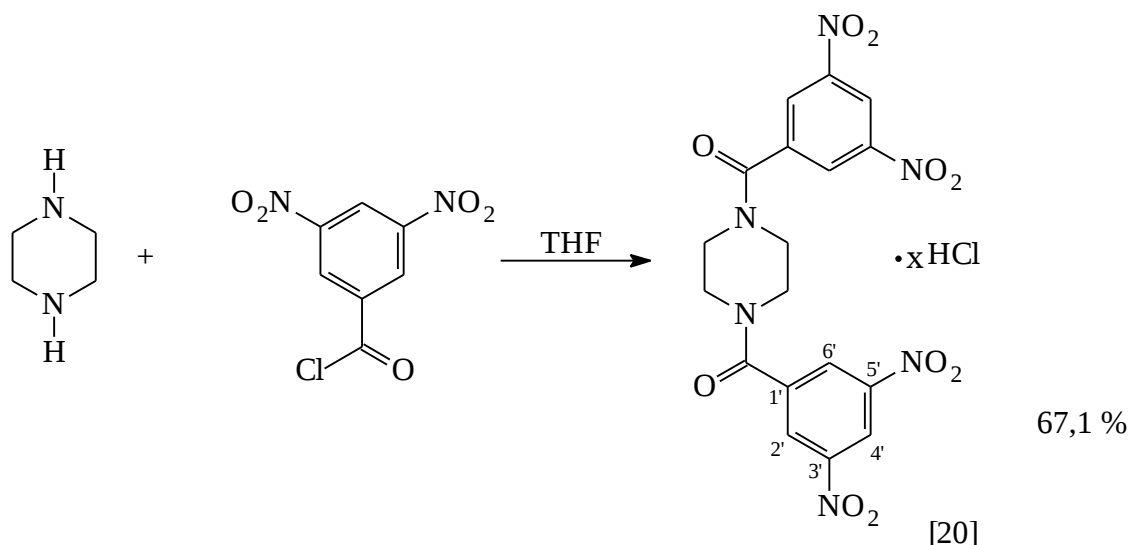


Figura 9 - Espectro de massas do composto 1,4 - dietanoilpiperazina [19].

3.2. Preparo do cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil) piperazina [20]



A piperazina e o cloreto de 3,5-dinitrobenzoíla sofreram reação em THF, conforme esquema anterior. A agitação foi mantida por 90 minutos, quando se filtrou a mistura e recolheu-se o precipitado.

O composto apresentou-se insolúvel em todos os solventes testados. Assim, não foi possível proceder-se à reação de neutralização do cloridrato, bem como obter o seu espectro de RMN de ^{13}C . Mesmo assim, foi possível dissolver uma pequena quantidade deste composto em D_2O e obter o seu espectro de RMN de ^1H .

O espectro no IV do composto [20] (Figura 10), além de apresentar as bandas características de compostos aromáticos em 3.100 cm^{-1} , apresentou absorção em 1.625 cm^{-1} (deformação axial CO de amida) e uma banda larga entre 2.700 e 2.200 cm^{-1} , devido ao grupo $^+\text{N-H}$.

O espectro de RMN de ^1H (Figura 11) apresentou um tripleto em $\delta\ 9,03$, referente a dois hidrogênios ($2\times\text{H}_{4'}$, $J = 2,25\text{ Hz}$), um duplete em $\delta\ 8,86$ integrado para 4H ($2\times\text{H}_{2'}$ e $2\times\text{H}_{6'}$, $J = 2,29$) e, finalmente, um simpleto em $\delta\ 3,36$ com área correspondente a 8H ($4\times\text{CH}_2$ anel piperazínico).

Ao contrário do observado para o composto anterior, houve equivalência entre os grupos CH_2 do anel piperazínico. Isto pode ser explicado pelo fato de o nitrogênio da amida encontrar-se protonado, dificultando a molécula em exercer a ressonância.

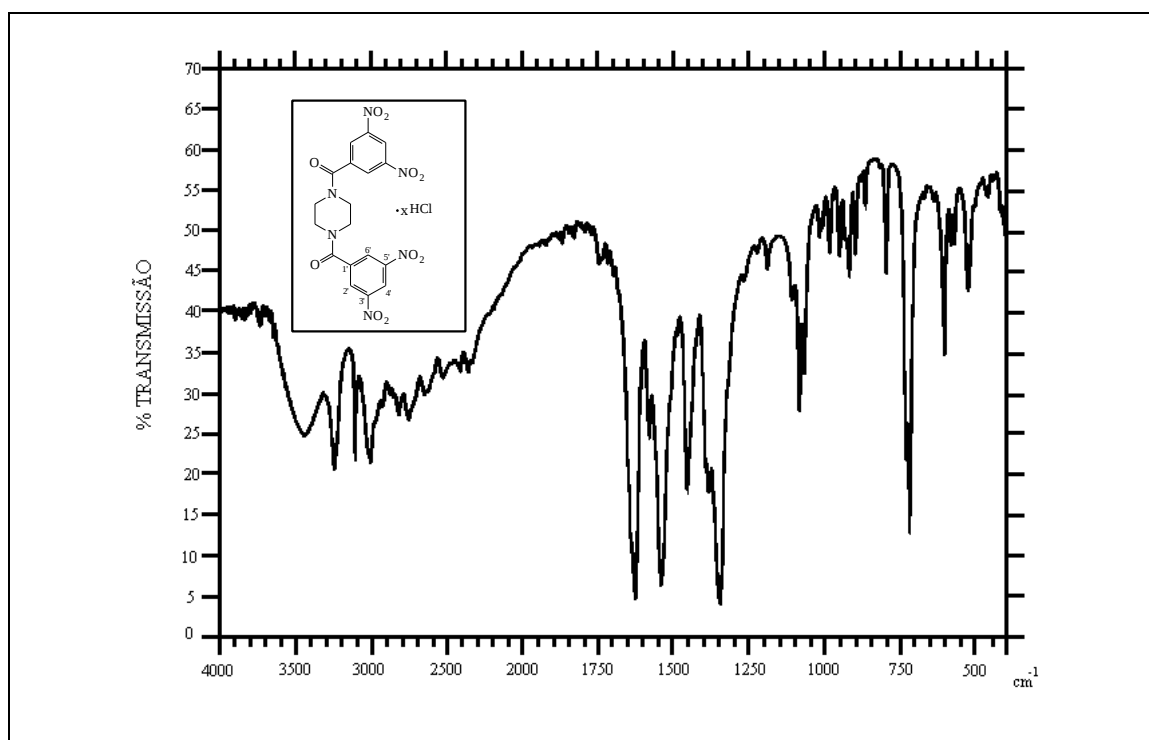


Figura 10 - Espectro no IV (KBr) do composto cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoyl)piperazina [20].

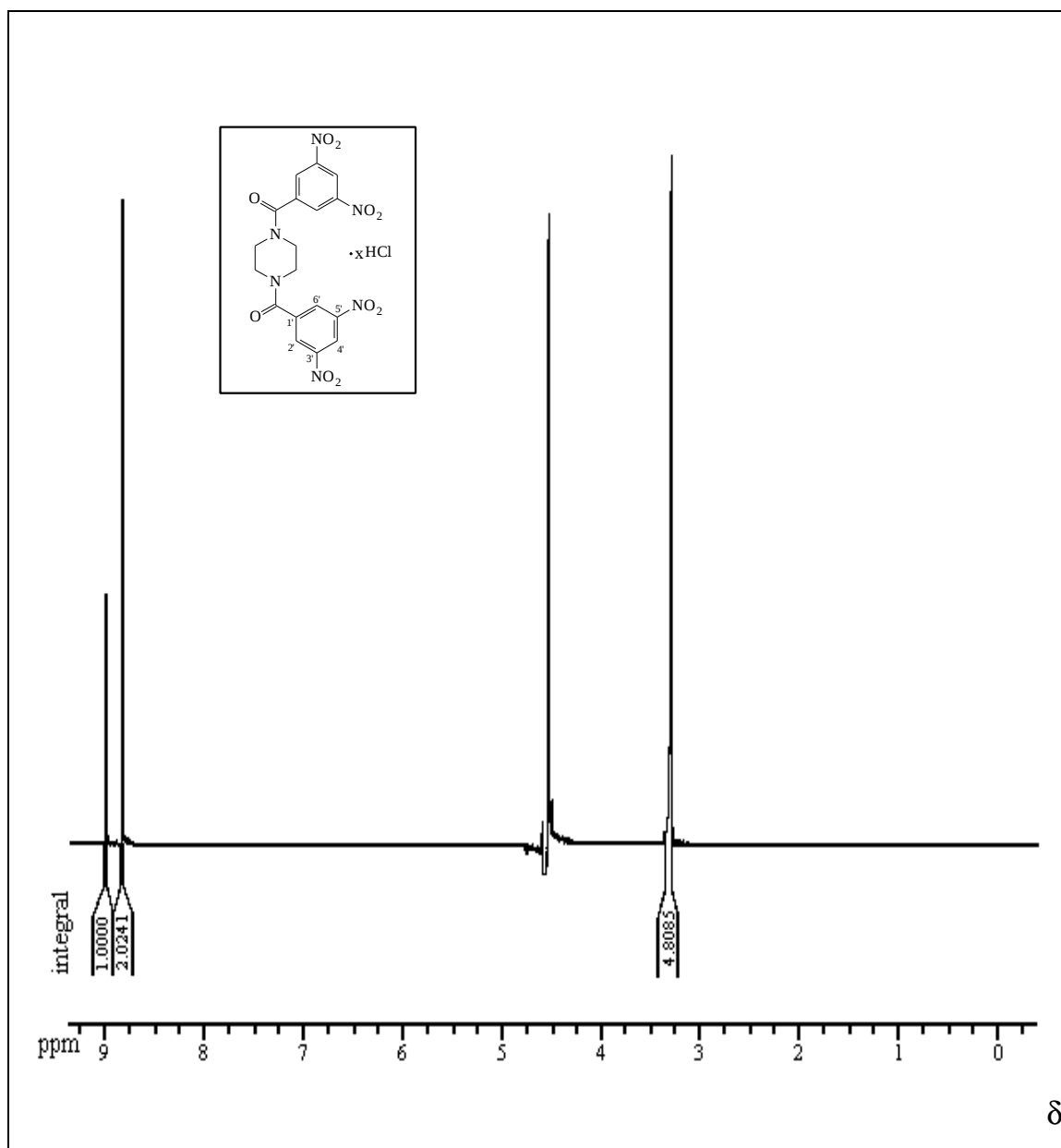
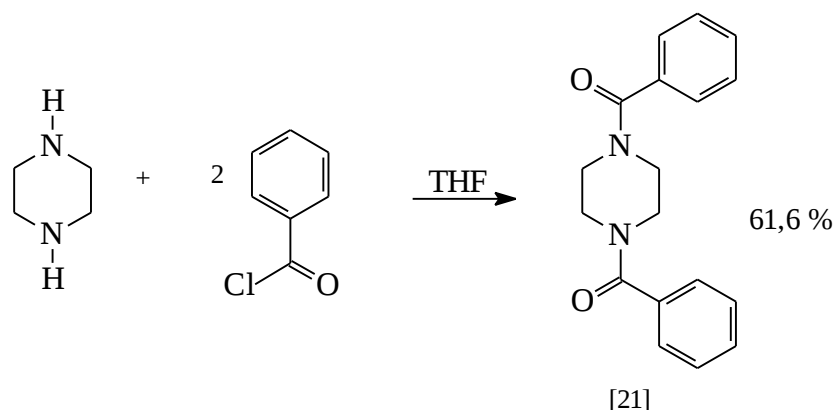


Figura 11 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, D_2O) do composto cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [20].

3.3. Preparo do 1,4-dibenzoilpiperazina [21]



A reação foi feita mediante a adição do cloreto de benzoíla à piperazina, usando-se THF como solvente.

Dissolveu-se o precipitado em metanol e água, adicionou-se NaOH ao sistema, para neutralizar o cloridrato, e extraiu-se com acetato de etila e éter etílico na proporção de 1:1, concentrando a fase orgânica.

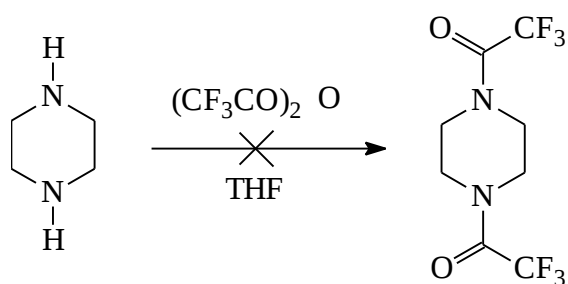
As principais bandas observadas no espectro no IV do composto 1,4-dibenzoilpiperazina [21] foram 3.100 cm^{-1} (deformação axial C-H aromático), 2.990 , 2.970 e 2.880 cm^{-1} (deformação axial C-H alifático) e 1.625 cm^{-1} (deformação axial C=O).

O espectro de RMN de ^1H a 400 MHz em dimetilsulfóxido (DMSO-d_6), do composto, apresentou um multiplete em $\delta\ 7,63\text{-}7,26$, atribuído aos dez hidrogênios dos dois anéis aromáticos, e um simpleto em $\delta\ 3,37$ integrado para 8H, atribuído aos 4 CH_2 do anel piperazínico.

O espectro de RMN de ^{13}C (100 MHz, DMSO-d_6) do composto [21] mostrou um sinal em $\delta\ 169,7$ correspondente ao carbono C=O , os sinais referentes aos carbonos aromáticos em $\delta\ 136,0$ ($\text{C}_{1'}$), $128,9$ ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$), $127,5$ ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$) e $125,8$ ($\text{C}_{4'}$) e, finalmente, quatro sinais referentes aos carbonos metilênicos do anel piperazínico em $\delta\ 40,6$; $39,7$; $39,5$ e $39,3$. Este comportamento é diferente daquele observado para o composto [20], em que os átomos de carbono do anel piperazínico mostraram-se equivalentes.

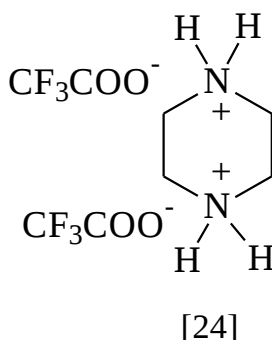
O espectro de massas apresentou o pico do íon molecular em m/z 294 e fragmentos em m/z 105 ($\text{Ph-C}^+=\text{O}$), m/z 189 ($\text{M}^+ - \text{Ph-C}=\text{O}$) compatíveis com a estrutura proposta, além dos picos em m/z 91 e 77.

3.4. Tentativa de preparo do composto 1,4-bis-(trifluoroetanoil)piperazina



Tendo como objetivo a síntese do 1,4-bis-(trifluoroetanoil)piperazina, reagiu-se piperazina e anidrido trifluoroetanóico em THF. A utilização do anidrido e não do cloreto de trifluoroetanoíla deve-se ao fato de este não ser disponível comercialmente e de a sua síntese ser bastante difícil devido à influência retiradora de elétrons do grupo trifluorometil (SOLOMONS, 1992).

O espectro no IV (Figura 12) indicou que o composto obtido não se tratava daquele desejado, uma vez que se pôde observar uma banda larga mal resolvida de 2.850 a 2.500 cm^{-1} , sugerindo a presença de íon NH_2^+ , além da banda referente à deformação axial da carbonila, em 1.670 cm^{-1} . Apesar de esta absorção observada para a carbonila ser compatível com amidas, foi descartada a possibilidade de sua formação, uma vez que o espectro de massas não apresentou o pico do íon molecular em m/z 278. No entanto, foram observados os picos m/z 86 e m/z 114, correspondentes às massas da piperazina e do ácido trifluoroetanóico, respectivamente, bem como fragmentos em m/z 69 (CF_3^+) e m/z 45 (COOH^+). Diante disso, foi proposta a estrutura a seguir:



Para confirmação, reagiu-se ácido trifluoroacético com a piperazina em proporção 1:1. Houve também a formação imediata de um precipitado branco cujo espectro no IV foi idêntico ao obtido do produto da reação entre o anidrido trifluoroacético e a piperazina.

O espectro de RMN de ^{13}C deste composto, na região de δ 0 a 160, pela técnica PENDANT, apresentou um sinal em δ 40,7, referente aos carbonos metilênicos da piperazina. Outro sinal de baixa intensidade apareceu como simpleto em δ 163,5, referente ao acoplamento vicinal do carbono do carboxilato com o flúor.

Segundo GIL e GERALDES (1987), no espectro de RMN de ^{13}C um quarteto seria esperado entre δ 110 e 120. Uma vez que os sinais deste espectro foram de baixa intensidade e o nível de ruídos foi relativamente alto, este quarteto esperado aparece como um duplete centrado em δ 116 ($J = 226 \text{ Hz}$).

O espectro de RMN de ^1H do composto [24] apresentou apenas um simpleto em δ 3,52.

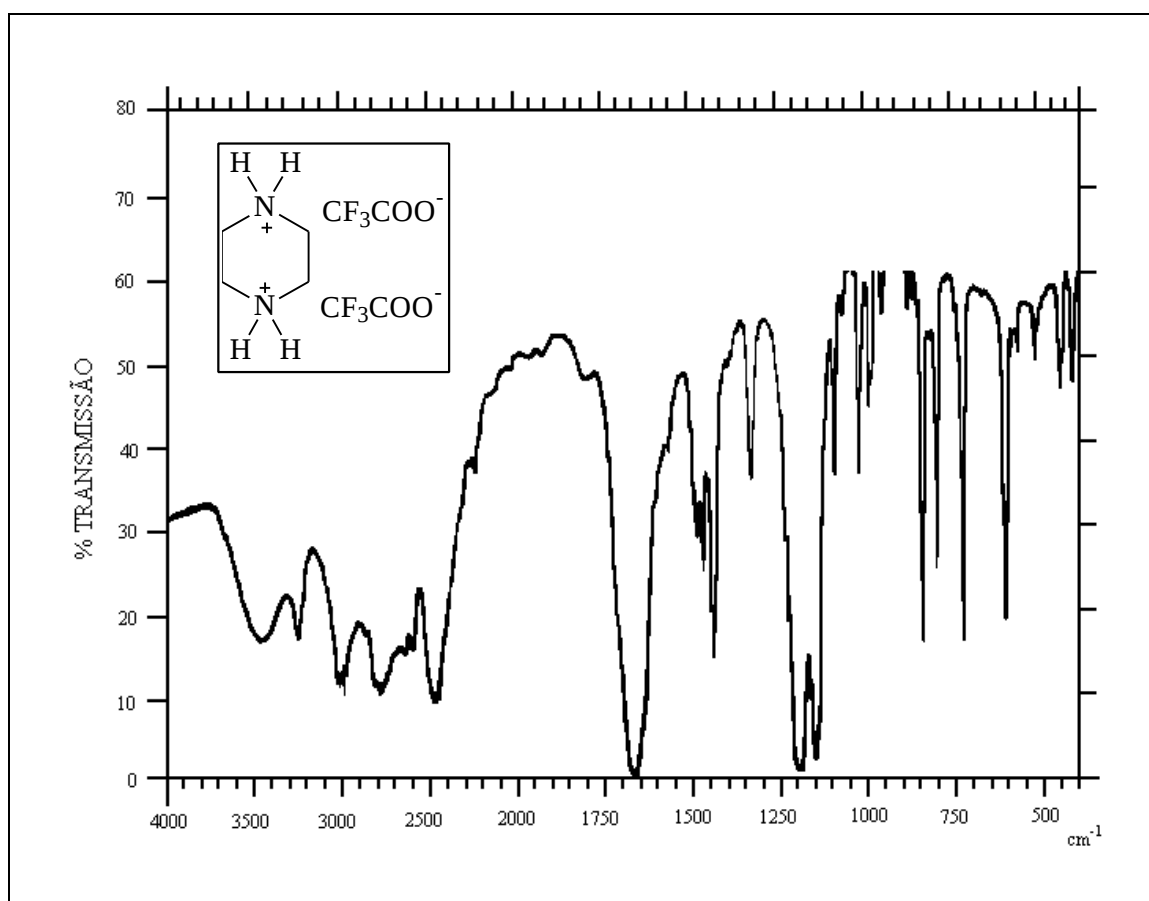
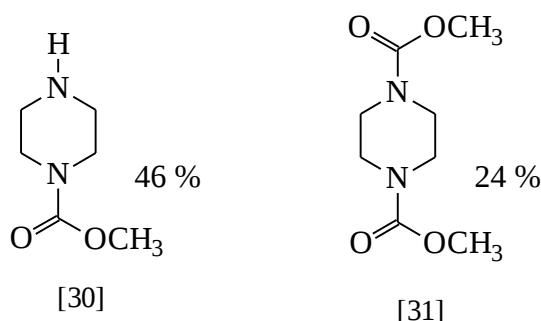


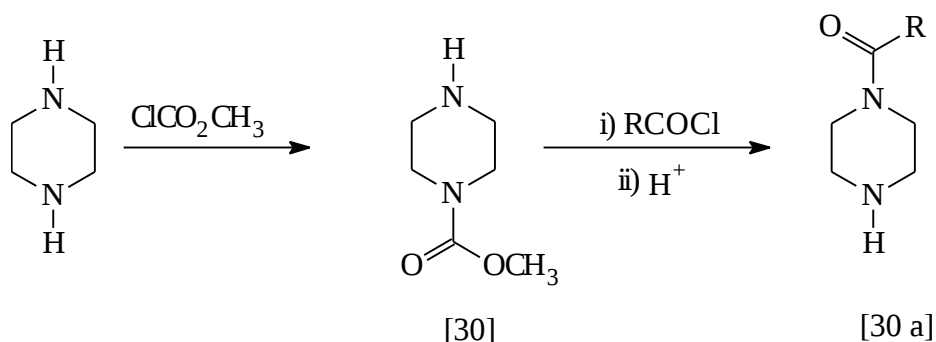
Figura 12 - Espectro no IV (KBr) do composto [24].

3.5. Preparo dos compostos 1-(metoxycarbonil)piperazina [30] e 1,4-bis-(metoxycarbonil)piperazina [31] e posteriores reações de [30] com cloretos de ácido



Estes compostos foram preparados de acordo com metodologia descrita por BALTZLY (1944).

Objetivou-se principalmente a produção do composto [30], que possui um de seus nitrogênios protegido pelo grupo metoxycarbonil, para a sua reação com cloretos de ácido, uma vez que a reação de desproteção forneceria compostos do tipo monoacilpiperazínicos [30 a].



Visando a otimização desta reação, várias tentativas foram realizadas para diminuir a quantidade de [31] produzida em relação a [30]. A metodologia que forneceu melhor resultado foi a utilização de solução bem diluída de piperazina e a adição lenta do cloroformato de metila. Neste caso, a relação entre [30] e [31] foi de 2:1.

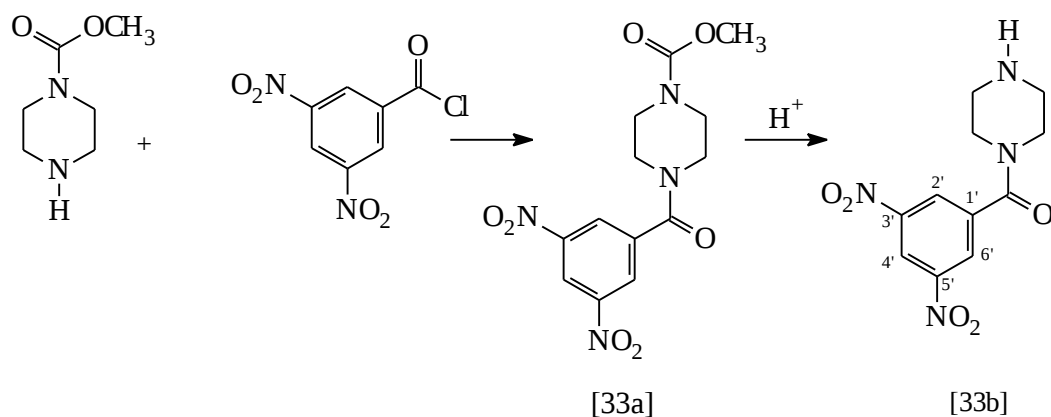
Os espectros no IV de [30] e [31] mostraram-se diferentes somente na região de 3.500 a 3.200 cm^{-1} , devido à banda de estiramento da ligação N-H (WILLIAMS e FLEMING, 1987) presente no composto [30] e ausente no composto [31].

No espectro de RMN de ^{13}C , a diferença está nos sinais referentes aos carbonos metilênicos. No espectro do composto [31] há somente um sinal em δ 44,1 devido aos quatro grupos CH_2 , mostrando uma simetria no composto. Para a substância [30] aparecem dois sinais em δ 43 e 40, demonstrando a diferença entre os carbonos metilênicos.

Em relação à RMN de ^1H , o espectro do composto [30] apresenta dois tripletos em δ 3,14 ($J = 5,3 \text{ Hz}$) e em δ 3,64 ($J = 5,3 \text{ Hz}$), cada um referente a quatro hidrogênios, enquanto o composto [31] apresenta somente um simpleto em δ 3,46, com área total referente a oito hidrogênios.

A partir da obtenção do composto [30] foram desenvolvidas as reações de obtenção dos compostos monoacilpiperazínicos do tipo [30a], de acordo com a reação descrita anteriormente.

A primeira reação testada foi entre o cloreto de 3,5-dinitrobenzoíla e o 1-(metoxycarbonil)piperazina [30], de acordo com o esquema a seguir:



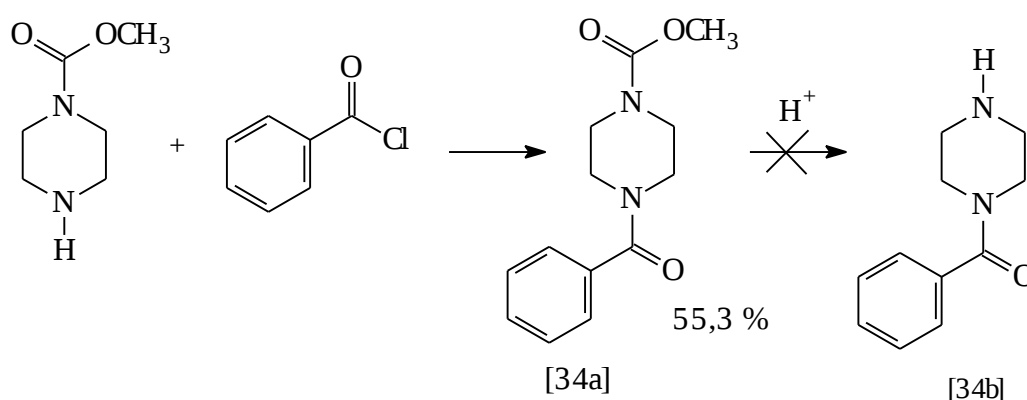
Após a tentativa de obtenção do composto [33a], foi realizada a hidrólise do grupo protetor, metoxycarbonil, com a adição de solução de ácido clorídrico 2 mol/L.

Através das análises dos espectros do produto obtido, pode-se concluir que não se tratava do composto esperado e sim do carboxilato de 3',5'-dinitrobenzoíla.

Em seu espectro de RMN de ^1H foram observados apenas um tripleto e um duplete em δ 9,00 e 8,81, respectivamente.

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou cinco sinais em δ 172, 147, 142, 129 e 121.

A mesma metodologia foi utilizada na tentativa de produção do composto [34b]. Realizada a reação, concluiu-se, pelas análises dos espectros no IV, RMN de ^1H e ^{13}C , que a estrutura do composto obtido era compatível com a substância [34a].



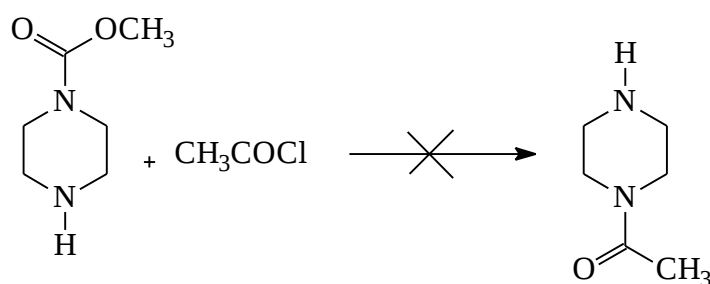
O espectro no IV do composto obtido [34a] apresentou bandas em 3069 cm^{-1} (deformação axial CH aromático), 2.970 , 2.924 e 2.866 cm^{-1} (deformação axial CH alifático) e duas bandas de carbonila, uma em 1.700 cm^{-1} (deformação axial C=O) e a outra em 1.626 cm^{-1} (deformação axial NC=O).

O espectro de RMN de ^1H do produto mostrou sinais importantes. A análise destes sinais evidenciou que se tratava do composto [34a] e não do [34b].

A maior evidência foi o simpleto em δ 3,73, atribuído aos hidrogênios da metoxila.

A confirmação da formação do composto [34a] foi também obtida pela análise de seu espectro de RMN de ^{13}C , onde aparecem dois sinais de carbonos carbonílicos em δ 170,6 (C=OCH_3) e em δ 159,5 (NCOAr). Além destes, aparece um sinal referente ao carbono da metoxila em δ 52,8.

Tendo em vista que o composto 1,4-dietanoilpiperazina havia sido facilmente sintetizado, tentou-se a reação entre o composto 1-(metoxycarbonil)piperazina [30] e o cloreto de etanoíla, visto que a comparação de seus resultados biológicos seria altamente interessante. Foram feitas três tentativas de síntese, utilizando-se as seguintes condições experimentais:



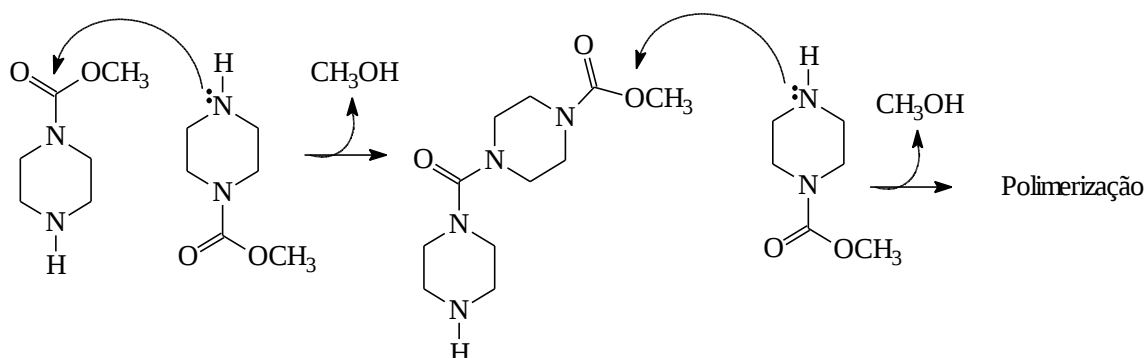
- 1) i) dioxano, 4 horas; ii) HCl 2 mol/L: óleo marrom-escuro.
- 2) i) dioxano, 6 horas; ii) HCl 2 mol/L: óleo marrom-escuro.
- 3) i) THF, 50 $^{\circ}\text{C}$, 24 horas; ii) HCl 2 mol/L: óleo incolor.

Em todos os casos, os espectros apresentaram total incoerência com o composto esperado, e em nenhum dos casos foi possível a elucidação da estrutura obtida, a qual tratava-se possivelmente de um produto de polimerização ou decomposição.

Resultados semelhantes aos descritos anteriormente foram obtidos nas reações com os ácidos oleico e octanóico.

Uma vez que polímeros derivados da piperazina são largamente descritos na literatura (BHATT et al., 1990), uma proposta para a polimerização pode ser

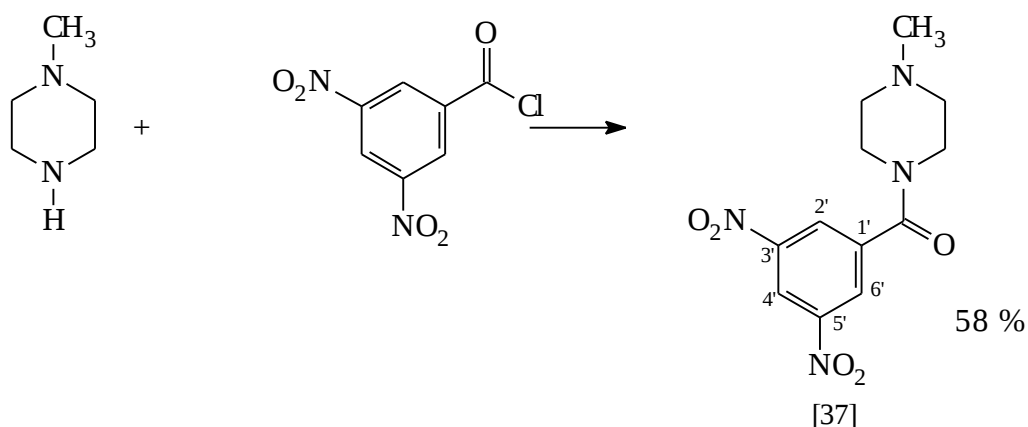
observada no esquema a seguir. Esta proposta fundamenta-se no fato de o metanol ser um bom grupo abandonador (SOLOMONS, 1992).



3.6. Reação de formação do composto 1-metil-4-(3,5-dinitrobenzoil) piperazina [37]

Paralelamente às etapas de síntese dos compostos pretendidos, realizaram-se ensaios biológicos utilizando a 1-metilpiperazina. Os testes com o nematóide *Meloidogyne incognita* mostraram, para este composto, uma porcentagem de inibição bem próxima àquela observada para a piperazina.

O composto 1-metil-4-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [39] foi sintetizado de acordo com o esquema mostrado a seguir, e a sua estrutura foi confirmada através da análise de seus espectros de massas, IV, RMN de ^1H e ^{13}C .



O espectro no IV do composto apresentou absorções em 3.090, 3.060 e 3.030 cm^{-1} (deformação axial CH aromático), 2.910, 2.850 e 2.800 cm^{-1} (deformação axial CH alifático) e em 1.640 cm^{-1} (deformação axial CO).

O espectro de RMN de ^1H apresentou dois simpletos alargados em δ 3,64 ($2\times\text{CH}_2\text{NCH}_3$) e 3,85 ($2\times\text{CH}_2\text{NCO}$ vizinhos a carbonila), um simpleto em δ 2,36 (NCH_3), além de um duplete em δ 8,80 ($\text{H}_{2'}$ e $\text{H}_{6'}$) e um tripleto em δ 9,09 ($\text{H}_{4'}$).

O espectro de RMN de ^{13}C apresentou sinais em δ 165,2 (CO), δ 139,2 ($\text{C}_{1'}$), δ 127,5 ($\text{C}_{4'}$), δ 125,9 ($\text{C}_{3'}$ e $\text{C}_{5'}$), δ 120,3 ($\text{C}_{2'}$ e $\text{C}_{6'}$), δ 42,6 (CH_2NCH_3), δ 47,8 (CH_2NCO) e δ 45,9 (CH_3N).

O espectro de massas apresentou o sinal em m/z 294 referente ao íon molecular, além de fragmentos compatíveis com a estrutura proposta [37], conforme mostrado a seguir.

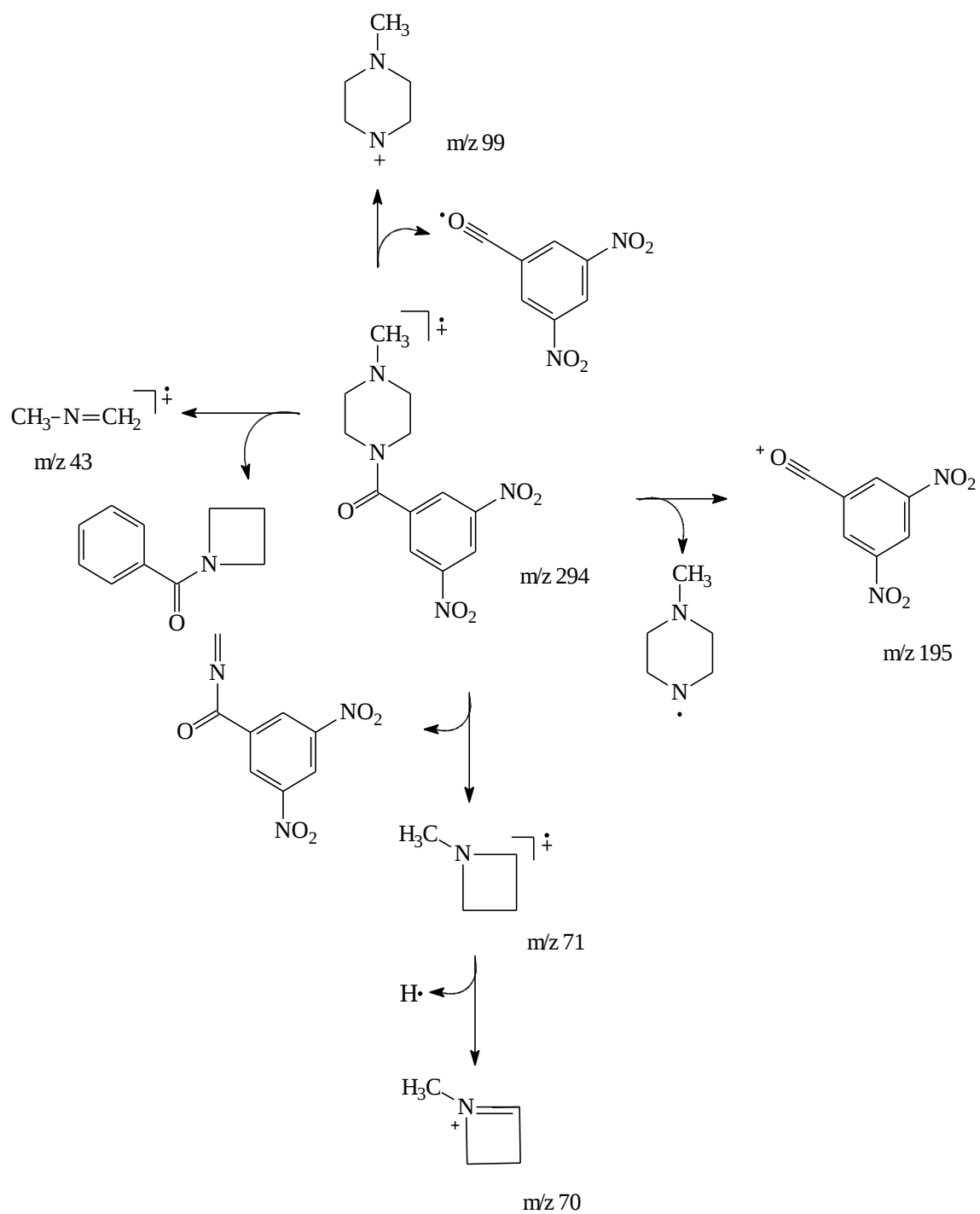
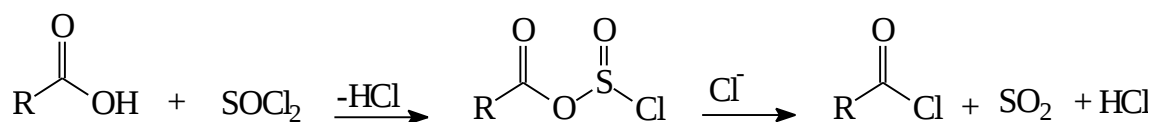


Figura 13 - Fragmentações do composto 1-metil-4-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [37].

3.7. Tentativa de reação dos compostos derivados de ácidos carboxílicos com a piperazina

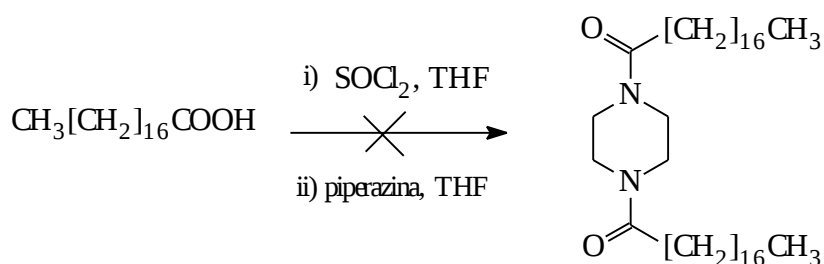
Uma vez que alguns cloretos de ácido necessários em algumas reações com a piperazina não se encontravam disponíveis, foram necessárias as suas sínteses.

O método mais utilizado na síntese cloretos de ácido é baseado na reação do ácido carboxílico com o cloreto de tionila (MARCH, 1992). O mecanismo envolve a formação de um intermediário cloro sulfito, que posteriormente é transformado no cloreto de ácido, segundo o esquema a seguir:



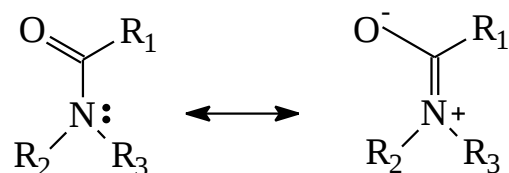
Conforme pode ser observado, os subprodutos formados são gasosos, tornando essa reação altamente vantajosa, uma vez que o isolamento do produto principal é grandemente facilitado.

Na tentativa de síntese do composto 1,4-diestearoilpiperazina, foi seguido o esquema reacional a seguir, porém não foi obtido o produto desejado.



O espectro no IV obtido para o produto da reação (Figura 14) mostrou absorção em 1740 cm^{-1} , o que não está de acordo com os valores esperados ($1.680 - 1.620\text{ cm}^{-1}$) para a absorção do grupo C=O em amidas (SILVERSTEIN

et al., 1991). O fator que faz com que a absorção da carbonila ocorra em frequência mais baixa é o efeito da ressonância, conforme representação a seguir:

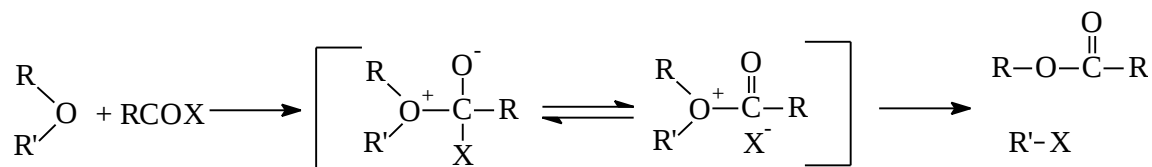


Neste caso em questão, para a carbonila de amida apresentar uma absorção em frequência tão alta, o grupo substituinte deveria provocar uma conformação na molécula que impossibilitasse a ressonância. Assim, a dupla ligação C=O não apresentaria caráter parcial de ligação simples; porém, nada que justificasse tal hipótese foi encontrado na literatura.

Outro fato contraditório à formação da amida foi um sinal no espectro de RMN de ^{13}C (Figura 16) em δ 63,35, completamente incoerente com a estrutura da amida desejada. Além disso, este mesmo espectro mostrou um sinal em δ 173,9, para o carbono carbonílico, que está acima do valor esperado, δ 169 (SILVERSTEIN et al., 1991).

Em pesquisa literária, foi possível observar, em BHATT e KULKARNI (1983), que reações de clivagem de éteres cíclicos e acíclicos são bem documentadas e que vários métodos foram desenvolvidos para esse propósito.

KOTSUKI et al. (1988) descrevem o mecanismo para este tipo de clivagem, conforme pode ser observado no esquema a seguir:



Através de dados literários que afirmavam que tanto temperaturas superiores a 70 °C quanto ácidos de Lewis facilitam a clivagem de éteres (GUIDON et al., 1983; EDWARD et al., 1955), pode-se concluir que o THF

utilizado como solvente reagiu com os cloretos de ácido formados, produzindo-se, então, os ésteres correspondentes.

A análise do espectro de RMN de ^1H (Figura 15 e Quadro 2) permitiu confirmar que realmente o composto obtido tratava-se de um éster, uma vez que os seus valores são completamente coerentes com a estrutura proposta [22] (SILVERSTEIN et al., 1991; POUCHERT, 1983).



[22]

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura16) apresentou sinais em δ 173,88 (CO); 63,35 (C-O); 44,46 (C-Cl); 34,35 (CH_2CO); 31,94; 29,88; 29,71; 29,66; 29,61; 29,57; 29,55; 29,53; 29,48; 29,42; 29,37; 29,27; 29,21; 29,18 (17x CH_2) e, finalmente, 14,12 (CH_3).

Quadro 2 - Dados de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) para o composto [22]

d	mult.	nº de H	atrib.	J (Hz)
4,10	t	2	O- CH_2	6,10
3,57	t	2	Cl- CH_2	6,10
2,29	t	2	$\text{CH}_2\text{C}=\text{O}$	7,50
1,87 - 1,77	m	4	2x CH_2	---
1,61	t	2	CH_2	7,23
1,20 - 1,35	m	30	15x CH_2	---
0,88	t	3	CH_3	6,6

Figura 14 - Espectro no IV (KBr) do composto [22].

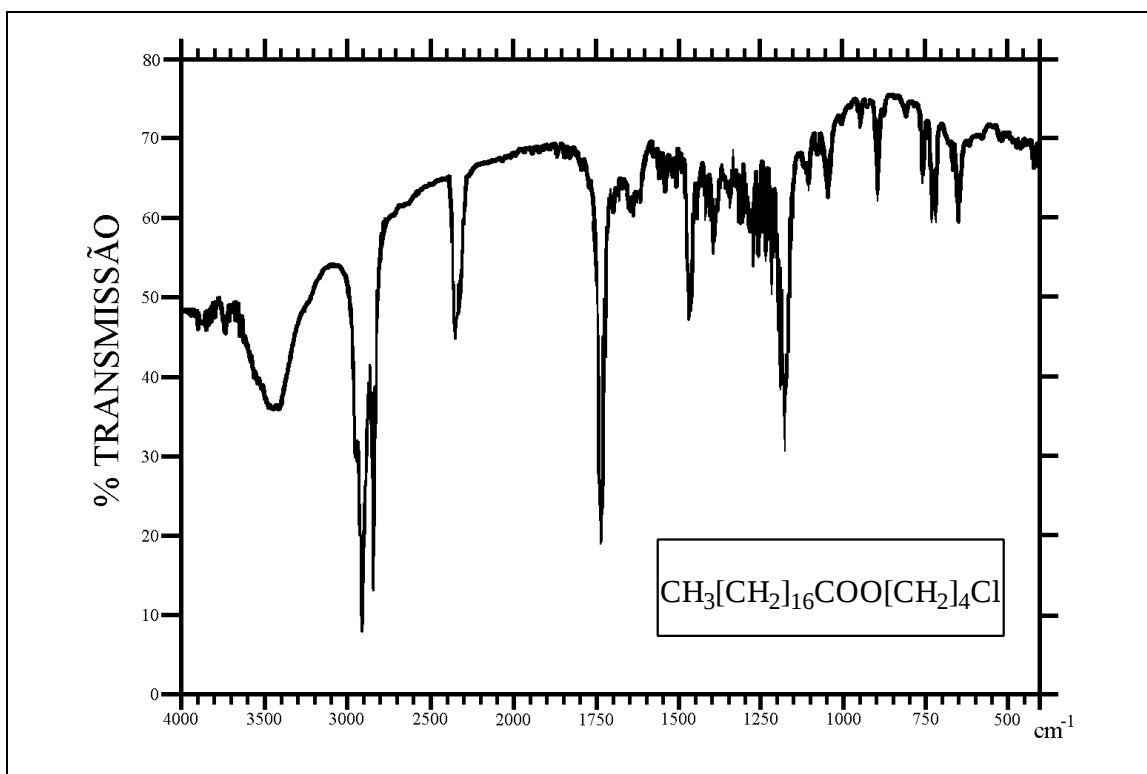


Figura 14 - Espectro no IV (KBr) do composto [22].

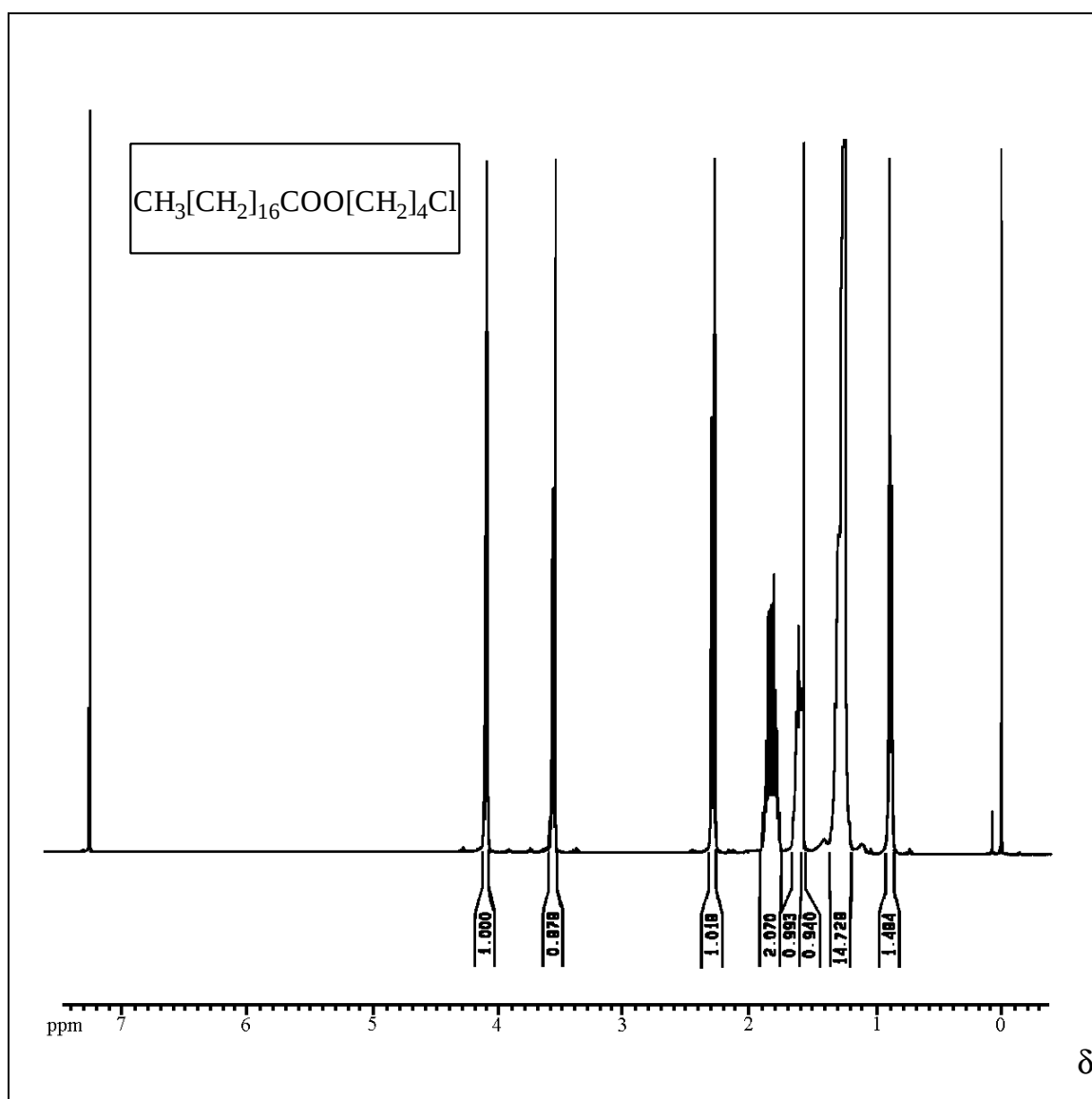


Figura 15 - Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do composto [22].

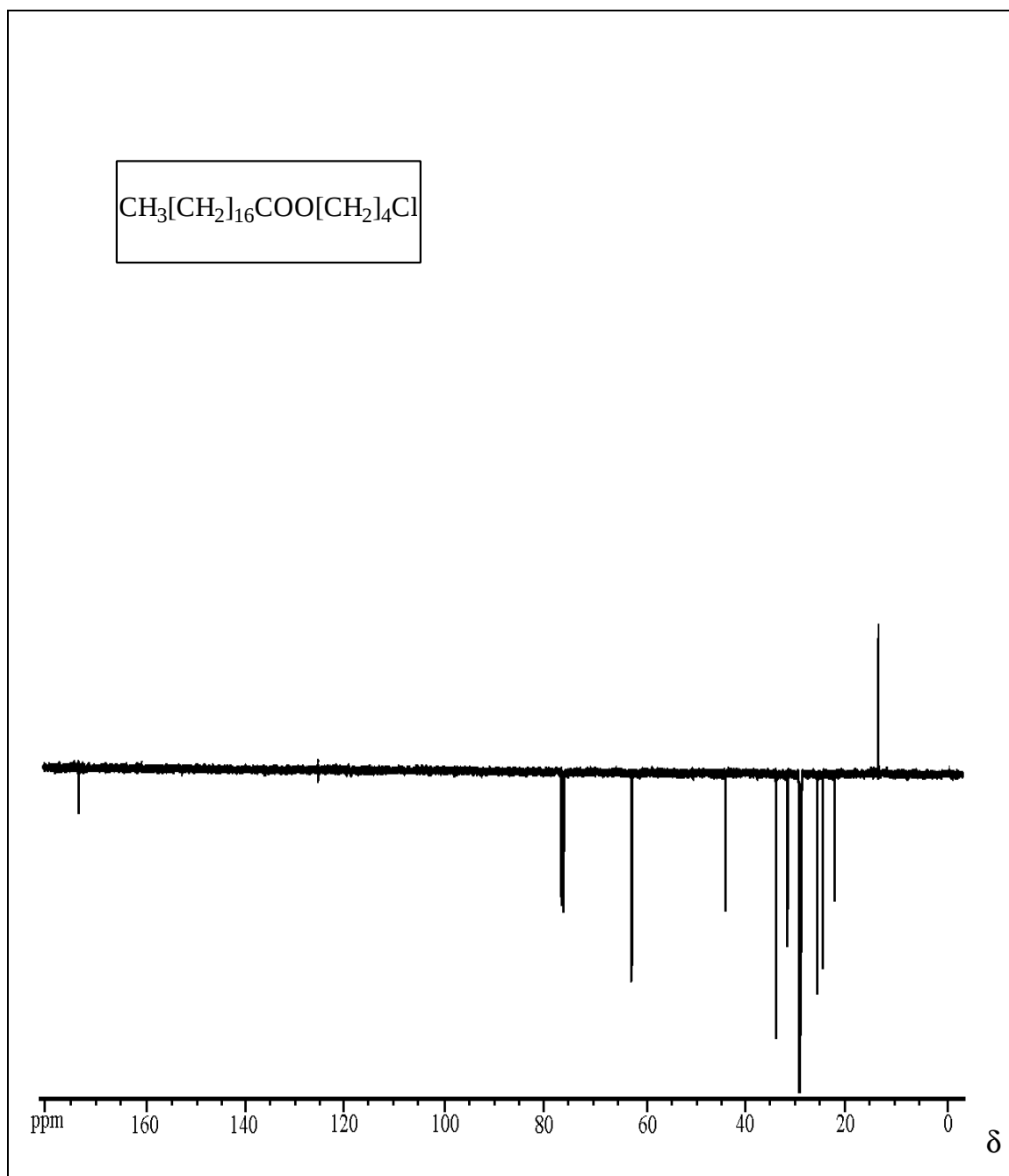


Figura 16 - Espectro de RMN de ^{13}C (PENDANT, 100 MHz, CDCl_3) do composto [22].

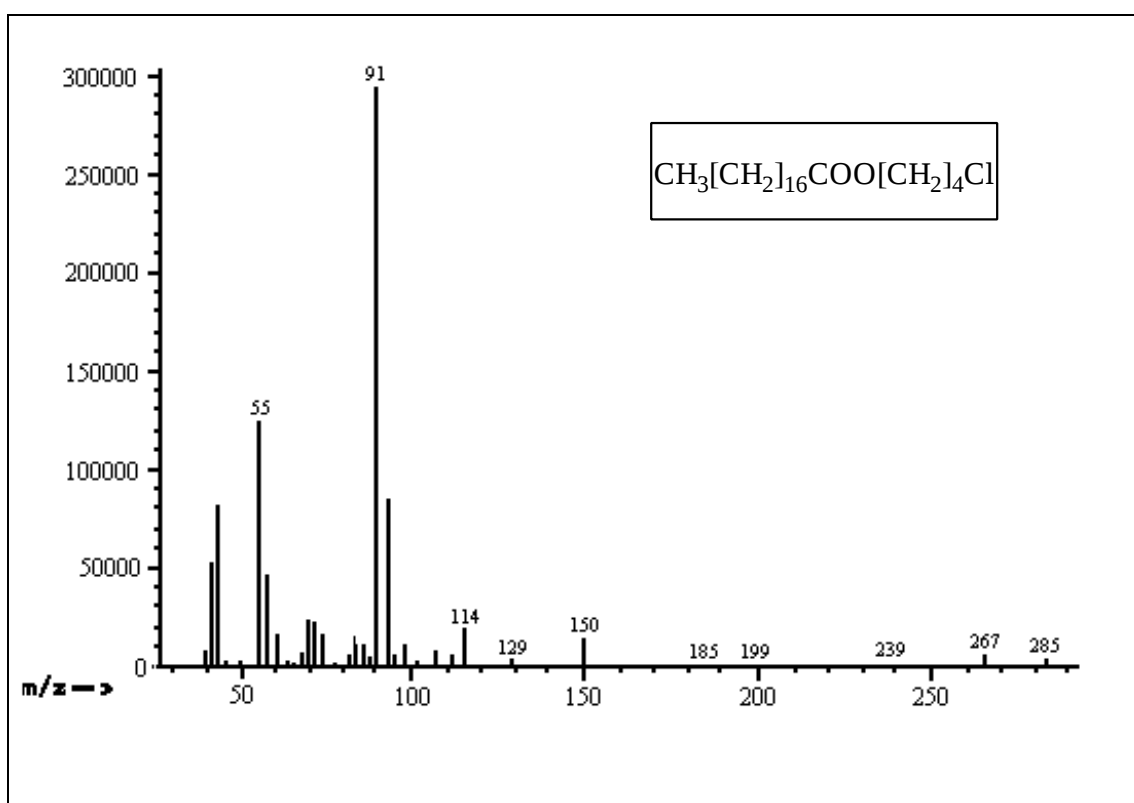


Figura 17 - Espectro de massas do composto [22].

A mesma metodologia descrita anteriormente foi utilizada nas reações com os ácidos cinâmico, hexadecanóico, oleico e octanóico, para a produção dos compostos [27], [38], [23] e [25], respectivamente. A análise dos espectros de massas, IV, RMN de ^1H e ^{13}C também evidenciaram a produção dos ésteres. Os principais dados dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C encontram-se dispostos no Quadro 3.

Conforme pôde-se observar, os dados espectroscópicos apresentam total coerência entre si, indicando, novamente, que todos estes compostos pertencem à mesma classe.

Quadro 3 - Alguns dados de RMN de ^1H e ^{13}C dos ésteres [23], [25], [27] e [38]

	RMN de ^1H			RMN de ^{13}C		
	(d)			(d)		
éster	$\text{CH}_2\text{-Cl}$	$\text{CH}_2\text{-O}$	$\text{CH}_2\text{-CO}$	C-O	C=O	C-Cl
[23]	3,36	4,10	2,29	63,02	173,77	44,91
[25]	3,58	4,11	2,30	63,20	173,78	44,87
[27]	3,60	4,24	---	63,67	166,93	44,98
[38]	3,53	4,07	2,25	63,30	173,82	44,46

4. CONCLUSÕES

Foram sintetizadas sete amidas, sendo seis derivadas da piperazina e uma da metilpiperazina, utilizando diferentes cloretos de acila como agentes acilantes.

Foram também obtidos cinco ésteres, advindos de reações entre cloretos de ácidos com o THF, resultado da clivagem deste éter cíclico, além do trifluoroacetato de piperazina.

Todos estes compostos, além da piperazina, 1-metilpiperazina, 1-fenilpiperazina e os ácidos propanóico, octanóico, esteárico, cinâmico, gálico e oleico, foram submetidos a testes de avaliação de atividade biológica diante dos nematóides *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*, conforme será apresentado no Capítulo 2.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEMATICIDA DE AMIDAS E ÉSTERES

1. INTRODUÇÃO

Diversos métodos são utilizados para controlar as populações de fitonematóides. Os mais comuns são o controle biológico, a rotação de culturas e o controle químico (LORDELLO, 1988).

Não há dúvidas de que o controle biológico e a rotação de culturas são os melhores métodos de controle, levando-se em consideração o equilíbrio ecológico. No entanto, lança-se mão do controle químico para se ter uma resposta em curto espaço de tempo. Antes de um determinado composto ser comercializado como nematicida ele passa por vários testes. Para isso, existem diversos tipos de ensaios biológicos, a fim de que sua eficiência seja comprovada.

Neste trabalho foi utilizada a metodologia do tubo invertido (TSAI et al., 1991), buscando-se avaliar, de modo preliminar, o potencial de atividade nematicida dos novos compostos sintetizados e descritos no Capítulo 1. Também foram submetidos ao mesmo ensaio os ácidos orgânicos utilizados nas sínteses.

Os testes foram realizados com os nematóides *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*; a escolha destas duas espécies foi devido à sua ampla distribuição geográfica e ao fato de serem organismos que atacam culturas de grande importância econômica.

Os compostos foram sintetizados no Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA) do Departamento de Química da UFV, onde são desenvolvidas pesquisas para a descoberta de novos agroquímicos, sintéticos ou isolados de plantas, que tenham atividade pesticida. Os compostos sintetizados foram remetidos ao Departamento de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, onde foram realizados os ensaios de verificação da atividade nematicida.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção de juvenis de 2º estágio dos nematóides estudados

O nematóide *Meloidogyne incognita* foi multiplicado em tomateiro “Santa Cruz”, sob condições de casa de vegetação. O sistema radicular foi separado da parte aérea do tomateiro. As raízes foram fragmentadas em pedaços e trituradas em liquidificador, contendo solução de hipoclorito de sódio a 0,5% na quantidade suficiente para cobrir as raízes. A suspensão obtida foi vertida em duas peneiras sobrepostas, sendo utilizadas as de 200 mesh e de 500 mesh. Os ovos do nematóide ficaram retidos na peneira de 500 mesh e, com o auxílio de uma piseta com água, foram recolhidos para o béquer.

A suspensão de ovos foi vertida em peneira de chá contendo papel-filtro do tipo Whatman, cuja finalidade foi de reter os ovos. A peneira foi colocada em um funil de plástico com água, cuja extremidade inferior apresentava-se com uma mangueira de látex e com um tubo de vidro de anestesia acoplado. Os juvenis que atravessaram o papel-filtro depositaram-se no fundo do tubo de anestesia. Os juvenis de 2º estágio obtidos nas primeiras 48 horas foram descartados, e os obtidos nas 24 horas seguintes foram utilizados no ensaio.

O nematóide *Heterodera glycines* foi multiplicado em plantas de soja sob condições de casa de vegetação. As raízes coletadas foram levadas abaixo de uma torneira de pia e acima de duas peneiras sobrepostas (20 mesh e 100 mesh). As raízes foram lavadas e alisadas, para a remoção das fêmeas, que passaram pela peneira de 20 mesh e ficaram retidas na de 100 mesh. As fêmeas obtidas foram recolhidas para uma parte desta peneira e amassadas com o auxílio do fundo do tubo de ensaio, para a liberação dos ovos. Jatos de água possibilitaram a passagem dos ovos para a peneira de 500 mesh, que, no momento do esmagamento das fêmeas, foi colocada abaixo da de 100 mesh. Os ovos foram recolhidos com o auxílio de uma piseta com água, e a suspensão resultante foi vertida em peneira de chá contendo papel-filtro do tipo Whatman, conforme descrito anteriormente.

2.2. Ensaio biológico

Para a realização dos ensaios biológicos da atividade nematicida “in vitro”, dois métodos podem ser utilizados: ensaios em placas de incubação (NOGUEIRA, 1994) e o ensaio do tubo invertido (TSAI et al., 1991). Neste trabalho foi utilizada a segunda metodologia, que fornece a porcentagem de mortalidade causada por cada amostra, em relação ao branco. A escolha deste método deve-se, principalmente, à maior rapidez em sua realização.

Para isso, as amostras utilizadas neste ensaio biológico foram solubilizadas em metanol ou DMSO, de modo que a concentração de cada uma fosse de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Destas soluções, foi retirado 0,1 mL e transferido para tubos de ensaio que continham 1,9 mL da solução a 0,1% do detergente Tween 20. Em seguida, foram adicionados 0,5 mL de suspensão aquosa, contendo aproximadamente 400 juvenis de 2º estágio dos nematóides estudados em cada tubo.

Os tubos foram selados com lenço de papel facial e incubados no escuro por 48 horas, a 26 °C. Ao término deste período, os tubos foram invertidos em

placa de Petri contendo 5 mL de solução do antibiótico sulfato de estreptomicina a $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, e, novamente, os tubos foram incubados por 48 horas a 26°C , também no escuro. Ao final deste período de tempo foi realizada a contagem dos nematóides existentes em cada placa de Petri, com o auxílio de microscópio. Por este método, os nematóides visualizados foram considerados vivos. Para cada ensaio foram realizadas seis repetições para cada amostra e para o controle (branco), utilizando-se somente o solvente (metanol ou DMSO).

2.3. Atividade nematicida

A atividade nematicida de cada amostra foi expressa em porcentagem de mortalidade, pela seguinte equação:

$$\text{Mortalidade (\%)} = [(B - A) / B] \times 100$$

B = média do número de nematóides vivos no branco; e

A = média do número de nematóides vivos nas amostras.

Uma ilustração do processo completo do ensaio com tubo invertido pode ser observada na Figura 1 (BARCELOS, 1997).

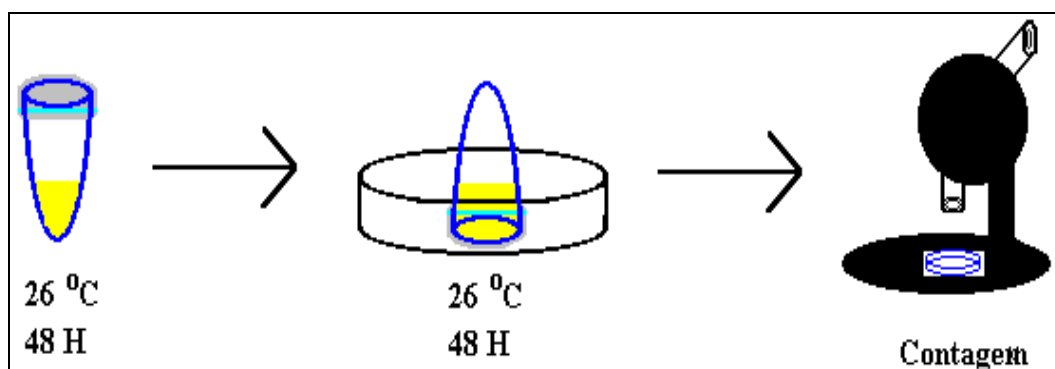


Figura 1 - Esquema da montagem utilizada no ensaio do tubo invertido.

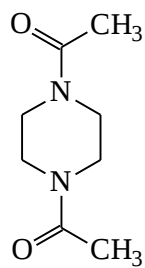
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta etapa do trabalho, objetivou-se testar a atividade das seguintes amidas e ésteres: 1,4-dietanoilpiperazina [19], cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [20], 1,4-dibenzoilpiperazina [21], 1-metoxycarbonilpiperazina [30], 1,4-dimetoxycarbonil [31], 1-metoxycarbonil-4-benzoilpiperazina [34], 1-metil-4-(3',5'-dinitrobenzoil)piperazina [39], octadecanoato de 4-clorobutílica [22], oleato de 4-clorobutílica [23], octanoato de 4-clorobutílica [25], cinamoato de 4-clorobutílica [27] e hexadecanoato de 4-clorobutílica [38].

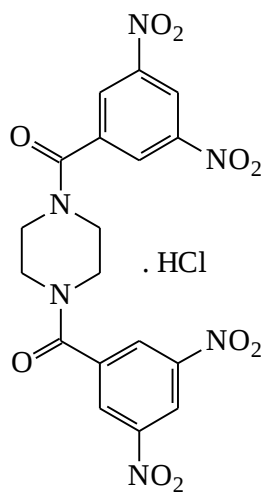
Foi determinada também a atividade nematicida dos ácidos octanóico, esteárico, cinâmico, gálico, oleico e propanóico, da piperazina, 1-metilpiperazina e 1-fenilpiperazina e do trifluoroetanoato de piperazina [24].

Todos os ensaios foram realizados com as amostras a uma concentração de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$, e os resultados obtidos encontram-se no Quadro 1 e nas Figuras 2 e 3.

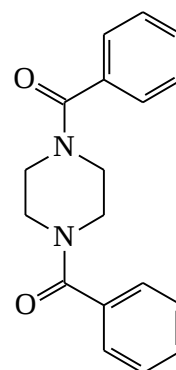
As estruturas dos compostos testados encontram-se a seguir.



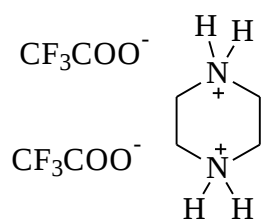
[19]



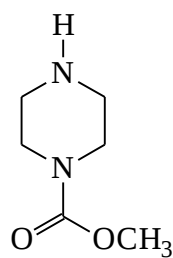
[20]



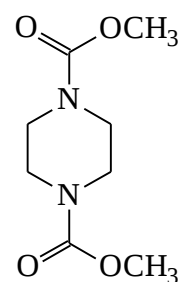
[21]



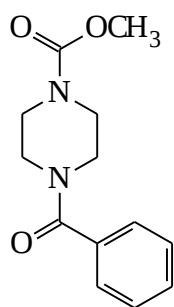
[24]



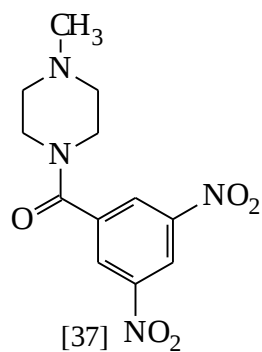
[30]



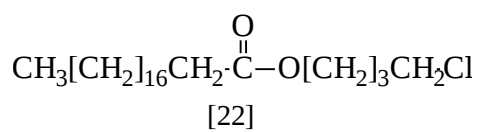
[31]



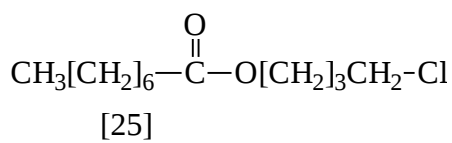
[34]



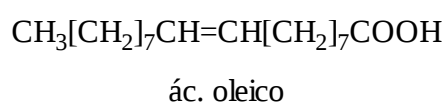
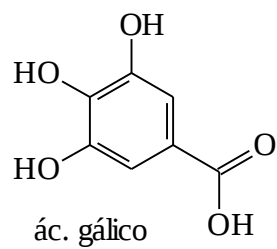
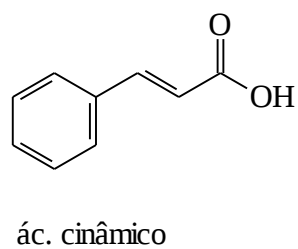
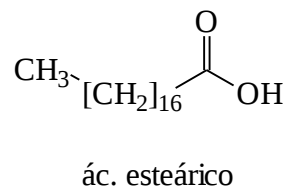
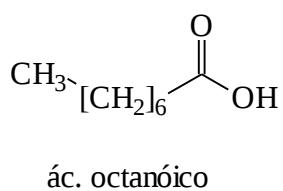
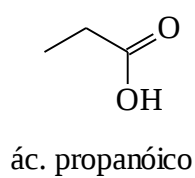
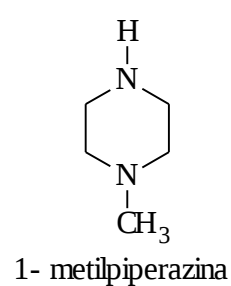
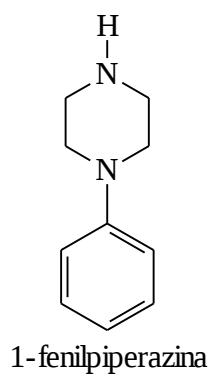
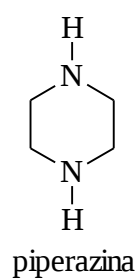
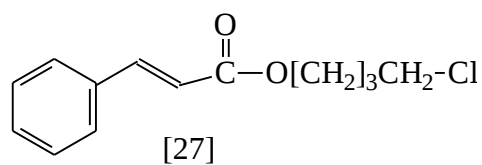
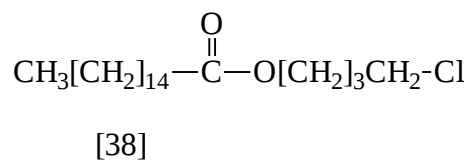
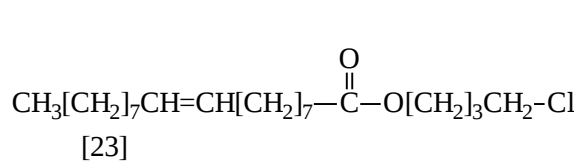
[37]



[22]



[25]



As porcentagens de mortalidade apresentadas pela piperazina, 1-metilpiperazina e 1-fenilpiperazina, as substâncias sintetizadas e os ácidos testados variaram de 0 a 73% para *M. incognita* e de 0 a 69% para *H. glycines*, conforme pode ser observado no Quadro 1.

Pode-se observar que a substituição de um grupo hidrogênio por um metil ou fenil na piperazina aumentou a sua porcentagem de mortalidade do nematóide *M. incognita*, uma vez que os resultados obtidos para piperazina, 1-metilpiperazina e 1-fenilpiperazina foram, respectivamente, 59, 73 e 69%.

O composto [37] apresentou um resultado de 35%; assim, fica evidente que a substituição do hidrogênio na 1-metilpiperazina pelo grupo 3,5-dinitrobenzoil reduziu em aproximadamente 50% a atividade nematicida deste composto sobre *M. incognita*.

Os compostos [20] e [21], ambos apresentando anéis aromáticos, mostraram resultados completamente diferentes: 3 e 20%, respectivamente. Além da presença dos grupos nitro no composto [20], o fato de este composto encontrar-se na forma de cloridrato pode ter sido fundamental para a sua baixa atividade. A forma iônica poderia impedir a sua penetração na membrana celular das células dos nematóides.

Em relação aos ácidos testados, aqueles que apresentaram maior e menor atividade nematicida foram, respectivamente, os ácidos propanóico (62%) e octanóico (8%), e não foi possível relacionar algum fator comum entre todos os ácidos testados e suas porcentagens de inibição.

Todos os ésteres obtidos apresentaram baixa porcentagem de inibição diante do *Meloidogyne incognita* raça 3. O melhor resultado obtido foi de 46 %, e o pior, de 0%, para os compostos [27] e [23], respectivamente. A presença de um grupo aromático em [27] pode ter sido o fator para que seu resultado fosse tão superior ao dos outros compostos de sua classe testados.

Para os nematóides *Heterodera glycines*, a piperazina apresentou um índice de inibição de 53%, resultado semelhante ao ensaio realizado com o *Meloidogyne incognita* raça 3. Desta vez, pode-se dizer que a substituição por um

grupo aromático não alterou o resultado do teste e, pelo grupo metil, reduziu a porcentagem de mortalidade, já que a 1-fenilpiperazina e a 1-metilpiperazina apresentaram os resultados de 54 e 36%, respectivamente.

O ácido esteárico apresentou o maior índice de mortalidade (69%), ao passo que os ácidos gálico e propanóico não apresentaram atividade nematicida.

Pode-se observar que, dentre os compostos sintetizados, o que apresentou maior índice foi o composto 1,4-dibenzoilpiperazina [21]: 58%.

À exceção do éster [27], que teve apenas 7% de resultado, todos os outros apresentaram resultados razoáveis, variando de 55 a 42%. A presença de um grupo aromático do éster [27] pode ter sido o fator determinante para a sua baixa inibição.

Para ambos os nematóides testados, nenhum composto apresentou alta porcentagem de inibição a uma concentração de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Ensaio com as amostras a uma concentração inicial superior a $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ seriam um procedimento necessário para que maiores conclusões a respeito da atividade nematicida destes compostos testados pudessem ser tiradas, assim como um trabalho de campo, para a verificação do comportamento destes compostos nestas condições experimentais. Porém, pode-se concluir que os resultados preliminares são satisfatórios, uma vez que compostos que apresentam tais condições são considerados excepcionais.

Quadro 1 - Porcentagem de mortalidade dos compostos testados contra os fitonematóides *Meloidogyne incognita* e *Heterodera glycines*

Composto	% de Mortalidade*	
	<i>M. incognita</i>	<i>H. glycines</i>
piperazina	59 D**	53 C
1-metilpiperazina	73 D	36 B
1-fenilpiperazina	69 D	54 C
ác. octanóico	8 A	39 B
ác. esteárico	55 C	69 C
ác. cinâmico	26 B	31 B
ác. gálico	39 C	0 A
ác. oleico	42 C	1 A
ác. propanóico	62 D	0 A
[19]	43 C	36 B
[20]	3 A	31 B
[21]	20 B	58 C
[22]	16 A	55 C
[23]	0 A	42 B
[24]	29 B	57 C
[25]	9 A	47 B
[27]	46 C	7 A
[38]	29 B	51 B
[31]	4 A	46 B
[34]	71 D	7 A
[30]	8 A	7 A
[39]	35 C	19 A

* - Médias constatadas após a realização de seis repetições.

** - As médias seguidas pelas mesmas letras são iguais entre si pelo teste de agrupamento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

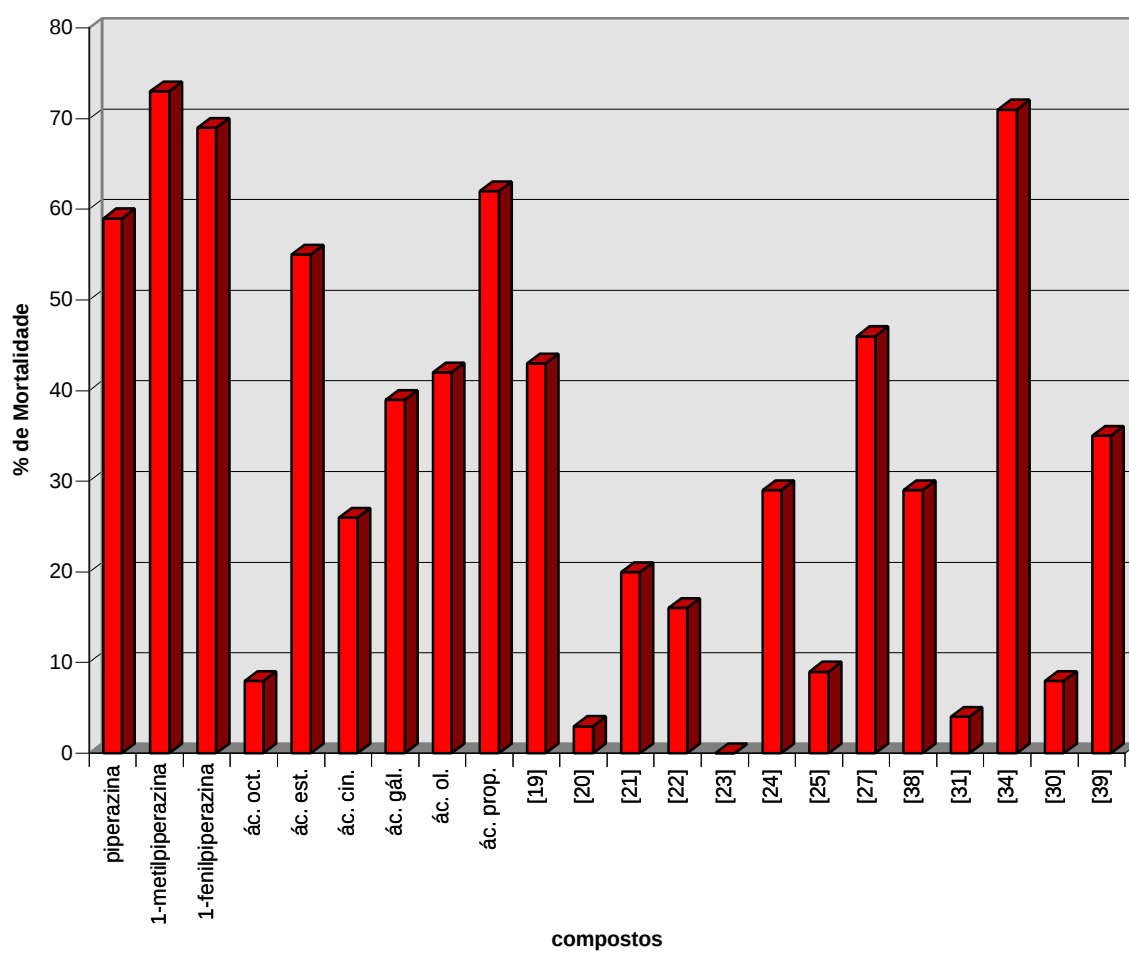


Figura 2 - Porcentagem de mortalidade dos compostos testados diante do nematóide *M. incognita*.

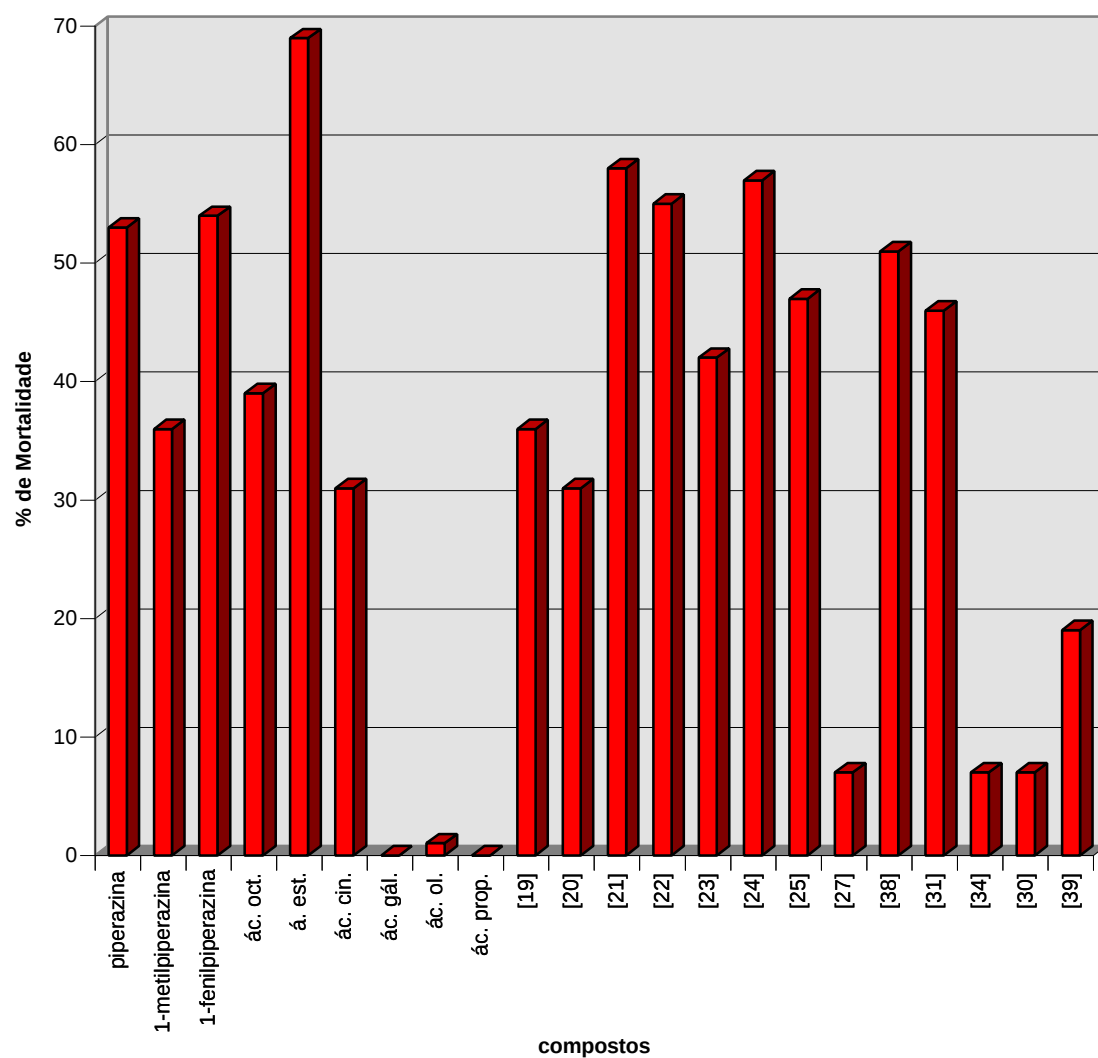


Figura 3 - Porcentagem de mortalidade dos compostos testados diante do nematóide *H. glycines*.

4. CONCLUSÕES

Em uma época na qual se busca cada vez mais o aumento da produtividade sem a agressão ao meio ambiente, a baixa toxicidade da piperazina é um fator estimulante para o estudo de sua atividade nematicida. Porém, os resultados obtidos nos ensaios biológicos indicaram que a piperazina e seus derivados não são bons agentes nematicidas. No entanto, outros ensaios biológicos, bem como outros derivados, deverão ser realizados em busca da melhoria da atividade.

Os ésteres e as amidas sintetizadas, assim como os ácidos octanóico, esteárico, cinâmico, gálico, oleico e propanóico, a piperazina, 1-metilpiperazina e 1-fenilpiperazina testados, não apresentaram boa atividade nematicida a uma concentração de $20 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Nos ensaios com o nematóide *Meloidogyne incognita*, o composto que apresentou o melhor resultado, pelo teste do tubo invertido, foi a 1-metilpiperazina (73%), seguida pela 1-fenilpiperazina (69%) e pelo composto 1-metoxycarbonil-4-benzoilpiperazina [34] (71%).

Para o *H. glycines*, o ácido esteárico apresentou 69% de mortalidade, sendo este o melhor resultado alcançado.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os compostos derivados da piperazina têm sido largamente utilizados para os mais diversos fins. Como anti-helmíntico, a piperazina já havia sido testada em nematóides que atacam animais. Porém, no caso de nematóides que infestam plantas e causam grande prejuízos para a agricultura, a sua atividade ainda não havia sido testada.

Neste trabalho foram sintetizadas as amidas 1,4-dietanoilpiperazina [19, 89,2%], cloridrato de 1,4-bis-(3,5-dinitrobenzoil)piperazina [20, 67,1%], 1,4-dibenzoilpiperazina [21, 52%], 1-(metoxycarbonil)piperazina [30, 46%], 1,4-bis(metoxycarbonil)piperazina [31, 24%], 1-benzoil-4-(metoxycarbonil)piperazina [34 a, 59,1%], além do trifluoroacetato de piperazina [19].

Uma vez que alguns cloretos de acila utilizados nas reações não se encontravam disponíveis, a sua síntese foi realizada reagindo-se o correspondente ácido carboxílico com o cloreto de tionila. Todavia, uma vez formado o cloreto de acila, este sofreu reação com o THF, produzindo-se os ésteres octadecanoato de 4-clorobutila [22, 38%], oleato de 4-clorobutila [23, 39,6%], octanoato de 4-clorobutila [25, 77,9%], cinamoato de 4-clorobutila [27, 67,1%] e hexadecanoato de 4-clorobutila [38, 41,7%].

A avaliação da atividade nematicida desses produtos, da 1-metilpiperazina, 1-fenilpiperazina e dos ácidos octanóico, esteárico, cinâmico, gálico, oleico e

propanóico foi feita em ensaios preliminares, sob condições de laboratório, com os fitonematóides *Heterodera glycines* e *Meloidogyne incognita* raça 3, utilizando-se uma dose fixa de 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do composto sintetizado. Nesses bioensaios, os índices de mortalidade variaram de 0 a 71% para o fitonematóide *Meloidogyne incognita* e de 7 a 58% para *Heterodera glycines*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAHAM, R. J., FISHER, J., LOFTUS, P. **Introduction to NMR spectroscopy**. Chinchester: John Wiley & Sons, 1988. 271p.
- BALTZLY, R., BUCK, J.S., LORZ, E., SCHON, W. The preparation of N-mono-substituted and unsymmetrically disubstituted piperazines. **Journal of American Chemistry Society**, v.66, p.263-266, 1944.
- BARBERÁ, C. **Pesticidas agrícolas**. 2.ed. Barcelona: Omega, 1974. 569p.
- BARCELOS, F. F. *Isolamento e avaliação da atividade nematocida de constituintes químicos de Mucuna aterrima*. Viçosa: UFV, 1997. 92p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1997.
- BALLABIO, M., BARLOCCO, D., CIGNARELLA, G., COLOMBO, D., TOMA, L. **Tetrahedron**, v.53., n.4, p.1481-1490, 1997.
- BERGAMIN FILHO, A., KIMATI, H., AMORIM, L. (Eds.) **Manual de fitopatologia**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 919p.
- BRICKNER, S. J. Multidrug - resistant bacterial infections: driving the search for new antibiotics. **Chemistry Industry**, v.2, n.17, p.114-118, 1996.
- BHATT, V., TRIVEDI, A.C., NARULA, R.C. Review on application of piperazine. **Chemical Enginnering World**, v.25, p.75-82, 1990.
- BHATT, M. V., KULKARNI., S. U. Cleavage of ethers. **Synthesis**, v.7, p.249-282, 1983.

- CASEY, M., LEONARD, J., LYGO, B., PROCTER, G. **Advanced practical organic chemistry**. Glasgow: Blackie, 1990. 264p.
- CHITWOOD, D.J. Naturally occurring nematicides. In: DUCK, S. O., MENN, J. J., PLIMMER, J. R. (Eds), In: **Pest control with enhanced environmental safety**. Washington: ACS, 1992. p.300-315.
- CREMLYN, R.J. **Agrochemicals**: preparation and mode of action. London: John Wiley & Sons, 1990. 396p.
- DOLLACKER, A. Pesticides in the third world. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer**, v.44, n.1, p.89-100, 1991.
- DUKE, S.O., MENN, J.J., PLIMMER, J.R. Challenges of pest control with enhanced toxicological and environmental safety: An overview. **Pest control with enhanced environmental safety**. DUCK, S.O., MENN, J.J., PLIMMER, J.R. (Eds), Washington: ACS, 1992. p.300-315.
- EDWARD, J. D., GERRARD, W., LAPPERT, M. F. Interaction of boron trichloride with chloro-alcohol and with cyclic ethers. **Journal Chemistry Society**, v.3, p.1470-1475, 1955.
- GIL, V. M. S., GERALDES, C. F. G. C. **Ressonância magnética nuclear - fundamentos, métodos e aplicações**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbekian, 1987. 1012p.
- GONÇALVES, D., WAL, E., ALMEIDA, R.R. **Química orgânica experimental**. São Paulo: Macgraw-Hill, 1988. 269p.
- GUINDON, Y., YOKAKIN, C., MORTON, H. E. Cleavage of carbon-oxygen bonds. Dimethylboron bromide. A new reagent for ether cleavage. **Tetrahedron Letters**, v.24, n.29, p.2969-2972, 1983.
- HENDRICKSON, J. B., HUSSOIN, J. Reactions of carboxylic acids with "phosphonium anhydrides". **Journal of Organic Chemistry**, v.54, n.5, p.1144-1149, 1989.
- KIMURA, Y., TANI, K.; KOJIMA, A., SOTOMA, G. OKADA, K., SHIMADA, A. **Phytochemistry**, v.41, n.3, p.665-669, 1996.
- KOTSUKI, H., ICHIKAWA, Y., NISHIZAWA, T. Non-catalized cleavage reactions of ethers with acyl halides under high-pressure conditions. **Chemical Letters**, v.4, n.13, p.673-676, 1988.

- LORDELLO, L.G.E. **Nematóides das plantas cultivadas**. 8.ed. São Paulo: Nobel, 1988. 314p.
- LUC, M., SIKORA, R.A., BRIDGE, J. Plant nematodes in subtropical and tropical agriculture. Oxford: CAB International of Parasitology, 1990. 629p.
- LUCHINI, L. C. **Adsorção, dessorção dos herbicidas paraquat, diuron, e 2,4-D em seis solos brasileiros**. Piracicaba: 1987. 91p.
- MARCH, J. **Advanced organic chemistry**. 4.ed. New York, John Wiley & Sons, 1992. 1495 p.
- MAUCH, N., FERRAZ, S. Efeito antagônico de plantas da família Compositae a *Meloidogyne incognita* raça 3. **Nematologia Brasileira**, v.20, n.2, p.12-20, 1997.
- MAZUR, L. A. **Beyond the numbers: a reader on population, consumption, and enviroment**. Washington DC: Island, 1994. 444p.
- MOURA, R. M. Gênero *Meloidogyne* e a meloidoginose. Parte I. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v.4, p.209-244, 1996.
- NAKANISHI, K., SOLOMON, P. H. **Infrared absorption spectroscopy**. 3.ed. San Francisco: Holden-Day, 1977, 287 p.
- NIBLACK, T. L., BAKER, N. K., NORTON, D. C. Soybean yeld losses due to *Heterodera glycines* in Iowa, **Plant Disease**, v.76, p.943-947, 1992.
- NOGUEIRA, M. A. **Estudo químico da *Mucuna aterrima* e da sua atividade nematicida sobre o fitonematóide *Meloidogyne incognita* raça 3**. Viçosa, MG: UFV, 1994. 101p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 1994.
- PERRIN, D. D., ARMAREGO, W. L. F. **Purification of laboratory chemicals**. 3.ed. Oxford: Pergamon Press, 1988. 340p.
- POUCHERT, C. J. **The aldrich library of infrared spectra**. 3.ed. Wisconsin: Aldrich Chemical Company, 1981.
- POUCHERT, C. J. **The aldrich library of RMN spectra**. 2.ed. Wisconsin: Aldrich Chemical Company, 1983. v.1.

- RUBINGER, M. M. M. **Síntese de derivados nitrogenados do ácido 6a-7b-di-hidroxivoucapan-17b-óico**. Belo Horizonte, MG: UFMG, 1991. 248p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Minas Gerais, 1991.
- STEWART, H.W., TURNER, R.J., DENTON, J.J., KUSHNER, S., BRANCONE, L.M., MCEWEN, W.L., HEWITT, R.I., SUBBAROW, Y. Experimental chemotherapy of filariasis. V. The preparation of derivatives fo piperazine. **Journal of Organic Chemistry**, v.13, p.134-143, 1948.
- SILVERSTEIN, R. M., BASSLER, G. C., MORRIL, T. C. **Spectrometric identification of organic compounds**. 5.ed. New York: John Wiley & Sons, 1991. 419p.
- SOLOMONS, T. W. G. **Organic chemistry**. 5.ed. New York: John Wiley & Sons, 1992. 1198 p.
- TIHOHOD, D. **Nematologia agrícola aplicada**. Jaboticabal: FUNEP, 1993. 372p.
- TSAI, B.Y., WEST, J., GUNDY, S.D., RODRIGUEZ, E. Screening plants for nematocidal agents, p.1-26. In: TSAI, B.Y., WEST, J., GUNDY, S.D., RODRIGUEZ, E. **Phytochemical pesticides**, London: CRC, 1991. p.1-26.
- TSUKAMOTO, S., KATO, H., HIROTA, H., FUSEYANI, N. **Tetrahedron**. v.51, n.24, p.6687-6694, 1995.
- VALLE, L. A. C., FERRAZ, S., DIAS, W. P., TEIXEIRA, D. A. Controle do nematóide de cisto de soja, *Heterodera glycines* Ichinone, com gramíneas forrageiras. **Nematologia Brasileira**, v.20, n.2, p.1-11, 1996.
- VOGEL, A.I. **Química orgânica - análise orgânica qualitativa**. 3.ed. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, 1981. 1074p.
- WILLIAMS, D. H., FLEMING, I. **Spectroscopic methods in organic chemistry**. 4.ed. London: MacGraw-Hill, 1987. 246p.