

# **SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE CAPSAICINÓIDES**

**PAULA DOS SANTOS GONÇALVES**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY  
RIBEIRO- UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES  
MARÇO 2015

# **SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE CAPSAICINÓIDES**

**PAULA DOS SANTOS GONÇALVES**

Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciência Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Edmilson José Maria

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES

MARÇO 2015

# SÍNTESE DE ANÁLOGOS DE CAPSAICINÓIDES

**PAULA DOS SANTOS GONÇALVES**

Tese de Doutorado apresentada ao Centro de Ciência e Tecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Ciência Naturais.

Comissão Examinadora:

---

Prof. Dra. Lara Fonseca Barbosa

---

Prof. Dra. Daniela Barros de Oliveira

---

Prof. Dr. Rodrigo Rodrigues de Oliveira

---

Prof. Dr. Edmilson José Maria (Orientador)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por me dar força para superar todos os obstáculos em minha vida e por tudo que ele tem me proporcionado.

Aos meus pais, Paulo e Maria Helena que com muito amor souberam me ensinar e educar dando-me o alicerce para superar todas as dificuldades encontradas durante essa etapa da minha vida.

As minhas irmãs, Pauline e Milena, minha avó, Arlete e ao meu cunhado Ivo pela amizade, conselhos, apoio e incentivo.

Ao meu amor Rogério por estar sempre presente nos momentos mais difíceis, me dando força, amor e carinho.

Aos amigos do laboratório, Karol, Bárbara, Daniela, Paulo, Valber e Marco Antônio pelos conselhos, incentivos e amizade.

As colegas Eline e Karol pela grande ajuda nos trabalhos de bancada.

Aos técnicos Márcio e Marcelo pela obtenção dos espectro de Massas, UV e IV.

Ao Instituto de Química da UFF e Farmanguinhos na Fiocruz por cederem seus espaços para realização das análises de RMN, IV e Massas.

Ao colega Walcimar pela obtenção dos espectros de RMN, IV e Massas.

Aos professores da Química que tanto colaboraram com a minha formação.

Ao professor Edmilson, pela sua disposição, competência e amizade, me ensinando e orientando durante esse tempo todo.

A todos que colaboraram de alguma forma para este trabalho.

A UENF, que através do curso de Pós-graduação em Ciências Naturais, possibilitou a realização desse trabalho.

Aos professores Lara, Daniela e Rodrigo por fazer parte da minha banca examinadora.

## TRABALHOS E ARTIGOS

P. V. SOUZA, DANIELA; ANTONIO G. B. GOMES, MARCO; S. GONCALVES, PAULA; P. SANTOS, ROBERTO; J. MARIA, EDMILSON; ROBERTO R. MATOS, CARLOS. **Synthesis and Biological Activity of Porphyrins**. Mini-Reviews in Organic Chemistry <sup>JCR</sup>, v. 10, p. 97-102, 2013.

SANTOS, M. M. P.; MOTTA, O. V.; MARIA, E. J.; Vieira, I. J. C.; BRAZ-FILHO, R.; GONÇALVES, P. S.; TERRA, W. S.; RODRIGUES, R.; SOUZA, C. L. M.. **Antibacterial activity of Capsicum annum extract and synthetic capsaicinoid derivatives against *Streptococcus mutans***. Natural Medicines <sup>JCR</sup>, v. 60, p. 1, 2011.

Citações: [WEB OF SCIENCE](#) 2 | [SCOPUS](#) 3

MARIA, E. J.; GONÇALVES, P.S. **Síntese da dihidrocapsaicina e análogos via reação radicalar utilizando o par bimetálico Zn/CuI na formação da cadeia lateral**. 2009, Brasil. Patente: Privilégio de Inovação. Número do registro: PI0911416-5, data de depósito: 10/12/2009.

**LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS**

$\delta$	Deslocamento químico
CCDS	Cromatografia em camada delgada de sílica
C	Capsaicina
DHC	Dihidrocapsaicina
d	Sinal duplo
DCC	Diciclohexilcarbodiimida
HC	Homocapsaicina
HDHC	Homodihidrocapsaicina
IMO	Organização Marítima Internacional
m	Sinal múltiplo
NDHC	Nordihidrocapsaicina
ppm	Parte por milhão
RMN <sup>13</sup> C	Ressonância magnética nuclear de carbono 13
RMN <sup>1</sup> H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
s	Sinal simples
t	Sinal triplo
TBT	Tributilestanho
TBTO	Óxido de tributilestanho

**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 – Estrutura onde ocorreu bioincrustação	18
Figura 2 – Costão rochoso com organismo incrustante	19
Figura 3 – Estágio de formação do biofouling	21
Figura 4 – Estrutura química dos biocidas	25
Figura 5 – Ilustração esquemática do comportamento de um sistema antifouling exposto a água do mar	26
Figura 6 – Mecanismo de funcionamento e taxas de liberação de biocida de tintas antifouling	28
Figura 7- Escala de Scoville	34
Figura 8 – O Fruto	36
Figura 9 – Flor de <i>Capsicum</i>	36
Figura 10 – <i>Capsicum annuum</i>	38
Figura 11 – <i>Capsicum baccatum</i>	38
Figura 12 – <i>Capsicum pubescens</i>	39
Figura 13 – <i>Capsicum chinense</i>	40
Figura 14 – <i>Capsicum frutescens</i>	40
Figura 15 – Esqueleto base dos capsaicinóides	41
Figura 16 – Estruturas dos análogos inéditos	62
Figura 17 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H da tiocapsaicina	77
Figura 18 – Espectro na região do UV do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	78
Figura 19 – Espectro na região do IV do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	79
Figura 20 – Cromatografia do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	79
Figura 21 – Espectro de Massas do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	80
Figura 22 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	81
Figura 23 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	82

Figura 24 - Espectro na região do UV do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	84
Figura 25 - Espectro na região do IV do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	84
Figura 26 - Cromatograma do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	85
Figura 27 - Espectro de Massas do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	85
Figura 28 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	87
Figura 29 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	88
Figura 30 - Espectro na região do UV do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	89
Figura 31 - Espectro na região do IV do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	90
Figura 32 - Cromatograma do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	90
Figura 33 - Espectro de massa do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	91
Figura 34 - Espectro de RMN <sup>1</sup> H do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	93
Figura 35 - Espectro de RMN <sup>13</sup> C do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	94
Figura 36 - Espectro na região do UV do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	95
Figura 37 - Espectro na região do IV do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	96
Figura 38 - Cromatograma do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	96
Figura 39 - Espectro de Massas do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	97



Figura 40 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	99
Figura 41– Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	100
Figura 42 - Espectro na região do UV do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	101
Figura 43 – Espectro na região do IV do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	102
Figura 44 - Cromatograma do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	102
Figura 45 - Espectro de Massas do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	102
Figura 46 - Espectro de RMN $^1\text{H}$ do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	105
Figura 47 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	106
Figura 48 - Espectro na região do UV do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	107
Figura 49- Espectro na região do IV do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	108
Figura 50 - Cromatograma do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	108
Figura 51– Espectro de Massas do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	109
Figura 52- Espectro de RMN $^1\text{H}$ do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	111
Figura 53 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	112
Figura 54 - Espectro na região do UV do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	113
Figura 55 - Espectro na região do IV do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	113

Figura 56 - Cromatograma do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	114
Figura 57 – Espectro de Massas do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	114
Figura 58 – Espectro de RMN $^1\text{H}$ do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	116
Figura 59 - Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	117

**LISTA DE ESQUEMAS**

Esquema 1 – Biossíntese da capsaicina	49
Esquema 2 – Síntese de capsaicinóides proposta por Nelson	52
Esquema 3 – Síntese de capsaicinóides proposta por Ganett	53
Esquema 4 – Isomerização do ácido (Z)-8-metil-6-nonenóico	54
Esquema 5 – Síntese da capsaicina proposta por Alcides	55
Esquema 6 – Síntese da dihidrocapsaicina proposta por Maria	55
Esquema 7 – Síntese dos análogos proposta a partir do geraniol por Gonçalves	57
Esquema 8 – Síntese dos análogos proposta a partir do citral por Gonçalves	57
Esquema 9 – Síntese da tiocapsaicina	63
Esquema 10 – Esquema sintético dos capsaicinóides dissustituídos	64
Esquema 11 – Esquema sintético dos capsaicinóides trissustituídos	65
Esquema 12 – Acetilação da capsaicina	66
Esquema 13 – Síntese da do intermediário 3	66
Esquema 14 – Síntese da tiocapsaicina	67
Esquema 15 - Síntese das aminas dissustituídas 6 e 9	67
Esquema 16 - Síntese das amidas dissustituídas 7 e 10	68
Esquema 17 - Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4- dimetoxibenzilamida	68
Esquema 18 - Síntese das aminas trissustituídas	69
Esquema 19 - Síntese das amidas trissustituídas	69
Esquema 20 – Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	70
Esquema 21 - Retrossíntese de reação para formação das amidas	71
Esquema 22 – Mecanismo de reação para formação das aminas	73
Esquema 23 – Mecanismo de reação para formação das amidas	74
Esquema 24 - Mecanismo da Reação de Lawesson	75
Esquema 25 - Síntese da tiocapsaicina	75
Esquema 26 - Síntese do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	77
Esquema 27 - Proposta de fragmentação da EM do ácido decanóico- 3,4-dimetoxibenzilamida	80

Esquema 28 – Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	83
Esquema 29 – Proposta de fragmentação da EM do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	85
Esquema 30 – Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	88
Esquema 31 – Proposta de fragmentação da EM do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	91
Esquema 32 – Síntese do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	94
Esquema 33 – Proposta de fragmentação da EM do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	97
Esquema 34 – Síntese do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	100
Esquema 35 – Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	103
Esquema 36 – Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	106
Esquema 37 – Proposta de fragmentação da EM para do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	109
Esquema 38 – Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	112
Esquema 39 – Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	114

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Características das principais espécies de macroorganismos marinhos.	22
Tabela 2 – Cadeias laterais presentes nos capsaicinóides naturais	42
Tabela 3 – Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 7, em MeOD.	81
Tabela 4 – Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 10, em MeOD.	86
Tabela 5 – Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 11, em MeOD.	92
Tabela 6 - Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 14, em MeOD.	98
Tabela 7 - Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 17, em MeOD.	104
Tabela 8 - Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 20, em MeOD.	110
Tabela 9 - Dados de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e RMN $^{13}\text{C}$ (100 MHz) da substância 21, em MeOD.	115

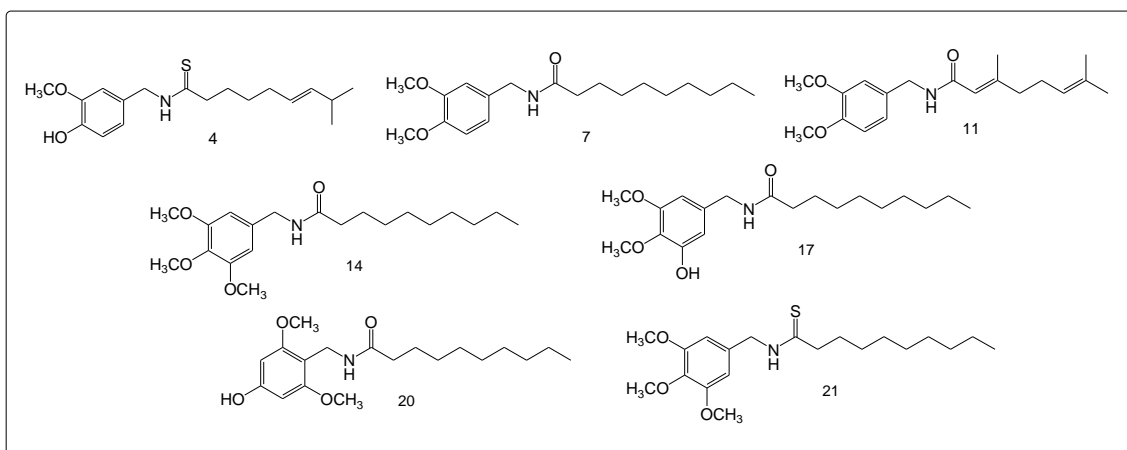
## RESUMO

GONÇALVES, Paula dos Santos; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; março de 2015; Síntese de Análogos de Capsainóides. Orientador: Prof. Dr. Edmilson José Maria.

O presente trabalho descreve uma nova rota de síntese versátil de análogos de capsaicinóides, utilizando aminas aromáticas derivados de aldeídos aromáticos dissubstituídos e trissubstituídos como parte aromática e o ácido decanóico e gerânico, para elaboração da cadeia lateral. Optou-se pela utilização desses ácidos comerciais por apresentarem a mesma quantidade de carbono da cadeia lateral da capsaicina.

Observou-se nesta versátil estratégia de síntese que invertendo-se a ordem dos grupos metoxilas e hidroxilas ligadas aos anéis aromáticos foi possível a obtenção de 8 produtos, a tiocapsaicina (**4**), o ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida (**7**), o ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida (**10**), o ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico-3,4-dimetoxibenzilamida (**11**), o ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**14**), o ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida (**17**), o ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida (**20**), o ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**21**) onde **7** (**4**, **7**, **11**, **14**, **17**, **20** e **21**) destes inéditos na literatura.

Em seguida, todos os intermediários e análogos sintetizados foram caracterizados através de diferentes técnicas como, a espectrometria na região do ULTRAVIOLETA (UV) e do INFRAVERMELHO (IV), a RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), e o MASSAS (EM).



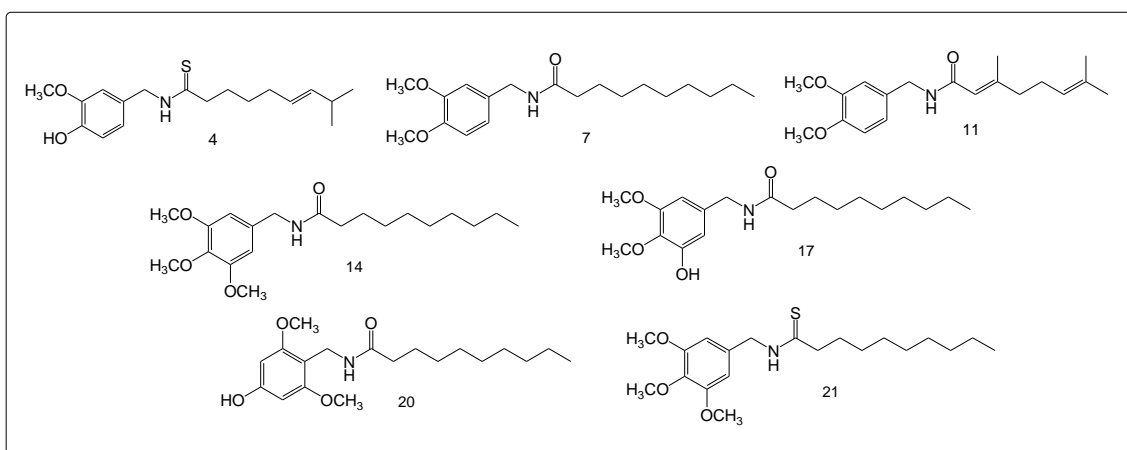
## ABSTRACT

Goncalves, Paula dos Santos; Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; March 2015; **Synthesis of Analogs Capsainoids**. Advisor: Prof. Dr. Edmilson Jose Maria.

This paper describes a new route versatile synthesis of capsaicinoids analogues, using aromatic amines derived from aromatic aldehydes disubstituted and trisubstituted as aromatic part and decanoic acid and geranic acid, for the preparation of the side chain. We opted for the use of those commercial acids because they have the same amount of carbon side chain of capsaicin.

It was observed in this versatile synthesis strategy that inverting the order of the methoxyl and hydroxyl groups attached to aromatic rings was possible to obtain products 8, the tiocapsaicin (**4**), the decanoic acid 3,4-dimethoxybenzylamide (**7**), the decanoic acid 4-hydroxy-3-methoxybenzylamide (**10**), the 3,7-dimethylocta-2,6-dienoic acid 3,4-dimethoxybenzylamide (**11**), the decanoic acid 3,4,5-trimethoxybenzylamide (**14**), the decanoic acid 3-hydroxy-4,5-dimethoxybenzylamide (**17**), the decanoic acid 4-hydroxy-2,6-dimethoxybenzylamide (**20**), the decanoic acid 3,4,5-trimethoxybenzylamide (**21**) where 7 (**4**, **7**, **11**, **14**, **17**, **20** and **21**) of these unpublished literature.

Then all intermediate and synthesized analogs were characterized by different techniques such as the spectrometer in the region of UV (UV) and infrared (IR), Nuclear Magnetic Resonance (NMR  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$ ), and the MASS.



## SUMÁRIO

<b>TRABALHOS E ARTIGOS</b>	v
<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS</b>	vi
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	vii
<b>LISTA DE ESQUEMAS</b>	ix
<b>LISTA DE TABELAS</b>	xi
<b>RESUMO</b>	xii
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>1 - INTRODUÇÃO</b>	16
<b>2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	18
<b>2.1 - Bioincrustação</b>	18
2.1.1 - Tintas Antifouling	20
2.1.2 - Antiincrustantes Naturais	29
<b>2.2 – Capsaicina</b>	30
2.2.1- Características gerais das pimentas	30
2.2.2- Compostos presentes em pimentas	32
2.2.3- Toxicidade dos capsaicinóides	32
2.2.4- Determinação da pungência	33
2.2.5- Oleoresina	35
2.2.6- Anatomia da flor e fruto de <i>capsicum</i>	35
2.2.7- Taxonomia	37
2.2.8- Características gerais dos capsaicinóides	41
2.2.9- Efeitos e aplicações de capsaicinóides	43
2.2.10- Evolução dos capsaicinóides durante a maturação e localização na placenta	46
2.2.11 - Síntese de capsaicinóides e análogos	51
2.2.12 – A Síntese química de capsaicinóides	52
2.2.13 – A Síntese enzimática de capsaicinóides	58
<b>3 - OBJETIVOS</b>	59
<b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS</b>	60



<b>4.1 - Procedimentos gerais</b>	60
<b>4.2 - Estratégia de síntese</b>	61
4.2.1 – Síntese da tiocapsaicina	66
4.2.2 – Síntese das aminas dissustituídas	67
4.2.3 – Síntese das amidas dissustituídas 7 e 10	68
4.2.4 - Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	68
4.2.5 - Síntese das aminas triissustituídas	69
4.2.6 – Síntese das amidas triissustituídas	69
4.2.7 – Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	70
<b>4.3- Estratégia e Retrossíntese</b>	71
<b>5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	72
<b>5.1 - Mecanismos de Reações</b>	73
5.1.1 – Formação das aminas	73
5.1.2 - Formação das amidas	74
5.1.3 – Proposta mecanística da Reação de Lawesson	75
<b>5.2 – Análises Espectrais</b>	75
5.2.1 – Síntese da tiocapsaicina	75
5.2.2 – Síntese do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida	77
5.2.3 – Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida	83
5.2.4 – Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida	88
5.2.5 – Síntese do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	94
5.2.6 – Síntese do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida	100
5.2.7 – Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida	106
5.2.8 – Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida	112
<b>6 – CONCLUSÃO</b>	118
<b>7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	119
<b>ANEXOS</b>	134

## 1. INTRODUÇÃO

O interesse e a preocupação com a contaminação dos oceanos aumentam constantemente, visto que a influência do homem sobre os ecossistemas marinhos torna-se cada vez mais intensa. A maioria dos poluentes entra no ambiente marinho resultando em efeitos desastrosos como prejuízo da qualidade da água, riscos à saúde humana, danos aos recursos vivos e obstáculos as atividades marinhas incluindo a pesca. (GODOI, 2003)

Os cascos dos navios imersos no mar por qualquer período de tempo estão sujeitos ao ataque de organismo incrustantes como cracas, mexilhões e algas, resultando na diminuição significativa da eficiência operacional, com consequente aumento nos custos devido ao aumento no consumo de combustível. (CHAMP, 1987)

Uma das atividades humanas que introduzem substâncias químicas no ambiente marinho é o uso de tintas antiincrustantes aplicadas nos cascos de navios para evitar que estes organismos se agregam as embarcações. O princípio ativo destas tintas era constituído por compostos organoestânicos (OTs) – Tributilestanho (TBT) ou trifenilestanho (TPhT). (GODOI, 2003)

A preocupação com o impacto ambiental causado pela utilização destas tintas surgiu no início dos anos 80, quando se descobriu que prejudicavam não só os organismos que aderem aos cascos dos navios, mas também outros animais e plantas. Um exemplo foi o desenvolvimento de conchas anormalmente finas em ostras presentes em águas contaminadas com agentes antiincrustantes. (GODOI, 2003) Além dos efeitos observados nas culturas de ostras, vários estudos demonstram os efeitos tóxicos dos compostos organoestânicos em outras espécies marinhas como moluscos, algas e zooplânctons, sob concentrações de poucos nanogramas por litros. Entre os mais significativos, estão os efeitos de TBT sobre a reprodução de ostras e indicam que o composto está entre os mais tóxicos já introduzidos nos ambientes aquáticos. (NEWMAN, 1986)

Consequentemente, as tintas à base de estanho sofreram forte oposição na legislação de diversos países, incluindo o Brasil, onde sua utilização está proibida desde o início de 2003. Portanto, torna-se urgente a escolha de outros aditivos

antiincrustantes, eficazes e não agressivos ao meio ambiente. Não fosse o alto custo envolvido na utilização de outros métodos de proteção antiincrustante de navios e estruturas para ambiente marítimo (método físico como aplicação de painéis, tensão elétrica, UV, ultrassom, aquecimento, revestimento a base de silicone, etc) o método convencional com tintas teria sido banido. (LENZ, 2003)

Estudos realizados no "Irrigation Training and Research Center" em 2000 mostraram uma forte expectativa de se utilizar compostos derivados de capsaicina como ingrediente ativo em tintas anti-incrustantes, pois ela é registrada pela EPA (Agência de Proteção Ambiental) como um repelente de aves, animais e insetos e foi reclassificada como um pesticida bioquímica. O EPA não prevê a possibilidade de riscos ambientais significativos com o uso da capsaicina. No entanto, em níveis elevados ela pode ser tóxica. Quando adicionados a tintas anti-incrustação a capsaicina pode aumentar a capacidade das mesmas para impedir o crescimento.

A possibilidade de produzir tintas *antifouling* utilizando tais capsaicinóides pode tornar-se uma alternativa para substituir as tintas já existentes no mercado.

Este trabalho visa sintetizar capsaicinóides inéditos utilizando novas metodologias com rotas de baixo custo e com etapas reduzidas de reação.

Os produtos serão isolados e caracterizados por análises de CLAE, RMN<sup>13</sup>C, RMN<sup>1</sup>H, CG/EM e testados biologicamente a fim de avaliar o perfil analgésico, antibacteriano e antiincrustante.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Bioincrustação

A bioincrustação é um processo que pode ocorrer em qualquer superfície que esteja em contato com a água, seja do mar ou de rios, e esteja em contato com microorganismos. A bioincrustação marinha ou *biofouling* é um processo natural que resulta da colonização e crescimento de organismos (WHAL & BANAIGS, 1991). Esta ação pode variar de acordo com a salinidade, a luz do ambiente, a temperatura e outros aspectos abióticos, que podem influenciar no crescimento dos organismos incrustantes (ABARZUA & JAKUBOWSKI, 1995). Segundo Railkin (2004), este processo também pode ser definido como grandes concentrações de biomassa em substratos consolidados que estejam submersos.



Figura 1- Estrutura onde ocorreu bioincrustação



**Figura 2- Costão rochoso com organismos incrustantes**

A incrustação marinha pode ocorrer em qualquer substrato consolidado submerso. Este processo pode ocorrer tanto em estruturas naturais, como costões rochosos, e em superfícies construídas pelo homem, como embarcações, plataformas, etc. A bioincrustação pode ocorrer assim que o objeto é colocado em contato com o mar e acontece de forma gradativa, tendo como primeiro estágio a formação do chamado biofilme, onde o acúmulo de moléculas orgânicas permite a colonização de microorganismos. Posteriormente ocorre o estabelecimento de organismos macroscópicos, como algas e invertebrados marinhos (ALBERT *et al* , 2006).

A bioincrustação assim como outros processos naturais tem sua importância ecológica. Qualquer estrutura encontrada no mar, logo é colonizada por animais incrustantes, pois se sabe que a competição por espaço é uma das interações que estruturam as comunidades incrustantes (GAMA *et al* , 2007). Muitas vezes recifes artificiais onde há o crescimento de organismos incrustantes têm como finalidade proteger a linha costeira de ondas, ou também atrair diversos organismos marinhos, que podem obter alimento ou até mesmo proteção através desta estrutura que foi incrustada.

A incrustação também é desejável quando se fala em cultivo de moluscos, que é uma atividade de importância econômica. Esta atividade, também chamada de aquacultura, é encontrada em diversos países, podendo ser empregados vários métodos durante o cultivo. Neste caso, é importante que ocorra há formação do

biofilme e do mecanismo de sucessão, para que a estrutura se torne atrativa para o cultivo da espécie em questão (FERREIRA & MAGALHÃES, 2003).

As estruturas marítimas feitas pelo homem sofrem vários processos químicos, físicos e biológicos, que muitas vezes prejudicam as atividades econômicas marinhas. A bioincrustação quando se desenvolve em embarcações, plataformas e outras estruturas projetadas pelo homem que se encontram submersas causam uma série de transtornos aos interesses humanos (PEREIRA & GAMA, 1995). Os problemas causados pela incrustação marinha são abrangentes, comprometendo desde tubulações de plataformas e até mesmo prejudicando o desempenho das embarcações.

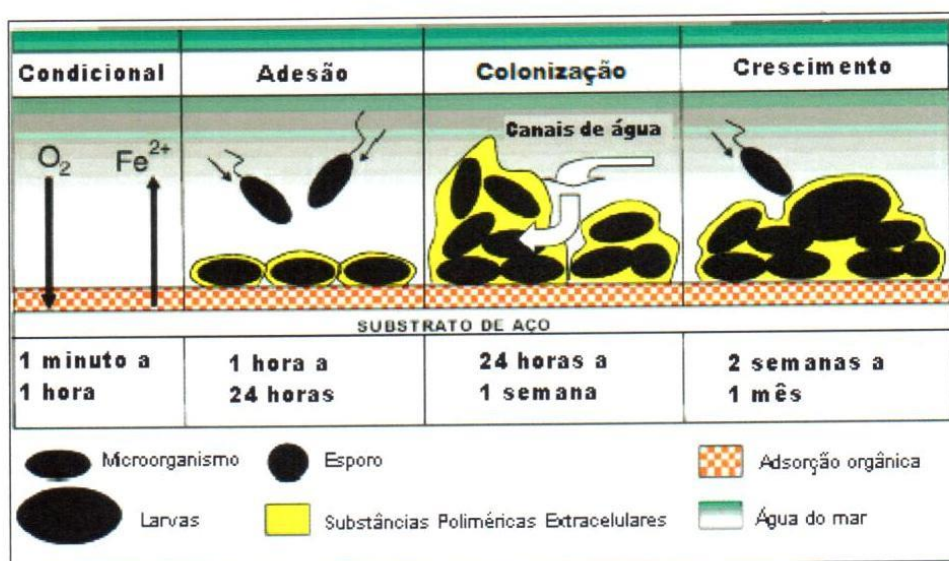
A colonização por organismos incrustantes nas embarcações pode acarretar prejuízos, como a perda de velocidade da embarcação devido à rugosidade formada no casco, o que leva ao aumento do uso de combustível. A incrustação em determinadas estruturas pode causar danos aos motores e geram a necessidade destas embarcações ancorarem com maior frequência para a limpeza do casco (NORMAN/23, 2006). Em outros casos, a bioincrustação pode levar ao aumento do peso das estruturas, provocar a ocorrência de vibrações e ruídos, entupir tubulações de estruturas fixas, acelerar a corrosão e provocar o desgaste. Os prejuízos causados por este processo resultam em um enorme gasto na prevenção da bioincrustação, que é considerado um problema marítimo comum.

### **2.1.1. Tintas Antifouling**

*Fouling* biológico marinho, usualmente denominado *biofouling* marinho, pode ser definido como uma acumulação indesejável de microrganismo, plantas e animais em superfícies artificiais imersas na água do mar. (YEBRA, 2004). Esta acumulação se dá em várias etapas. No primeiro estágio (primeiro minuto de imersão), moléculas orgânicas de proteínas, polissacarídeos e outras se aderem fisicamente à superfície, levando para um segundo estágio, que corresponde

aproximadamente as primeiras 24 horas de imersão, em que bactérias e algas são adsorvidas. (ALMEIDA, 2007)

Já no terceiro estágio, a existência deste filme microbial provê alimento suficiente para permitir a fixação de esporos de microalgas que formarão um biofilme. Este biofilme permitirá a captura crescente de mais partículas e organismos, como larvas de macroorganismos em 2 ou 3 semanas de imersão, fechando o quarto estágio. (CHAMBERS, 2006)



**Figura 3 - Estágio de formação do biofouling.**

Fonte: CHAMBERS, *et al*, 2006.

A tabela 1 apresenta algumas características das principais espécies de macroorganismos. Cada um dos grupos e subgrupos, que possuem características diferenciadas, fixa-se mais ou menos, dependendo dos agentes tóxicos que são incluídos nos diferentes produtos *antifouling* utilizados hoje em dia.



**Tabela 1** - Características das principais espécies de macroorganismos marinhos.

Fonte: ALMEIDA, *et al*, 2007

Grupos	Subgrupos	Designação	Descrição	Exemplo de aspecto típico
Algas (plantas)	(a) verde, (b) marrom e (c) vermelha	(a) <i>Enteromorpha</i> , <i>Ulva</i> e <i>Cladophora</i> ; (b) <i>Ectocarus</i> e <i>Fucus</i> ; (c) <i>Ceramium</i>	Somente plantas que se fixam em superfícies imersas: (a) perto da superfície; (b) meia profundidade; (c) alta profundidade	
Invertebrados (animais)	Organismos de conchas dura ( <i>Hard Shell</i> )	<i>Balanus</i>	Crustáceos tronco-cônicos ou cilíndricos	
		<i>Barnacles</i>	<i>Barnacles</i> são <i>Balanus</i> que se fixam à superfície por um talo	
		<i>Moluscos</i>	Bivalves contendo um animal invertebrado em seu interior	
		<i>Fouling bryozoans</i>	Incrustações calcáreas que se multiplicam de um único centro	



Organismos tipo "grama"	<i>Hydroids ou bryozoans</i>	Organismos que cobrem a superfície como uma grama ou pele	
Organismos tipo "arbustos"	<i>Hydroids ou bryozoans</i>	Como arbustos de vários centímetros	
Organismos invertebrados	<i>Ascidians</i>	Constituído por uma bolsa invertebrada com duas aberturas tubulares	
	<i>Sponges e Anemones do mar</i>	Invertebrados e aspecto esponjoso	

A fixação e o crescimento destes organismos que vivem em superfícies imersas levam a deterioração de estruturas industriais como cascos de navio, linhas de tubo e gaiolas de peixes com severas consequências financeiras. (FAY, 2005)

No caso dos navios, os efeitos adversos causados por esta fixação biológica são bem conhecidos: (MYES, 2006)

- a) Alta resistência ao avanço, devido a aspereza produzida, que leva a um aumento da massa e sequentemente a redução da velocidade potencial e queda na capacidade de manobras. Para compensar, maior consumo de combustível é necessário, o que causa aumento na emissão de componentes nocivos e no custo da operação;
- b) Aumento da frequência de operação *dry-docking*, ou seja, tempo é perdido e recursos são desperdiçados quando medidas reparadoras são aplicadas;
- c) Deterioração do revestimento por corrosão, descoloração, e alteração da condutividade elétrica do material são favorecidos;

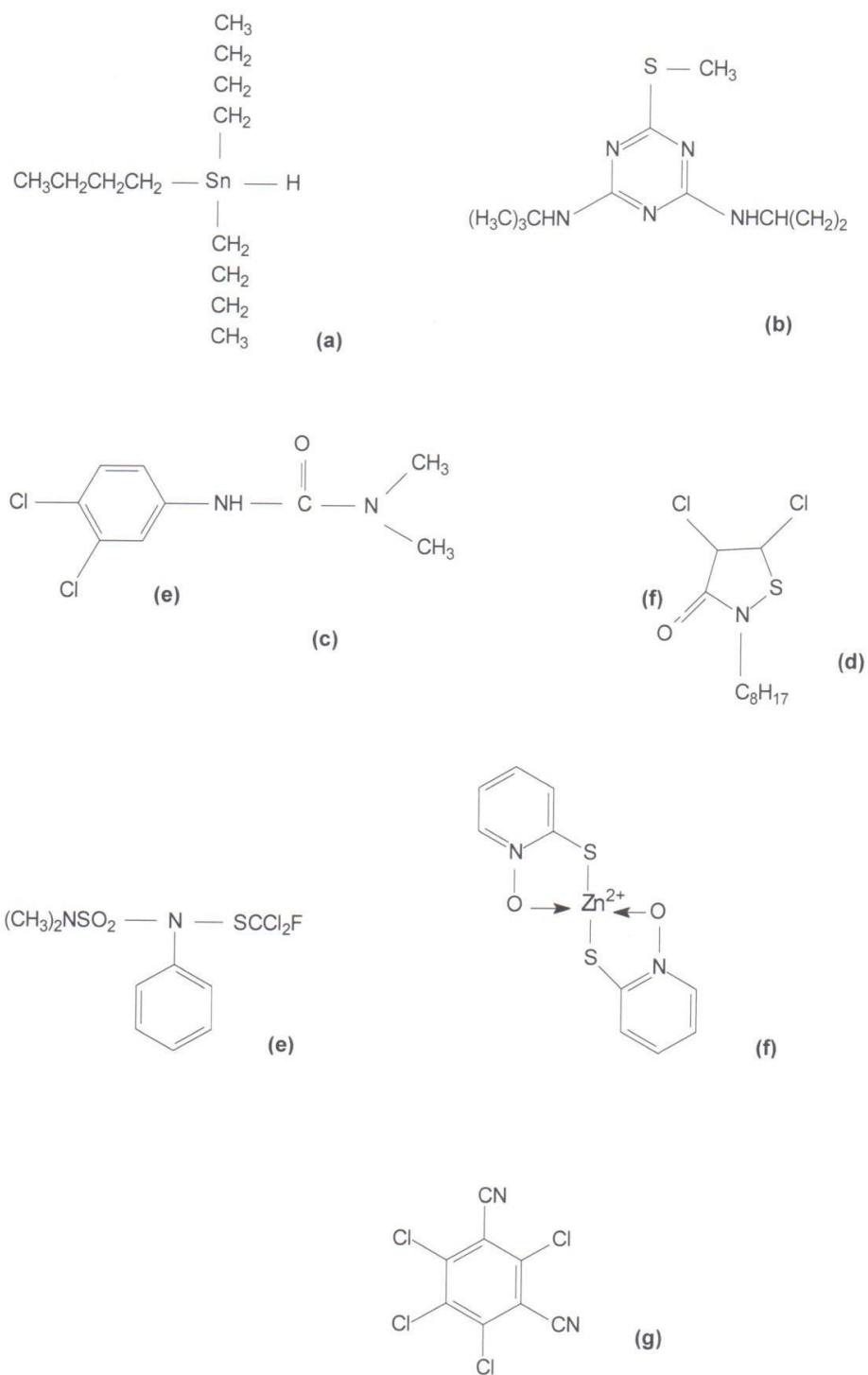
- d) Introdução de espécies ao meio ambiente onde eles não estão naturalmente presentes.

É importante salientar que o grau de *fouling* depende não somente de quanto tempo o navio permanece no porto ou navegando, mas especialmente a natureza da água nas diferentes regiões do mundo. (ALMEIDA, 2007)

Entre todas as soluções propostas desde o início da história da navegação, é reconhecido que a prevenção pode ser alcançada pelo uso de revestimentos marinhos contendo moléculas tóxicas chamadas biocidas. (MYES, 2006) Com isso, tintas à base de copolímeros *self-polishing* contendo TBT foi o maior sucesso no combate ao *biofouling* em navios. (SONG, 2005) Mas, seu uso causou severa poluição no ecossistema marinho e a legislação de diversos países proibiu a fabricação de tintas *antifouling* utilizando estas moléculas ativas em Janeiro de 2003, e a presença destas tintas nas superfícies dos navios a partir de Janeiro de 2008. (MYES, 2006)

Inúmeros cuidados ambientais em torno dos biocidas têm criado muito interesse para produzir uma nova geração de tintas marinhas protetoras. Mas a formulação do mais simples revestimento requer o conhecimento da atividade *antifouling*: o papel dos biocidas, as interações entre superfície revestida e microrganismo e o controle da degradação da matriz polimérica incluída nas tintas. (THOUVENIN, 2002)

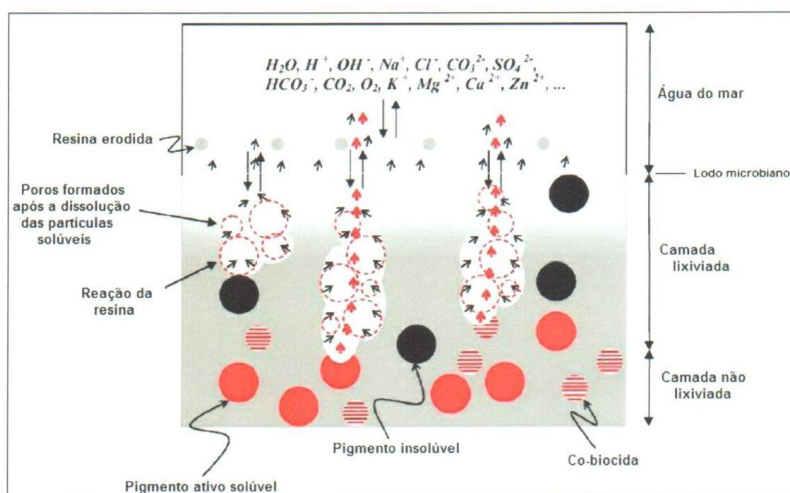
Uma extensa classe de componentes é usada como biocida em tintas *antifouling*, incluindo óxido cuproso ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), piritionato de zinco, TBT, Irgarol 1051, Diuron, SeaNine 211 e diclofluanide. Durante o uso normal estes compostos são diretamente liberados da superfície da tinta para a água e ali permanecem de acordo com suas propriedades físico-químicas e as condições do ambiente para o qual estão sendo liberados. (THOMAS, 2003) Segundo Voulvoulis, os biocidas Irgarol 1051 e Diuron, persistem na superfície da água, enquanto o SeaNine 211, diclofluanide e piritionato de zinco desaparecem rapidamente.



**Figura 4 - Estrutura química dos biocidas: (a) TBT; (b) Irgarol 1051; (c) Diuron; (d) SeaNine 211; (e) Diclofluanide; (f) Piritionato de zinco; (g) Clorotalonil.**

Pouca atenção também é dada para a influência dos diferentes parâmetros da água do mar no desempenho de tintas antiincrustantes quimicamente ativas. Estudos recentes observou que reações químicas e fenômenos de difusão é mecanismo chaves no desempenho de tintas *antifouling* baseadas em biocidas, e estas podem ser afetadas pelas condições da água do mar. A influência da temperatura também é significativa, pois afeta a velocidade de todas as reações químicas, velocidade de dissolução e processos de transporte associados com a atividade de tintas *antifouling* quimicamente ativas. Estudos mostram também que a solubilidade da resina aumenta drasticamente com o aumento dos valores de pH. (YEBRA, 2006)

Segundo Fay existem poucos estudos baseados na atividade de moléculas biocidas e mais precisamente o efeito das características do filme na eficiência da tinta (composição, heterogeneidade, microestrutura, degradação e erosão). Dois parâmetros são essenciais: a erosão e a presença de moléculas ativas no filme de tinta.



**Figura 5- Ilustração esquemática do comportamento de um sistema antifouling exposto à água do mar.**

Fonte: YEBRA, *et al*, 2004

Na figura acima, os pigmentos solúveis e os componentes da resina reagem com íons da água do mar dentro da camada mais externa da tinta (camada

lixiviada). Os produtos da reação difundem através dos poros da camada lixiviada e do iodo microbiano até serem liberadas para a água do mar. (YEBRA, 2006)

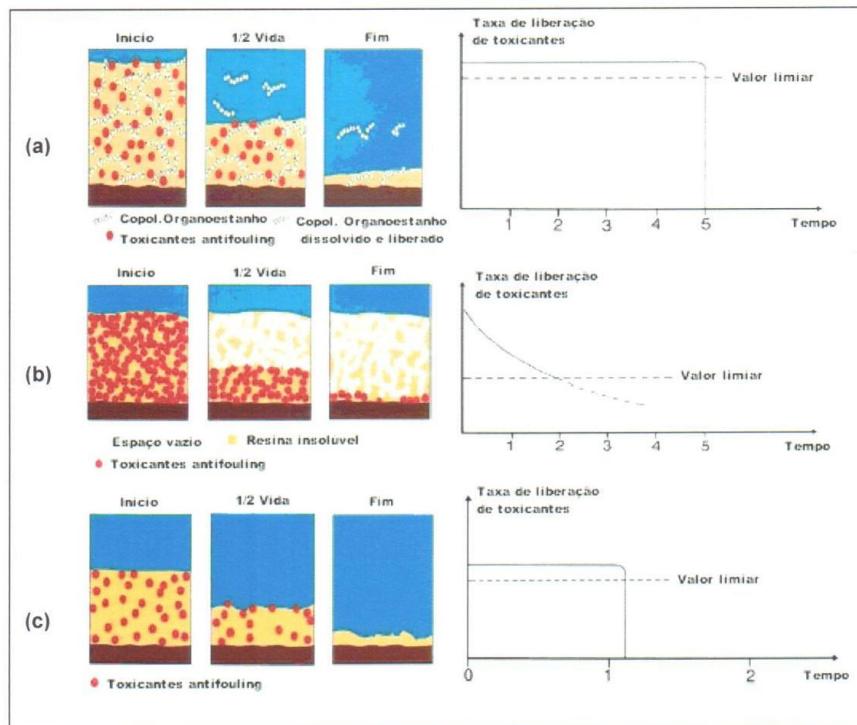
A erosão pode ser definida como uma lixiviação parcial do filme causada pela degradação progressiva do filme de tinta. Existem duas maneiras de erosão, a superficial e em massa, seguindo as características de hidratação e degradação do polímero usado como veículo. (ALMEIDA, 2007)

A erosão da superfície leva a revestimentos *self-polishing* tal como em tintas com TBT: a superfície é renovada regularmente e o biocida continua ativo durante toda a vida útil do revestimento (4 ou 5 anos). No caso da erosão em massa (o fenômeno mais comum para revestimentos livres de estanho), a hidratação e a degradação ocorrem em toda a espessura do filme. A presença de moléculas ativas na superfície da tinta depende de sua difusão. (FAY, 2005)

As tintas utilizadas podem ser classificadas em matrizes do tipo solúveis e insolúveis, de acordo com as características químicas do veículo e definidas pela sua solubilidade em água. (HANDA, 2006)

As tintas de matriz solúvel foram desenvolvidas a fim de evitar a perda de eficiência *antifouling* com o tempo pela incorporação de um veículo que pode ser dissolvido na água do mar. Nesses sistemas o material formador do filme contém elevadas proporções de resina constituídas de aproximadamente 85% de resina de caráter ácido e com grupos carboxílicos. Uma vez em contato com a água do mar, os grupos carboxílicos reagem com os íons sódio e potássio presente na água, liberando compostos de alta solubilidade. (YEBRA, 2004)

Estas tintas incorporam pigmentos tóxicos como óxido de cobre, ferro ou zinco e permitem a inclusão de baixa concentração de materiais biosolúveis e a aplicação de filmes finos. A alta velocidade de dissolução resultante em água do mar e a fragilidade da resina forçaram a produção de tintas com plastificantes e co-veículos. Esses ingredientes proporcionam ao sistema a formação do filme requerido e propriedades mecânicas junto com uma velocidade de dissolução adequada. Em virtude da constante erosão que estas tintas sofrem em serviço, não fornecem proteção por mais de 12 meses. (ALMEIDA, 2007)



**Figura 6- Mecanismo de funcionamento e taxas de liberação de biocida de tintas antifouling: (a) self-polishing contendo estanho; (b) de matriz insolúvel e (c) de matriz solúvel.**

Fonte: ALMEIDA, *et al*, 2007

Em tintas de matriz insolúvel, o polímero matriz é insolúvel e não sofre polimento ou desgaste após imersão em água. Uma variedade de polímeros comerciais de alta massa molar pode ser usada, e exemplos típicos são polímeros vinílicos insolúveis, epóxi, acrílicos. As espécies dissolvidas pela água do mar que penetram no filme têm que difundir através dos poros de ligação formados após a dissolução dos pigmentos solúveis. Por essa razão, a duração dos revestimentos obtidos com estas tintas está entre 12 a 24 meses, dependendo da severidade e condições de exposição. Esses tipos de revestimento são mecanicamente fortes, não suscetíveis a rachaduras e estáveis a oxidação e fotodegradação. (ALMEIDA, 2007)

A maioria dos sistemas de tintas quimicamente ativas conta com o uso do pigmento  $\text{Cu}_2\text{O}$  solúvel em água do mar para controle da incrustação. Uma vez

que a água do mar é um meio oxigenado, os complexos de cobre são rapidamente oxidados a  $\text{Cu}^{2+}$ , que é a espécie biocida principal formada a partir do  $\text{Cu}_2\text{O}$ . (YEBRA, 2004)

Porém, os íons de cobre não são igualmente eficientes contra todos os tipos de incrustação. A quantidade de cobre nas tintas varia tipicamente entre 4 a 30% em massa e a sua taxa de liberação depende do tipo de resina, das condições da água e da velocidade de difusão. Para aumentar efetivamente as propriedades *antifouling*, biocidas orgânicos são frequentemente adicionados em combinação com este pigmento. (SANDBERG, 2007)

O cobre é um elemento essencial, exigido para o crescimento de plantas e animais e ocorre comumente ao meio. Entretanto, altas concentrações podem ser prejudiciais para algas e outros biótipos aquáticos. O cobre mostra uma insignificante tendência para bioacumulação, e sua baixa solubilidade faz com que precipite rapidamente e assim sua toxicidade decresce muito. A presença de ligantes solúveis na água que se unem ao cobre reduz a toxicidade, provavelmente pelo decréscimo da concentração de íons de cobre livre. (SCHIFF, 2004)

Segundo Schiff exigência como eficiência, tempo de vida útil e compatibilidade ambiental em produtos *antifouling* dependem basicamente do “mecanismo de desempenho” do cobre dentro do revestimento aplicado na estrutura a ser protegida.

### **2.1.2. Antiincrustantes naturais**

Com o banimento do uso de compostos danosos ao ambiente, pesquisadores têm feito diversos estudos para desenvolver novas tecnologias antiincrustantes para solucionar o problema da bioincrustação a partir de compostos que não venham a agredir a biota marinha.

Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos a partir de produtos naturais de organismos marinhos que tem capacidade de repelir larvas e não são tóxicos ao ambiente. Segundo Stupak (2003), estudos mostram que o benzoato de sódio e o tanino de castanheiro são compostos não tóxicos eficazes na repelência das

larvas de organismos incrustantes. Outro estudo mostra que substâncias isoladas de bactérias marinhas tem poder de inibir as larvas de cracas *Balanus amphitrite* e esporos de algas da espécie *Ulva lactuca*, evidenciando seu potencial antiincrustante (BURGUESS *et al* , 2003).

No Brasil, pesquisadores observaram eficiência na utilização do Fator Ativador de Plaquetas (PAF) de espécies de esponjas na inibição da incrustação (ALBERT *et al* , 2006). Segundo Gama (2007), foram feitos experimentos em campo com metabólitos secundários da alga *Laurencia obtusa* que comprovaram a inibição do crescimento de organismos incrustantes. O sucesso da inibição estaria relacionado à substância elatol, componente principal do extrato bruto desta alga.

O crescente interesse dos cientistas em desenvolver antiincrustantes à base de produtos naturais é explicado por estes causarem menores danos ao ambiente que as tintas comercializadas no passado. Apesar de haver poucos estudos sobre a toxicidade dos produtos naturais, sabe-se que estas substâncias têm maior facilidade de se degradar no ambiente (PEREIRA *et al* , 2009).

## **2.2. Capsaicina**

### **2.2.1. Características gerais das pimentas**

A pimenta é nativa da América do Sul, na área da Bolívia e do Peru. Cristovão Colombo trouxe pimentas para a Espanha em 1493, após sua primeira viagem ao Haiti. Como outras espécies vegetais, rapidamente se juntou ao elenco de produtos e sabores vegetais do Velho Mundo, principalmente sendo cultivada hoje em regiões áridas e secas do sul da Europa, América Central, Índia e Ásia Central. De fato, hoje quase metade da pimenta do mundo é produzida na área do Mediterrâneo. (JURENITSCH, 1979)

A sua introdução na Europa foi um avanço frente à culinária que veio para complementar e até mesmo substituir outro condimento como a pimenta preta



(*Piper nigrum* L.), comercialmente importante entre o Oriente e o Ocidente. (JURENITSCH, 1979)

As pimentas, sobre a sua classificação científica, são frutos de plantas pertencentes às espécies e variedades do gênero *Capsicum*, da família *Solanaceae* (como tomate, batata, berinjela). Ela tem uma grande variabilidade genética levando há várias classificações em relação à denominação botânicas. No entanto, a maioria dos autores concorda que é a espécie *Capsicum annuum*, que inclui quase todas as variedades cultivadas. (JURENITSCH, 1979)

O gênero *Capsicum* inclui 23 espécies reconhecidas, das quais apenas cinco são cultivadas: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens* e *C. chinense*. *Capsicum annuum* é considerada a mais importante por apresentar uma grande melhoria genética na espécie. (GOVINDARAJAN, 1986)

O fruto desta planta tem sido e é amplamente utilizado em todo o mundo, quer como alimento, tempero, por seu sabor, aroma e cor, ou como um medicamento, por suas propriedades de determinadas condições de cura significativas. (GOVINDARAJAN, 1986)

Devemos também mencionar a função decorativa da chamada "pimentas ornamentais". A maioria é vermelha ou laranja, mas também existem variedades brancas, amarelas e roxas. (GOVINDARAJAN, 1986)

Grande parte da demanda das pimentas no mundo, principalmente na área da América Central e do Sul, é devido a sua pungência característica atribuída à presença de capsaicinóides. As pimentas podem ser classificadas em três categorias de acordo com as suas propriedades picantes:

- a) As variedades cujo sabor é muito picante, com um teor de capsaicinóides, entre 0,3 e 1% por peso seco da pimenta. A produção e o comércio destas variedades é realizada em quantidades relativamente pequenas, embora essas variedades estão alcançando os melhores preços e são exigidos por seu forte sabor picante.
- b) As variedades cujo sabor é temperado, com um teor de capsaicinóides 0,01-0,3% em peso seco de pimenta.

- c) As variedades cujo sabor é doce e moderadamente picante, com um teor capsaicinóides abaixo de 0,01% do peso seco de pimenta. Aqueles que constituem a maior parte do comércio internacional, e seus preços são os mais baixos. São de interesse tanto por suas propriedades de coloração conforme seu gosto.

### **2.2.2. Compostos presentes em pimentas**

As pimentas têm uma enorme variedade de compostos, muitos deles com propriedades antioxidantes e importantes efeitos biológicos. Os níveis destes compostos podem variar de acordo com a variedade de pimenta em questão, o atual estado de maturação ou condições crescimento. É também uma fonte incrível de vitamina C, vitamina A e licopeno, tornando-se um dos mais importantes alimentos desintoxicantes. Na verdade, quando comparado com citros (laranjas, limões, toranjas, etc.), fornecem mais que o dobro dessas vitaminas. (HOWARD, 2000)

Como legumes em geral, as pimentas são ricas em fibra dietética. Entre os minerais, este vegetal contém principalmente fósforo, potássio, magnésio, ferro e cálcio, com quantidades muito baixas de sódio. (HOWARD, 2000)

O principal componente das pimentas é representado pelos hidratos de carbono. Ele também contém proteínas em quantidades pequenas e muito poucos lipídios (gorduras). Além disso, a pimenta tem uma porcentagem muito elevada de água (cerca de 90%). (HOWARD, 2000)

### **2.2.3. Toxicidade dos capsaicinóides**

Um método para determinar o nível tóxico letal dos capsaicinóides em animais, e extrapolando para seres humanos, pesquisadores utilizaram ratos, camundongos, cobaias e coelhos. Foram administradas capsaicina pura, intravenosa e subcutaneamente, no estômago e aplicação tópica, até a morte dos animais. A dose tóxica letal de capsaicina, medida em miligramas por Kg do

animal foi de 0,56 mg, intravenosa, até 190 mg, quando consumida e 512 mg na aplicação tópica. A provável causa da morte em todos os casos foi parada respiratória. Em seres humanos a dose tóxica está em torno de 13 gramas de capsaicina cristalina pura. (Eshbaugh, 1964)

Existem pesquisas do perigo em seres humanos de vários produtos que contém capsaicina como ingrediente. Óleoresinas de *Capsicum* é um ingrediente extremamente forte usado em molhos picantes. Para algumas pessoas, com poucos botões gustativos, estes molhos não chegam a preocupar, mas para outras ocorre uma reação muito negativa, experimentando queimaduras severas e algumas vezes com bolhas na boca e na língua. Outra reação imediata pode ser náusea, alteração na respiração, desmaio e vômito espontâneo. (Eshbaugh, 1964)

#### **2.2.4. Determinação da Pungência**

A técnica para determinar a pungência de pimentas utilizando alta tecnologia é chamada de CLAE, (do inglês High Performance Liquid Chromatography). Este método foi desenvolvido por James Woodbury da Cal-Comp Pack Foods em 1980. O processo visa dissolver uma amostra de pimentas moídas em etanol saturado com acetato de sódio para separar os capsaicinóides. Os capsaicinóides são então analisados com um espectrofluorímetro que mede o nível de capsaicina em partes por milhão (ppm), os quais são então convertidos para S.U., medida standard usada pela indústria. (Woodbury, 1980)

O método é sensível para 2 partes por milhão, cerca de 30 S.U., o qual significa dizer que testar pimentas individualmente é agora muito mais confiável. A respeito de o método CLAE ser muito apurado deveram ter em mente as diferenças entre uma mesma variedade quanto a sua localização de plantio, estação, solo, fertilizantes, umidade e calor, o que pode acarretar diferentes valores de pungência. (Woodbury, 1980)

Em 1912 um químico chamado Wilbur Scoville que trabalhava para a companhia farmacêutica Parker Davis desenvolveu um método para medir o nível

de "calor" das pimentas. O teste foi chamado depois de "Scoville Organoleptic Teste". (Scoville, 1912)

No teste original, Wilbur misturou pimentas puras moídas com açúcar e água. Provadores tomavam a solução em concentrações crescentemente diluídas, até que eles alcançaram o ponto que o líquido já não queimava a boca. Um número foi então dado a cada pimenta, baseado em quanto precisou ser diluída até que eles já não pudessem provar (sentir) o calor. É um procedimento de diluição subjetivo, levando em conta o gosto. (Scoville, 1912).

A ardência (ou fator de calor) das pimentas é medida em múltiplos de 100 unidades. Da *Sweet Bell*, zero unidades de Scoville ao poderoso *Habanero*, 300,000 unidades de Scoville! A *Capsaicina* fica entre 15.000,000 e 16.000,000 unidades de Scoville. Já a *Diidrocapsaicina* fica em 15.000,000 unidades de Scoville. (Scoville, 1912)



Figura 7: Escala de Scoville

### **2.2.5. Oleoresina**

Oleoresinas são extratos, ou óleos altamente concentrados, feitos de pimentas secas, picantes ou não, usados na culinária, medicina e corantes além de outros propósitos. Existem três tipos principais: oleoresinas de *Capsicum*, oleoresinas de pimentas vermelhas e oleoresinas de páprica. (OYAMA, 2006)

Oleoresinas de *Capsicum* são feitas das pimentas mais fortes disponíveis. Geralmente oriundas da África, Índia ou Ásia, apesar de que qualquer outra pimenta picante possa ser usada. (OYAMA, 2006)

A escala Scoville de calor fica geralmente entre 500.000 e 1.800.000 S.U. (Scoville Units) ou 4% a 14% de capsaicina. Cerca de 500g de oleoresina equivale a 10Kg de pimentas cayenne. Este tipo de oleoresina é extremamente forte é usado em defesa pessoal como spray de pimenta, em molhos super-picantes, em medicamentos como cremes analgésicos tópicos e em alguns alimentos industrializados. (SCOVILLE, 1912)

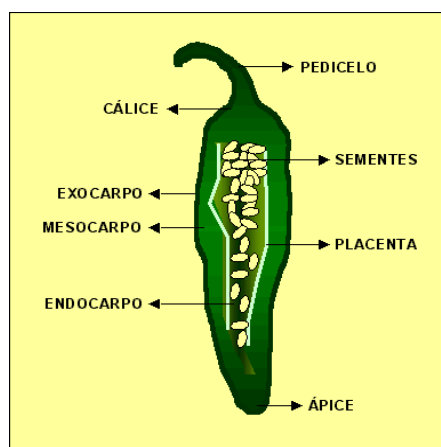
Em extrato mais moderado de oleoresina de pimentas vermelhas são produzidas em abundância no México, USA, Índia e Turquia. Ele atinge de 80.000 a 500.000 S.U. e 500g desta oleoresina equivale a 5 Kg de pimentas vermelhas de boa qualidade. É usado principalmente em alimentos processados. (SCOVILLE, 1912)

A oleoresina de páprica é extraída de um grande número de variedades de páprica não picantes. Contudo, quanto mais moderada a pimenta, maior seu conteúdo de coloração e são usadas basicamente como corantes vermelhos em comidas manufaturadas. (SCOVILLE, 1912).

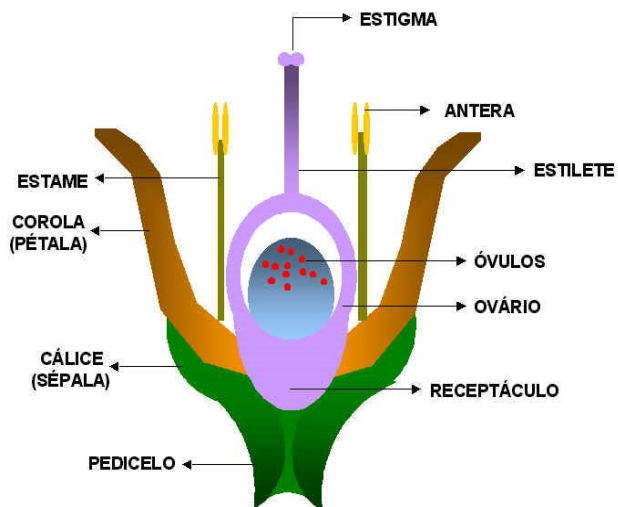
### **2.2.6. Anatomia da flor e fruto de *capsicum***

Pimentas são plantas autógamas, ou seja, o pólen e o óvulo que é fecundado são da mesma flor. A reprodução das pimentas se dá pelo seu órgão reprodutor - as flores. Nelas estão os aparelhos reprodutores femininos e masculinos, o que facilita este tipo de reprodução.

Na natureza, porém ocorre a troca de genes entre plantas da mesma espécie ou entre espécies diferentes do gênero *Capsicum* através da polinização cruzada, pela ação do vento ou insetos polinizadores, ou pela ação do homem. Isto acarreta numa variabilidade genética e numa diversificação enorme de variedades.



**Figura 8 - O Fruto**



**Figura 9 - Flor de *Capsicum***

### 2.2.7. Taxonomia

A taxonomia do gênero *Capsicum* é complexa, devido a grande variabilidade de formas existentes nas espécies cultivadas e a diversidade de critérios. Exclusivos das Américas, o gênero *Capsicum* se expandiu com grande velocidade por outras partes do mundo a partir do século XVI, quando a movimentação das populações européias entre as comunidades indígenas foi intensificada (Luz, 2001). Os pássaros também podem ter contribuído para a dispersão das espécies de *Capsicum* (DE WITT e BOSLAND, 1997).

Após muito trabalho de taxonomistas sobre a classificação das espécies atualmente domesticadas de *Capsicum*, eles consideraram as pimentas como pertencente a uma das cinco espécies (das 26 espécies conhecidas).

As primeiras características de separação são baseadas nas flores e cor das sementes, depois o formato do cálice, o número de flores por nódulo e sua orientação. As cinco grandes espécies de pimentas são:

#### ***Capsicum annuum***

A espécie *C. annuum* é a mais cultivada no mundo. Viñals afirma que todas as formas de pimentão utilizadas pelo homem pertencem à espécie *C. annuum*, sendo que esta apresenta a maior variabilidade genética. (VIÑALS, 1996)

Essa espécie tem como centro de origem e diversidade o sul dos EUA até o norte da América do Sul e segundo Heiser Jr., estudos arqueológicos demonstram que sua domesticação ocorreu na América Central ainda no início da era Cristã. A espécie *C. annuum* var. *annuum* é representada por pimentas e pimentões e apresenta como características flores solitárias, corola branca, anteras azuis, ausência de manchas na corola e de constrição anular na junção do cálice com o pedicelo, enquanto a espécie *C. annuum* var. *glabriusculum* apresenta corola sem a presença de manchas, brancas com borda roxa ou totalmente arroxeadas, além de anteras roxas. Exemplo: pimenta americana (doce). (HEISER JR, 1979)



Figura 10 - *Capsicum annuum*

### ***Capsicum baccatum***

*Capsicum baccatum* apresenta duas formas ou variações: *C. baccatum* var. *pendulum*, que possui corola branca com manchas amareladas e uma única flor por nó, e *C. baccatum* var. *baccatum*, que possui as manchas esverdeadas e duas a cinco flores por nó, é altamente ramificada e a cor da corola é paleácea ou branca esverdeada. A ocorrência de *C. baccatum* abrange o Noroeste da América do Sul, incluindo Colômbia, Equador, Peru, Bolívia e Sudoeste do Brasil, sendo que a forma semidomesticada *C. baccatum* var. *baccatum* apresenta estreita distribuição na parte central do Peru, Bolívia, Norte da Argentina e no Sudeste do Brasil. Exemplo: dedo-de-moça. Pimenta calabresa. (REIFSCHNEIDER, 2000)



Figura 11 - *Capsicum baccatum*



### ***Capsicum pubescens***

*Capsicum pubescens* é uma espécie típica de terras altas, relativamente tolerantes ao frio, podendo, contudo ocorrer em altitudes baixas. Possui flores isoladas a cada nó, de corola roxa e, ocasionalmente, com zonas brancas, anteras roxas, frutos com formato de maçã e sementes pretas (BOSLAND, 1996). O centro primário de diversidade é a Bolívia. É a única espécie domesticada que não se encontra naturalmente no Brasil. (REIFSCHNEIDER, 2000)



**Figura 12 - *Capsicum pubescens***

### ***Capsicum chinense***

A espécie *C. chinense* possui frutos pendentes de diversos tamanhos e uma constrição anular na junção do cálice com o pedicelo (TEIXEIRA, 1996). A distribuição de *C. chinense* é a mesma de *C. frutescens*. De acordo com Ribeiro (1987), a Bacia Amazônica é centro de diversidade de *C. chinense* Jacq., sendo conhecida por pimenta de cheiro, pimenta de bode e pimenta murici. Pickersgill (1966) relatou a estreita relação entre *C. chinense* e *C. frutescens*, fundamentada em estudos de morfologia e hibridação interespecífica. Casali mostrou que ambas apresentam alto grau de compatibilidade e ressalta que *C. chinense*, possuidora de grande variabilidade genética é um material valioso como fonte de genes para *C. frutescens*, que é uma das espécies mais importantes comercialmente em todo o mundo. Exemplo: pimenta de cheiro. (CASALI, 1970)



Figura 13 - *Capsicum chinense*

### ***Capsicum frutescens***

Existe apenas uma única forma domesticada de *C. frutescens*, popularmente chamada de tabasco, cultivada no sudeste dos EUA. Na América do Sul, especialmente no Brasil, formas espontâneas (como a malagueta) são encontradas com relativa frequência. A espécie encontra-se distribuída nas terras baixas do Sudeste brasileiro até a América Central e as Índias Ocidentais, apresentando variabilidade bem menor que as demais espécies cultivadas no Brasil (REIFSCHNEIDER, 2000). Caracteriza-se por apresentar duas a cinco flores a cada nó, corola branco-esverdeado, anteras variando de azul a roxo, frutos extremamente pungentes e o cálice do fruto maduro, sem constrição anular na junção com pedicelo. Exemplo: malagueta. (PICKERSGILL, 1979)



Figura 14 - *Capsicum frutescens*

### 2.2.8. Características gerais dos capsaicinóides.

Capsaicinóides são compostos que dá o sabor picante as pimentas, as quais são um grupo de amida de ácido formado a partir da vanililamina e ácidos graxos de 8 a 13 átomos de carbono, entre os quais, a capsaicina e a dihidrocapsaicina representam geralmente 90% do total de capsaicinóides presentes nas variedades de pimentas quentes. (BENNETT, 1968). Ainda em importância a nordihidrocapsaicina, que normalmente está presente em quantidades que variam de 4 a 8% de capsaicinóides presentes em pimentas. (CONSTANT, 1996). São aproximadamente quatorze capsaicinóides existentes, no entanto, os que ocorrem em maior quantidade são Capsaicina (C), Diidrocapsaicina (DHC); Nordiidrocapsaicina (NDHC); Homocapsaicina (HC) e Homodiidrocapsaicina (HDHC). (MORROW, 1999).

O esqueleto de base com a seguinte estrutura capsaicinóides.

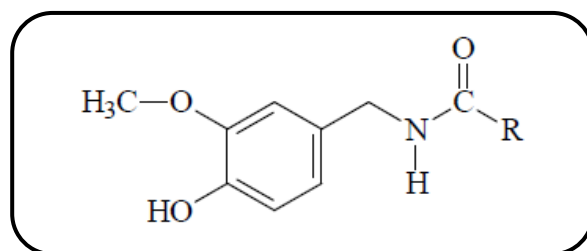


Figura 15: Esqueleto base dos capsaicinóides

Dependendo do número de átomos de carbono da cadeia lateral (R) ou se eles têm insaturações pode ter vários capsaicinóides naturais existentes, tal como são apresentados na Tabela 2, que representam as cadeias mais abundantes presentes no capsaicinóides natureza:

Tabela 2 – Cadeias laterais presentes nos capsaicinóides naturais

R =	NOMES
	Capsaicina
	Dihidrocapsaicina
	Norcapsaicina
	Nordihidrocapsaicina
	Homocapsaicina I
	Homocapsaicina II
	Homodihidrocapsaicina I
	Homodihidrocapsaicina II
	Normoncapsaicina
	Normordihidrocapsaicina
	Normonordihidrocapsaicina
	Nonivamida
	Vanillilamida del a. Decílico
	Vanillilamida del a. Caprílico

### **2.2.9. Efeitos e aplicações de capsaicinóides.**

Como discutido acima, o principal capsaicinóide presente na maioria das pimentas é a capsaicina. O conteúdo de capsaicina em pimentos vermelhos picantes pode ser tão elevado como 1% do peso seco de pimenta. A capsaicina provoca vários efeitos biológicos, de modo que tem sido o objeto de numerosas investigações desde a sua elucidação estrutural em 1919. (NELSON,1923)

A ingestão de grandes quantidades de capsaicina produz alterações bioquímicas e histopatológicas, incluindo erosão da mucosa gástrica e a necrose do fígado. Inclusive na literatura cita a morte de um bebê de oito meses, depois da ingestão de um remédio caseiro a base de pimenta em pó. (STEENKAMP, 2001)

Estes compostos, além de sua ampla utilização em alimentos, tem uma enorme variedade de propriedades e aplicações, tais como:

- Antimutagênica e antitumorais:

Numerosas investigações têm vindo a determinar o potencial mutagênico e carcinogênico apresentado pela capsaicina, mas estes resultados são discordantes, com duplo efeito. (LEE, 1996)

Estudos têm demonstrado que a administração da capsaicina em dieta de ratos albinos causa o aparecimento de tumores no duodeno (GANNETT, 1992). Outros estudos sugerem que tanto a capsaicina quanto os extratos das pimentas atuam como agentes e promotores tumorais. (AGRAWAL, 1986)

Muitos outros estudos em que o efeito carcinogênico e mutagênico da capsaicina não é tão claro, pois a capsaicina não tem propriedades mutagênicas ou carcinogênicas apresentadas por determinados compostos. Estudos epidemiológicos no México revelam que os consumidores de pimentas têm o mesmo risco de câncer de estômago do que aqueles que não os consomem. (LÓPEZ-CARILLO,1994)

Por outro lado, nos últimos anos, estão aparecendo grandes estudos que apontam o potencial quimiopreventivo apresentados pela capsaicina. Verificou-se que os extratos de pimentas e os capsaicinóides bloqueiam os processos de carcinogênese e mutagênese. (KUTTAN, 1990)

Sugere que a capsaicina exerce um efeito quimiopreventivo através da modulação do metabolismo de vários compostos cancerígenos e mutagênicos e suas interações com DNA. Além disso, observou-se que o pré-tratamento com capsaicina tópica em ratinhos atenua carcinomas de pele induzidos por carbamato de vinilo. (SURH, 1995)

Resumidamente, a capsaicina tem um duplo efeito sobre a indução do câncer e mutações. Uma pequena quantidade de capsaicina manifesta um pouco ou nenhum efeito nocivo, mas uma alta ingestão deste composto é associada com necrose, ulceração e até mesmo câncer. Inversamente, a capsaicina tem a capacidade de alterar o metabolismo de muitos compostos carcinogênicos, o que fornece um caminho para a aplicação deste composto na quimioprevenção. (LEE, 1996).

- Antioxidantes.

As pimentas são uma excelente fonte de antioxidantes que podem ser utilizados na dieta. Os compostos antioxidantes presentes não só difundidos no mundo vegetal tais como os flavonóides e ácidos fenólicos, carotenóides, a vitamina A, o ácido ascórbico, tocoferóis, mas também componentes antioxidantes específicos como capsaicinóides e capsinóides. (ROSA, 2002)

Os capsaicinóides apresentam uma atividade antioxidante interessante. Sabe-se que a capsaicina e dihidrocapsaicina são capazes de inibir a peroxidação lipídica catalisada pelo cátion  $Fe^{3+}$  e a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade produzido por cátion de cobre. Este efeito é atribuído à capacidade destes compostos para formar complexos com os metais reduzidos, atuando como um doador de hidrogênio. (MURAKAMI, 2002)

A substância também pode evitar a oxidação do ácido oleico em altas temperaturas, bem como impede a formação de hidroperóxidos de lipídeos da auto-oxidação do ácido linoleico. (HENDERSON, 1999)

Apesar destas excelentes propriedades, a utilização de capsaicinóides como antioxidantes em tratamentos alimentares ou farmacêuticos é, obviamente, limitada pelo seu caráter picante e suas propriedades.

- Analgésico tópico contra a dor.

Uma das mais importantes propriedades fisiológicas da capsaicina é o seu efeito seletivo sobre o sistema nervoso periférico, particularmente em neurônios aferentes primários. A capsaicina tem o efeito de reduzir a transmissão de impulsos nervosos de dor, o que faz dele uma ferramenta muito versátil no estudo deste mecanismo. (SURH, 1996)

Portanto, a capsaicina é utilizada terapêuticamente como um analgésico tópico para tratamento de certas dores tipo periférico, tais como a artrite reumatoide, neuralgia pós-herpética, a neuropatia diabética e osteoartrite, entre outros. (MORRIS, 1997)

Numerosos estudos clínicos demonstraram que a utilização de cremes 0,025 % capsaicina melhora significativamente a dor em pacientes com artrite. Várias pomadas, cujo princípio ativo é capsaicina ou oleoresina de pimentas, são comercializados hoje. (KAALE, 2002)

- Atividade antimicrobiana

Os capsaicinóides são também conhecidos por apresentar uma atividade antimicrobiana e antifúngicos. Cichewicz e colaboradores descobriram que os extratos obtidos a partir de pimentas inibe o desenvolvimento de determinados agentes patogênicos, tais como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani*, e *Streptococcus pyogenes*.

Molina-Torres *et al* descobriu que a capsaicina também inibe o crescimento e desenvolvimento de *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum*, além *Bacillus subtilis*.

Também tem sido demonstrado que exibem propriedades antibacterianas nos extratos capsaicinóides contra *Salmonella typhimurium*, e *Pseudomonas aeruginosa* e contra a *Helicobacter pylori* entre outros. (CAREAGA, 2003)

- Outras aplicações

Vários artigos discutem as propriedades anti-inflamatórias apresentadas pela capsaicina. (KIM, 2003) Estudos indicam que a capsaicina inibe o desenvolvimento de processos inflamatórios como a inflamação causada no estômago de ratos, que tenham sido pré-tratados com etanol. (PARK, 2000)

A capsaicina atua como aleloquímicos, causando a inibição do crescimento de raízes e brotos de alfafa (*Medicago sativa*), agrião (*Lepidium sativum*), alface (*Lactuca sativa*), capim-colchão (*Digitaria sanguinalis*), o Timothy grama (*Phleum pratense*) e aveia selvagem (*Lolium multiflorum*), e suprime a germinação. Um aumento na dose de capsaicina aumenta a inibição. (KATO-NOGUCHI, 2001)

Neste estudo concluiu-se que a eficácia da capsaicina no crescimento da planta varia dependendo da espécie e da parte da planta. É ainda sugerido que a capsaicina pode atuar como um aleloquímico com outras plantas. (KATO-NOGUCHI, 2001)

A oleoresina de pimenta é usada em produtos de autodefesa como uma arma não letal e imediata (REILLY, 2001). Estima-se que cerca de 15 milhões de americanos têm alguns destes produtos de autodefesa. Spray de pimentas (capsaicinóides) produz respostas fisiológicas muito intensas, que resultam em espirros, desorientação, eritema, lacrimejamento, cegueira temporária e dor intensa (HYDER, 1996). Estes efeitos do spray são causados pelos capsaicinóides.

Os capsaicinóides são amplamente utilizados como repelentes animais contra aves selvagens e mamíferos para a proteção de pomares, viveiros, jardins e plantas ornamentais (ANDELT, 1994). Em algumas partes do mundo, há certos fenômenos de pragas de mamíferos, como coelhos no oeste dos Estados Unidos. Bosland e Bosland estudaram o efeito dos capsaicinóides contra danos em plantações de alface utilizando coelhos selvagens como cobaias. Foi observado que coelhos comiam apenas plantas que não haviam sido tratados com capsaicinóides.

#### **2.2.10. Evolução dos capsaicinóides durante a maturação e localização na placenta.**

Tem havido uma série de estudos que têm alterações no conteúdo capsaicinóides apresentando variedades de pimenta em todo o desenvolvimento da planta, maturação e durante o envelhecimento. Muitos destes estudos se



relacionam com a atividade de peroxidase, que são as enzimas que se pressupõem a atuarem na degradação destes compostos. As peroxidases catalisam a oxidação de um grande número de estruturas aromáticas. (CONTRERAS-PADILLA, 1998)

A acumulação de capsaicinóides está particularmente associada com o desenvolvimento de um órgão particular nestas plantas, é a fruta.

Fujikawe *et al* constataram que os capsaicinóides são biosintetizados em células da placenta dos frutos das variedades quentes do gênero *Capsicum*. Estes compostos são produzidos a partir de via do ácido cinâmico. (FUJIKAWA, 1982)

Iwai e colaboradores foram os primeiros a sugerir que a produção de capsaicinóides incrementava durante o amadurecimento, introduzindo uma degradação destes compostos superior a 60%. Também estudaram a estrutura celular da placenta por um microscópio e observaram que determinadas alterações morfológicas ocorreram no tecido epidérmico da placenta durante a maturação. Portanto, parece que as células epidérmicas da placenta é o lugar de acumulação de capsaicinóides. (IWAI, 1979)

A pequena quantidade de capsaicinóides detectados no pericarpo dos frutos e das sementes é atribuída à aderência de pequenas quantidades de capsaicinóide da placenta. Também foram encontrados capsaicinóides em outras partes da planta tais como as folhas e as hastes, mas numa quantidade muito menor do que é na placenta. (IWAI, 1979)

Bernal *et al* realizaram estudos *in vitro* com as peroxidases e sugeriu que estas enzimas estão envolvidas na degradação de capsaicinóides. Estes investigadores demonstraram que a peroxidase das pimentas é responsável pela oxidação da capsaicina e dihidrocapsaicina. Demonstramos ainda que a oxidação da dihidrocapsaicina pela peroxidase da pimenta era estritamente dependente da presença de água. Estes resultados foram utilizados como evidência de que as peroxidases são enzimas que estão envolvidas na degradação de capsaicinóides, uma vez que tenham atingido a concentração máxima. (BERNAL, 1994)

Contreras-Padilla e colaboradores realizaram um estudo sobre a mudança no conteúdo de capsaicinóides, durante o desenvolvimento, maturação e

envelhecimento de três variedades de pimentas, em relação à atividade de peroxidase. As variedades estudadas apresentaram uma alta pungência. Estas variedades foram Habanero (*Capsicum chinense* Jacq.), Árvore (*Capsicum annuum* var. *Annuum*) e Piquin (*Capsicum annuum* var. *Aviculare*). A quantidade de capsaicinóide foi mais abundante em frutos de Habanero (200.000 unidades Scoville), seguido por a Árvore (150000 unidades de Scoville) e finalmente Piquin (60.000 unidades de Scoville). (CONTRERAS-PADILLA, 1998)

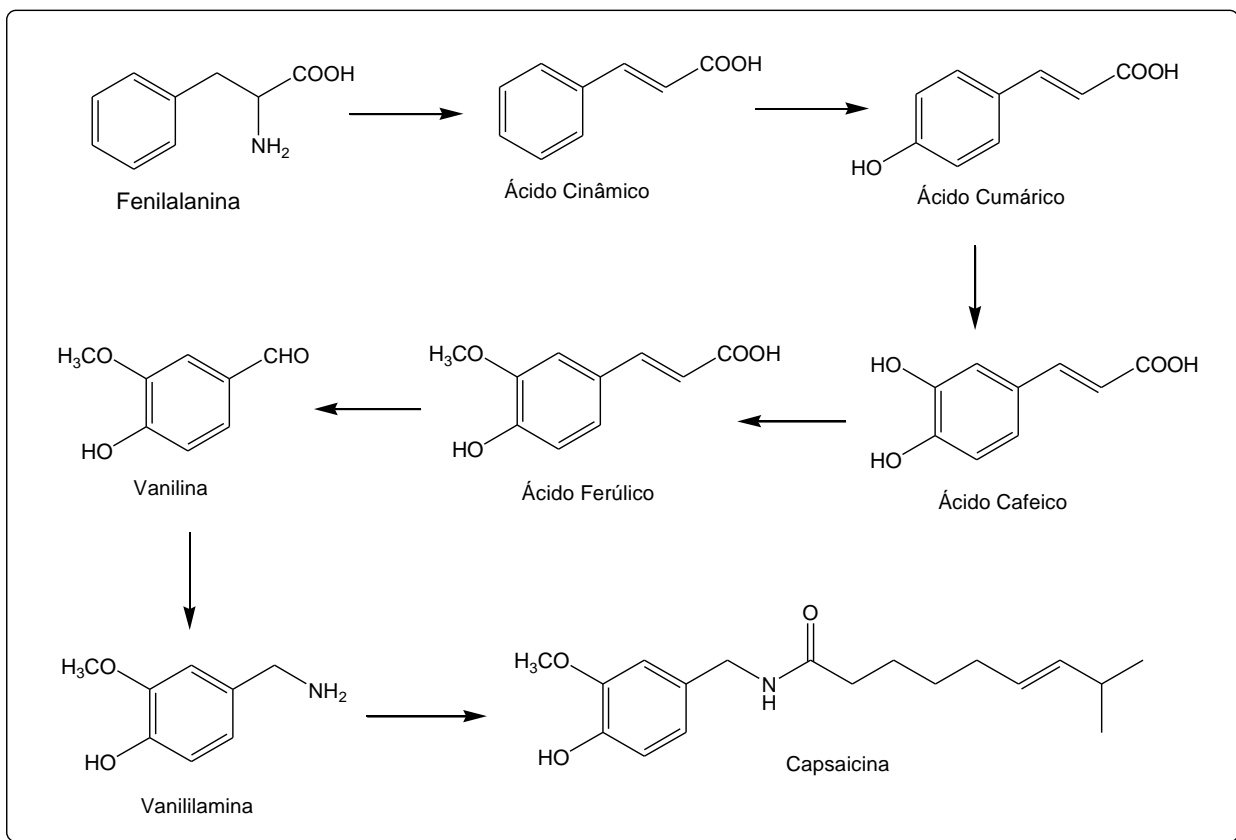
A quantidade de Capsaicinóide (capsaicina e dihidrocapsaicina) aumenta continuamente e atinge o seu pico de 45-50 dias depois de ver o resultado na variedade Árvore e Habanero e depois de 40 dias no Piquin. Após este tempo, essa quantidade começa a declinar. Por outro lado, a diminuição da concentração dos capsaicinóides sempre coincide com um aumento acentuado na atividade enzimática da peroxidase. (CONTRERAS-PADILLA, 1998)

Estrada e colaboradores realizaram um estudo sobre a evolução do conteúdo capsaicinóides, ácidos fenólicos e lignina ao longo do amadurecimento das pimentas do tipo *Capsicum annuum*. Os capsaicinóides foram detectados 14 dias após a floração, na primeira fase de crescimento dos frutos. Este baixo nível de capsaicinóides foi mantido por alguns dias e 28 dias após a floração, observou um aumento moderado na quantidade de capsaicinóides. Finalmente, em fases posteriores do desenvolvimento do fruto, cerca de 40 dias após o florescimento teve aumento elevado no índice de capsaicinóides. (ESTRADA, 1998)

Estes autores estudaram a evolução dos ácidos fenólicos livres predominantes em pimentos Padrão (ácido protocatéquico, ácido clorogênico, ácido cumárico e ácido ferúlico). Nestes ácidos encontram diferenças associadas com as fases sucessivas do desenvolvimento do fruto. (ESTRADA, 1998)

O padrão de acumulação destes ácidos é muito diferente do apresentado pelo capsaicinóides, e os seus níveis são muito mais elevados nos primeiros estágios de desenvolvimento do fruto, no final do processo de amadurecimento. Todos esses ácidos mostraram uma concentração mais baixa no processo de amadurecimento, exceto o ácido ferúlico, o qual é um precursor dos capsaicinóides e só aparece na última fase de maturação. Concluiu-se que a

diminuição do teor de ácidos fenólicos pode estar relacionada com a síntese de capsaicinóides. (Esquema 1). (ESTRADA, 1998)



**Esquema 1: Biossíntese da Capsaicina**

Estrada *et al* estudaram e relacionaram o conteúdo de capsaicinóides e de compostos fenólicos em diferentes fases de maturação de pimenta. Eles descobriram que a capsaicina, nordihidrocapsaicina e dihidrocapsaicina e mostraram o mesmo padrão de acumulação em todos os estados, mas a homodihidrocapsaicina só apareceu nos últimos estágios. (ESTRADA, 2001)

Estrada *et al* estudaram a composição dos capsaicinóides em vários órgãos da planta da pimenta em relação ao mesmo período de amadurecimento. Eles fizeram o estudo com o tipo de plantas *Capsicum annuum*. Observou-se que o teor de capsaicinóide era mais abundante nesses frutos pertencentes às partes superiores das plantas, em que os da parte inferior ou no meio da mesma.

Analisou o conteúdo de capsaicina e dihidrocapsaicina, os dois capsaicinóides mais abundantes de pimentas, verificando que a proporção de capsaicina foi sempre maior do que a proporção de dihidrocapsaicina em frutas. (ESTRADA, 2001)

Este estudo verificou que os capsaicinóides estavam presentes em todos os órgãos das plantas, tais como o caule e folhas. Tanto o caule e nas folhas, a proporção individuais de capsaicinóides (capsaicina e dihidrocapsaicina) foi diferente do apresentado nos frutos, sendo nessas partes da planta a dihidrocapsaicina o capsaicinóide mais abundante. Para comprovar realizou um estudo que envolveu a remoção das flores das plantas, assim impedida a formação do fruto. Deste modo não encontrado capsaicinóides no caule ou nas folhas das plantas, de modo que sugere que os capsaicinóides são gerados apenas no fruto. (ESTRADA, 2001)

Kirschbaum-Titze e colegas realizaram um estudo sobre o conteúdo capsaicinóides em frutos individuais a partir da mesma planta e recolhidos ao mesmo tempo após a floração. Estes frutos apresentam uma vasta gama de valores, mas apresentando um padrão razoavelmente uniforme na relação entre as diferentes capsaicinóides estudados (capsaicina, e dihidrocapsaicina nordihidrocapsaicina). Eles descobriram que as mudanças ocorridas no conteúdo capsaicinóide dependiam da hora em que você colhia o fruto, após o mesmo tempo da floração dos frutos da mesma planta. Mostra que o conteúdo capsaicinóide de pimentas colhidas entre junho e setembro é maior do que a de pimentas colhidas em outubro. (KIRSCHBAUM-TITZE, 2002)

Estrada *et al* estudaram a quantidade de capsaicinóides, compostos solúvel fenólicos de lignina presentes nas pimentas (*Capsicum annuum L. var. annuum*) cultivadas com duas formas diferentes de fertilizantes. Nível de fertilização não influenciou o crescimento das plantas. Observou-se que o teor de fenol livre e lignina foi maiores nas plantas de controle (sem suplemento de adubos minerais) do que naqueles que foram tratados. Por contraste, as plantas tratadas com uma suplementação de nutrientes minerais tinham significativamente maior quantidade de capsaicinóides do que aqueles que não foram tratados.

Concluíram que a adubação das plantas altera o equilíbrio entre a síntese dos capsaicinóides e acúmulo lignanas nas paredes celulares. (ESTRADA, 1999)

Estes mesmos autores também estudaram a quantidade de capsaicinóides em plantas de pimenta sintetizados do tipo *Capsicum annuum L. var. Annuum* que tinham sido cultivadas com várias adições de água. A quantidade de capsaicinóides (capsaicina e dihidrocapsaicina) em pimentas de plantas com deficiência hídrica foi maior do que as plantas controle de pimentas. Este aumento no conteúdo capsaicinóide foi observado principalmente nas plantas que tinham experimentado aumento do estresse hídrico. Os resultados desta experiência sugerem que as condições ambientais, tais como estresse de seca, têm um efeito significativo sobre a acumulação dos capsaicinóides em pimentas. (ESTRADA, 1999)

A heterogeneidade do conteúdo capsaicinóides entre frutos provenientes de plantas cultivadas sob as mesmas condições, ou mesmo entre frutos individuais colhida a partir da mesma planta com o mesmo tempo de maturação implica que há outros fatores envolvidos, assim como genética, na biossíntese dos capsaicinóides, tendo demonstrado que as condições ambientais que influenciam o teor de capsaicinóides. (HARVELL, 1997)

### **2.2.11. Síntese de capsaicinóides e análogos**

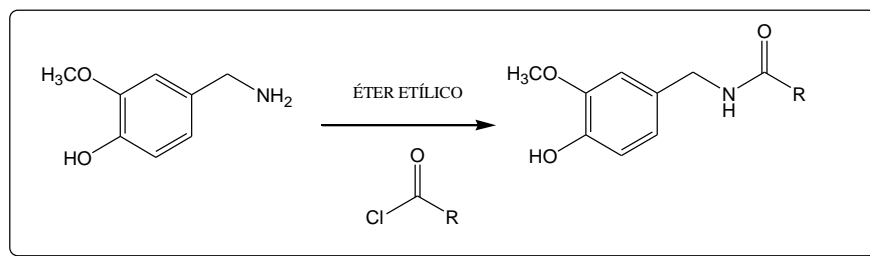
Por causa da importância tanto econômica, como biológica, e da alta utilização destes produtos, são muitas as metodologias de propostas de síntese para a obtenção destes compostos. Essas metodologias são tanto químicas quanto enzimática. O processo de extração e isolamento da capsaicina natural apresenta alguns inconvenientes relacionados à produção, fatores climáticos e quantidade de capsaicinóides nos frutos. Logo grande parte destas sínteses está protegida por patentes. (ANDELT, 1994)

### 2.2.12. A síntese química de capsaicinóides

A síntese química de produtos naturais é uma ferramenta extremamente importante para a produção de compostos naturais ou seus análogos, na preparação ou isolamento a partir da natureza é complicada, dispendiosa, ou baixo rendimento. Portanto, em muitos casos, é muito mais conveniente para sintetizar quimicamente os compostos encontrados na natureza, do que obter diretamente a partir de plantas por extração e isolamento.

Na literatura são coletados mais de 20 compostos naturais que pertencem à família dos capsaicinóides. Todos eles têm propriedades estruturais semelhantes, de modo que a sua separação é extremamente complexa. Isto conduziu ao desenvolvimento de métodos de síntese para a obtenção dos capsaicinóides presentes em pimentas e outros análogos sintéticos que exibem as mesmas propriedades que aqueles que aparecem na natureza.

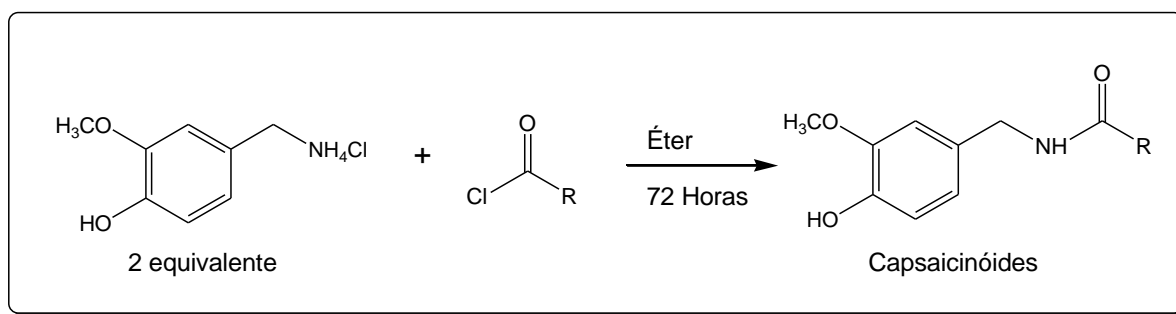
O primeiro método de síntese proposta por capsaicinóides Nelson, em 1919. A metodologia empregada foi dissolver certa quantidade de vanililamina em éter etílico anidro. Em seguida, foi adicionada uma quantidade equimolar do correspondente cloreto de ácido de acordo com o capsaicinóide que seria sintetizado. A mistura da reação foi mantida em agitação sob aquecimento ligeiro até que a reação fosse completada. A reação foi parada pela adição de água acidificada com ácido clorídrico. Sintetizado desta forma um grande número de comprimentos de cadeia de capsaicinóides entre 3 e 12 átomos de carbono, obtendo-se rendimentos compreendidos entre 44 e 83%.



Esquema 2: A síntese de capsaicinóides proposta por Nelson

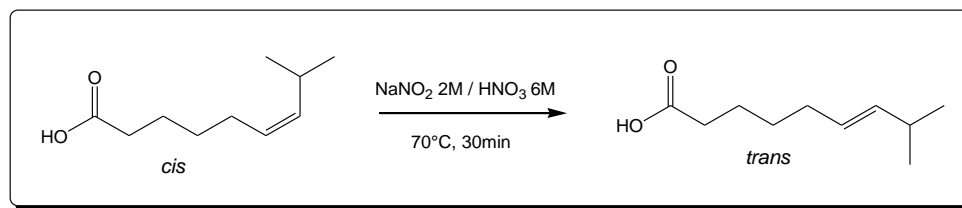
Gannett e colaboradores também estudaram um método para sintetizar capsaicinóides. Foi desenvolvido um método para a formação do cloreto de acilo

do ácido correspondente na cadeia de capsaicina e dihidrocapsaicina. Para isso foi adicionado em excesso o cloreto de tionilo do ácido correspondente. O cloreto de acilo formado foi dissolvido em éter etílico e adicionou-se 2 equivalentes de 4-hidroxi-3-metoxibenzilamina, também dissolvido em éter etílico. A mistura da reação foi deixada em agitação durante 3 dias à temperatura ambiente e depois foi parada pela adição de água. O produto bruto foi posteriormente extraído três vezes com éter etílico, as fases orgânicas unidas foram secas com sulfato de sódio anidro e depois se concentrou para dar o capsaicinóide correspondente.



**Esquema 3: A síntese de capsaicinóides proposta por Gannett e colaboradores**

Kaga *et al* também sintetizaram a capsaicina de forma semelhante a Gannett. Realizando primeiro a isomerização de ligação dupla da cadeia lateral (Z) para formar (E). Para este ácido foi feito reagir com o ácido (Z)-8-metil-6-nonenóico (7,7 g, 45,3 mmol) com uma solução 2M de  $\text{NaNO}_2$  (3,2 mL) e uma solução 6M de  $\text{HNO}_3$  (2,15 mL) a uma temperatura de 70-75 ° C sob atmosfera inerte de nitrogênio. A mistura da reação foi mantida sob agitação vigorosa durante 30 minutos. Mais tarde, a reação foi resfriada e foi adicionado éter etílico. Em seguida, a fase orgânica foi lavada uma vez com água e três vezes com salmoura. Em seguida, secou-se com sulfato de sódio anidro e concentrou-se para originar o ácido na sua forma (E), em uma proporção de 8:1, com sua forma (Z) com um rendimento de 91%. Uma vez que a cadeia lateral de ácido de capsaicina na sua (E), operado de uma maneira semelhante a Gannett para a obtenção de capsaicinóides.



**Esquema 4: Isomerização do ácido (Z)-8-metil-6-nonenóico**

Publicou também uma patente sobre a preparação e purificação da capsaicina sintética. Esta patente descreve o processo inteiro de síntese de capsaicina. No que diz respeito à formação da amida por acoplamento entre o cloridrato de 4-hidroxi-3-metoxibenzilamina com o correspondente cloreto de ácido, é dirigida, tal como descrito abaixo.

O cloridrato de 4-hidroxi-3-metoxibenzilamina (13,4 g) é dissolvido em dimetilformamida (40 mL) e adicionado em um balão sob atmosfera de nitrogênio. A mistura da reação é resfriada até 10°C. Depois adiciona NaOH 5M (28 ml) lentamente, em um banho de gelo. Em seguida, a mistura reacional foi agitada magneticamente a 20°C durante 30 minutos e depois resfriada a 5°C. Em seguida, adicionou-se ácido clorídrico, gota a gota (13,3 gramas) em éter anidro (120 mL) durante 60 minutos a 5°C e, subseqüentemente, deixada atingir a temperatura ambiente, mantendo sob agitação magnética durante a noite. Depois deste tempo, foi realizada a extração com 3 porções de acetato de etilo. A fase orgânica obtida é lavada duas vezes com HCl 1M, duas vezes com NaHCO<sub>3</sub> e 1 vez com salmoura, secou-se sobre sulfato de sódio anidro e concentrou-se sob vácuo. Nesta reação, o rendimento foi de 65%.

Alcides utilizou quatro etapas para a síntese da capsaicina. A proposta foi fixar a geometria trans desde o início da reação de síntese.

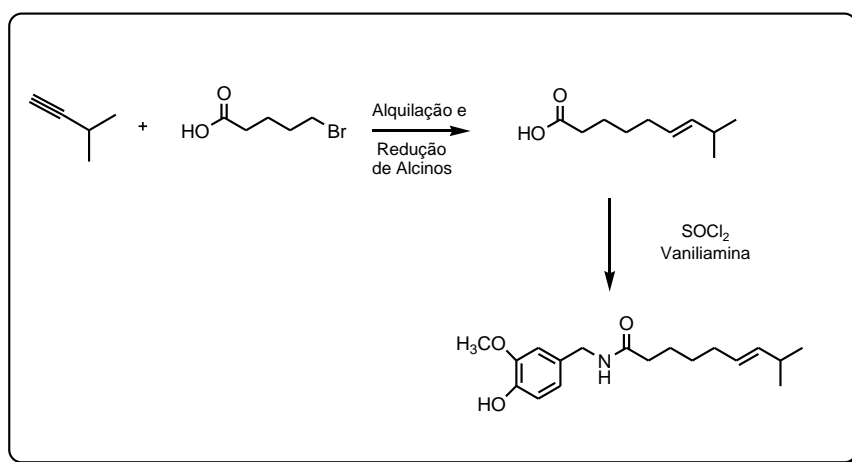
Na primeira etapa ocorre a síntese do ácido 8-metil-6-nonínico, a partir da reação de alquilação do 3-metil butino com o ácido bromovalérico em presença de hexametilfosforamida (HMPA), tetrahidrofurano (THF) e uma base (n-butilítio). Esse primeiro intermediário pode ser purificado por coluna de cromatografia, destilação a vácuo ou cristalização a baixa temperatura. (89%).

Posteriormente o ácido 8-metil-6-nonínico é reduzido, utilizando lítio, t-butanol, em presença de NH<sub>3</sub>/THF para gerar o ácido 8-metil-6-nonenóico com



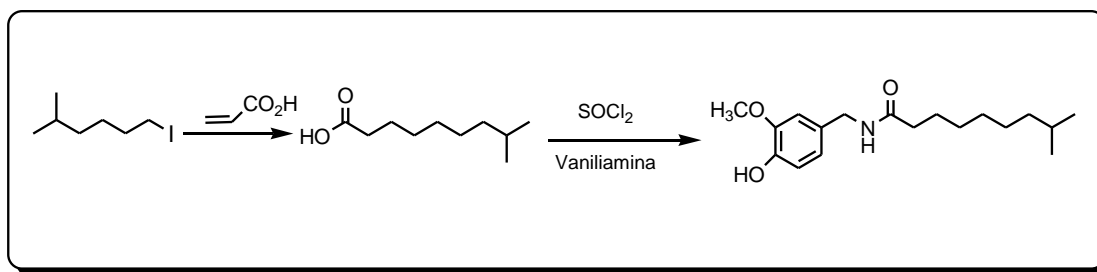
86% de rendimento.

O ácido 8-metil-6-nonenóico é ativado com  $\text{SOCl}_2$  para obter o terceiro intermediário (cloreto do ácido). Por fim, este é submetido à reação de acilação utilizando o derivado benzilamina em presença de  $\text{NaOH}/\text{DME}/\text{Et}_2\text{O}$  para obter a capsaicina que é purificada por recristalização e CLAE com 99% de rendimento.



**Esquema 5 – Síntese da capsaicina proposta por Alcides**

O método utilizado por Maria (2009) consistiu na reação radicalar entre o 5 metil-1-iodo-hexano e o ácido acrílico em presença do par bimetálico  $\text{Zn}/\text{CuI}$  foi realizada para obtenção do ácido 8-metil-nonanóico, este foi submetido a reação de acoplamento com a 4-hidroxi-3-metoxi-benzilamina (vanililamina) para obtenção da diidrocapsaicina.



**Esquema 6– Síntese da diidrocapsaicina proposta por Maria e colaboradores**

A estratégia de síntese dos análogos de capsaicina proposta por Gonçalves envolve a utilização da vanilina como material de partida para a síntese da parte aromática onde ocorreu uma reação de aminação redutiva do tipo Leuckart, utilizando formiato de amônio como reagente em presença de DMF para

formação da vanililamina desejada. A mesma vanilina foi submetida à reação de oxidação em presença de ácido metacloroperbenzóico para formação do ácido vanílico.

A etapa posterior consiste na utilização de óleos essenciais para formação da cadeia lateral dos análogos da capsaicina. Optou-se pela utilização do citral e do citronelal, pois estes apresentam semelhanças estruturais compatíveis com a capsaicina, como: dez átomos de carbono na cadeia lateral, a presença de um carbono terciário e a presença de uma insaturação.

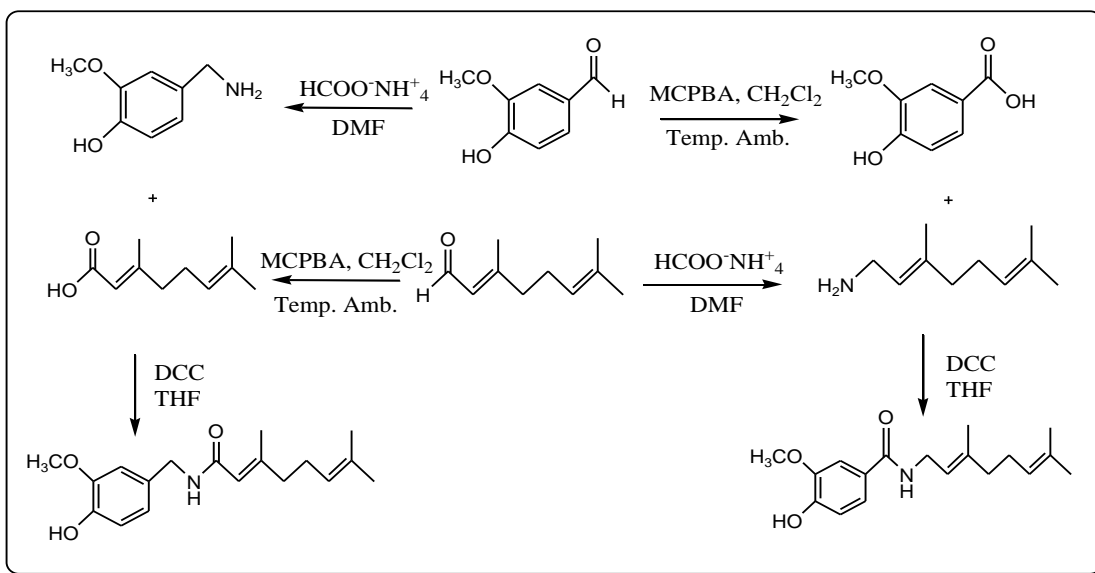
O citral e o citronelal foram expostos às mesmas condições reacionais para a formação dos respectivos ácidos e derivados aminados.

Os intermediários alifáticos derivados do citral e do citronelal obtidos por aminação reductiva foram submetidos a reação de acoplamento com o ácido vanílico obtido através da oxidação da vanilina, em presença de DCC e DMF.

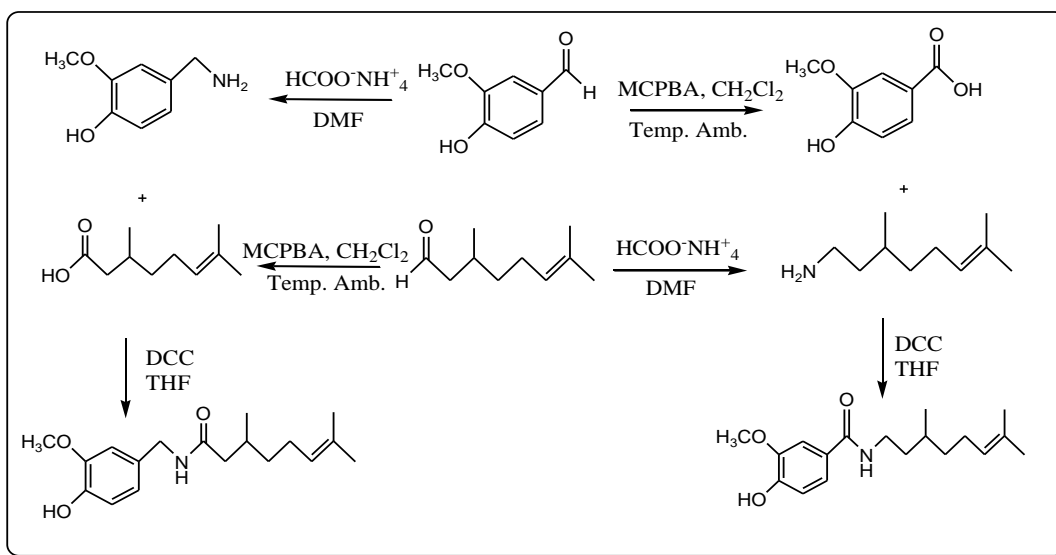
Os derivados ácidos da cadeia alifática derivados do citral e citronelal foram submetidos à reação de acoplamento com a vanililamina em presença de DCC e DMF.

Da mesma forma os análogos de capsaicina com modificações tanto na cadeia lateral quanto na porção aromática foram testados a fim de avaliar as condições reacionais de acoplamento utilizando a vanililamina e ácidos graxos de cadeia longa em presença de DCC e DMF.

Os análogos sintetizados também foram testados frente a bactéria *Streptococcus mutans*. A formação de halo de inibição sobre a bactéria foi observada em todas as concentrações e produtos utilizados. Os produtos sintéticos apresentaram halo de inibição compatível com o antibiótico gentamicina. Os resultados preliminares demonstraram a aplicação dos produtos como possíveis agentes antibacterianos na área odontológica.



Esquema 7– Síntese dos análogos a partir do geraniol propostos por Gonçalves



Esquema 8– Síntese dos análogos a partir do citral propostos por Gonçalves

### 2.2.13. A Síntese enzimática de capsaicinóides

Outra metodologia também é amplamente utilizada para a síntese de compostos naturais. É a síntese enzimática ou biocatálise, onde envolve a síntese de compostos utilizando enzimas ou complexos enzimáticos. Este tipo de síntese é comumente usado quando a síntese química é complexa e dispendiosa. As transformações enzimáticas são levadas a sério, quer por enzimas parcialmente purificadas ou por células inteiras para produzir um grande número de substâncias.

Até a poucos anos, as empresas de química usavam a biocatálise apenas em situações em que todos os métodos químicos falharam. Atualmente, essa visão está mudando e a síntese enzimática está tomando uma grande importância.

As biotransformações possuem um número de vantagens sobre os métodos químicos correspondentes. As condições necessárias para o processo são ligeiras e na maioria dos casos, não requer proteção de outros grupos funcionais. Do ponto de vista econômico, os processos biocatalíticos são muitas vezes mais baratos e diretos do que seus análogos químicos. No entanto, muitas das regras que definem as biotransformações não são entendidas, de modo que há muitas reações químicas que existem equivalentes biocatalíticas.

Existem vários autores que utilizaram esta metodologia sintética para a obtenção de capsaicinóides.

Kobata *et al* sintetizaram análogos de capsaicina por amidação da Vanililamina com derivados de ácidos graxos por síntese enzimática utilizando lipases. Eles estudaram um grande número de lipases, obtendo os melhores resultados com a lipase Novozym 435, lipase AK e lipase PS a 70°C em 72 horas de reação. Os rendimentos obtidos com estas lipases de diferentes cadeias de ácido graxos variaram entre 2 e 44%.

Esses mesmos autores sintetizaram análogos de capsaicina utilizando, como cadeias laterais, ácidos graxos naturais, tais como os encontrados em óleo de oliva. Para isso três diferentes enzimas foram utilizadas: lipase D, lipase R e

Novozym 435. Os rendimentos obtidos com os ácidos graxos de óleo de oliva, a 70°C em 96 horas de reação foram entre 15,8 e 20,3%.

Posteriormente também sintetizaram análogos de capsaicina com várias cadeias laterais, utilizando como o meio de reação de CO<sub>2</sub> supercrítico. A enzima utilizada foi de Novozym 435. Os melhores rendimentos (54%) foram produzidos a uma temperatura de 80°C e uma pressão de 19 MPa para 72 horas de reação.

Castillo *et al* sintetizaram análogos de capsaicina com cadeias entre 4 e 16 átomos de carbono, utilizando a lipase Novozym 435. A temperatura de reação foi de 45°C durante 48 horas. Os rendimentos variam 83-97,5%.

### 3. OBJETIVO

- Sintetizar análogos de capsaicinóides de baixo custo tendo como material de partida os ácidos decanóico e gerânico e aminas aromáticas obtidas a partir de aldeídos aromáticos dissustituídos e trissustituídos;
- Caracterizar as moléculas e intermediários sintetizados através de diferentes técnicas como, a espectrometria na região do ULTRAVIOLETA (UV) e do INFRAVERMELHO (IV), a RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C), e o MASSAS (EM).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Procedimentos gerais

Todos os reagentes e solventes foram utilizados conforme obtidos comercialmente, sem maior purificação.

As reações foram acompanhadas por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando-se cromatofolhas de alumínio recobertas com sílica gel 60 F-254, com espessura de 0,25mm com indicador para UV (254nm) da marca Merck. Os eluentes foram preparados volume a volume (v/v) e a visualização das substâncias em CCD foi realizada em lâmpada ultravioleta (254-366nm).

Em todas as reações a agitação do meio reacional foi efetuada através de barra magnética recoberta de teflon.

A remoção dos solventes foi realizada em evaporador rotativo Fisatom, submetendo-se o material resultante a um sistema acoplado à bomba de alto-vácuo para remoção do solvente residual.

Para identificação dos análogos serão utilizados a espectrometria na região do ULTRAVIOLETA (UV) e do INFRAVERMELHO (IV), a RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), e o MASSAS (EM).

Os espectros na região do ultravioleta foram registrados no espectrofotômetro modelo UV-1800 e software UV-PROBE da marca SHIMADZU;

Espectrômetro de massas acoplado ao cromatógrafo gasoso do modelo CG/EM-QP-5050, marca SHIMADZU, utilizando impacto de elétrons a 70 eV;

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$  foram obtidos utilizando-se os espectrômetros Bruker DRX 400 (400,14 MHz para  $^1\text{H}$  e 100,61 MHz para  $^{13}\text{C}$ ) contendo TMS como padrão interno. Os valores destes deslocamentos foram referidos em partes por milhão (ppm) em relação ao TMS e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz).

A elucidação será realizada pela interpretação dos resultados obtidos em cada análise.

## 4.2. Estratégia de síntese

A síntese da tiocapsaicina descrita no esquema 7 consiste na utilização da capsaicina e o reagente de Lawesson. A estratégia de síntese dos análogos de capsaicinóides apresentadas nos esquemas 8 e 9, envolve, para a síntese da parte aromática, a utilização dos aldeídos di e trissubstituídos por grupos metoxilas e hidroxilas como material de partida. Estes foram submetidos a uma reação de aminação redutiva do tipo Leuckart, utilizando formiato de amônio como reagente em presença de DMF para formação das aminas desejadas.

A etapa posterior consistiu na utilização dos ácidos decanóico e gerânico para formação da cadeia lateral dos análogos de capsaicina. Optou-se pela utilização desses ácidos comerciais por apresentarem a mesma quantidade de carbono da cadeia lateral da capsaicina.

Os intermediários aromáticos obtidos por aminação redutiva foram submetidos a reação de acoplamento com o ácido decanóico em presença de DCC e DMF.

Observa-se nesta versátil estratégia de síntese que invertendo-se a ordem dos grupos metoxilas e hidroxilas ligadas aos anéis aromáticos possibilitou-nos a obtenção de 8 produtos onde 7 (4, 7, 11,14, 17, 20 e 21) destes inéditos na literatura.

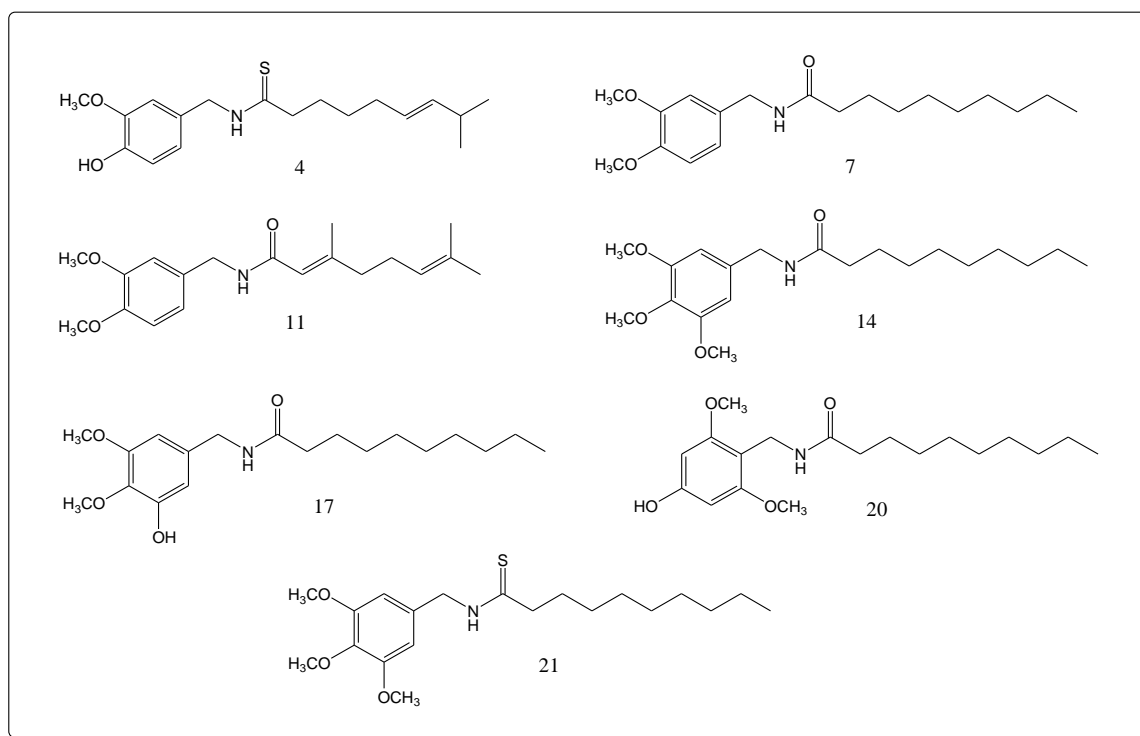
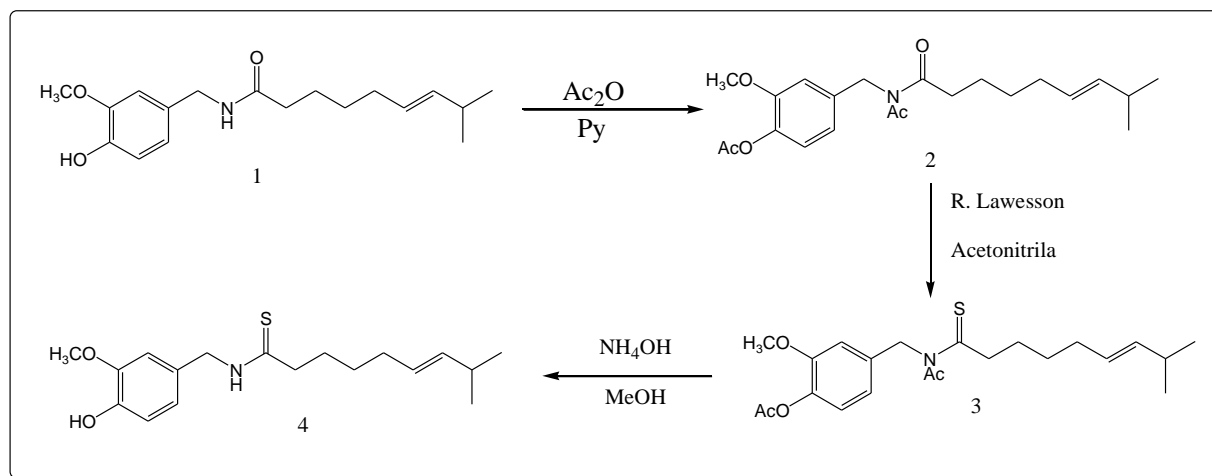
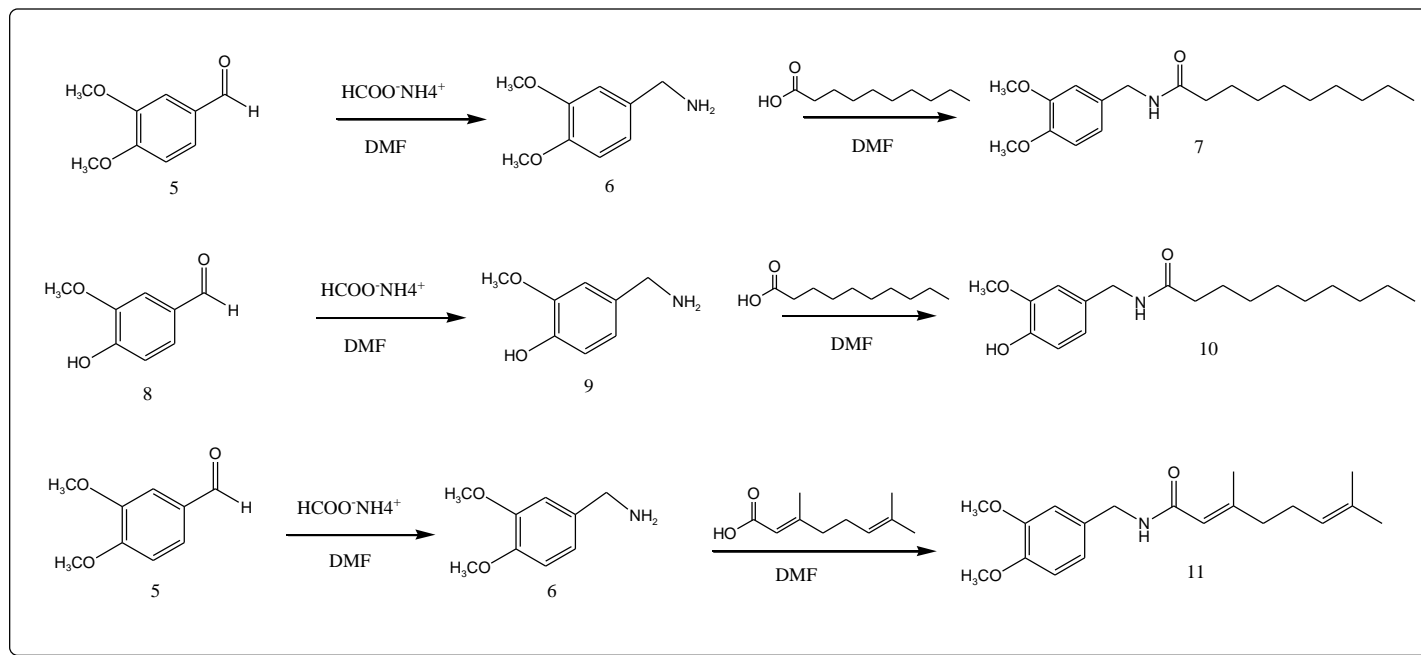


Figura 16: Estruturas dos análogos inéditos

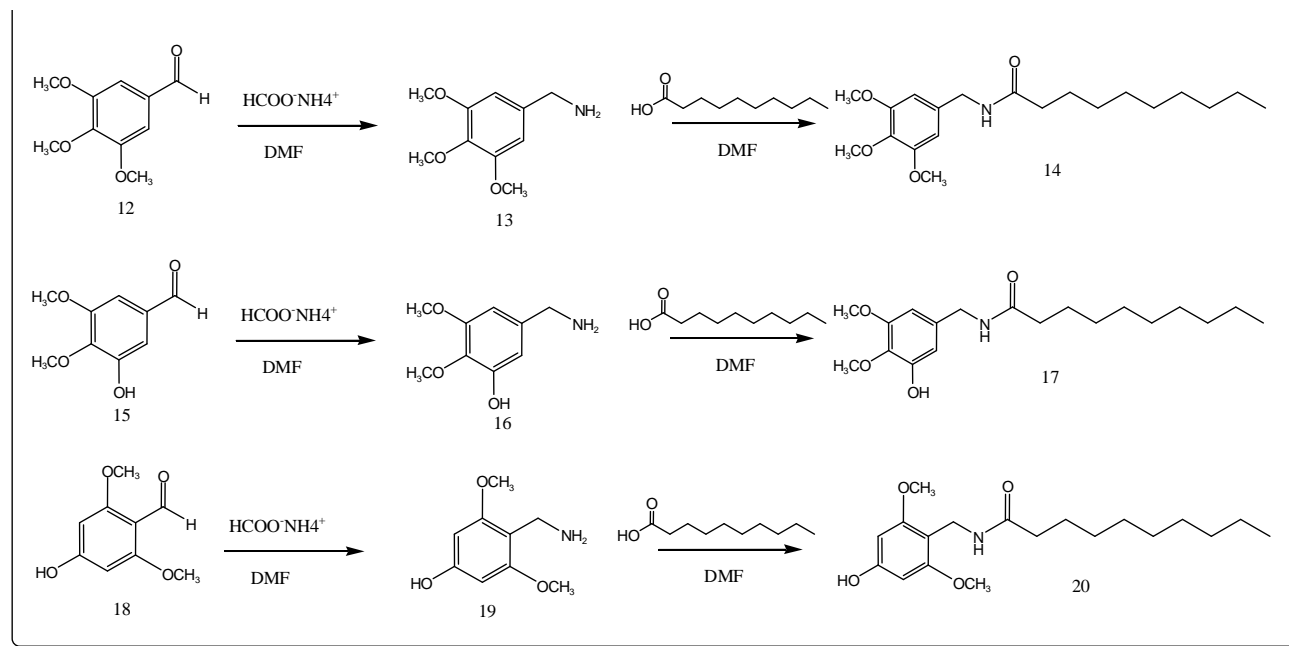




Esquema 9 - Síntese da tiocapsaicina



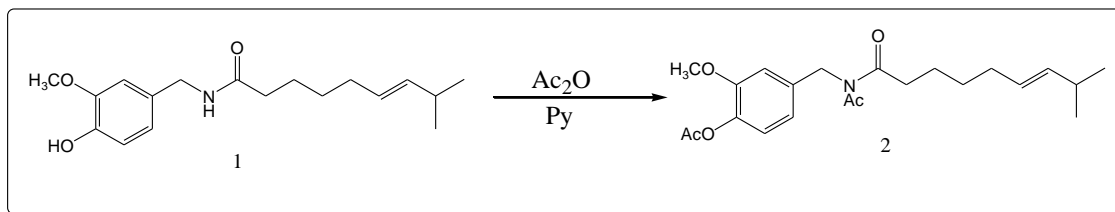
Esquema 10- Síntese dos capsaicinóides dissubstituídos



Esquema 11- Síntese dos capsaicinóides trissubstituídos

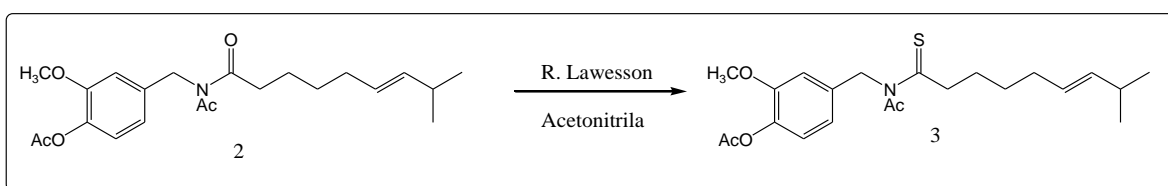
#### 4.2.1. Síntese da tiocapsaicina (4)

Primeiro foi feita a acetilação da capsaicina utilizando 0,1g da capsaicina e 1 mL de anidrido acético em presença de piridina. A reação ocorreu a frio durante 2h. O produto teve rendimento de 48%.



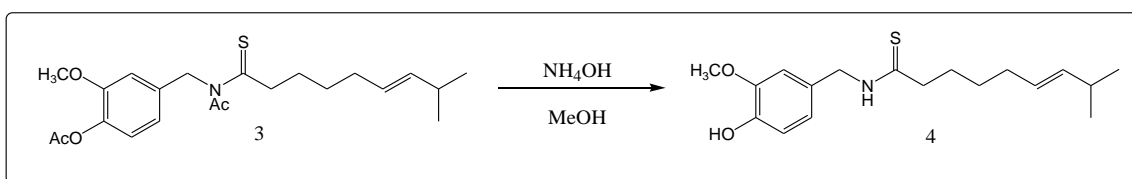
Esquema 12: Acetilação da capsaicina

Posteriormente para inserção do enxofre foi utilizado de 0,2 g da capsaicina acetilada, 0,8g do Reagente de Lawesson dissolvidos em 15 mL de acetonitrila. A reação foi mantida em refluxo por 24 horas a  $90^\circ\text{C}$ . O produto foi submetido para análise e teve rendimento de 52%.



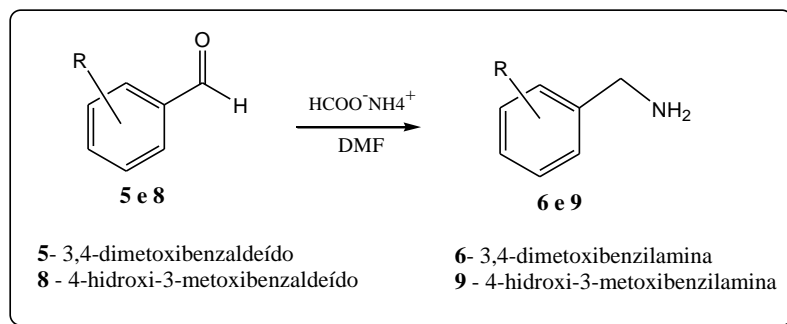
Esquema 13: Síntese do intermediário 3

Para obter a tiocapsaicina foram utilizados a substância 3 em presença de hidróxido de amônia em presença de metanol. A reação ocorreu em temperatura ambiente. O produto foi obtido com 63% de rendimento.



Esquema 14: Síntese da tiocapsaicina

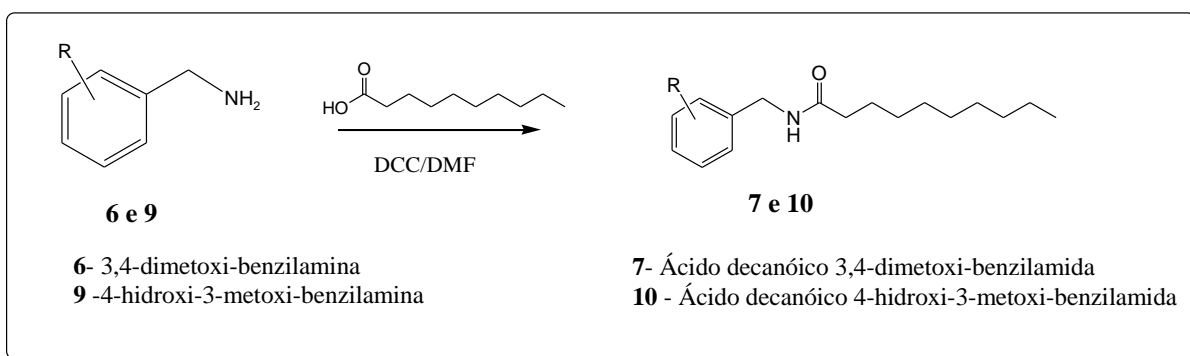
#### 4.2.2. Síntese das aminas dissustituídas (6 e 9)



**Esquema 15: Síntese das aminas dissustituídas 6 e 9**

A síntese de cada amina baseou-se no procedimento experimental descrito por VOGEL para realização da aminação reductiva, utilizando 2g de aldeído, 2,4g de formiato de amônio em 2mL de DMF em refluxo, por um período de quatro horas. Esta etapa após purificação do produto por métodos cromatográficos resultou em produtos âmbaros com rendimento entre 62 e 65%.

#### 4.2.3. Síntese das amidas dissustituídas (7 e 10)

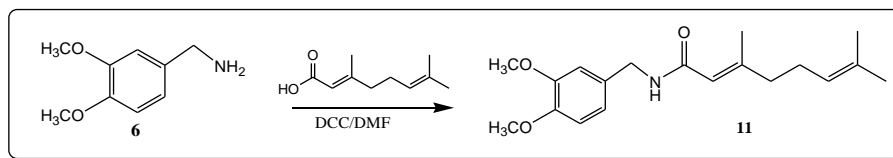


**Esquema 16: Síntese das amidas dissustituídas 7 e 10**

Para a síntese de cada amida foram adicionados 1g da amina, 0,5g do ácido decanóico e 20mL de DMF em refluxo, por 4h em temperatura ambiente. O produto resultante da destilação foi evaporado e acompanhado por CCDS

(cromatografia em camada delgada de sílica) eluído em acetato/hexano (8:2) e revelada em ninidrina. O rendimento das reações variou de 52 a 57%.

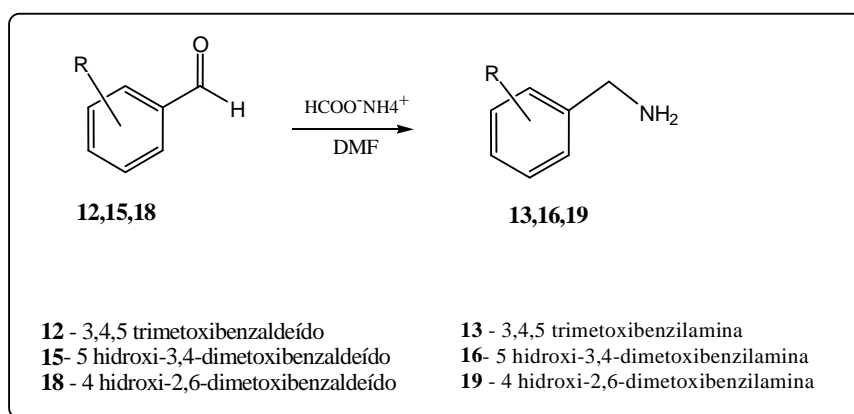
#### 4.2.4. Síntese do ácido 3,7-dimetilocta-2,6-dienóico-3,4-dimetoxibenzilamida (11)



Esquema 17: Síntese do ácido 3,7-dimetilocta-2,6-dienóico-3,4-dimetoxibenzilamida (11)

Para a síntese da amida 11 foram adicionados 1g da amina, 0,5g do ácido gerânico e 20mL de DMF em refluxo, por 4h em temperatura ambiente. O produto resultante da destilação foi evaporado e acompanhado por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica) eluído em acetato/hexano (8:2) e revelada em ninidrina. O rendimento da reação foi de 53%.

#### 4.2.5. Síntese das aminas trissubstituídas (13, 16 e 19)

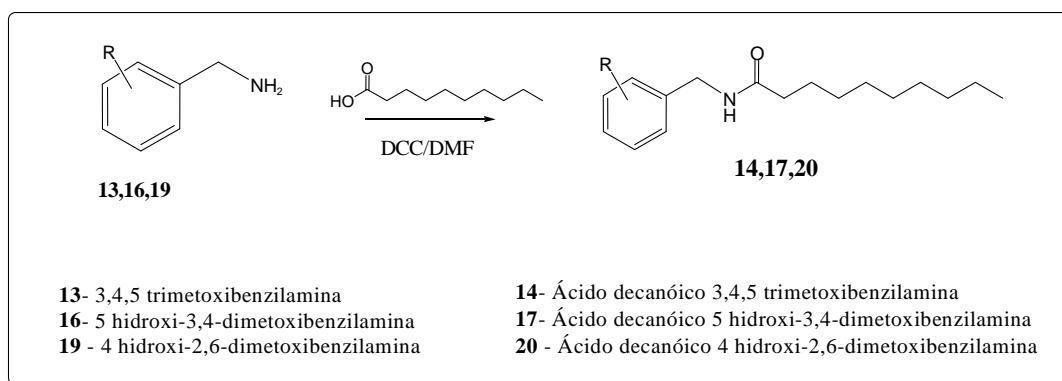


Esquema 18: Síntese das aminas trissubstituídas (13,16 e 19)

A síntese de cada amina baseou-se no procedimento experimental descrito por VOGEL para realização da aminação redutiva, utilizando 2g de

aldeído, 2,4g de formiato de amônio em 2mL de DMF em refluxo, por um período de quatro horas. Esta etapa após purificação do produto por métodos cromatográficos resultou em produtos âmbaros com rendimento entre 60 e 69%.

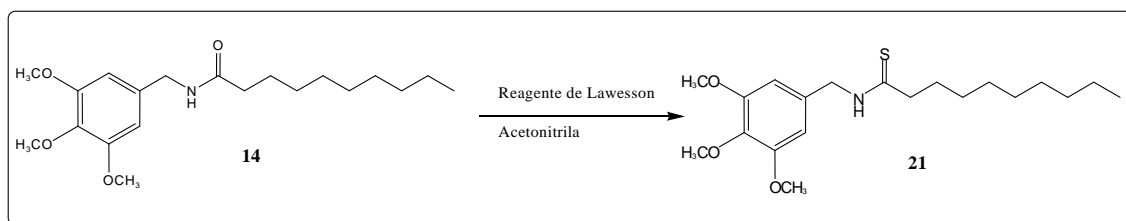
#### 4.2.6. Síntese das amidas trissubstituídas (14, 17 e 20)



**Esquema 19: Síntese das amidas trissubstituídas (14,17 e 20)**

Para a síntese de cada amida foram adicionados 1g da amina, 0,5g do ácido decanóico e 20mL de DMF em refluxo, por 4h em temperatura ambiente. O produto resultante da destilação foi evaporado e acompanhado por CCDS (cromatografia em camada delgada de sílica) eluído em acetato/hexano (8:2) e revelada em ninidrina. O rendimento das reações variou de 51 a 55%.

#### 4.2.7. Síntese do ácido decanotióico-3.4.5-trimetoxibenzilamida (21)



**Esquema 20: Síntese do ácido decanotióico-3.4.5-trimetoxibenzilamida**

A síntese do análogo 21 foi a partir de 0,2 g da amida, 0,8g do Reagente de Lawesson dissolvidos em 15 mL de acetonitrila. A reação foi mantida em refluxo por 24 horas a 90°C. O produto foi submetido para análise e teve rendimento de 54%.

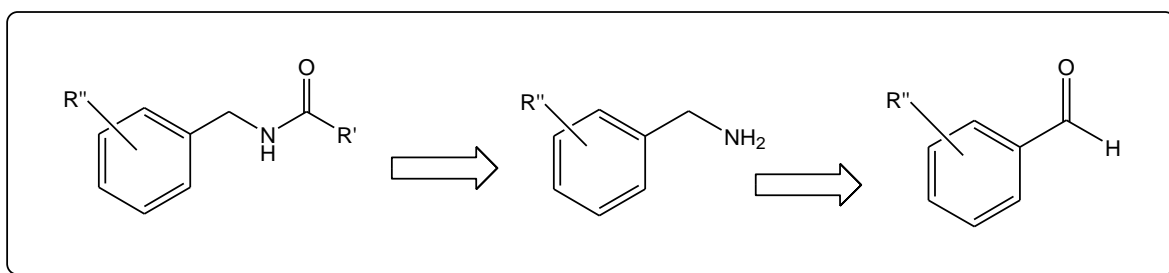
### 4.3- Estratégia e Retrossíntese

Decidiu-se preparar as amidas di e trissubstituídas com o objetivo de que fosse investigada a viabilidade de obtenção das moléculas, de características semelhantes à capsaicina, que apresentasse, igualmente, propriedades biológicas, bem como, menor toxicidade.

A estratégia baseou-se na reação de acoplamento entre a parte aromática e a cadeia lateral em um procedimento descrito por Jones utilizando DCC e DMF. A obtenção da parte aromática baseou-se na reação de aminação redutiva do tipo Leuckart para formação das aminas desejadas. Já a parte da cadeia lateral utilizou o ácido decanóico e o ácido gerânico. A escolha desses ácidos baseou-se no fato de apresentarem dez carbonos, a mesma quantidade apresentada na cadeia lateral da capsaicina.

As amidas di e trissubstituídas podem ser obtidas a partir da reação de acoplamento entre as aminas e os ácidos decanóico e gerânico em presença de DCC e DMF em uma reação de refluxo a temperatura ambiente durante 4h.

As aminas podem ser obtidas a partir dos aldeídos aromáticos di e trissubstituídos em presença de formiato de amônio e DMF em uma reação de refluxo por 4 horas.



Esquema 21: Retrossíntese da reação para formação das amidas



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nosso estudo para obtenção dos análogos de capsaicina baseia-se na modificação da cadeia lateral e da parte aromática.

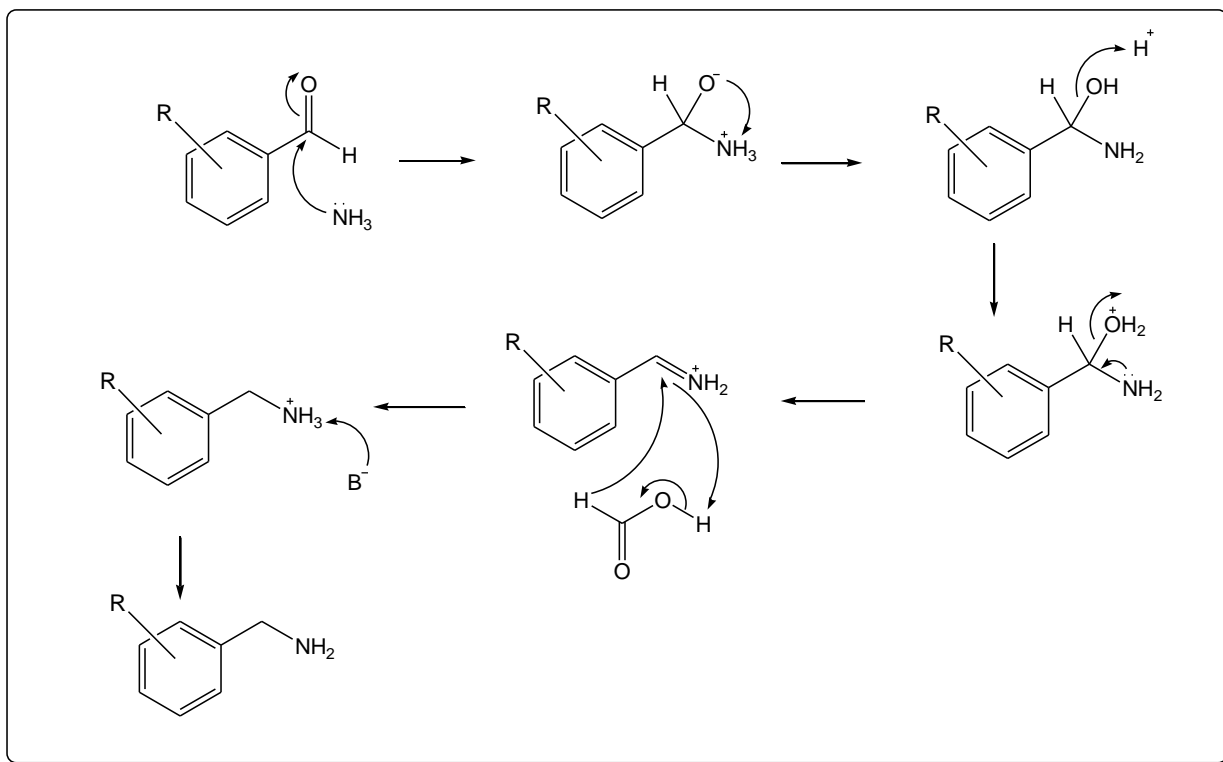
Na cadeia lateral a capsaicina apresenta o grupo funcional amida, tem originalmente 10 átomos de carbonos e uma insaturação C6', além de uma ramificação oriunda de um carbono terciário em C9'.

A inserção de uma cadeia linear saturada derivada do ácido decanóico já foi descrita na literatura, logo propomos a substituição do oxigênio da função amida por um átomo de enxofre para formação de derivados tioamidicos da capsaicina inéditos.

A cadeia aromática da capsaicina é derivada da vanilina, nossa proposta é a utilização de aldeídos dissustituídos ou trissustituídos por grupos metoxilas e hidroxilas para verificar se as propriedades biológicas da mesma são potencializadas.

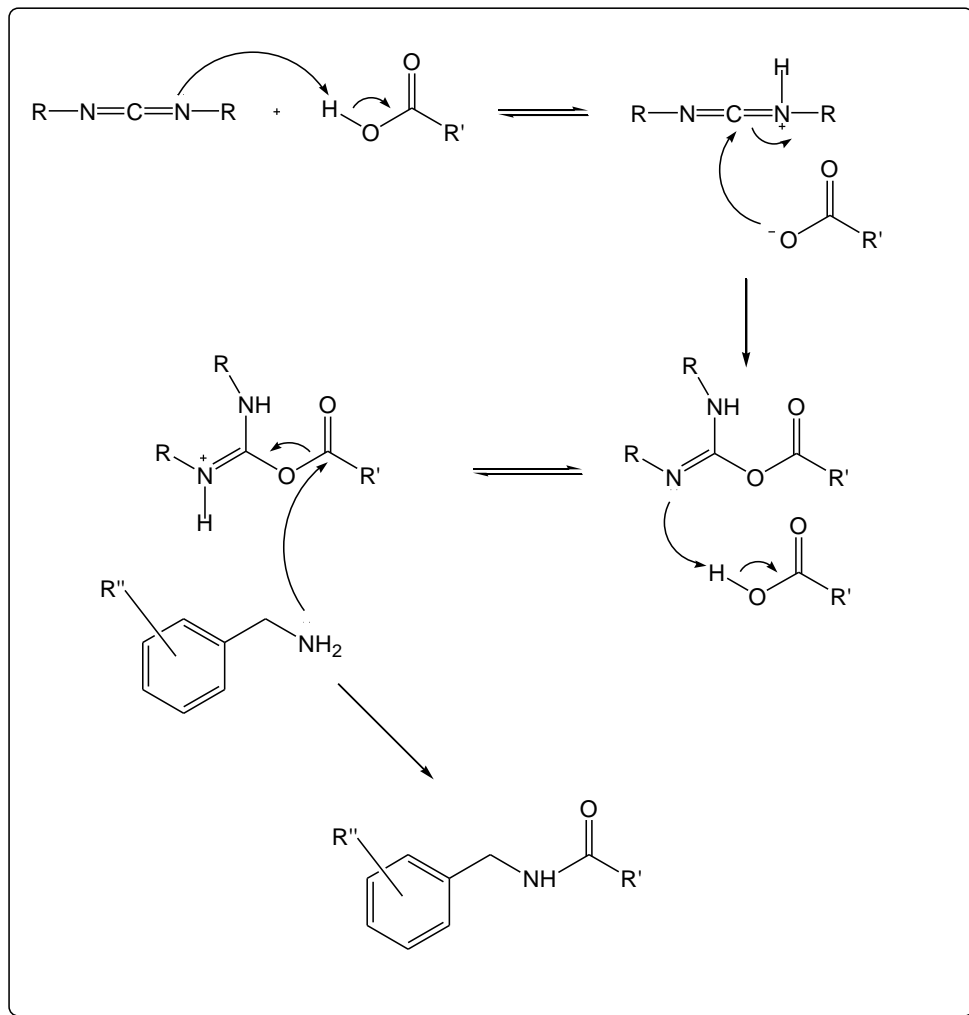
## 5.1. Mecanismos de Reações

### 5.1.1. Formação das aminas



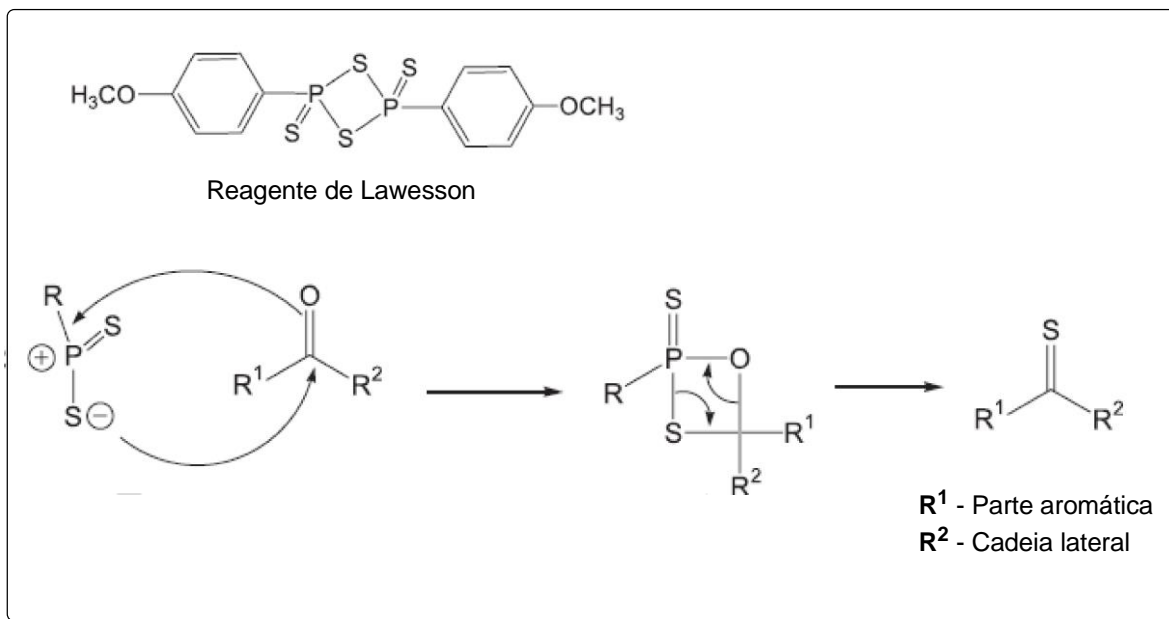
Esquema 22: Mecanismo de reação para formação das aminas

## 5.1.2. Formação das amidas



Esquema 23: Mecanismo de reação para formação das amidas

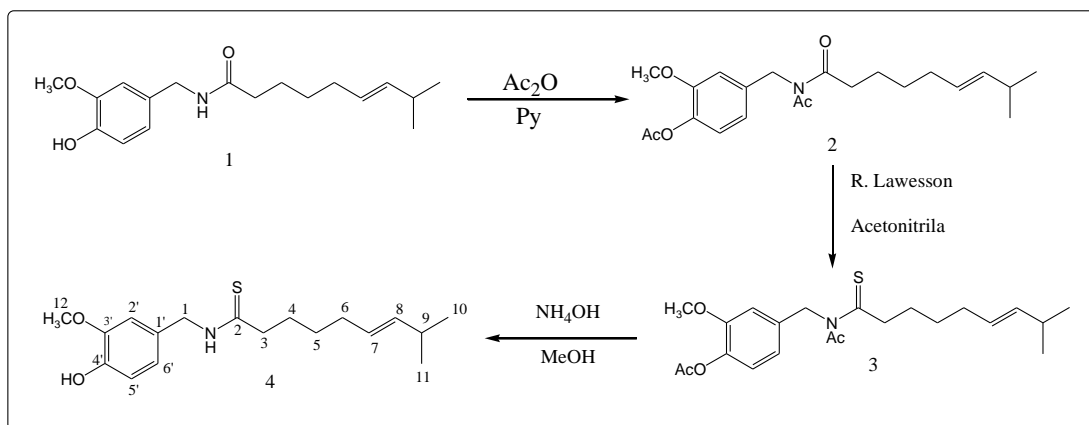
### 5.1.3. Proposta mecanística da Reação de Lawesson



Esquema 24: Mecanismo da Reação de Lawesson

## 5.2. Análises Espectrais

### 5.2.1. Síntese da tiocapsaicina (4)



Esquema 25: Síntese da tiocapsaicina

A primeira reação para obtenção da tiocapsaicina (**4**) foi a acetilação da capsaicina utilizando anidrido acético em presença de piridina. A reação ocorreu em banho de gelo por um período de 2h. O produto acetilado (**2**) foi submetido a reação com Reagente de Lawesson e acetonitrila para inserção do enxofre no lugar do oxigênio. A reação foi mantida em refluxo por 24 horas a 90°C e analisada por CCDS.

Para obter a tiocapsaicina foi feita a desacetilação do produto anterior em presença de hidróxido de amônia e metanol. A reação ocorreu em temperatura ambiente.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 17, p.77**) apresenta sinal relativo aos hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  6,72 para CH-2', CH-5' e em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 para CH-6' característicos de um anel aromático trissubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4 substituído.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 17, p.77**) os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,80 (*d*,  $J=4,44$ ) referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida, assim como em  $\delta_{\text{H}}$  3,82 integrando para três hidrogênios relativos ao grupo metoxila ligado ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 17, p. 77**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  5,39 referente aos dois hidrogênio H-7 e H-8 evidenciando a presença da ligação dupla localizada no seus respectivos átomos carbonos. Os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 17, p. 77**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,62 a 2,21.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

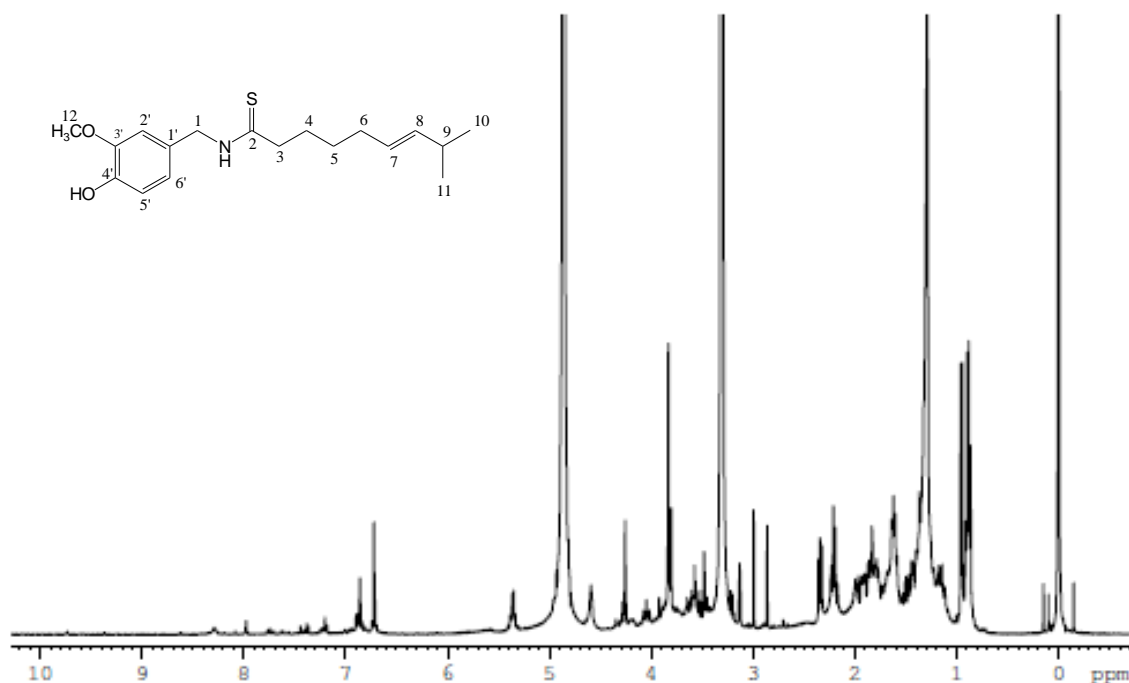
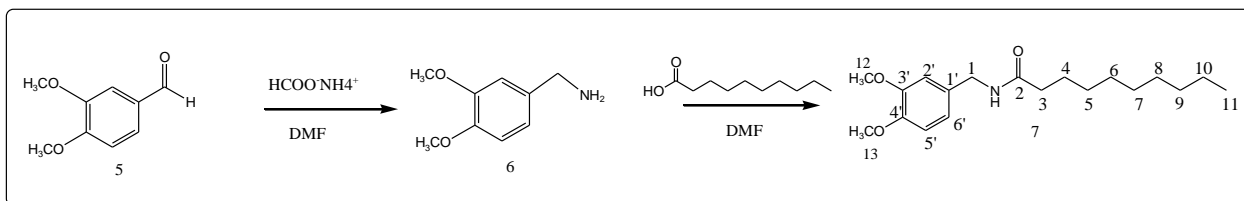


Figura 17: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  da tiocapsaicina

### 5.2.2. Síntese do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida (7)



Esquema 26: Síntese do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida

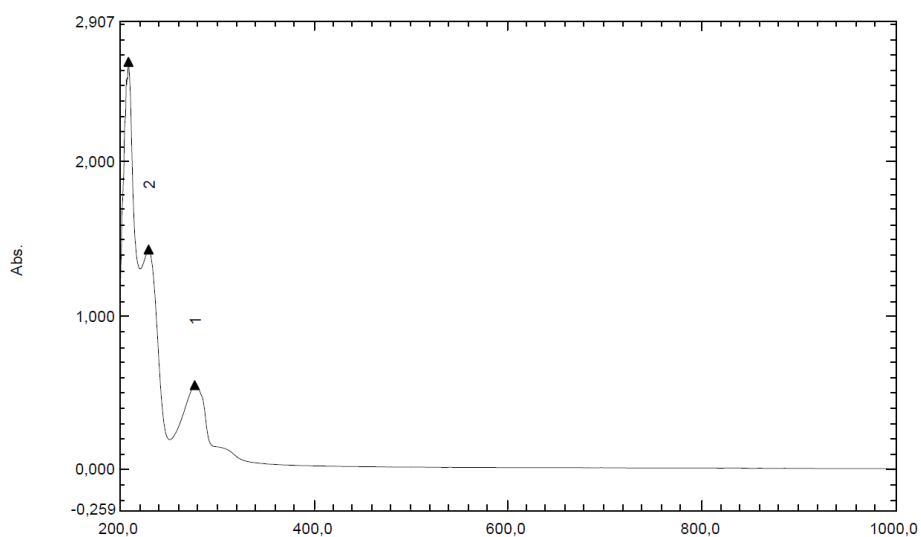
A síntese da amina baseou-se no procedimento mecanístico descrito por LEUKART e experimentalmente por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando o composto carbonilado em questão em presença de formiato de amônia e refluxo de DMF. Em que os reagentes são adaptados a uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido claro.

Posteriormente a reação de acoplamento entre a amina e ácido decanóico para formação da amida **7** análoga da capsaicina baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicicloexilcarbodiimida em DMF tem como

utilização básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiu após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **7** que foi submetida a análise de espectroscopia de IV, espectroscopia de RMN  $^1\text{H}$ , RMN  $^{13}\text{C}$  e espectroscopia de massa.

O espectro na região do UV da substância **7** apresentou absorções em  $\lambda_{\text{max}}$  277 e 209 nm típico de um anel benzênico dissubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\text{max}}$  3303 (N-H), 1633 (referente ao grupo carbonila da amida secundária), 2923 - 2851 (grupos C-H) e 1543, 1516 e 1465  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações de núcleos aromáticos).



**Figura 18: Espectro na região do UV do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida**

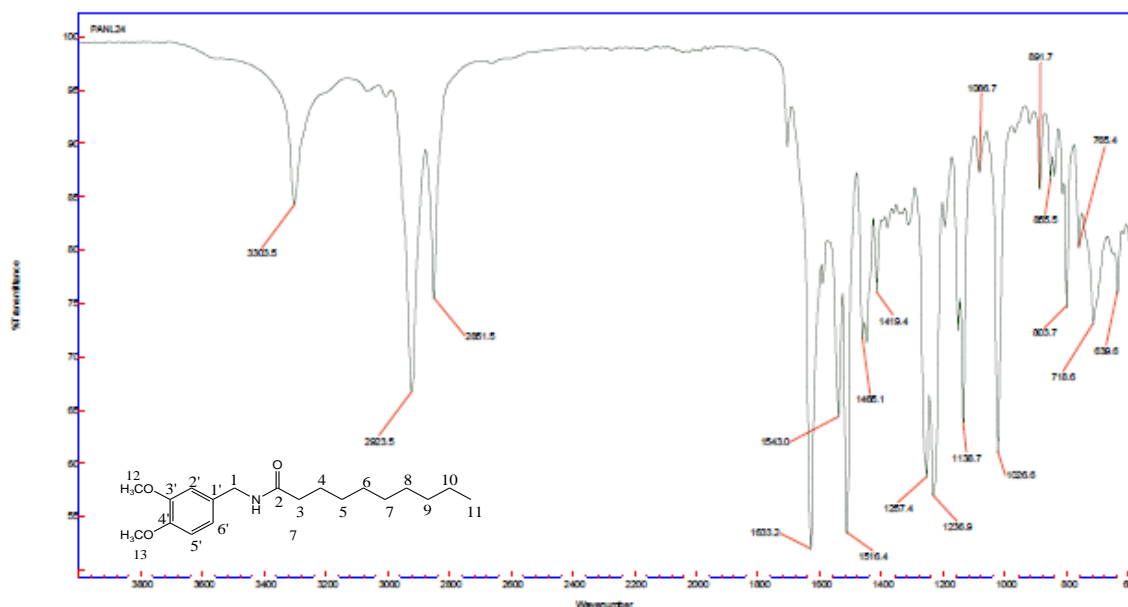


Figura 19: Espectro na região do IV do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 22, p.81) apresenta três sinais relativos aos hidrogênios aromáticos CH-2' em  $\delta_{\text{H}}$  6,88, CH-5' em  $\delta_{\text{H}}$  6,86 e CH-6' em 6,84, característicos de um anel aromático trissubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4 substituído.

O CG/EM apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  321 Daltons que em conjunto com os dados espectrais de e RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  deduziu-se a fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{NO}_3$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

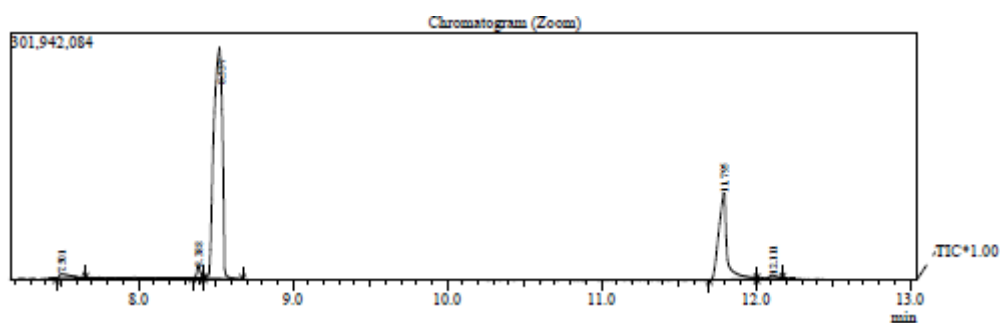
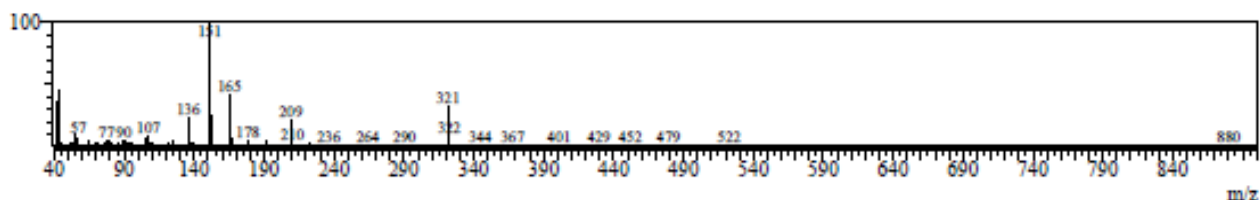
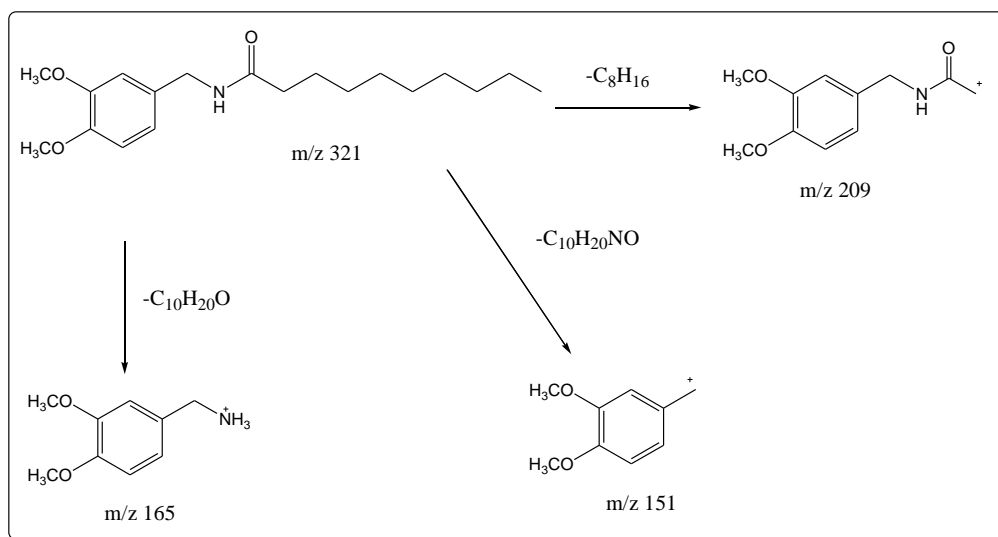


Figura 20: Cromatograma do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida





**Figura 21: Espectro de Massas do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida**



**Esquema 27: Proposta de fragmentação da EM do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida**

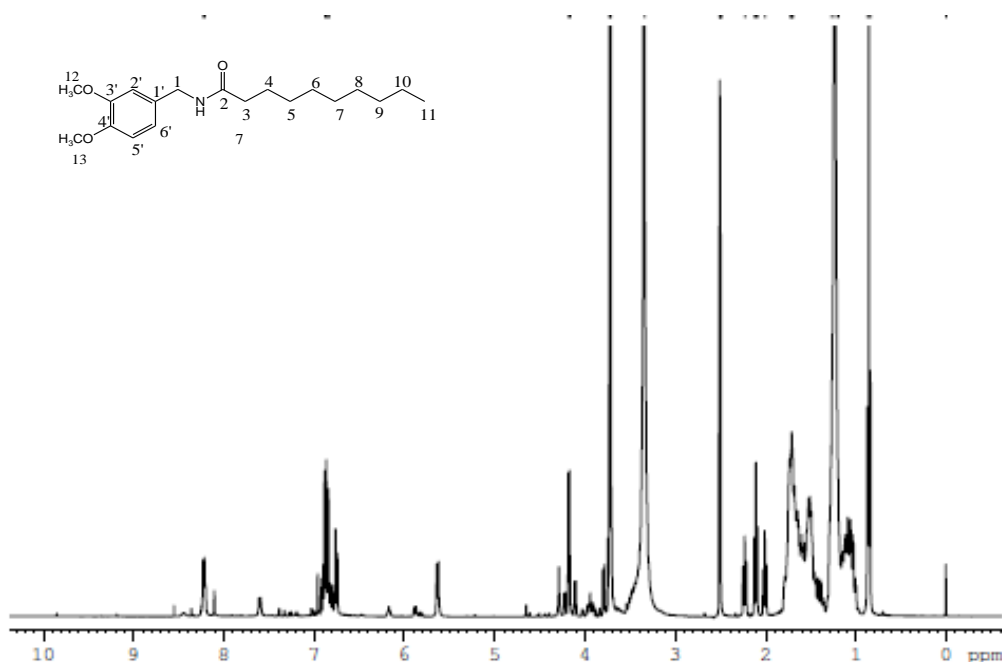
Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 22, p.81**) os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  4,18 (*d*,  $J=5,88$ ) (integrando para dois hidrogênios) referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida, assim como em  $\delta_{\text{H}}$  3,79 referente aos dois grupos metoxilas ligados ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 22, p.81**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,12 referentes aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 22, p.81**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,85 e  $\delta_{\text{H}}$  1,72.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 3, p.81**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

**Tabela 3:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 7, em MeOD. Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	47,5	4,18 ( <i>d</i> , $J= 5,88$ )
2	171,0	-
3	35,4	2,12 ( <i>t</i> , $J= 13,48$ )
4	25,3	1,72
5	28,8	1,08 ( <i>m</i> )
6	28,9	1,08 ( <i>m</i> )
7	31,3	1,08 ( <i>m</i> )
8	31,6	1,08 ( <i>m</i> )
9	33,3	1,08 ( <i>m</i> )
10	22,1	1,50
11	13,9	0,85
12	55,5	3,79
13	55,5	3,79
1'	132,2	-
2'	111,2	6,88 ( <i>m</i> )
3'	148,6	-
4'	147,7	-
5'	111,6	6,86 ( <i>m</i> )
6'	119,2	6,84 ( <i>m</i> )
N-H	-	8,20



**Figura 22:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 23, p.82) foi possível observar a presença de 19 sinais referentes aos 19 carbonos atribuídos à substância

proposta, dos quais três são metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [um sinal em  $\delta_c$  55,5 referentes aos carbonos das metilas dos grupos metoxilas ( $\text{CH}_3$ -12 e  $\text{CH}_3$ -13), ligados ao anel e outro sinal em  $\delta_c$  13,9 referente ao carbono da metila da cadeia lateral], nove metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) com sinais na região  $\delta_c$  22,1 – 47,5, três metínicos ( $\text{CH}$ ) relativos aos carbonos aromáticos  $\text{CH}$ -2' ( $\delta_c$  111,2),  $\text{CH}$ -5' ( $\delta_c$  111,6) e  $\text{CH}$ -6' ( $\delta_c$  119,2)] e quatro carbonos não hidrogenados ( $\text{C}$ ) [um sinal em  $\delta_c$  171,0 referente ao carbono C-2 da carbonila, e três sinais na região  $\delta_c$  148-132 referentes aos carbonos C-1', C-3' e C-4' substituídos do anel aromático].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para obter a amida **7** ocorreu de forma eficaz.

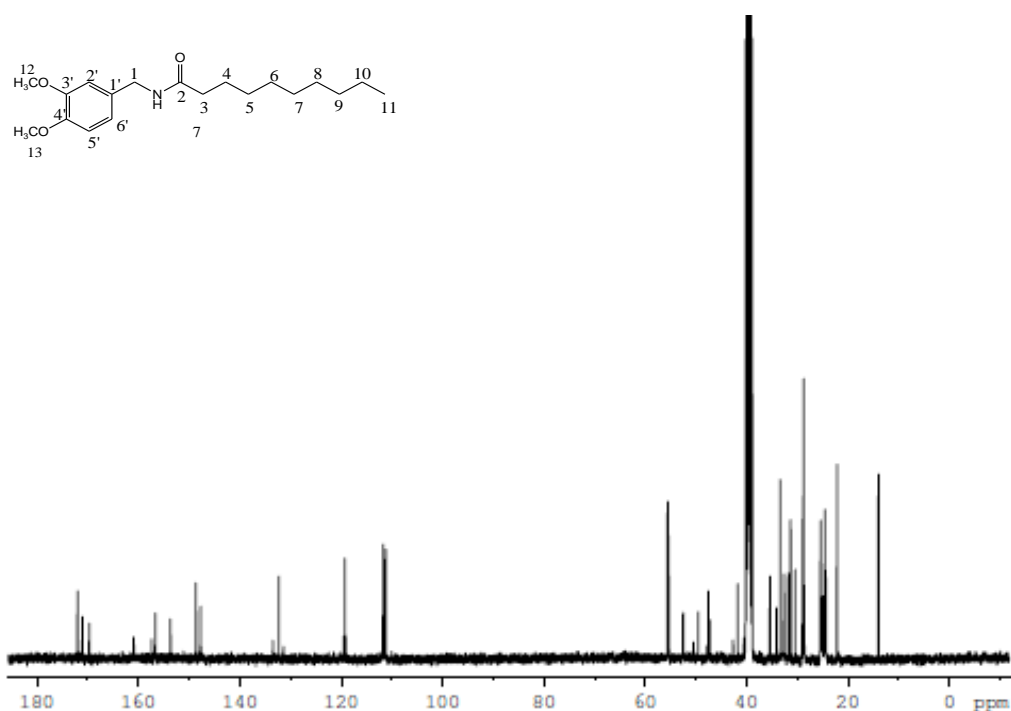
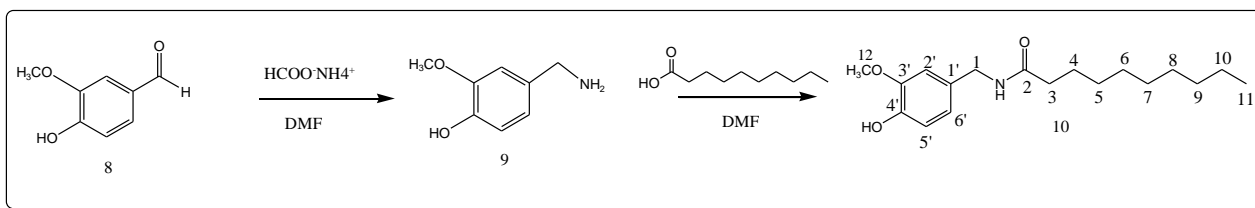


Figura 23: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida

### 5.2.3. Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida (**10**)



Esquema 28: Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

A síntese da amina dissustituída **9** baseou-se no procedimento por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando formiato de amônia e refluxo em DMF. Os reagentes são inseridos em uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido amarelado.

Para a reação de acoplamento entre a amina e ácido decanóico a fim de formar a amida **10** baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicioxolcarbodiimida (DCC) em DMF tem como utilização básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiu após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **10** que foi submetida a análises.

O espectro na região do UV da substância **10** apresentou absorções em  $\lambda_{\max}$  278 e 209 nm típico de um anel benzênico trissubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\max}$  3327 (N-H), 1626 (referente ao grupo carbonila da amida secundária), 2928 - 2850 (grupos C-H) e 1575, 1449 e 1436  $\text{cm}^{-1}$  (vibrações de núcleos aromáticos).

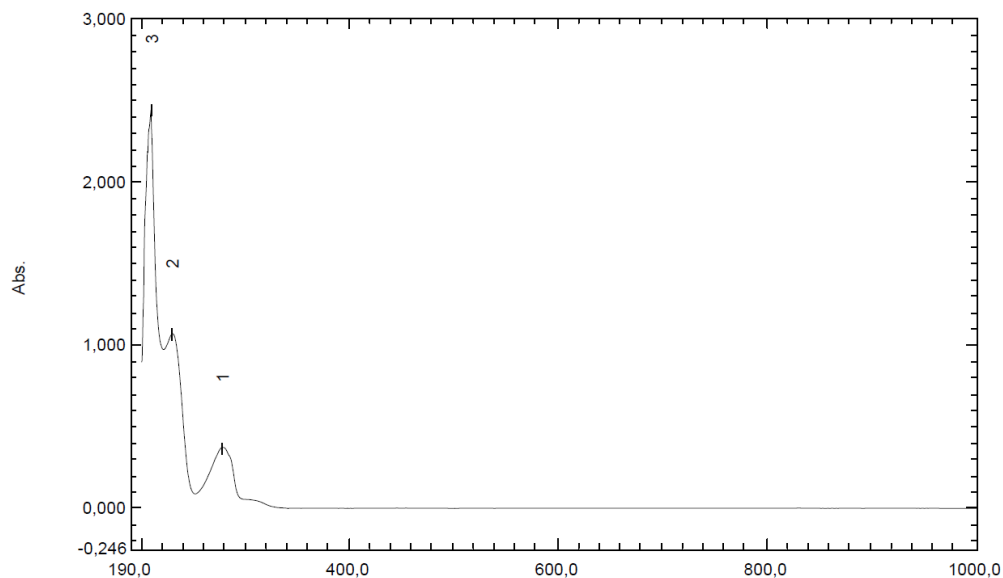


Figura 24: Espectro na região do UV do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

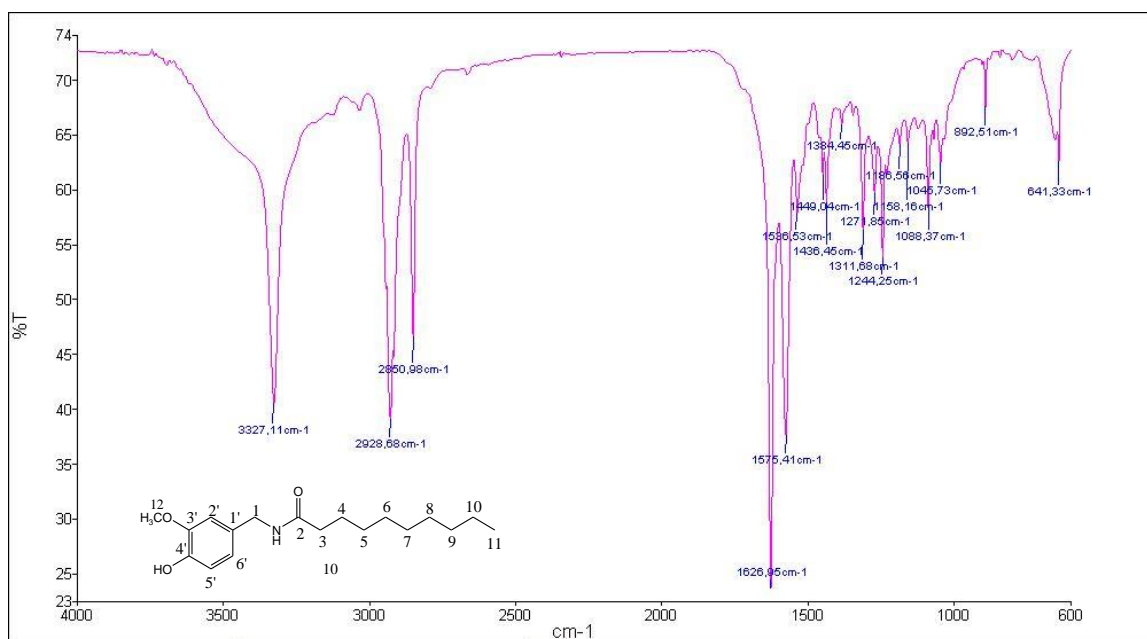


Figura 25: Espectro na região do IV do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

O CG/EM apresentou um pico em  $m/z$  154 Daltons referente a perda do radical ( $C_{10}H_{19}O$ ) que em conjunto com os dados espectrais de  $^1H$  e RMN  $^{13}C$  deduziu-se a fórmula molecular  $C_{18}H_{29}NO_3$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

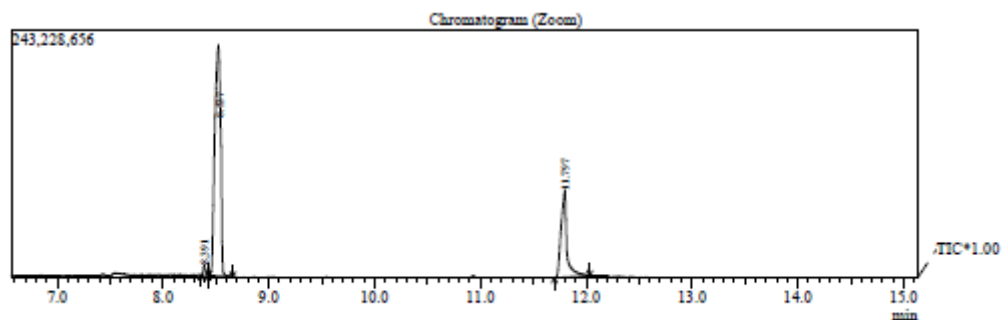


Figura 26: Cromatograma do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

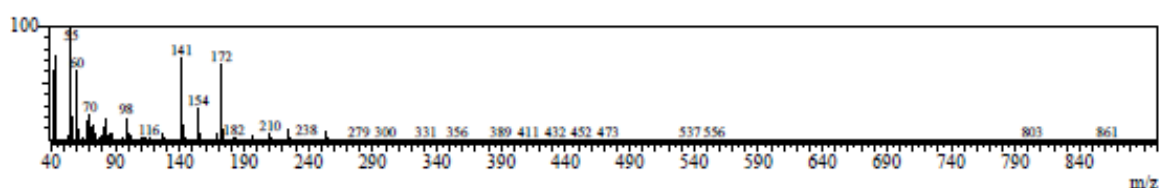
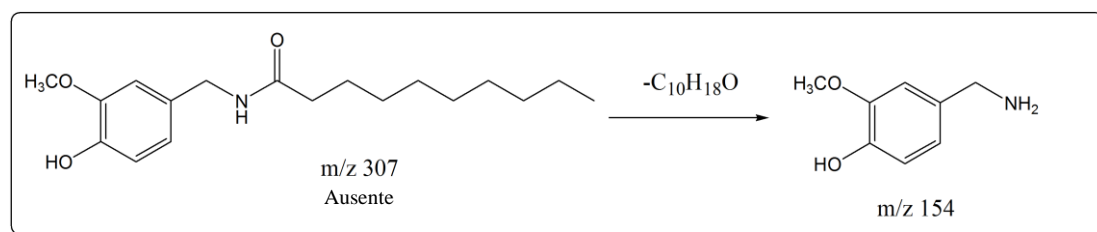


Figura 27: Espectro de Massa do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida



Esquema 29: Proposta de fragmentações da EM para o ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 28, p.87) apresenta três sinais relativos aos hidrogênios aromáticos CH-2' em  $\delta_{\text{H}}$  6,77, CH-5' em  $\delta_{\text{H}}$  6,73 e CH-6' em 6,84, característicos de um anel aromático trissubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4 substituído.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 28, p.87) os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  4,39 (integrando para dois hidrogênios) referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida, assim como em  $\delta_{\text{H}}$  3,45 referente ao grupo metoxila ligado ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 28, p.87**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,74 referente aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 28, p.87**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,91 e  $\delta_{\text{H}}$  1,74.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 4, p.86**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

**Tabela 4:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 10, em MeOD.

Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	48,9	4,39 ( <i>d, J=5.88</i> )
2	177,4	-
3	35,7	3,74 ( <i>m</i> )
4	25,1	2,56
5	25,1	1,34( <i>m</i> )
6	25,1	1,34( <i>m</i> )
7	33,6	1,34( <i>m</i> )
8	33,6	1,34( <i>m</i> )
9	33,6	1,34( <i>m</i> )
10	23,2	1,74 ( <i>m</i> )
11	13,9	0,91
12	55,9	3,45 ( <i>s</i> )
1'	118,6	-
2'	110,4	6,77 ( <i>m</i> )
3'	157,3	-
4'	153,9	-
5'	110,4	6,73 ( <i>m</i> )
6'	118,6	6,84 ( <i>m</i> )
N-H	-	8,43

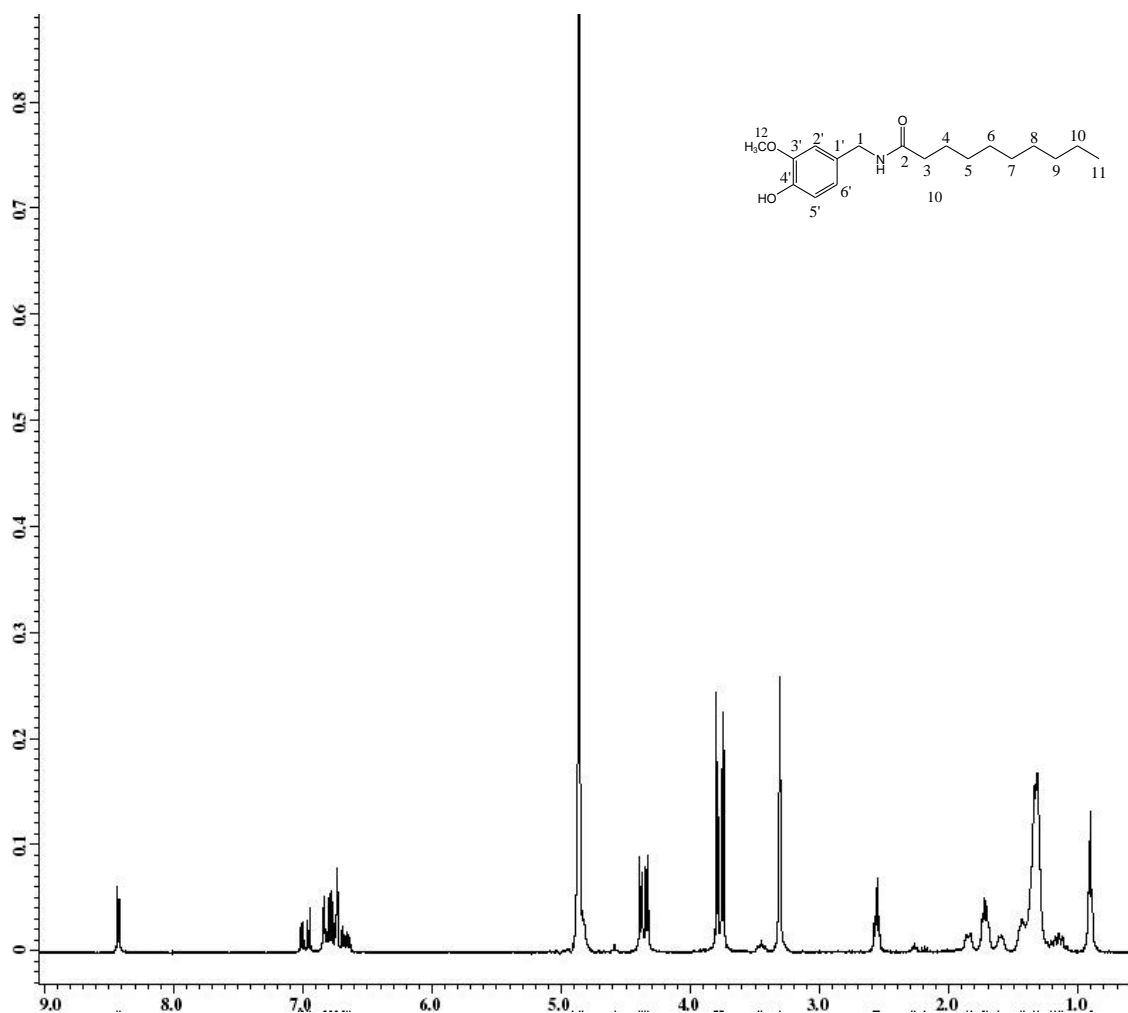


Figura 28: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 29, p.88) foi possível observar a presença de 18 sinais referentes aos 18 carbonos atribuídos a substância proposta, dos quais dois são metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  55,9 referente ao carbono da metila do grupo metoxila ( $\text{CH}_3$ -12) ligado ao anel e outro sinal em  $\delta_{\text{C}}$  13,9 referente ao carbono da metila da cadeia lateral], nove metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) com sinais na região  $\delta_{\text{C}}$  23,2 – 48,9, três metínicos ( $\text{CH}$ ) relativos aos carbonos aromáticos  $\text{CH}$ -2' ( $\delta_{\text{C}}$  110,4),  $\text{CH}$ -5' ( $\delta_{\text{C}}$  110,4) e  $\text{CH}$ -6' ( $\delta_{\text{C}}$  118,6)] e quatro carbonos não hidrogenados (C) [um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  177,4 referente ao carbono C-2 da carbonila, e três sinais na região  $\delta_{\text{C}}$  157-118 referentes aos carbonos C-1', C-3' e C-4' substituídos do anel aromático].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para obter a amida **10** ocorreu de forma eficaz.



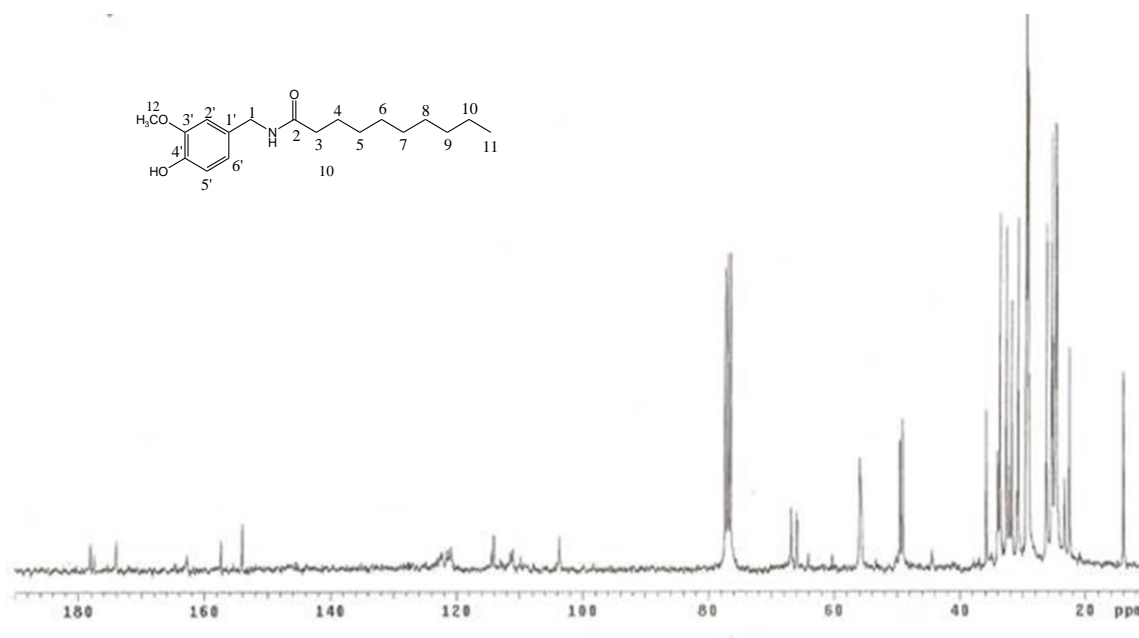
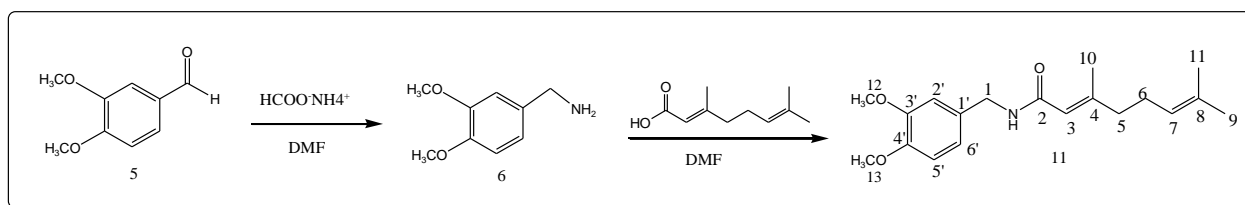


Figura 29: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  para o ácido decanóico-4-hidroxi-3-metoxibenzilamida

#### 5.2.4. Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida (11)



Esquema 30: Síntese do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida

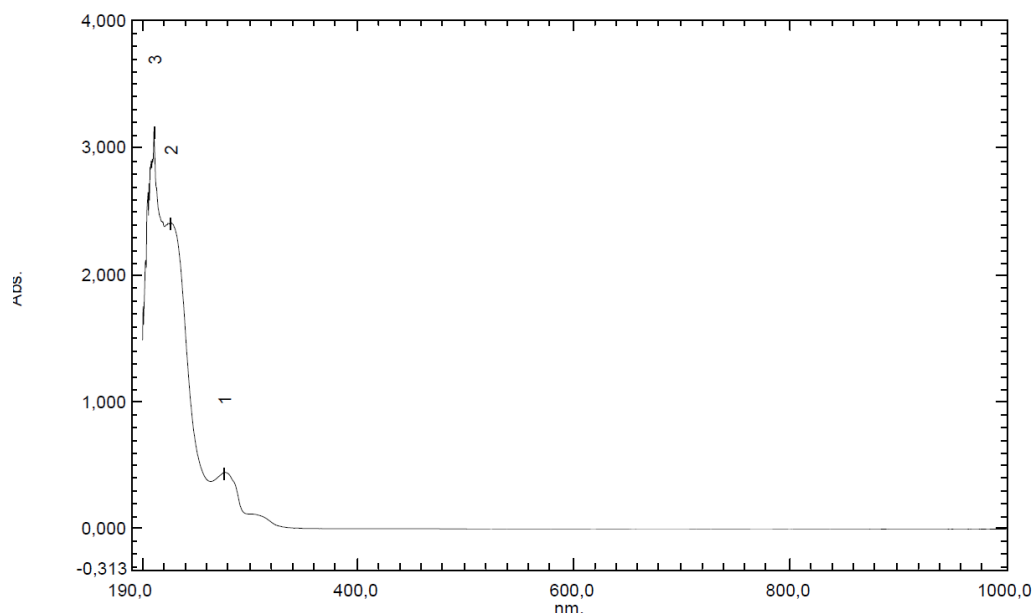
A síntese da amina dissustituída **6** baseou-se no procedimento por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando formiato de amônia e refluxo em DMF. Em que os reagentes são adaptados a uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido.

A reação de acoplamento entre a amina dissustituída e ácido gerânico para formação da amida **11** análoga da capsaicina baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicicloexilcarbodiimida em DMF tem como utilização

básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiram após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **11** que foi purificada por métodos cromatográficos e submetida a análises.

O espectro na região do UV da substância **11** apresentou absorções em  $\lambda_{\text{max}}$  276 e 210 nm típico de um anel benzênico trissubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\text{max}}$  3281 (N-H), 1625 (referente ao grupo carbonila da amida), 2928-2853 (grupos C-H) e 1513, 1449 e 1138  $\text{cm}^{-1}$  (C-H de anel benzênico).



**Figura 30: Espectro na região do UV do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida**

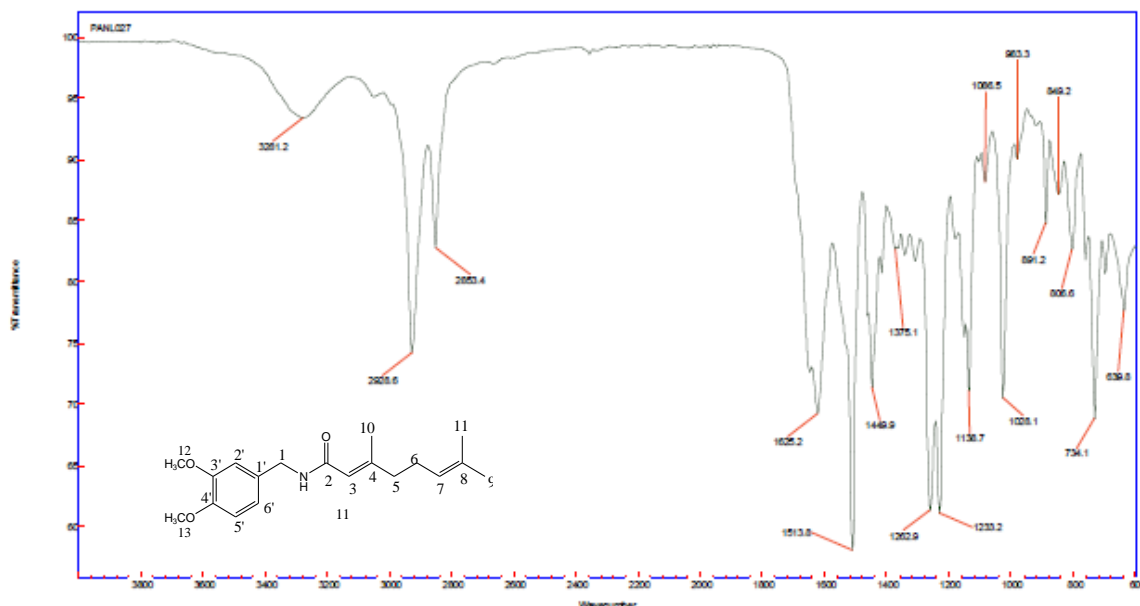


Figura 31: Espectro na região do IV do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida

O CG/EM apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  317 Daltons que em conjunto com os dados espectrais de  $^1\text{H}$  e RMN  $^{13}\text{C}$  deduziu-se a fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

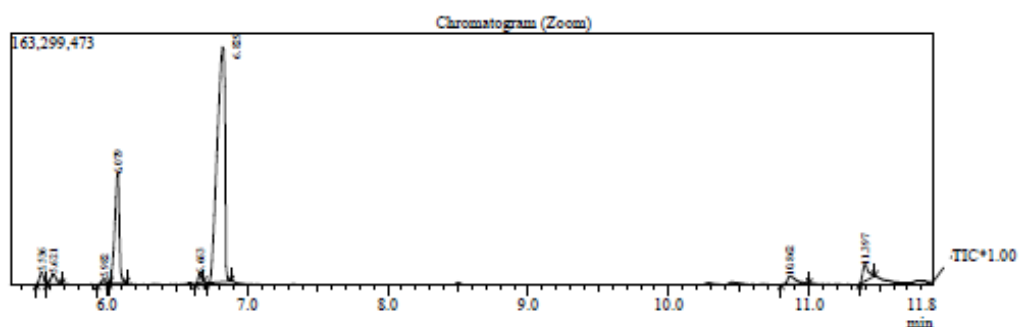


Figura 32: Cromatograma do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida

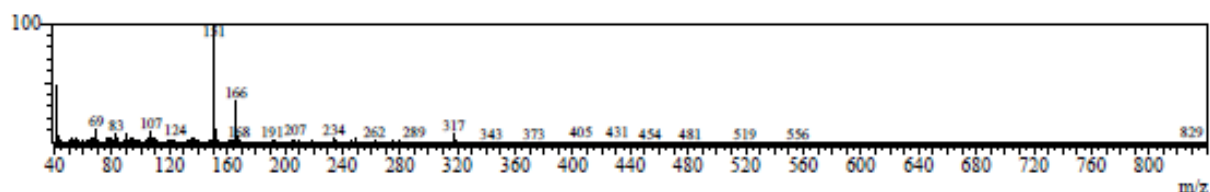
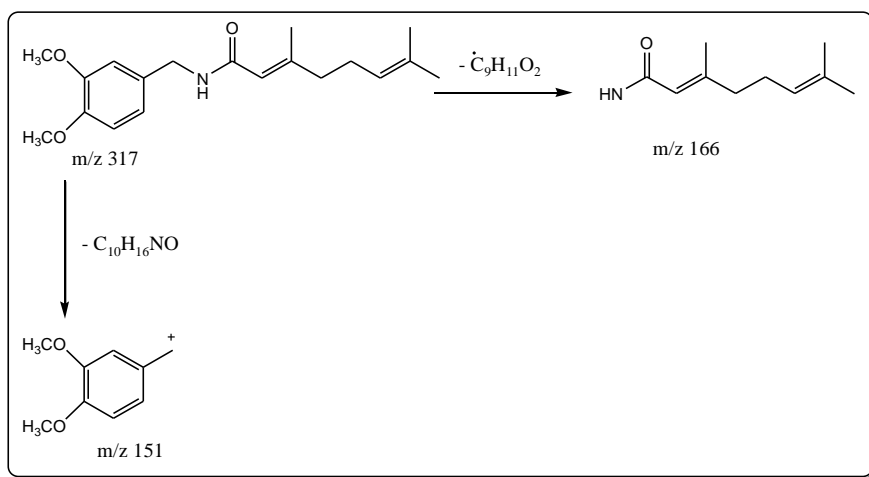


Figura 33: Espectro de Massas do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida



**Esquema 31: Proposta de fragmentação da EM para o ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida**

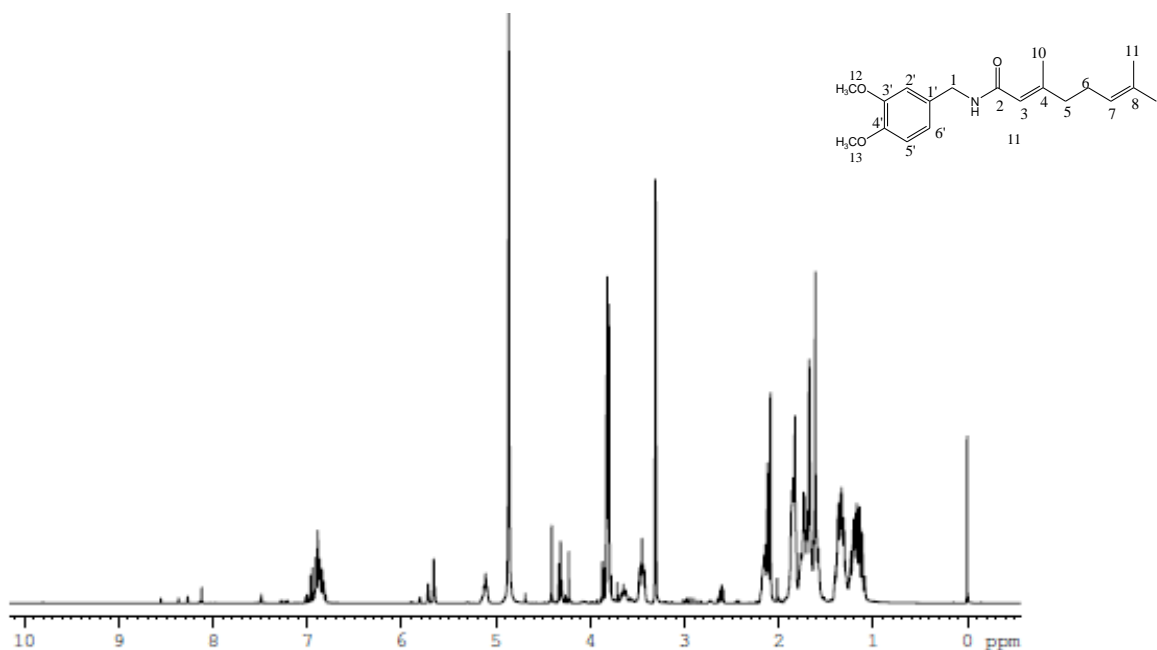
O espectro de RMN  $^1H$  (**Figura 34, p.93**) apresenta sinal relativo aos hidrogênios aromáticos CH-2', CH-5' e CH-6' em  $\delta_H$  6,89 característicos de um anel aromático trissubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4 substituído.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1H$  (**Figura 34, p.93**) os sinais em  $\delta_H$  4,41 referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida, assim como em  $\delta_H$  3,82 integrando para seis hidrogênios relativos as aos dois grupos metoxila ligados ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1H$  (**Figura 34, p.93**) dois sinais em  $\delta_H$  5,65 e  $\delta_H$  5,10 referente aos dois hidrogênio H-3 e H-7 evidenciando a presença de ligações duplas localizadas no seus respectivos átomos carbonos. Os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1H$  (**Figura 34, p.93**) na região entre  $\delta_H$  1,61 a 2,09.

**Tabela 5:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 11, em MeOD.Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

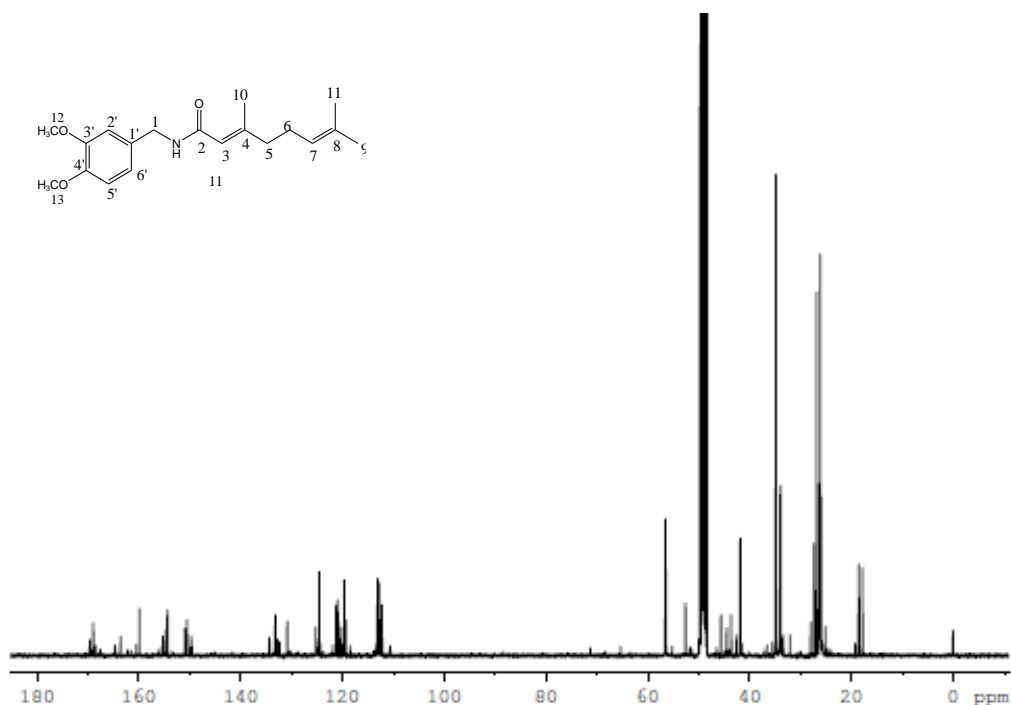
C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	45,6	4,41(s)
2	159,9	-
3	113,1	5,65
4	154,4	-
5	41,8	2,09 (m)
6	26,1	1,82 (m)
7	124,5	5,10
8	130,8	-
9	26,1	1,67 (s)
10	18,5	1,61 (s)
11	17,8	1,61 (s)
12	56,5	3,82
13	56,4	3,82
1'	134,3	-
2'	112,2	6,89 (m)
3'	154,4	-
4'	150,9	-
5'	112,8	6,89 (m)
6'	120,9	6,89 (m)
N-H	-	8,10

**Figura 34:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 5, p.92**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

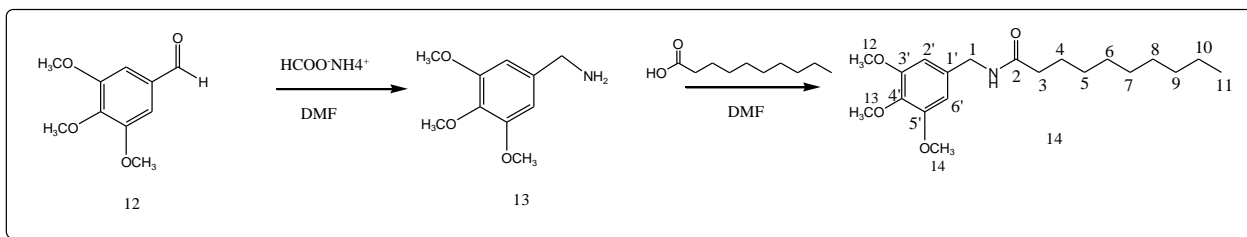
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figura 35, p.94**) foi possível observar a presença de cinco carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [dois destes referentes aos dois grupos metoxila em  $\delta_c$  56,5 ( $\text{CH-12}$  e  $\text{CH-13}$ ) ligados ao anel aromático, três metilênicos ( $\text{CH}_2$ ), cinco metínicos ( $\text{CH}$ ) [onde dois sinais em  $\delta_c$  113,1 e  $\delta_c$  124,5 referem-se a presença de duas ligações duplas em  $\text{CH-3}$  e  $\text{CH-7}$ , respectivamente; além de três sinais referentes aos carbonos aromáticos  $\text{CH-2}'$  ( $\delta_c$  112,2),  $\text{CH-5}'$  ( $\delta_c$  112,8) e  $\text{CH-6}'$  ( $\delta_c$  120,9)] e seis carbonos não hidrogenados ( $\text{C}$ ) [um sinal em  $\delta_c$  159,9 referente a carbonila da amida  $\text{C-2}$  e os demais sinais presentes na região  $\delta_c$  130-154].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para obter a amida **11** foi realizada com sucesso.



**Figura 35: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico 3,4-dimetoxibenzilamida**

### 5.2.5. Síntese do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**14**)



**Esquema 32: Síntese do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida**

A síntese da amina trissubstituída **13** baseou-se no procedimento por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando formiato de amônia e refluxo em DMF. Em que os reagentes são adaptados a uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido amarelado.

Para a reação de acoplamento entre a amina e ácido decanóico a fim de formar a amida **14** baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicicloexilcarbodiimida (DCC) em DMF tem como utilização básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiu após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **14** que foi submetida a análises.

O espectro na região do UV da substância **14** apresentou absorções em  $\lambda_{\max}$  270 e 209 nm típico de um anel benzênico tetrassubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\max}$  3281 (N-H), 1710 (referente ao grupo carbonila de amida), 2931-2853 (grupos C-H) e 1634, 1546 e 1229  $\text{cm}^{-1}$  (C-H de anel benzênico).

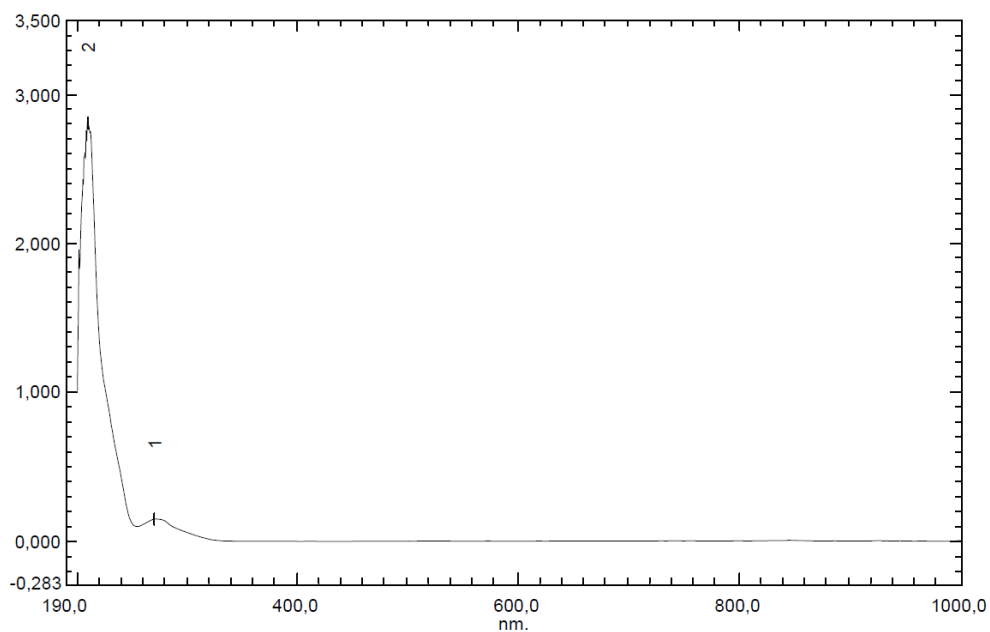


Figura 36: Espectro na região do UV do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

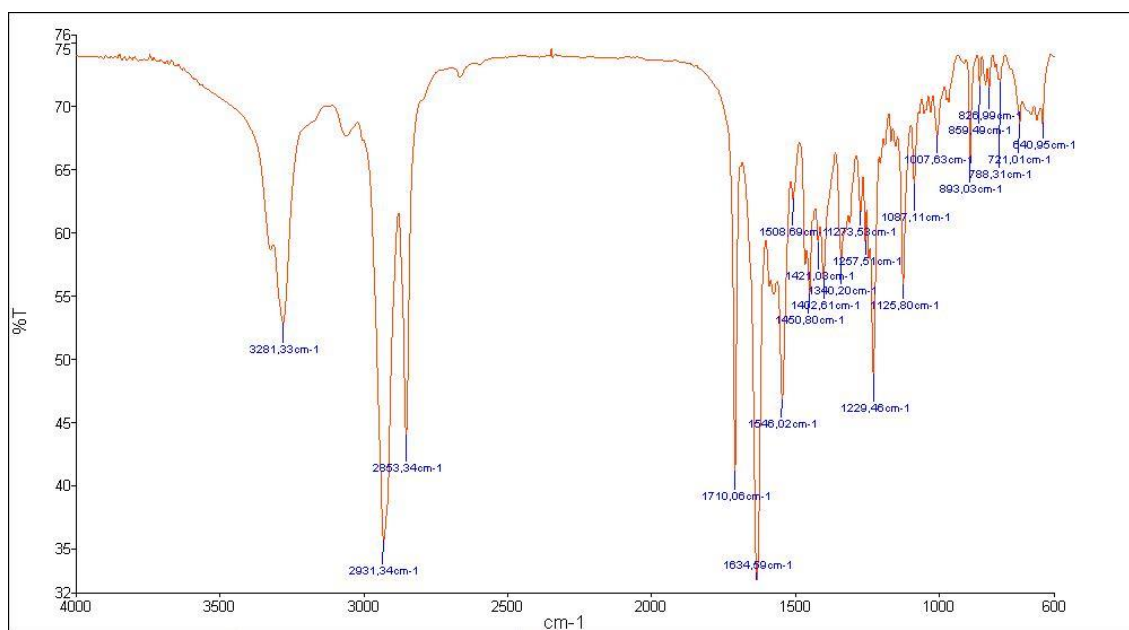
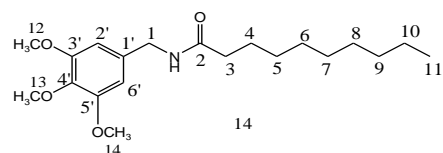


Figura 37: Espectro na região do IV para o ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida



O CG/EM apresentou o pico do íon molecular em  $m/z$  351 Daltons que em conjunto com os dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  deduziu-se a fórmula molecular  $\text{C}_{20}\text{H}_{33}\text{NO}_4$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

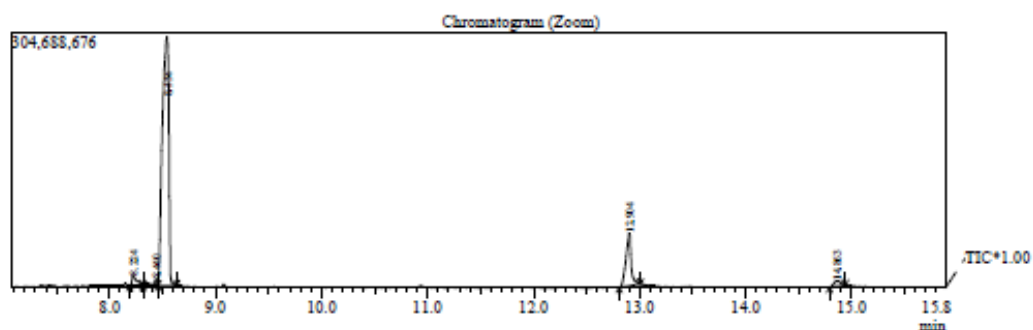


Figura 38: Cromatograma do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

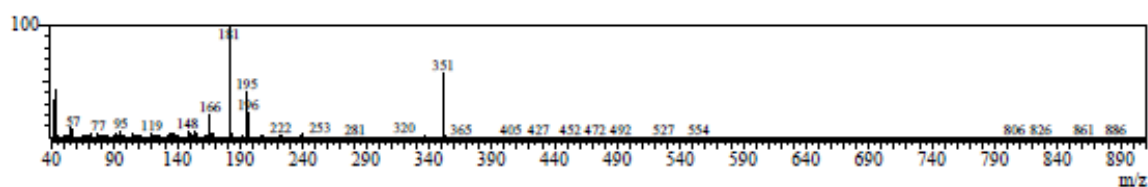
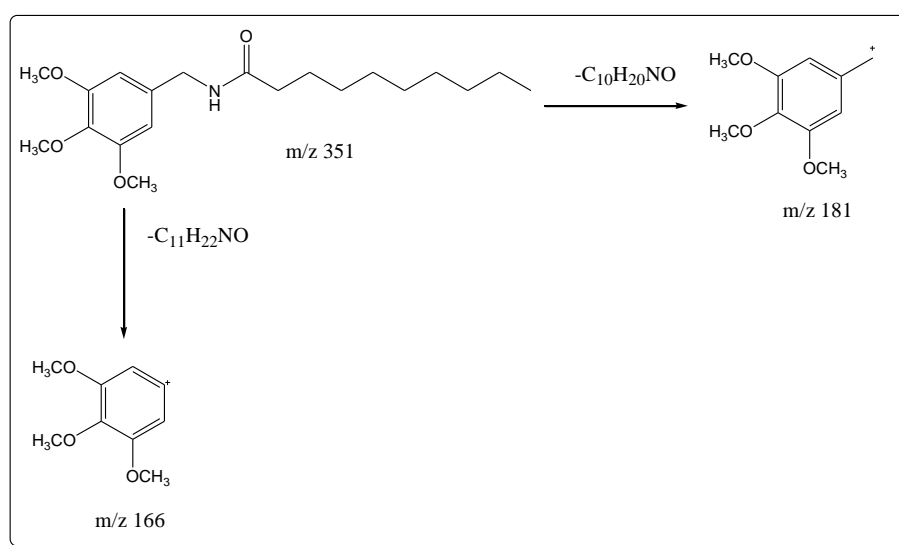


Figura 39: Espectro de Massas do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida



Esquema 33: Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 40, p.99**) apresenta um sinais relativos aos hidrogênios aromáticos CH-2' e CH-6' em  $\delta_{\text{H}}$  6,55 característicos de um anel aromático tetrassubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4,5 substituído.

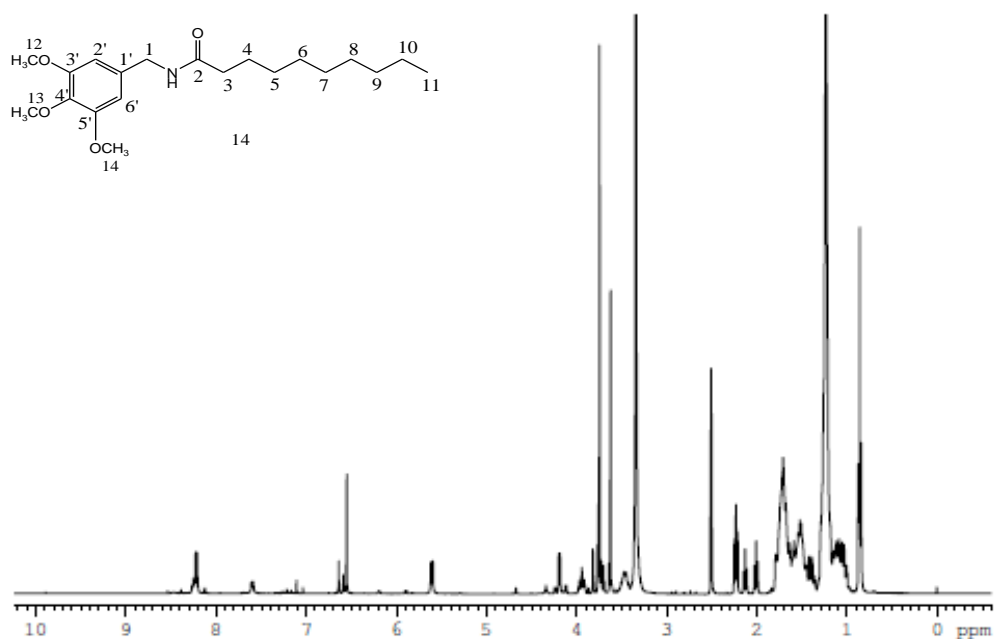
Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 40, p.99**) os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  4,19 (*d*,  $J=5,88$ ) (integrando para dois hidrogênios) referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida, assim como em  $\delta_{\text{H}}$  3,75 referente aos três grupos metoxilas ligados ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 40, p.99**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,22 referentes aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 40, p.99**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  0,87 – 1,98.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 6, p.98**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

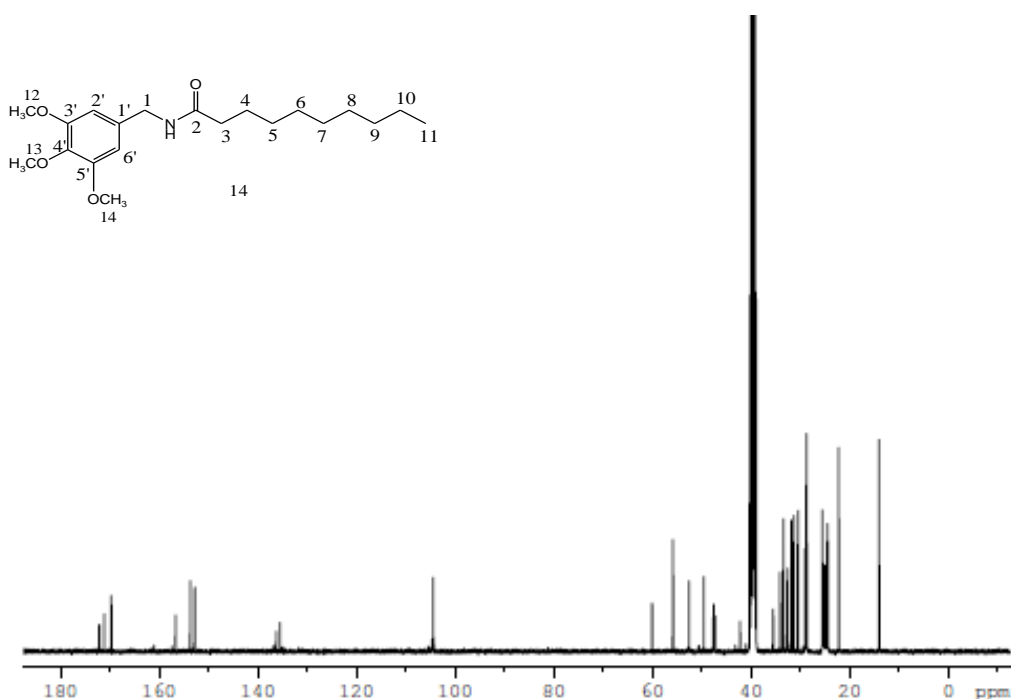
**Tabela 6:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 14, em MeOD.Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	49,5	4,19 ( <i>d</i> , $J=5,88$ )
2	169,6	-
3	34,0	2,22 ( <i>t</i> , $J=7,68$ )
4	25,3	1,73 ( <i>m</i> )
5	28,5	1,27 ( <i>m</i> )
6	28,6	1,27 ( <i>m</i> )
7	31,3	1,27 ( <i>m</i> )
8	31,6	1,27 ( <i>m</i> )
9	33,3	1,27 ( <i>m</i> )
10	24,4	1,98 ( <i>m</i> )
11	22,1	0,87
12	55,7	3,75 ( <i>s</i> )
13	59,9	3,75 ( <i>s</i> )
14	52,5	3,75 ( <i>s</i> )
1'	136,2	-
2'	104,3	6,55 ( <i>s</i> )
3'	152,8	-
4'	135,4	-
5'	152,7	-
6'	104,2	6,55 ( <i>s</i> )

**Figura 40:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

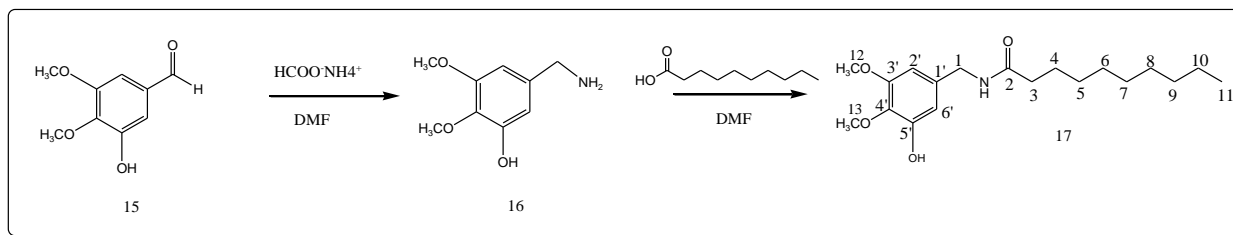
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figura 41, p.100**) foi possível observar a presença de quatro carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [onde três se referem aos três grupos metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  55,7 (CH-12) e  $\delta_{\text{C}}$  59,9 (CH-13) e  $\delta_{\text{C}}$  52,7 (CH-14) ligados ao anel aromático, e um grupo metila da cadeia lateral (CH-11); nove metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) na região  $\delta_{\text{C}}$  49,5 – 24,4, dois metínicos (CH) em  $\delta_{\text{C}}$  104,3 referentes aos carbonos aromáticos CH-2' e CH-6' e cinco carbonos não hidrogenados (C) [um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  169,6 referente a carbonila da amida C-2 e os demais sinais presentes na região  $\delta_{\text{C}}$  135-152].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para obter a amida **14** foi realizada com sucesso.



**Figura 41: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida**

### 5.2.6. Síntese do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida (17)



**Esquema 34: Síntese do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida**

A síntese da amina **16** baseou-se no procedimento por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando formiato de amônia e refluxo em DMF. Em que os reagentes são adaptados a uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido amarelado.

Para a reação de acoplamento entre a amina e ácido decanóico a fim de formar a amida **17** baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicicloexilcarbodiimida (DCC) em DMF tem como utilização básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiu após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **17** que foi submetida a análises.

O espectro na região do UV da substância **17** apresentou absorções em  $\lambda_{\max}$  276 e 206 nm típico de um anel benzênico tetrassubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\max}$  3299 (N-H), 1692 (referente ao grupo carbonila de amida), 2117 característico de amida, 2925-2853 (grupos C-H) e 1642, 1501 e 1102  $\text{cm}^{-1}$  (C-H de anel benzênico).

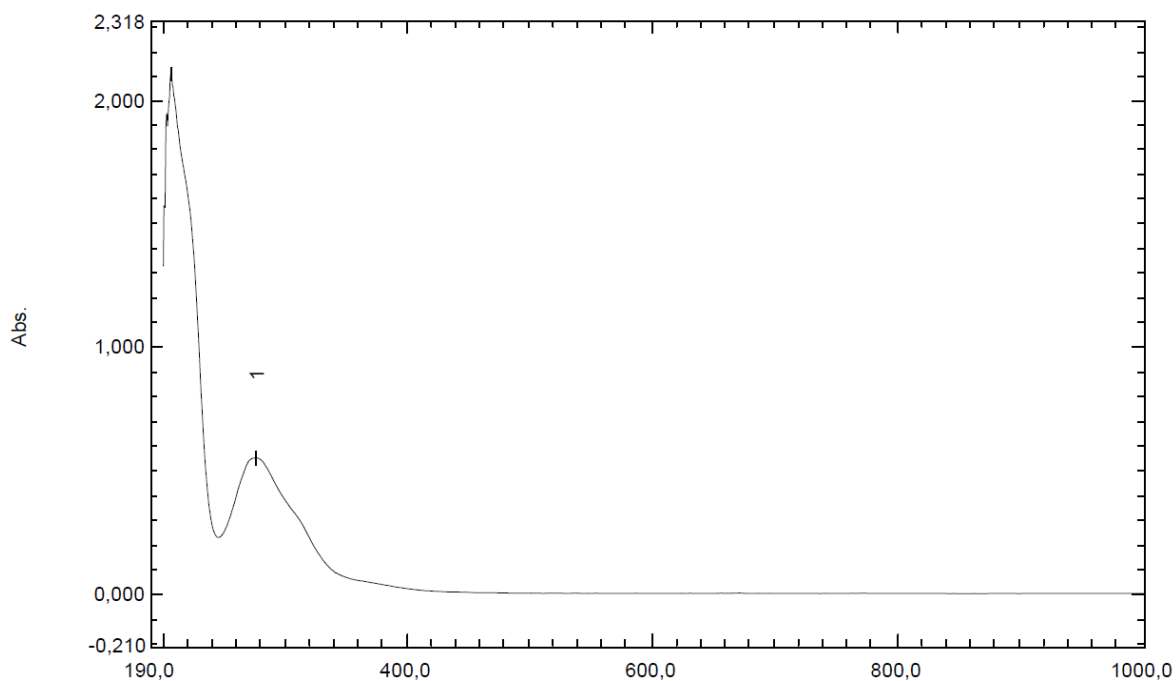


Figura 42: Espectro na região do UV do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

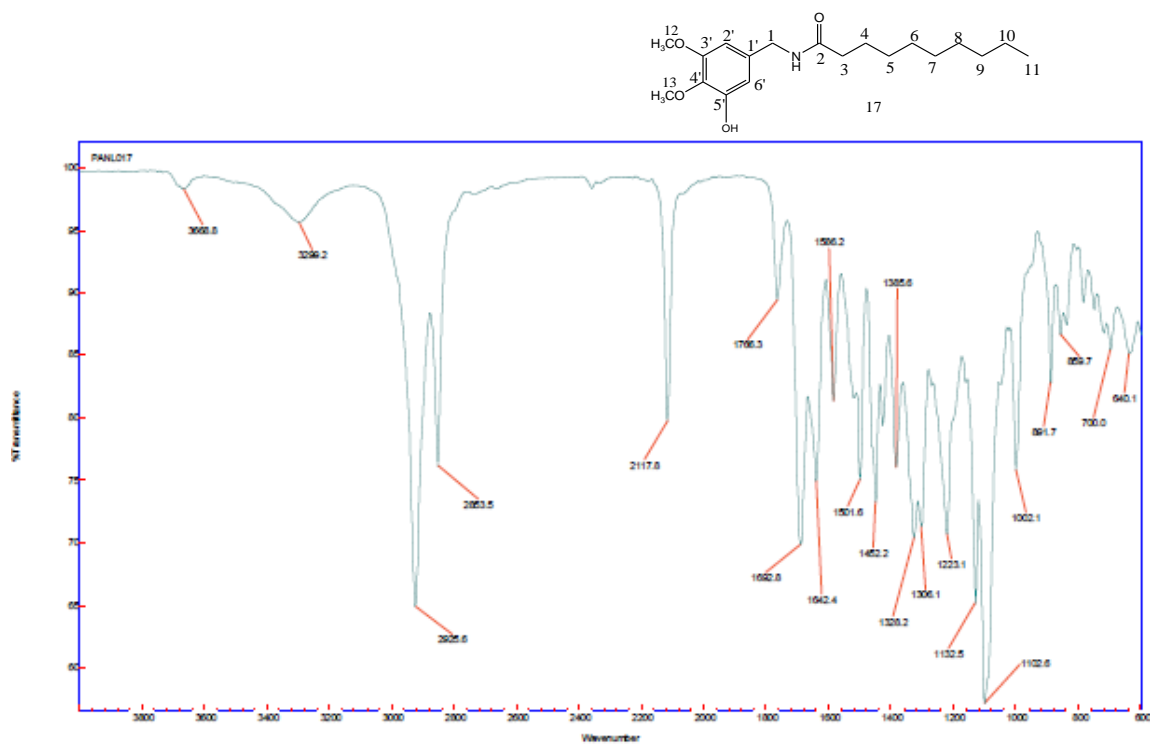


Figura 43: Espectro na região do IV do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

O CG/EM apresentou um pico em  $m/z$  337 Daltons que em conjunto com os dados espectrais de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  deduziu-se a fórmula molecular  $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{NO}_4$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

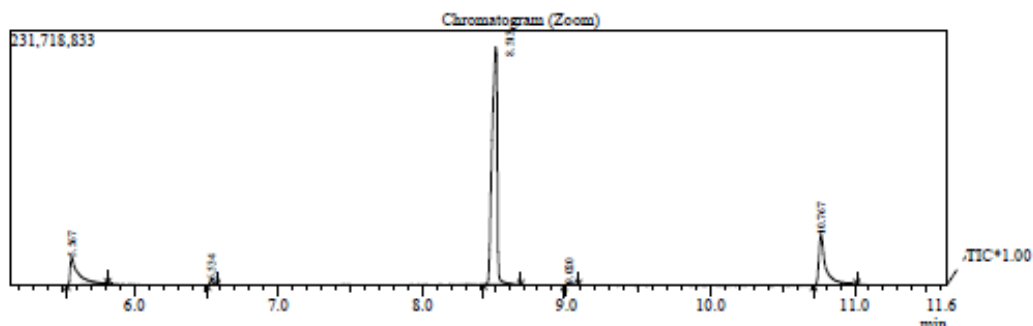


Figura 44: Cromatograma do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

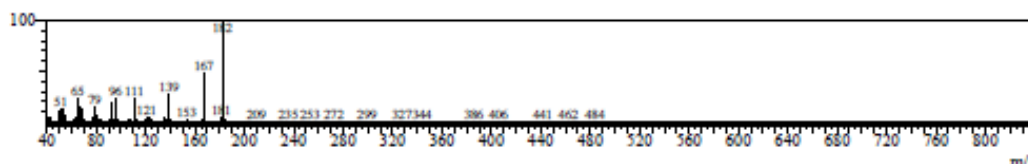
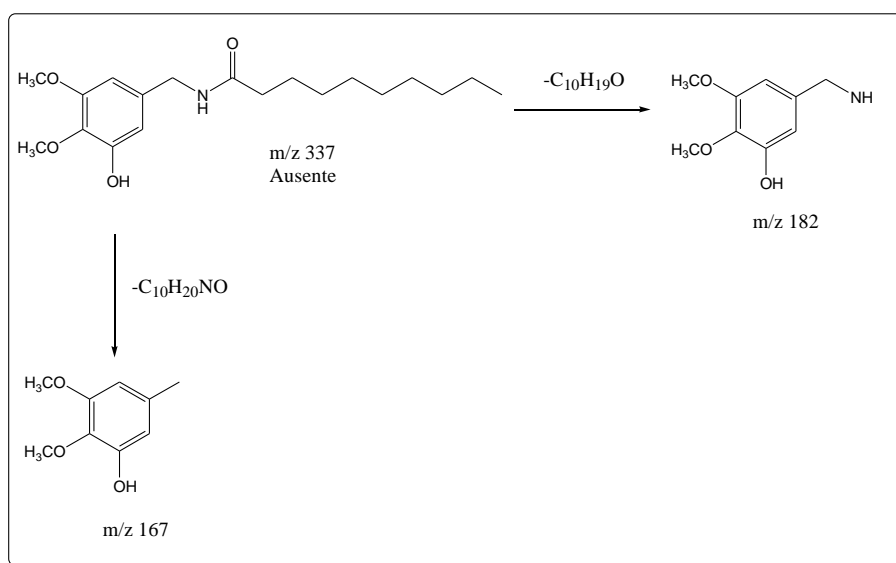


Figura 45: Espectro de Massas do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida



Esquema 35: Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 46, p.105**) apresenta dois sinais relativos a hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  7,07 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz), 7,04 (1H, d,  $J = 1,8$  Hz), característicos de um anel aromático tetrassubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4,5 substituído, devido ao valor da constante de acoplamento em 1,84 Hz, característico de constante de acoplamento meta.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 46, p.105**) os sinais singletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,96 (integrando para dois hidrogênios) referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida e o outro singlete integrando para seis hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  3,87, relativos aos dois grupos metoxila ligados ao anel aromático.

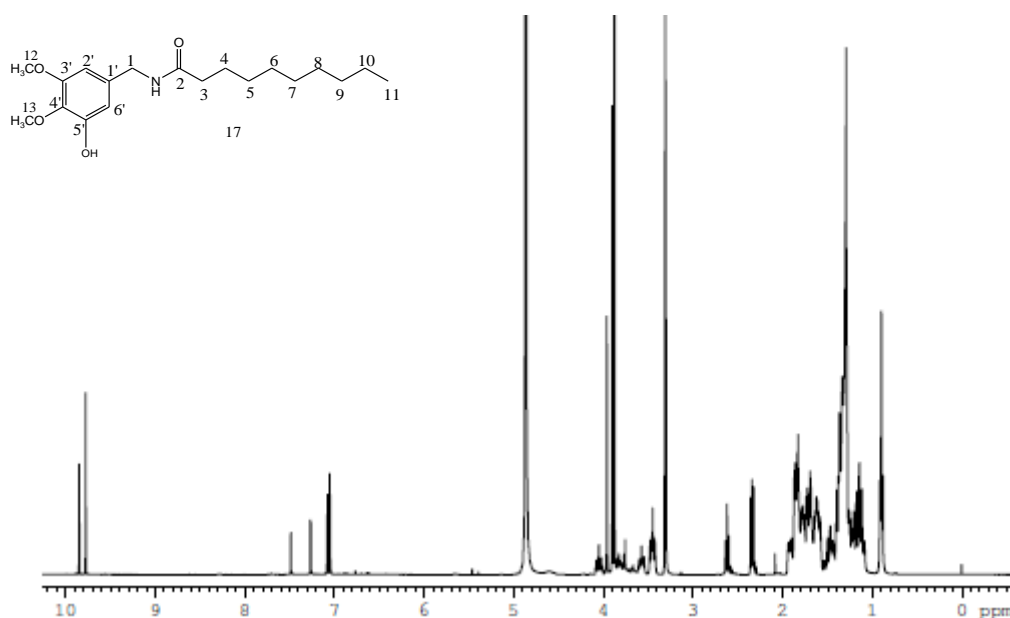
Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 46, p.105**) dois sinais tripletos em  $\delta_{\text{H}}$  2,33 (2H, d,  $J = 7,44$  Hz), referente aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e o outro tripleto em  $\delta_{\text{H}}$  0,89 relativo aos hidrogênios do grupo metila da cadeia lateral. Os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 46, p.105**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,29 a 2,83.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 7, p.104**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.



**Tabela 7:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 17, em MeOD.Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	-	3,96 (s)
2	173,3	-
3	35,9	2,33 (d, $J=7,44$ Hz)
4	26,2	1,82 (m)
5	30,3	1,29 (m)
6	30,5	1,29 (m)
7	30,7	1,29 (m)
8	30,6	1,29 (m)
9	32,1	1,29 (m)
10	23,9	1,31
11	14,6	0,89
12	56,6	3,87 (s)
13	61,2	3,87 (s)
1'	133,4	-
2'	105,2	7,07 (d, $J=1,8$ Hz)
3'	152,7	-
4'	133,8	-
5'	148,0	-
6'	105,2	7,04 (d, $J=1,8$ Hz)

**Figura 46:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figura 47**, p.106) foi possível observar a presença de três carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [dois destes referentes aos dois

grupos metoxila em  $\delta_c$  56,6 (CH-12) e  $\delta_c$  61,2 (CH-13) ligados ao anel aromático, e um grupo metila da cadeia lateral (CH-11); nove metilênicos (CH<sub>2</sub>) na região  $\delta_c$  35,9 - 23,9, dois metínicos (CH) em  $\delta_c$  105,2 referentes aos carbonos aromáticos CH-2' e CH-6' e cinco carbonos não hidrogenados (C) [um sinal em  $\delta_c$  173,3 referente a carbonila da amida C-2 e os demais sinais presentes na região  $\delta_c$  133-148].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para formar a amida **17** foi obtida com sucesso.

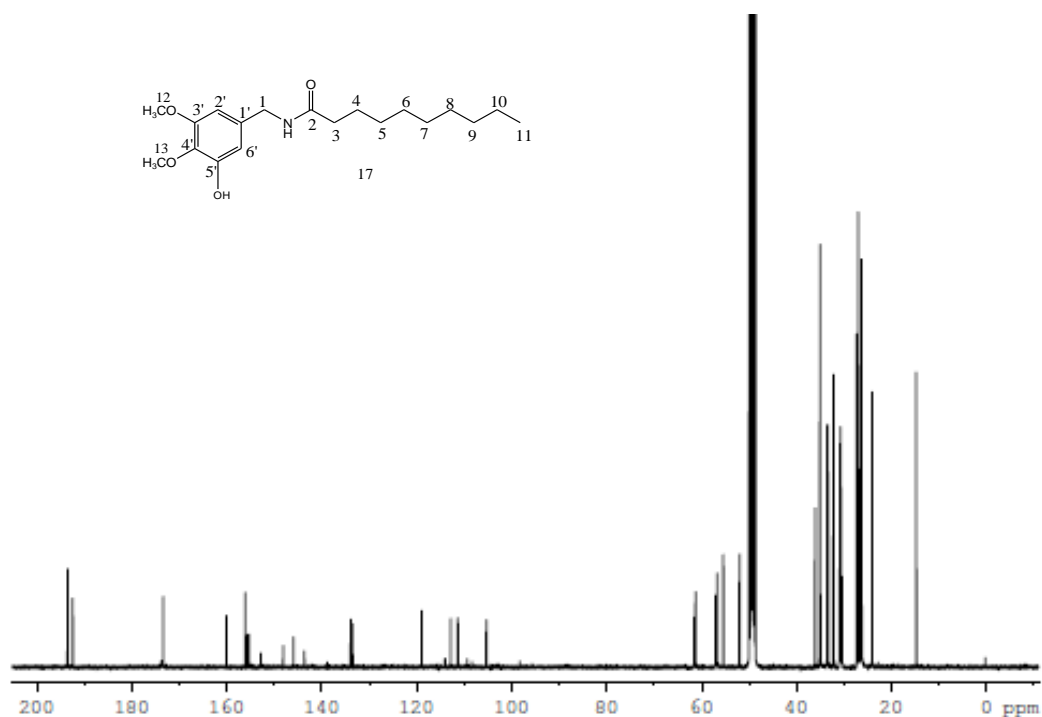
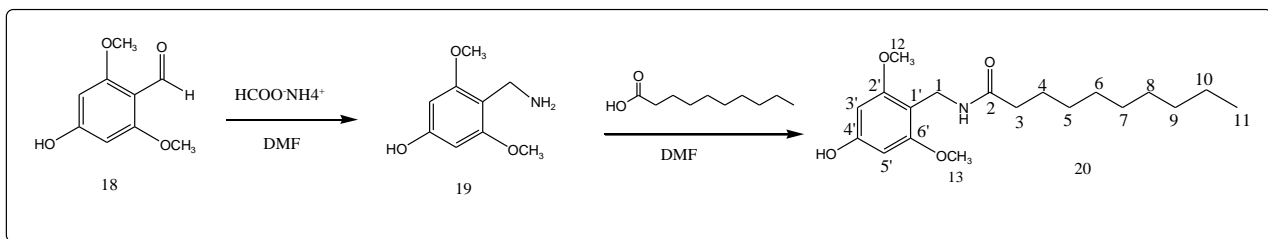


Figura 47: Espectro de RMN <sup>13</sup>C do ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida

### 5.2.7. Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida (**20**)



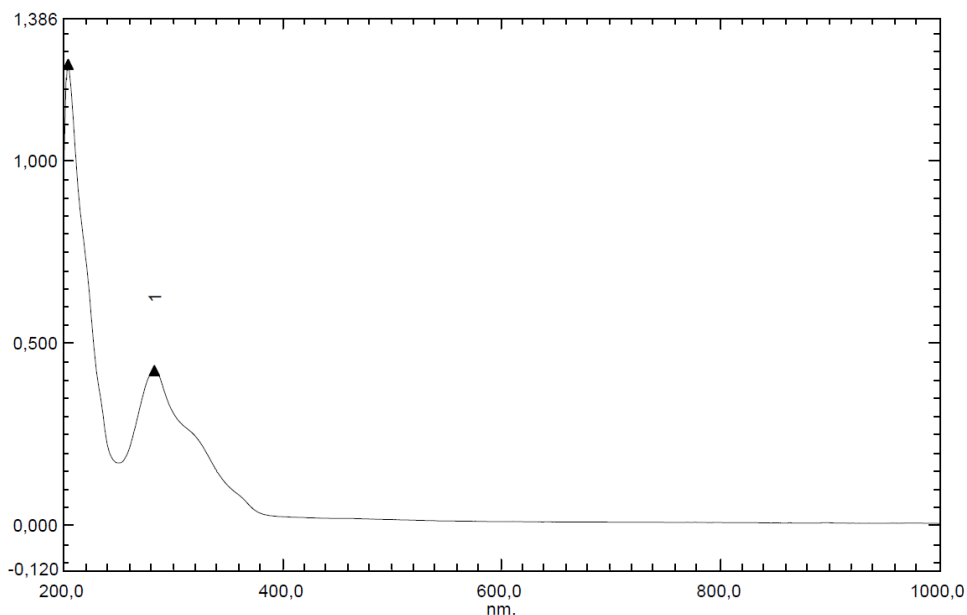
**Esquema 36: Síntese do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida**

A síntese da amina trissubstituída **19** baseou-se no procedimento por VOGEL, que consiste na inserção direta do grupo amino através da aminação redutiva utilizando formiato de amônia e refluxo em DMF. Em que os reagentes são adaptados a uma aparelhagem de destilação simples por um período de quatro horas para obtenção de um sólido.

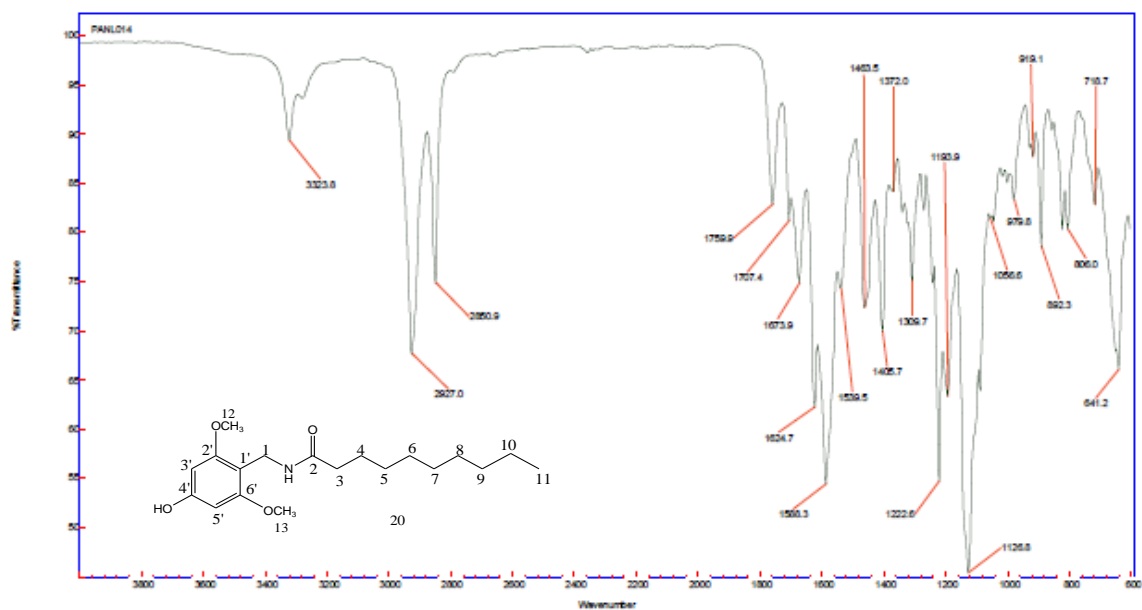
Para a reação de acoplamento entre a amina e ácido decanóico a fim de formar a amida **20** baseou-se no procedimento de JONES utilizando dicioexilcarbodiimida (DCC) em DMF tem como utilização básica a atuação de grupos carboxila para formação de ligações peptídicas, como neste caso a amida.

A utilização de quantidades equimolares da amida e do ácido em quantidades molares de DCC permitiu após 48 horas de reação a temperatura ambiente a formação da amida **20** que foi submetida a análises de IV, massas,  $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN.

O espectro na região do UV da substância **20** apresentou absorções em  $\lambda_{\text{max}}$  283 e 204 nm típico de um anel benzênico tetrassubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\text{max}}$  3323 (N-H), 1759 (referente ao grupo carbonila de amida), 2927-2850 (grupos C-H) e 1673, 1588 e 1126  $\text{cm}^{-1}$  (C-H de anel benzênico).



**Figura 48: Espectro na região do UV do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida**



**Figura 49: Espectro na região do IV do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida**

O CG/EM apresentou um pico em  $m/z$  182 Daltons referente a fragmentação com perda do radical  $C_{10}H_{19}O$  e outro em  $m/z$  167 Daltons que se refere a perda do radical  $C_{10}H_{20}NO$  que em conjunto com os dados espectrais de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  deduziu-se a fórmula molecular  $C_{19}H_{31}NO_4$ .

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

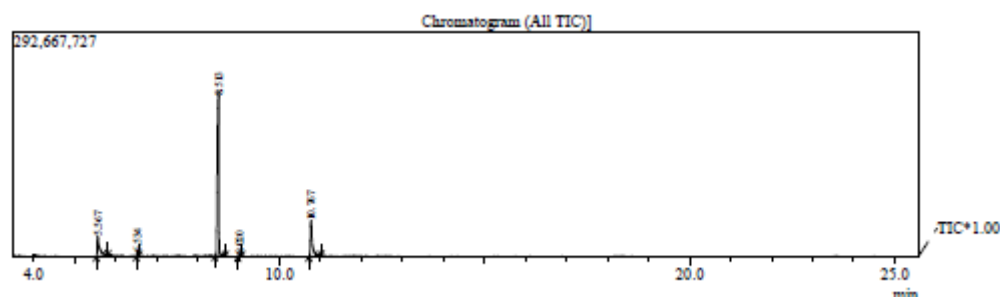


Figura 50: Cromatograma do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida

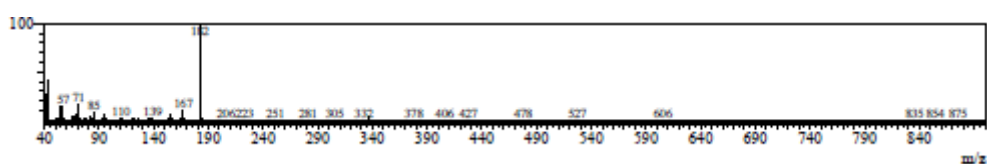
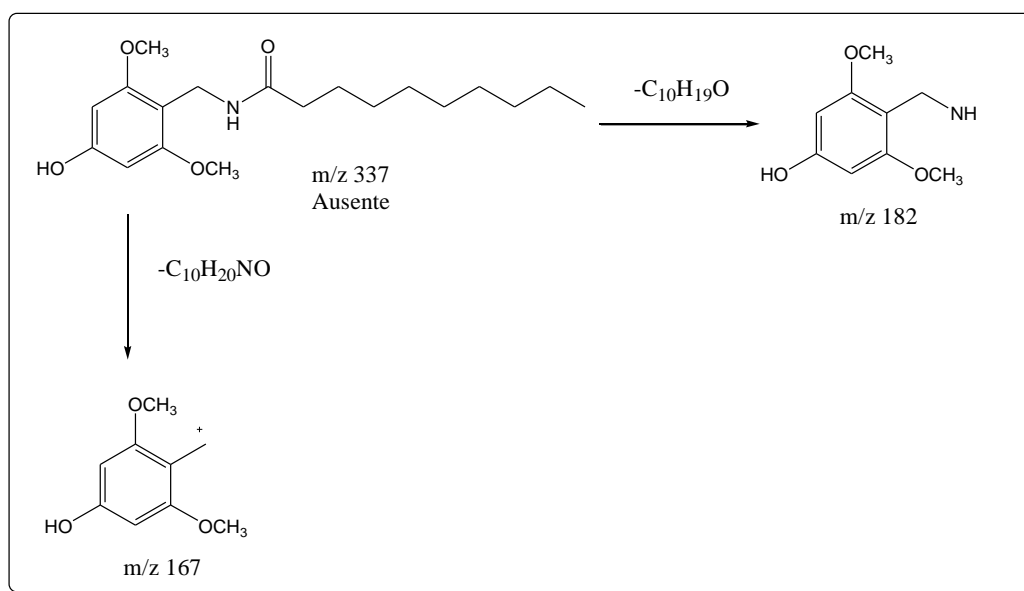


Figura 51: Espectro de massas do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida



Esquema 37: Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52, p.111**) apresenta um sinal relativo a hidrogênios aromáticos em  $\delta_{\text{H}}$  6,42 característicos de um anel aromático tetrassubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,2,4,6 substituído.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52, p.111**) os sinais singletos em  $\delta_{\text{H}}$  3,87 referentes aos dois hidrogênios alfa ao anel benzênico e alfa ao grupamento amida e o outro dois singletos integrando para seis hidrogênios em  $\delta_{\text{H}}$  4,86 e  $\delta_{\text{H}}$  3,78, relativos aos dois grupos metoxila ligados ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52, p.111**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  3,31 referentes aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e o outro em  $\delta_{\text{H}}$  0,89 relativo aos hidrogênios do grupo metila da cadeia lateral. Os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 52, p.111**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  1,30 a 2,57.

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 8, p.110**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

**Tabela 8:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 20, em MeOD. Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	55,3	3,87 (s)
2	173,2	-
3	34,8	3,31
4	26,1	2,57 (m)
5	30,4	1,31 (m)
6	30,4	1,30 (m)
7	31,9	1,31 (m)
8	33,1	1,32 (m)
9	35,1	1,33 (m)
10	23,8	1,83 (m)
11	14,5	0,89
12	26,8	4,86
13	56,6	3,78
1'	112,5	-
2'	159,9	-
3'	99,7	6,42 (s)
4'	154,3	-
5'	102,3	6,42 (s)
6'	160,7	-

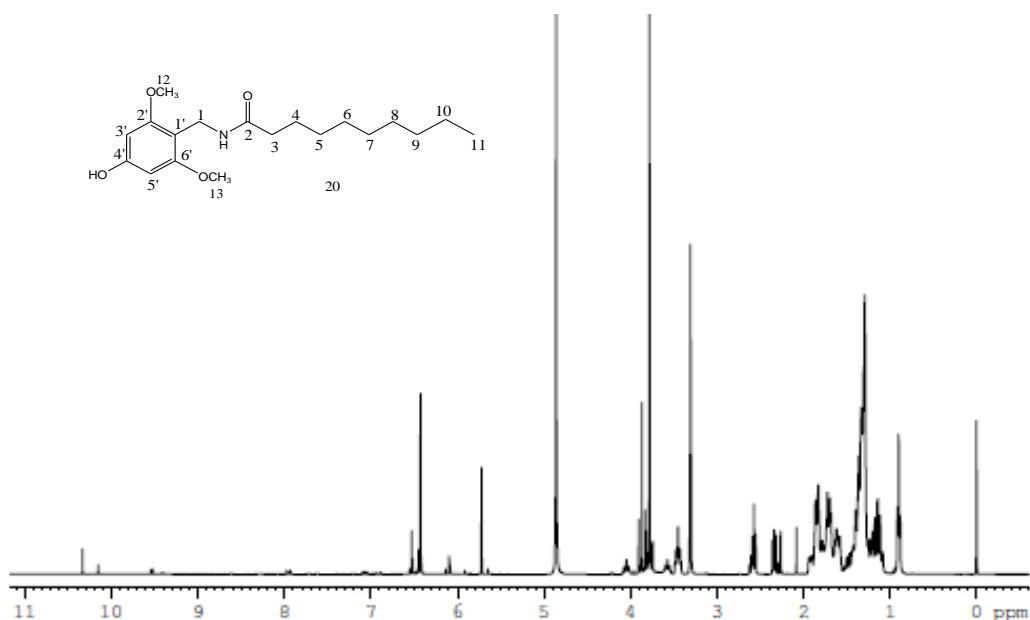


Figura 52: Espectro de RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 53, p.112) foi possível observar a presença de três carbonos metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [dois destes referentes aos dois grupos metoxila em  $\delta_{\text{C}}$  26,8 ( $\text{CH}_{12}$ ) e  $\delta_{\text{C}}$  56,6 ( $\text{CH}_{13}$ ) ligados ao anel aromático, e um grupo metila da cadeia lateral ( $\text{CH}_{11}$ ); nove metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) na região  $\delta_{\text{C}}$  35,1 - 23,8, dois metínicos ( $\text{CH}$ ) em  $\delta_{\text{C}}$  102,3 referentes aos carbonos aromáticos  $\text{CH}_{3'}$  e  $\text{CH}_{5'}$  e cinco carbonos não hidrogenados ( $\text{C}$ ) [um sinal em  $\delta_{\text{C}}$  173,2 referente a carbonila da amida  $\text{C}_{2}$  e os demais sinais presentes na região  $\delta_{\text{C}}$  112-160].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação de acoplamento para formação da amida **20** foi realizada com sucesso.

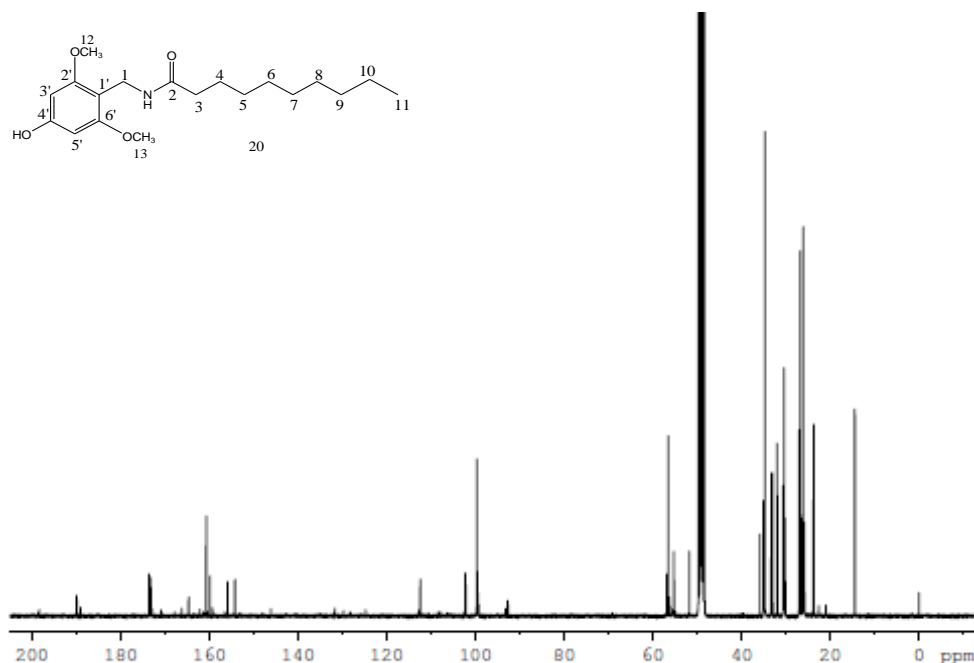
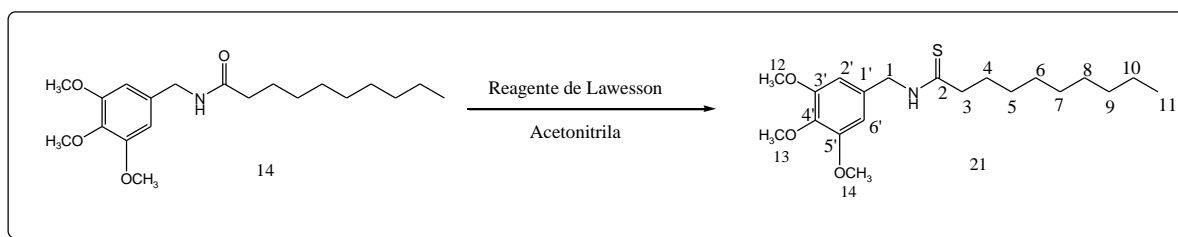


Figura 53: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida

### 5.2.8. Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**21**)

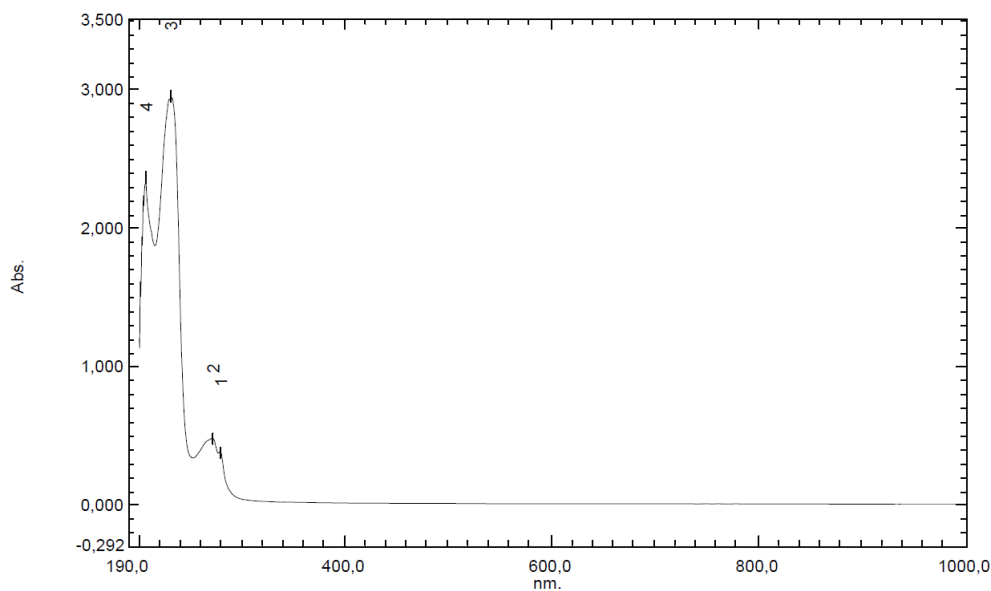


Esquema 38: Síntese do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

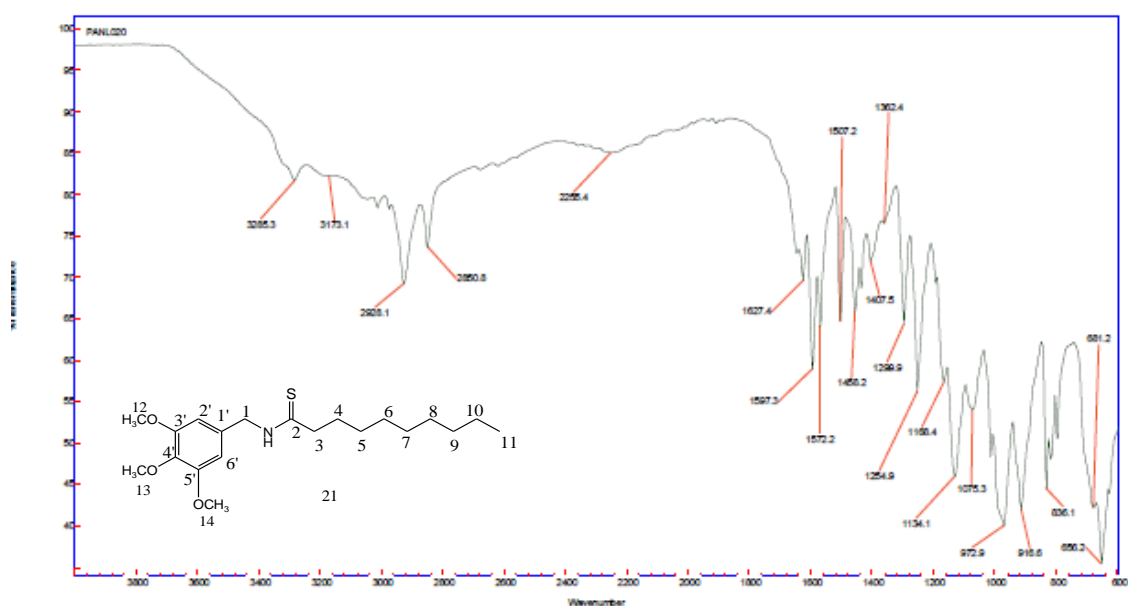
Para inserção do enxofre no lugar do oxigênio da amida **14** foi utilizado o Reagente de Lawesson dissolvidos em acetonitrila. A reação foi mantida em refluxo por 24 horas a  $90^{\circ}\text{C}$ . O produto foi submetido a análises de IV, massas,  $^1\text{H}$  RMN e  $^{13}\text{C}$  RMN.

O espectro na região do UV da substância **21** apresentou absorções em  $\lambda_{\text{max}}$  278 e 206 nm típico de um anel benzênico tetrassubstituído, enquanto que o espectro na região do IV revelou bandas em  $\nu_{\text{max}}$  3285 (N-H), 1627 (referente ao grupo carbonila da amida secundária), 2928 - 2850 (grupos C-H) e 1597, 1572 e  $1458\text{ cm}^{-1}$  (vibrações de núcleos aromáticos).





**Figura 54: Espectro na região do UV do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida**



**Figura 55: Espectro na região do IV do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida**

O CG/EM apresentou um pico em  $m/z$  181 Daltons referente ao fragmento da perda do radical ( $C_{10}H_{20}NS$ ) e outro em  $m/z$  167 referente a perda do radical ( $C_{11}H_{22}NS$ ) como mostra a figura abaixo.

Os principais picos observados no espectro de CG/EM estão propostos no esquema de fragmentação sumarizados no Esquema a seguir.

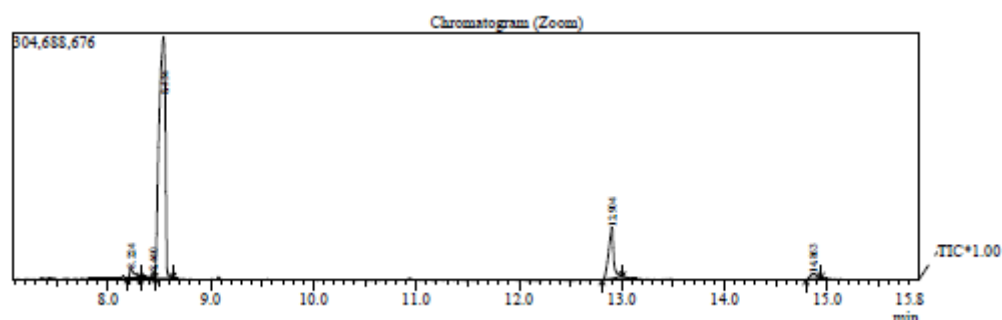


Figura 56: Cromatograma do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

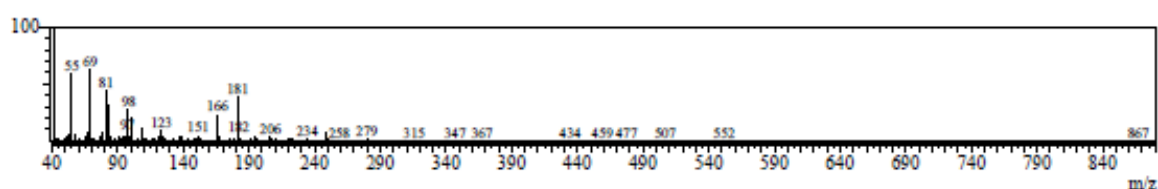
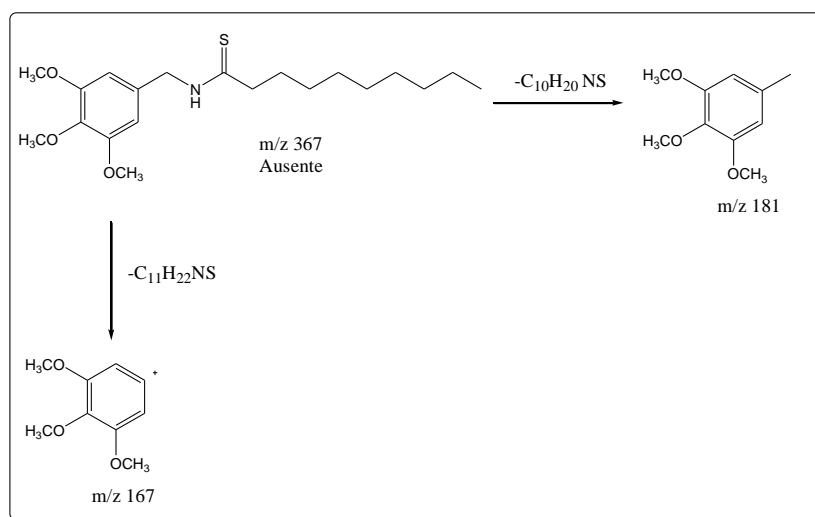


Figura 57: Espectro de Massas do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida



Esquema 39: Proposta de fragmentação da EM para o ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  (Figura 58, p.116) apresenta dois sinais relativos aos hidrogênios aromáticos CH-2' em  $\delta_{\text{H}}$  7,57 e CH-6' em 6,93, característicos de um anel aromático tetrassubstituído, denotando que o anel aromático encontra-se 1,3,4,5 substituído.

Pode-se observar também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 58, p.116**) os sinais em  $\delta_{\text{H}}$  3,77 referentes aos três grupos metoxilas ligados ao anel aromático.

Observou-se também no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 58, p.116**) um sinal em  $\delta_{\text{H}}$  2,50 referentes aos dois hidrogênios alfa ao carbono da carbonila do grupo amida, e os demais sinais da cadeia lateral estão localizados no espectro de RMN  $^1\text{H}$  (**Figura 58, p.116**) na região entre  $\delta_{\text{H}}$  2,32-1,23.

**Tabela 9:** Dados de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) da substância 21, em MeOD.

Os deslocamentos químicos,  $\delta_{\text{C}}$  e  $\delta_{\text{H}}$ , estão em ppm.

C	$\delta_{\text{C}}$	$\delta_{\text{H}}$
1	-	3,69
2	204,0	-
3	-	2,50
4	32,5	1,91
5	32,5	1,76
6	32,5	1,76
7	32,5	1,76
8	32,5	1,76
9	32,5	1,76
10	22,5	2,32
11	21,1	1,23
12	55,1	3,77(s)
13	55,1	3,77(s)
14	55,1	3,77(s)
1'	132,2	-
2'	113,3	7,57 (m)
3'	160,7	-
4'	126,6	-
5'	160,7	-
6'	113,3	6,93 (m)
N-H	-	9,19

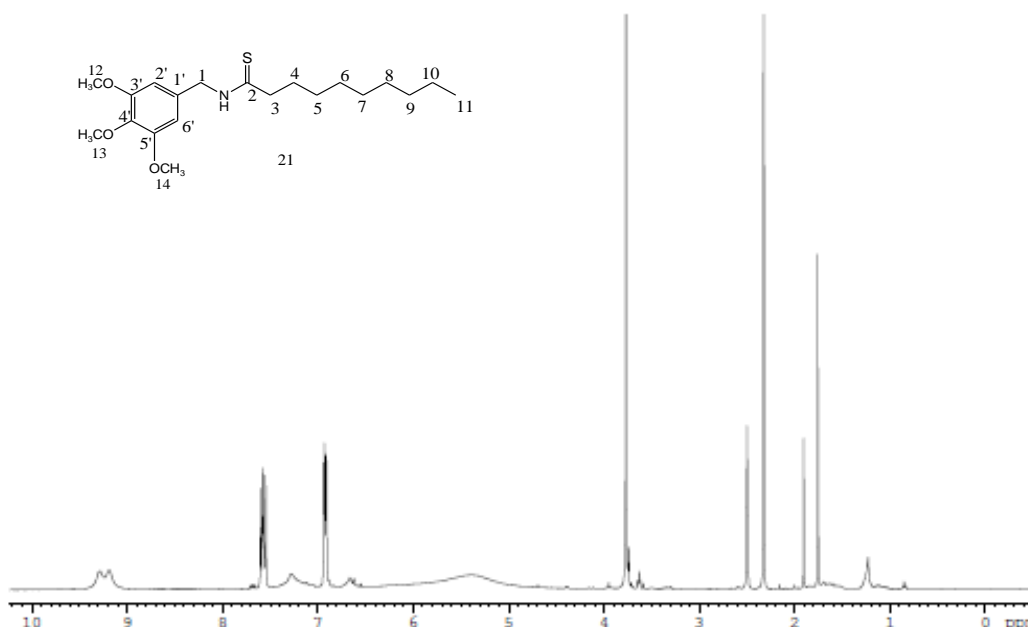


Figura 58: Espectro RMN  $^1\text{H}$  do ácido decanoíico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

A atribuição dos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos restantes da cadeia alifática (**Tabela 9, p.115**) foi feita com base nos parâmetros conhecidos para deslocamentos químicos de hidrogênio.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (**Figura 59, p.117**) foi possível observar a presença de 20 sinais referentes aos 20 carbonos atribuídos a substância proposta, dos quais quatro são metílicos ( $\text{CH}_3$ ) [um sinal em  $\delta_c$  55,1 referente aos carbonos das metilas dos grupos metoxilas ( $\text{CH}_3$ -12,  $\text{CH}_3$ -13 e  $\text{CH}_3$ -14), ligados ao anel e outro sinal em  $\delta_c$  21,1 referente ao carbono da metila da cadeia lateral], nove metilênicos ( $\text{CH}_2$ ) com sinal em  $\delta_c$  32,5, dois metínicos ( $\text{CH}$ ) relativos aos carbonos aromáticos  $\text{CH}$ -2' e  $\text{CH}$ -6' em  $\delta_c$  111,6 e quatro carbonos não hidrogenados ( $\text{C}$ ) [um sinal em  $\delta_c$  204 referente ao carbono C-2 da carbonila, e quatro sinais na região  $\delta_c$  160-126 referentes aos carbonos C-1', C-3', C-4' e C-5' substituídos do anel aromático].

O conjunto desses dados permitiu concluir que a reação para formar o análogo tioamidado **21** foi obtida com sucesso.

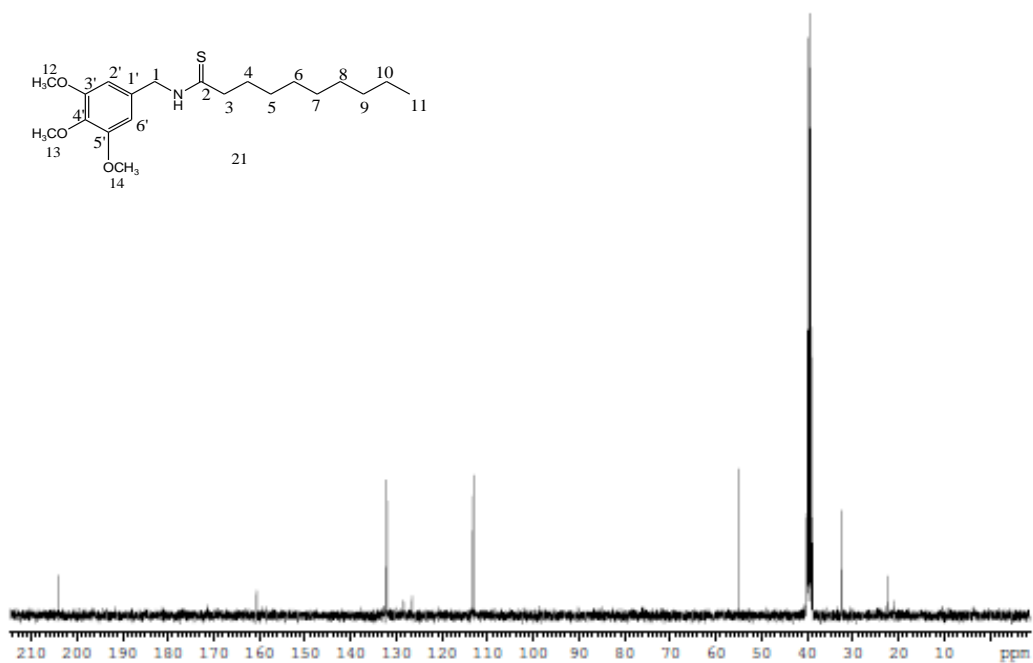


Figura 59: Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  do ácido decanotióico-3,4,5-trimetoxibenzilamida

## 6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os objetivos desse trabalho foram alcançados, pois com a utilização de derivados aminados aromáticos com anel dissubstituídos e trissubstituídos para síntese da parte aromática e derivados carboxilados, como ácido decanóico e ácido gerânico para elaboração da cadeia lateral, possibilitou a síntese de análogos de capsaicinóides com um número reduzido de etapas. Com isso, este trabalho conduziu à síntese de oito produtos sendo sete inéditos, a tiocapsaicina (**4**), o ácido decanóico-3,4-dimetoxibenzilamida (**7**), o ácido 3,7-dimetil-octa-2,6-dienóico-3,4-dimetoxibenzilamida (**11**), o ácido decanóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**14**), o ácido decanóico-3-hidroxi-4,5-dimetoxibenzilamida (**17**), o ácido decanóico-4-hidroxi-2,6-dimetoxibenzilamida (**20**), o ácido decanotóico-3,4,5-trimetoxibenzilamida (**21**).

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abarzua S.; jakubowski S.; *Biotechnological investigation for the prevention of biofouling. I. Biofouling and biochemical principles for the prevention of biofouling*. Marine Ecology Progress Series, 1995. v.123, p. 301-312.

Abdel-Salam, O.M.E.; Szolcsányi, J.; Mózsik, G. “*Capsaicin and the stomach. A review of experimental and clinical data*”. Journal of Physiology-Paris, 91: 151-171, 1997.

Agrawal, C. R.; Wiessler, M.; Hecker, E.; Vides, V. S. “*Tumour promoting effects of chilli extract in BALB/c mice*”. International Journal of Cancer, 38: 689-695, 1986.

Albert, A. L. M., Batista, W. R., Neves, M. H. C. B., Lopes, R. S. C., *Avaliação da atividade antiincrustante de glicerofosfolipídios isolados de organismos marinhos da região de Arraial do Cabo – RJ*. Revista Pesquisa Naval, Brasília, 2006, N. 19, P. 140-145.

Almeida, E., Diamantino, T.C., Sousa, O., 2007, *Marine paints: The particular case of antifouling paints*. Progress Organic Coating. 59: 2-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.porgcoat.2007.01.017>.

Andelt, W.F.; Burnham, K.P.; Baker, D.L. “*Effectiveness of capsaicin and bitrex repellents for deterring browsing by captive mule deer*”. Journal of wildlife management, 58(2): 330-334, 1994.

Andrews, J. “*Peppers: The domesticated capsicums*”. University of Texas Press, Austin, 1984.

Bekker, N.P.; Ulchenko, N.T.; Glushenkova, A.I. “*Physicochemical properties and composition of lipids from Capsicum annuum seeds*”. Chemistry on Natural Compounds, 37: 131-133, 2001.

Bennett, D.J.; Kirby, G.W. "*Constitution and biosynthesis of capsaicin*". Journal of the Chemical Society C-Organic, 4: 442-446, 1968.

Bernal, M.A.; Calderón, A.A.; Pedreño, M.A.; Muñoz, R.; Ros Barceló, A.; Merino, F. "*Capsaicin oxidation by peroxidase from Capsicum annuum (Var. annuum) fruits*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 41: 1041-1044, 1993.

Bernal, M.A.; Calderón, A.A.; Pedreño, M.A.; Muñoz, R.; Ros Barceló, A.; Merino, F.C. "*Dihydrocapsaicin oxidation by Capsicum annuum (var. annuum) peroxidase*". Journal of Food Science, 58: 611-613, 1993.

Bernal, M.A.; Calderón, A.A.; Pedreño, M.A.; Ferrer, M.A.; Merino, F.C.; Ros Barceló, A. "*A purification of a basic peroxidase isoenzyme from Capsicum fruits and the immunoinhibition of its capsaicin oxidation capacity by antibodies raised against horseradish peroxidase*". Zeitschrift Fur Lebensmittel Untersuchung Und-Forschung A-Food Research and Technology, 199: 240-242, 1994.

Bernstein, J.; Phillips, S. "*Application of a topical medication containing high-dose capsaicin (0.25%) in a lidocainecontaining vehicle for treatment of painful diabetic neuropathy and postherpetic neuralgia*". The Journal of Pain, 7: 60-60, 2006.

Bianchetti, L.B. *Aspectos morfológicos, ecológicos e biogeográficos de dez táxons de Capsicum (Solanaceae) ocorrentes no Brasil*. Brasília: UNB, 174p. Dissertação-Mestrado. 1996

Bosland, W.K.; Bosland, P.W. "*Preliminary field tests of capsaicinoids to reduce lettuce damage by rabbits*". Crop Protection, 20: 535-537, 2001.

Burgess J.G., Boyd K.G., Armstrong E., Jiang Z., Yan L., Berggren M. *et al.*, 2003, *The Development of a marine natural product-based antifouling paint. Biofouling*. 19: 197-205 <http://dx.doi.org/10.1080/0892701031000061778>.



Careaga, M.; Fernández, E.; Dorantes, L.; Mota, L.; Jaramillo, M.E.; Hernandez-Sanchez, H. “*Antibacterial activity of Capsicum extract against Salmonella typhimurium and Pseudomonas aeruginosa inoculated in raw beef meat*”. International Journal of Food Microbiology, 83: 331-335, 2003.

Casali, V. W. D. *Cruzamentos Interespecíficos no gênero Capsicum*. Universidade Federal de Viçosa, pág 03-07. Tese Doutorado. Viçosa, 1970

Castillo, E.; Torres-Gavilán, A.; Severiano, P.; Navarro, A.; López-Munguía, A. “*Lipase-catalyzed synthesis of pungent capsaicin analogues*”. Food Chemistry, 100: 1202-1208, 2007.

Chambers L.D., Stokes K.R., Walsh F.C., Wood R.J.K., 2006, *Modern approaches to marine antifouling coatings*. Surf. Coat. Tech. 201: 3642-3652. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2006.08.129>.

Champ M.A. & Lowenstein F.L., 1987, *The Dilemma of High Technology Antifouling Paints*. Oceanus. 30: 69-77.

Chen *et al* , Patente USA 5.094.782 de 10 de Março de 1992. *Síntese da Capsaicina através da nonanoilvanililamida e anidrido succínico para nonanoil succinato de vanililamida*.

Cichewicz, R.H.; Thorpe, P.A. “*The antimicrobial properties of chile peppers (Capsicum species) and their uses in Mayan medicine*”. Journal of Ethnopharmacology, 52: 61-70, 1996.

Constant, H.L.; Cordell, G.A. “*Nonivamide, a constituent of Capsicum Oleoresin*”. Journal of Natural Products, 59 (4):425-426, 1996.

Constant, H.L.; Cordell, G.A. “*Separation and quantification of capsaicinoids using complexation chromatography*”. Journal of Natural Products, 58 (12): 1925-1928, 1995.

Contreras-Padilla, M.; Yahia, E.M. “*Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of Chile peppers and relation with*

*peroxidase activity*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46: 2075-2079, 1998.

Crombie *et al* , *Amides of Vegetable Origin Part VI Synthesis of Capsicum*. Journal of Chemical Society, pp. 1025-1027, 1995

Deleuze Isasi, P. Legislación Alimentaria "*Código alimentario español y disposiciones complementarias*". Editorial Tecnos. Madrid. Séptima edición, actualizada 2006.

De Witt, D., Bosland, P. W. *Peppers of the World*. An identification guide. Ten Speed Press, Berkeley, California. p.219, 1997

Eshbaugh, W. H. *A numerical taxonomic and cytogenetic study of certain species of the genus Capsicum*. Indiana University. 112p. Tese de Doutorado. 1964

Estrada, B.; Bernal, M.A.; Díaz, J.; Pomar, F.; Merino, F. "*Fruit development in capsicum annum: changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (12): 6234-6239, 2000.

Estrada, B.; Bernal, M.A.; Díaz, J.; Pomar, F.; Merino, F. "*Capsaicinoids in vegetative organs of Capsicum annum L. in relation to fruiting*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50 (5): 1188-1191, 2002.

Estrada, B.; Pomar, F.; Díaz, J.; Merino, F.; Bernal, M.A. "*Pungency level in fruits of the Padron pepper with different water supply*". Scientia Horticulturae, 81: 385-396, 1999.

Estrada, B.; Pomar, F.; Diaz, J.; Merino, F.; Bernal, M.A. "*Effects of mineral fertilizar supplementation on fruit development and pungency in 'Padron' peppers*". Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 73: 493-497, 1998.

Estrada, B.; Bernal, M.A.; Pomar, F.; Merino, F. "*Identification and quantification of some capsaicinoids in Padrón pepper (Capsicum annuum L. var. annuum) fruits*". Acta Alimentaria, 30: 373-380, 2001.

Fay, F.; Linossier, I.; Haras, D.; Valle-Rechel, K. *SEM and EDX analysis: two powerful techniques for the study of antifouling paints*. Progress in Organic Coating, 54: 216, 2005.

Ferreira, J. F., Magalhães A. R. M.; *Cultivo de mexilhões*. Laboratorio de cultivo de moluscos marinhos (LCMM), AQI-CCA, Universidade Federal de Santa Catarina UFSC, 2003.

Fourrey, J. L.; Blanchard, P. *et al.* "*Zinc-iron couple induced conjugate addition of alkyl halide derived radicals to activated olefins*". Journal Organic Chemical, 1993, 58 (23), pp 6517–6519

Fujikawa, H.; Susuki, T.; Iwai, K. "*Intracellular distribution of enzymes and intermediates involved in the biosynthesis of capsaicin and its analogs in Capsicum fruits*". Agricultural and Biological Chemistry, 46: 2685-2689, 1982.

Gama, B. A. P., Medeiros, H. E., Gallerani G.; *Antifouling activity of seaweed extracts from Guarujá, São Paulo, Brazil*. Brazilian Journal of Oceanography, 2007. v. 55(4)p. 257-264.

Gannett, P.M.; Ángel, D.L.; Reilly, P.J.; Lawson, T.; Sharpe, J.; Toth, B. "*The capsaicinoids: their separation, synthesis, and mutagenicity*". Journal of Organic Chemistry, 53: 1064-1071, 1988.

Godoi, A.F.L., Favoreto, R., Santiago, S.M., 2003, *Contaminação ambiental por compostos organoestênicos*. Quím. Nova. 26(5): 708-716. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000500015>.

Govindarajan, V.S.; Sathyanarayana, M.N. "*Capsicum production, technology, and quality. Part V. Impact on physiology, pharmacology, nutrition and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences*". Critical Review of Food Science and Nutrition, 29: 435-473, 1991.

Graham, D.Y.; Anderson, S.Y.; Lang, T. "Garlic or jalapeño peppers for treatment of *Helicobacter pylori* infection". American Journal of Gastroenterology, 94: 1200-1202, 1999.

Handa, P.; Fant, C. "Antifouling agent release from marine coating ion pair formation/dissolution for controlled release". Progress in Organic Coating, 57: 376, 2006.

Harvell, K.P.; Bosland, P.W. "The environment produces a significant effect on pungency of chiles". HortScience, 32: 1292-1292, 1997.

Heiser C. B, Smith, P. G. Taxonomic and genetic studies on the cultivated peppers, *Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L. American Journal of Botany, Toronto, p. 62-68, 1951.

Heiser C. B, Smith, P. G. Taxonomic and genetic studies on the cultivated peppers, *Capsicum annuum* L. and *C. frutescens* L. American Journal of Botany, p. 62-68, 1957

Henderson, D.E.; Henderson, S.K. "Thermal decomposition of capsaicin. 1. Interactions with oleic acid at high temperatures". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 2263-2268, 1992.

Henderson, D.E.; Slickman, A.M. "Quantitative HPLC determination of the antioxidant activity of capsaicin on the formation of lipid hydroperoxides of linoleic acid. A comparative study against BHT and melatonin". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 2563-2570, 1999.

Howard, L.R.; Talcott, S.T.; Brenes, C.H.; Villalon, B. "Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (5): 1713- 1720, 2000.

Hyder, K. "Is CS the wrong solution?". New Scientist, 149 (2023): 12-13, 1996.

Iwai, K.; Suzuki, T.; Fujiwake, H. "*Formation and accumulation of pungent principle of hot pepper fruits, capsaicin and its analogs, in Capsicum annuum var. annuum cv. Karayatsubusa at different growth stages after flowering*". Agricultural and biological Chemistry, 43: 2493-2498, 1979.

Jurenitsch, J.; Kubelka, W.; Jentzsch, K. "*Identification of cultivated Taxa of Capsicum taxonomy, anatomy and composition of pungent principles*". Planta Medica, 35 (2): 174-181, 1979.

Kaale, E.; Schepdael, A.V.; Roets, E.; Hoogmartens, J. "*Determination of capsaicinoids in topical cream by liquid-liquid extraction and liquid chromatography*". Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 30: 1331-1337, 2002.

Kaga, H.; Miura, M.; Orito, K. "*A facile procedure for synthesis of capsaicin*". Journal of Organic Chemistry, 54: 3477- 3478, 1989.

Kato-Noguchi, H.; Tanaka, Y. "*Effects of capsaicin on plant growth*". Biologia Plantarum, 47: 157-159, 2003.

Kidmose, U.; Yang, R.Y.; Thilsted, S.H.; Christensen, L.P.; Brandt, K. "*Content of carotenoids in commonly consumed asian vegetables and stability and extractability during frying*". Journal of Food Composition and Analysis, 19: 562-571, 2006.

Kim, C.S.; Kawada, T.; Kim, B.S.; Han, I.S.; Choe, S.Y.; Kurata, T.; Yu, R. "*Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages*". Cellular Signalling, 15: 299-306, 2003.

Kirschbaum-Titze, P.; Hiepler, C.; Mueller-Seitz, E.; Petz, M. "*Pungency in Paprika (Capsicum annuum). 1. Decrease of capsaicinoid content following cellular disruption*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50: 1264-1266, 2002.

Kirschbaum-Titze, P.; Mueller-Seitz, E.; Petz, M. "Pungency in Paprika (*Capsicum annuum*) 2. Heterogeneity of capsaicinoid content in individual fruits from one plant". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (5): 1264-1266, 2002.

Kobata, K.; Kawamura, M.; Toyoshima, M.; Tamura, Y.; Ogawa, S.; Watanabe, T. "Lipase-catalyzed synthesis of capsaicin analogues by amidation of vanillylamine with fatty acid derivatives". *Biotechnology Letters*, 20: 451-454, 1998.

Kobata, K.; Toyoshima, M.; Kawamura, M.; Watanabe, T. "Lipase-catalyzed synthesis of capsaicin analogues using natural oils as an acyl donor". *Biotechnology Letters*, 20: 781-783, 1998.

Kobata, K.; Kobayashi, M.; Kimpara, S.; Watanabe, T. "Supercritical CO<sub>2</sub> as a reaction medium for synthesis of capsaicin analogues by lipase-catalyzed transacylation of capsaicin". *Biotechnology Letters*, 25: 1575-1578, 2003.

Koch, M.; Arango, Y.; Mock, H.P.; Heise, K.P. "Factors influencing tocopherol synthesis in pepper fruits". *Journal of Plant Physiology*, 159: 1015-1019, 2002.

Koop, B.; Jurenitsch, J. "Biosynthesis of capsaicinoids in *Capsicum annuum* L. var. *annuum*. II Formation of the fatty acid moiety of the capsaicinoids from *l*-valina, *l*-leucina and *l* isoleucina". *Planta Medica*, 43: 272-279, 1981.

Lee, J.J.; Crosby, K.M.; Pike, L.M.; Yoo, K.S.; Leskovar, D.I. "impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (*capsicum* spp.)". *Scientia Horticulturae*, 106: 341-352, 2005.

Lenz, D.M. Delamar, M. Ferreira, C.A. Application of polypyrrole / TiO<sub>2</sub> composite films as corrosion protection of mild steel. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 540: 35, 2003

Leonard, S.W.; Hardin, K.; Leklem, J.E. " *Vitamin B-6 content of spices*". Journal of Food Composition and Analysis, 14: 163-167, 2001.

López-Carillo, L.; Avila, M.H.; Dubrow, R. " *Chili pepper consumption and gastric cancer in Mexico: a case control study*". American Journal of Epidemiology, 139: 263-271, 1994.

López-Hernández, J.; Oruña-Concha, M.J.; Simal-Lozano, J.; Vázquez-Blanco, M.E.; González-Castro, M.J. " *Chemical composition of padrón Peppers (Capsicum annuum L.) grown in Galicia (N.W. Spain)*". Food Chemistry, 57: 557-559, 1996.

Luning, P.A.; Ebbenhorstseller, T.; Derijk, T.; Roozen, J.P. " *Effect of hot-air drying on flavour compounds of Bell peppers (Capsicum annuum)*". Journal of the Science of Food and Agriculture, 68: 355-365, 1995.

Luning, P.A.; Rijk, T.; Wichers, H.J.; Roozen, J.P. " *Gas chromatography, mass spectrometry, and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (Capsicum annuum) at different ripening stages*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42: 977-983, 1994.

Maria, E.J.; *et al* ; " *Convenient Preparation of (R) - and - (S) - 1- (2-amino-3-iodo) propanol derivatives from - (S) - serine. Application in Radical Reactions*" Tetrahedron Lettes vol 35, nº 20, pp 3301 – 3302, 1994.

Márkus, F.; Dado, H.G.; Kapitány, J.; Biacs, P.A. " *Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (Paprika) as a function of ripening and some technological factors*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (1): 100-107, 1999.

Materska, M.; Piacente, S.; Stochmal, A.; Pizza, C.; Oleszek, W.; Perucka, I. " *Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit Capsicum annuum L.*". Phytochemistry 63, 893-898, 2003.

McIlvain, S.; Chen, W.; Ramiya, P.; Burch, R.; Carter, R.; Anderson, T. "*Preparation and Purification of synthetic capsaicin*". Patente: WO 2004/092122 A2

Molina-Torres, J.; García-Chávez, A.; Ramírez-Chávez, E. "*Antimicrobial properties of alkaloids present in flavouring plants traditionally used in Mesoamerica: affinin and capsaicin*". *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 241-248, 1999

Moor, C. W. *Variabilidade e base genética da pungência e de caracteres do fruto; Implicações no melhoramento de uma população de Capsicum annum L.* Piracicaba. Tese (Doutorado). 184p. 2003

Morris, V.H.; Cruwys, S.C.; Kidd, B.L. "*Characterisation of capsaicin-induced mechanical hyperalgesia as a marker for altered nociceptive processing in patients with rheumatoid arthritis*". *Pain*, 71: 179-186, 1997.

Morris, G.C.; Gibson, S.J.; Helme, R.D. "*Capsaicin-induced flare and vasodilatation in patients with postherpetic neuralgia*". *Pain*, 63: 93-101, 1995.

Morrow, W.; *The Chile Pepper Encyclopedia*, 1999

Murakami, K.; Ito, M.; Htay, H.H.; Tsubouchi, R.; Yoshino, M. "*Antioxidant effect of capsaicinoids on the metal-catalyzed lipid peroxidation*". *Biomedical Research-Tokyo*, 22 (1): 15-17, 2001.

Myers, J.H. Allinson, G. *Effects of antifouling biocides to the germination and growth of the marine macroalga, *Harmasira banksii* Desicarne*. *Marine Pollution Bulletin*, 52: 1048, 2006.

Navarro, J.M.; Flores, P.; Garrido, C.; Martinez, V. "*Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity*". *Food Chemistry*, 96: 66-73, 2006.

Nelson, E.K. "*The Constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum*". *Journal of the American Chemical Society*, 41: 1115-1121, 1919.



Nelson, E.K. "*Vanillyl-acyl amides*". Journal of the American Chemical Society, 41: 2121-2130, 1919.

Nelson, E.K.; Dawson, L.E. "*The Constitution of capsaicin, the pungent principle of capsicum. III*". Journal of the American Chemical Society, 45: 2179-2181, 1923.

Normam-23/DPC - Normas da Autoridade Marítima para o Controle de Sistemas Antiincrustantes Danosos em Embarcações, 2007, Marinha do Brasil – Diretoria de Portos e Costas.

Osuna-García, J.A.; Wall, M.M.; Waddell, C.A. "*Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of new mexican-type Chile (Capsicum annum L.) cultivars*". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (12): 5093-5096, 1998.

Oyama, K.; Hernández-Verdugo, S.; Sánchez, C.; González Rodríguez, A.; Sánchez-Peña, P.; Garzón-Tiznado, J.; Casas, A. "*Genetic Structure of Wild and Domesticated Populations of Capsicum annum (Solanaceae) from Northwestern Mexico Analyzed by RAPDs*". Genetic Resources and Crop Evolution, Volume 53, Number 3, May 2006, pp. 553-562(10), 2006.

Park, J.S.; Choi, M.A.; Kim, B.S.; Han, I.S.; Murata, T.; Yu, R. "*Capsaicin protects against ethanol-induced oxidative injury in the gastric mucosa of rats*". Life Science, 67: 3087-3093, 2000.

Perucka, I.; Oleszek, W. "*Extraction and determination of Capsaicinoids in fruit of hot pepper Capsicum annum L. by spectrometry and high-performance liquid chromatography*". Food Chemistry, 71: 287-291, 2000.

Pickersgill, B.; Heiser Junior C. B.; McNeill J. "*Numerical taxonomic studies on variation and domestication in some species of Capsicum*", p. 679-700. In: J.G. Hawkes, R.N. Lester, and A.D. Skelding (eds.). The biology and taxonomy of the Solanaceae. Academic Press, London. 1979

Railkin, A.I.; *Marine biofouling: colonization processes and defenses*. CRC Press, Boca Raton, 2004. pp. 303.

Reifschneider, F. J. B. *Capsicum*. Pimentas e pimentões no Brasil. Brasília. 113p.;2000.

Reilly, C.A.; Crouch, D.J.; Yost, G.S.; Fatah, A.A. "Determination of capsaicin, dihydrocapsaicin, and nonivamide in selfdefense weapons by liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 912: 259-267, 2001.

Rosa, A.; Deiana, M.; Casu, V.; Paccagnini, S.; Appendino, G.; Ballero, M.; Dessì, M.A. "Antioxidant activity of capsinoids". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (25): 7396-7401, 2002.

Sandberg,J. Virta,M. *Release and chemical speciation of copper from antifouling paints with different active copper compounds in artificial seawater*. *Material and corrosion*, 58: 165, 2007.

Schiff,K. Diehl,D. *Copper emissions from antifouling paint on recreational vessels*. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 371, 2004

Scoville, W. Note on *Capsicum*. *Journal American Pharm. Assoc.* 1, 453, 1912.

Snyman, T.; Stewart, M.J.; Steenkamp, V. "A fatal case of pepper poisoning". *Forensic Science International*, 124: 43-46, 2001.

Song,Y.C. Woo,J.H. *A study on the treatment of antifouling paint waste from shipyard*. *Marine Pollution Bulletin*, 51: 1048, 2005

Surh, Y.J.; Lee, S.S. "(Short Review) Capsaicin in hot Chili Pepper: carcinogen, co-carcinogen or anticarcinogen?". *Food and Chemical Toxicology*, 34: 313-316, 1996.

Surh, Y.J.; Lee, C.R.J.; Park, K.K.; Mayne, S.T.; Liem, A.; Miller, J.A. "Chemoprotective effects of capsaicin and diallyl sulfide against mutagenesis or tumorigenesis by vinyl carbamates and N – nitrosodimethylamine". *Carcinogenesis*, 16: 2467-2471, 1995.

Thomas, K. V.; Langford, K. H. Em *Ecotoxicology of Antifouling Biocides*; Arai, T.; Harino, H.; Ohji, M., Langston, W. J., eds.; Springer: Tokio, 2009, cap. 19.

Thouvenin, M. Peron, J.J. Valle-Rechel, K. A study of biocide release from antifouling paint. *Progress in Organic Coating*, 44: 75, 2002.

Thresh, L.T., *Isolation of capsaicin*, *Pharm. J.* 6 (1846), p. 941. Todd et al., A.J. Todd, Z. Puskar, R.C. Spike, C. Hughes, C. Watt and L. 2002

Toth, B.; Gannett, P. "Carcinogenicity of lifelong administration of capsaicin of hot pepper in mice". *In Vivo*, 6: 59-63, 1992.

Unnikrishnan, M.C.; Kuttan, R. "Tumor reducing and anticarcinogenic activity of selected spices". *Cancer Letters*, 51: 85- 89, 1990.

Viñals, F. N.; Ortega, R. G.; Garcia, J. C. *El cultivo de pimientos, chiles y ajíes*. Madrid: Ed Mundi-Prensa, 607p. 1996.

Voulvoulis, N. Em *Handbook of Environmental Chemistry: Antifouling Paints Biocides*; Konstantinou, I. K., ed.; Springer-Verlag: Berlin, 2006, cap. 7.

Voulvoulis, N.; Scrimshaw, M. D.; Lester, J. N.; *Chemosphere* 1999, 38, 3503.

Voulvoulis, N.; Scrimshaw, M. D.; Lester, J. N.; 2000, *Ocurrence of four biocides utilized in antifouling paints, as alternatives to organotin compounds, in waters and sediments of a commercial estuary in the UK*. *Marine Pollution Bulletin*. 40: 938-946. [http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00034-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00034-5).

Wahl, M, Banaigs, B.; *Marine epibiosis. III. Possible antifouling defense adaptations in Polysyncraton lacazei (Gi.,cd) (Didemnidae, Aseidiacea)*. J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 1991, v. 145, p. 49-63

Westerberp-Plantenga, M.; Diepvens, K.; Joosen, A.M.C.P.; Bérubé-Parent, S.; Tremblay, A. “*Metabolic effects of spices, teas, and caffeine*”. Physiology & Behavior, 89: 85-91, 2006.

Yazawa, S.; Suetome, N.; Okamoto, K.; Namiki, T. “*Content of capsaicinoids and capsaicinoids-like substances in fruit of pepper (Capsicum annuum L.) hybrids made with “CH-19 Sweet” as a parent*”. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 58: 601-607, 1989.

Yebara, D. M.; Kiil, S.; Dam-Johansen, K.; Progress in Organic Coating. **2004**, 50, 75.

Yoshioka, M.; Matsuo, T.; Lim, K.; Tremblay, A.; Suzuki, M. “*Effects of capsaicin on abdominal fat and serum free-fatty acids in exercise-trained rats*”. Nutrition Research, 20: 1041-1045, 2000.

Zewdie, Y.; Bosland, P. W. “*Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for Capsicum species*”. Biochemical Systematics and Ecology, 29: 161-169, 2001.

Zimmermann, M.; Schieberle, P. “*Important odorants of sweet bell pepper powder (Capsicum annuum cv. Annuum): differences between samples of Hungarian and morrocan origin*”. European Food Research and Technology, 211: 175- 180, 2000.

Zúñiga, O.C.; Jiménez, F.G.; Gordillo, R.M. “*Comparative estudy of carotenoid composition in three Mexican varieties of Capsicum annuum L*”. Food Chemistry, 90: 109-114, 2005.