



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ricardo Gil Gonçalves Coelho

Derivados fitoquímicos com potencial
atividade pesticida

Derivados fitoquímicos com potencial atividade pesticida

Ricardo Gil Gonçalves Coelho

UMINHO | 2022

Outubro 2022



Universidade do Minho
Escola de Ciências

Ricardo Gil Gonçalves Coelho

**Derivados fitoquímicos com potencial
atividade pesticida**

Dissertação de Mestrado
Mestrado Química Medicinal

Trabalho efetuado sob a orientação das
**Professora Doutora Maria do Sameiro Torres
Gonçalves**
Doutora Maria José Gomes Fernandes

Outubro 2022

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada.

Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição-NãoComercial-SemDerivações

CC BY-NC-ND

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Agradecimentos

Chega ao fim uma das etapas mais marcantes e importantes da minha vida, que só foi possível com o apoio de algumas pessoas. Quero agradecer-lhes, do fundo do meu coração!

À Professora Doutora Maria do Sameiro Gonçalves por ter aceite ser minha orientadora. Pela delicadeza, disponibilidade e ajuda que sempre demonstrou na resolução de problemas. Por todos os conhecimentos transmitidos, que levo comigo para a vida e pela oportunidade de participar neste projeto.

À Doutora Maria José por ter igualmente aceite ser minha orientadora, por todas as aprendizagens, ensinamentos, pelo muito que aprendi com ela. Obrigado também pelo excelente ambiente proporcionado no laboratório.

À Escola de Ciências da Universidade do Minho, nomeadamente o Departamento de Química e Centro de Química pelas instalações disponibilizadas e facilidades concedidas que permitiram a realização desta dissertação. À Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT-Portugal) e FEDER pelo financiamento do projeto PTDC/ASP-AGR/30154/2017.

À Dra. Elisa pelo profissionalismo, disponibilidade e rapidez na realização dos espetros de RMN.

Aos meus pais, que nunca me largaram a mão e sempre me incentivaram ao longo de todo o meu percurso, pela educação e valores que sempre me transmitiram.

Ao professor David Pereira e restante equipa da REQUIMTE, Universidade do Porto, pela realização dos estudos de atividade biológica.

À Cátia pelo ambiente agradável que sempre proporcionou no laboratório, pela ajuda e amizade.

À professora Elisabete Coutinho e à Doutora Ana Rita Rodrigues pela disponibilidade e ajuda nos ensaios de nanoencapsulamento.

A todos os que fizeram parte deste caminho, o meu muito obrigada!

Declaração de integridade

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

Derivados fitoquímicos com potencial atividade pesticida

Os pesticidas são amplamente utilizados para controlar ervas daninhas e insetos em terrenos agrícolas e várias pragas transmissoras de doenças. A resistência a inseticidas é um problema antigo que afeta a eficácia e a utilidade dos compostos de proteção contra pragas. A resistência aos agroquímicos é um fator importante para o desenvolvimento de novas opções de controle de pragas, principalmente aquelas com novos mecanismos de ação. Os derivados do ácido aminobenzóico são de fundamental interesse, pois diferentes posições relativas dos grupos funcionais no anel aromático (*orto*, *meta* e *para*) podem produzir diferenças significativas nas suas propriedades químicas e biológicas. Por exemplo, derivados do ácido *o*-aminobenzóico, trivialmente denominado ácido antranílico exibem propriedades antimicrobianas, antivirais e inseticidas significativas.

Os fenóis naturais, sobretudo os de origem vegetal, presentes em extratos de plantas e/ou óleos essenciais, têm recebido cada vez mais atenção dadas as suas propriedades antimicrobianas, antibacterianas, antioxidantes, farmacológicas, nutricionais, entre outras. Os fenóis podem ser modificados sinteticamente para a obtenção de derivados que apresentam atividade pesticida, mas também como reagentes de partida para a obtenção de precursores de princípios ativos de pesticidas. Neste trabalho, sintetizou-se uma série de ésteres e/derivados *N*-alquilados de ácidos aminobenzóicos, designadamente do ácido 3-aminobenzóico, ácido 2-aminobenzóico, ácido 2-amino-5-bromobenzóico e ácido 4-(metilamino)benzóico por reação com 1-bromo-3-cloropropano, 1-bromopropano e 1-bromoeptano em diferentes condições reacionais. Foram também sintetizados vários derivados mono- e dialquilados do 3-aminofenol, usando os reagentes acima referidos e também e 1-bromododecano. Na caracterização estrutural recorreu-se às técnicas analíticas habituais. Alguns ésteres derivados dos ácidos aminobenzóicos obtidos foram alvo de estudos de atividade biológica na linha celular de insetos *Sf9*, *Spodoptera frugiperda*, de forma a avaliar o seu potencial como inseticidas. Os resultados mostraram que o composto mais relevante é o 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo, que se apresenta bastante promissor como inseticida alternativo. Assim, este composto foi o selecionado para a realização dos estudos de nanoencapsulamento em lipossomas pela técnica de injeção etanólica, sendo que a elevada eficiência de encapsulação obtida foi de 97,1%.

Palavras-Chave: bioinseticidas, biopesticidas, compostos naturais, óleos essenciais, *Spodoptera frugiperda*

Phytochemical derivatives with potential application as biopesticides

Pesticides are widely used to control weeds and insects on agricultural land and various disease-carrying pests. Insecticide resistance is an age-old problem that affects the effectiveness and utility of pest protection compounds. Resistance to agrochemicals is an important factor for the development of new pest control options, especially those with new mechanisms of action.

Aminobenzoic acid derivatives are of fundamental interest, as different relative positions of the functional groups on the aromatic ring (*ortho*, *meta* and *para*) can produce significant differences in their chemical and biological properties. For example, derivatives of *o*-aminobenzoic acid, trivially named anthranilic acid, exhibit significant antimicrobial, antiviral and insecticidal properties.

Natural phenols, especially those of plant origin, present in plant extracts and/or essential oils, have received increasing attention due to their antimicrobial, antibacterial, antioxidant, pharmacological and nutritional properties, among others. Phenols can be synthetically modified to obtain derivatives that have pesticidal activity, but also be used as starting reagents to obtain precursors of pesticide active principles. In this work, a series of esters and/or *N*-alkylated derivatives of aminobenzoic acids, namely 3-aminobenzoic acid, 2-aminobenzoic acid, 2-amino-5-bromobenzoic acid and 4-(methylamino)benzoic acid, were synthesized by using 1-bromo-3-chloropropane, 1-bromopropane and 1-bromoheptane under different reaction conditions. Various mono- and dialkylated derivatives of 3-aminophenol were also synthesized using the above reagents and 1-bromododecane. In the structural characterization, the usual analytical techniques were used.

Some esters derived from aminobenzoic acids obtained were the subject of biological activity studies in the *Sf9* insect cell line, *Spodoptera frugiperda*, in order to assess their potential as insecticides. The results showed that the most relevant compound is 3-chloropropyl 2-aminobenzoate, which is very promising as an alternative insecticide. Thus, this compound was selected for carrying out studies of nanoencapsulation in liposomes by the ethanolic injection technique, and the high encapsulation efficiency obtained was 97.1%.

Keywords: bioinsecticides, biopesticides, natural products, essential oil, *Spodoptera frugiperda*

Declaração	ii
Agradecimentos.....	iii
Declaração de integridade.....	iv
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Índice.....	vii
Índice de figuras.....	ix
Índice de tabelas.....	x
Índice de esquemas.....	xi
Lista de abreviaturas e símbolos.....	xii
Nota introdutória.....	xiv
Atas em encontros científicos internacionais.....	xiv
Comunicações em encontros científicos internacionais.....	xiv
Capítulo 1 – Introdução Teórica.....	1
1. Pesticidas sintéticos.....	2
2. Biopesticidas.....	3
3. Estrutura molecular, aplicação e fontes naturais de biopesticidas.....	5
4. Pesticidas semissintéticos.....	8
5. Ácidos aminobenzóicos em pesticidas.....	12
6. Aminoálcoois usados como pesticidas.....	13

7. Formulações de biopesticidas	14
8. Outras formulações de pesticidas	16
Capítulo 2 - Resultados e Discussão	22
2.1 Síntese dos derivados do ácido aminobenzóico	23
2.2 Síntese dos derivados do 3-aminofenol	27
2.3 Ensaio de atividade biológica em <i>Sf9</i> dos compostos 3 , 5 , 8a e 8b	29
2.4 Estudos de nanoencapsulamento	30
Capítulo 3 - Conclusão e Perspetivas Futuras	33
Capítulo 4 - Secção Experimental.....	36
4.1 Procedimentos Gerais.....	37
4.2 Derivados do ácido aminobenzóico	37
4.3 Derivados do 3-aminofenol	43
4.4 Estudos de nanoencapsulamento	49
4.4.1 Eficiência de encapsulamento.....	49
Capítulo 5 – Referências Bibliográficas.....	50

Índice de figuras

Figura 1 – Estruturas de compostos isolados de <i>A. heterotropoides</i>	8
Figura 2 – Estruturas químicas do timol, eugenol e derivados.....	12
Figura 3 – Estrutura química do ácido <i>p</i> -aminobenzóico (PABA, ou ácido 4-aminobenzóico).....	13
Figura 4 – Estrutura química do ácido antranílico (ou ácido 2-aminobenzóico).....	13
Figura 5 – Estrutura química da fosalona.....	14
Figura 6 - Viabilidade celular, em percentagem, dos compostos 3 , 5 , 8a e 8b (100 µg/mL) durante 24 h; C - controlo. Os resultados correspondem à média ± DP de pelo menos três ensaios independentes.....	30
Figura 7 - Espectros de absorvância e fluorescência (excitação a 340 nm) do composto 5 em etanol (1×10^{-5} M para absorção e 1×10^{-6} M para emissão).....	31
Figura 8 - Libertação cumulativa do composto 5 a partir de nanolipossomas de EggPC:Ch, de acordo com o modelo de Weibull.....	32

Tabela 1 – Classificação dos pesticidas baseada nos organismos alvo mortos pela sua ação.....	2
Tabela 2 – Exemplos de biopesticidas bioquímicos registados pela US EPA.....	5
Tabela 3 – Classificações de encapsulamento de pesticidas de libertação controlada.....	17
Tabela 4 – Exemplos de diferentes tipos de pesticidas, respetivos métodos de formulação e aplicação e efeitos nas espécies não alvo.....	19
Tabela 5 - Parâmetros obtidos pelo ajuste do perfil de libertação ao modelo cinético de primeira ordem e modelo Weibull, e respetivos coeficientes de determinação (R^2).....	32

Índice de esquemas

Esquema 1 – Alterações químicas na estrutura de derivados de esteróides.....	10
Esquema 2 – Alterações químicas na estrutura do carvacrol 22 e do timol 23	11
Esquema 3 – Reação do 2-aminofenol com a ureia com vista à formação de um intermediário da síntese da fosalona.....	14
Esquema 4 – Síntese dos derivados do ácido 3-aminobenzóico 2 e 3	23
Esquema 5 – Síntese dos derivados do ácido 2-aminobenzóico 5 e 6	24
Esquema 6 – Síntese dos derivados do ácido 5-bromo-2-aminobenzóico 8 e 9	26
Esquema 7 – Síntese do 4-(metilamino)benzoato de 3-cloropropilo 11	27
Esquema 8 – Síntese dos derivados <i>N</i> -alquilados do 3-aminofenol 13a,b-16a,b	28

Lista de abreviaturas e símbolos

δ	Desvio químico
η	Rendimento (em %)
d	Dupleto
ACN	Acetonitrilo
ACS	Sociedade Química Americana (do inglês <i>American Chemical Society</i>)
ALA	Alginato-lentinano-aminooligossacarídeo
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
DCM	Diclorometano
dd	Duplo dupleto
DEPT	Aumento sem distorção por transferência de polarização (do inglês <i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>)
DLS	Difusão dinâmica de luz (do inglês <i>Dynamic Light Scattering</i>)
DP	Desvio padrão
EPA	Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (do inglês <i>Environmental Protection Agency</i>)
equiv	Equivalente(s)
EtOH	Etanol
HMBC	Correlação heteronuclear através de múltiplas ligações (do inglês <i>heteronuclear multiple bond correlation</i>)
HMQC	Correlação heteronuclear quântica múltipla (do inglês <i>heteronuclear multiple quantum correlation</i>)
IAs	Ingredientes ativos
<i>J</i>	Constante de acoplamento (em Hz)
m	Multiplete
OEs	Óleos essenciais
OMS	Organização Mundial da Saúde
PABA	Ácido <i>para</i> -aminobenzóico
PIPs	Protetores incorporados em plantas (do inglês <i>plant-incorporated-protectants</i>)

quint	Quinteto
R_f	Fator de retenção (do inglês <i>retention factor</i>)
RMN ¹H	Espetroscopia de ressonância magnética nuclear de próton
RMN ¹³C	Espetroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono
RNA	Ácido Ribonucleico
RNAi	RNA de interferência
RNA_m	RNA mensageiro
s	Singleto
SAR	Relação estrutura-atividade (do inglês <i>structure-activity relationship</i>)
sext	Sexteto
t	Tripleto
t.a.	Temperatura ambiente
TLC	Cromatografia em camada fina (do inglês <i>thin layer chromatography</i>)
TMS	Tetrametilsilano
UV/Vis	Espetroscopia de ultravioleta/visível
US EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos

A numeração dos compostos do Capítulo 1 é independente da numeração dos compostos dos restantes capítulos. A numeração das figuras, tabelas e esquemas é contínua ao longo da dissertação.

Alguns dos resultados do trabalho experimental desta dissertação constam de atas e comunicações em encontros científicos internacionais.

Atas em encontros científicos internacionais

R. G. G. Coelho, R. B. Pereira, A. R. O. Rodrigues, D. M. Pereira, E. M. S. Castanheira, A. G. Fortes, M. J. G. Fernandes, M. S. T. Gonçalves, “Nanoencapsulation of 3-chloropropylaminobenzoate derivatives with potential insecticidal activity”, *Proceedings of 26th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, Sciforum Electronic Conference Series, MDPI AG, J. A. Seijas, M. P. V. Tato (Eds), aceite em 24 outubro 2022.

Comunicações em encontros científicos internacionais

R. G. G. Coelho, R. B. Pereira, A. R. O. Rodrigues, D. M. Pereira, E. M. S. Castanheira, A. G. Fortes, M. J. G. Fernandes, M. S. T. Gonçalves, “Nanoencapsulation of 3-chloropropylaminobenzoate derivatives with potential insecticidal activity”, comunicação electrónica (ID:sciforum-066842), *26th International Electronic Conference on Synthetic Organic Chemistry*, Sciforum Electronic Conference Series (ECSOC 26), 15-30 novembro 2022, <https://ecsoc-26.sciforum.net/>, aceite em 30 setembro 2022.

Capítulo 1 – Introdução Teórica

1. Pesticidas sintéticos

Os pesticidas convencionais são substâncias produzidas quimicamente para matar insetos, fungos, ervas daninhas ou roedores. Geralmente, os pesticidas sintéticos são tóxicos para os humanos e prejudiciais para o meio ambiente, sendo, portanto, potencialmente perigosos, razão pela qual se deve fazer o máximo cuidado aquando do seu uso, armazenamento e descarte [1-3].

A classificação dos pesticidas baseia-se nos organismos alvo mortos pela sua ação, conforme resumido na Tabela 1 [4], embora possa também basear-se nos seus modos de ação [5], como neurotoxicidade (inibição da acetilcolinesterase), danos à clorofila, comprometimento do metabolismo e redução do crescimento [6].

Tabela 1. Classificação dos pesticidas baseada nos organismos alvo mortos pela sua ação.

Classificação de pesticidas	Organismos alvo	Nome químico dos pesticidas
Inseticidas	Insetos	Organofosfatos, Carbamatos, Piretróides, Organoclorados, Espirotetramato
Fungicidas	Fungos	Tiocarbamatos, Ditiocarbamatos, Tiabendazoles, Dicarboximidas, Dinitrofenoles
Herbicidas	Ervas daninhas	Bipiridilos, Ácido clofibrico, Glifosatos, Acetanilidas, Triazinas
Bactericidas	Bactérias	Cloro, Iodo, Peróxido, Álcool, Antibióticos
Algicidas	Algas	Cibutrino, Diclorofeno, Pentaclorofenilo, Quinoclamina, Quinonamida, Terbutrin, Cloreto de Tiodónio
Rodenticidas	Roedores	Varfarina, Indanodionas
Miticidas	Ácaros	Abamectina, Bifenazato, Clofentezina, Dicofol, Etoxazole, Fenazaquina, Hexitiazox, Imidacloprida

Para aumentar a produtividade agrícola são usados pesticidas em quantidades, por vezes, superiores ao recomendado para eliminar determinada praga. Os resíduos tóxicos resultantes são libertados para a atmosfera, água, solo e alimentos, e a exposição aos mesmos por parte dos humanos provoca efeitos

agudos e crónicos na sua saúde, tais como irritação da pele e/ou dos olhos, doenças neurodegenerativas, anomalias reprodutivas e até mesmo cancro.

No sentido de proteger os consumidores dos efeitos prejudiciais dos pesticidas, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) prescreveram um limite máximo de resíduos de pesticidas em alimentos e água potável. Alguns foram até já excluídos do mercado, como é o caso do inseticida fenitrothion. O diazinon, por exemplo, encontra-se restrito para uso em pastagens até 2028 [6,7]. Outros relatórios publicados reforçam a ideia de que os pesticidas convencionais não são, de facto, a opção mais viável, devido ao facto de os mesmos, supostamente produzidos para proteger as plantas e matar as pragas, poderem reduzir de forma adversa a produção agrícola. O fungicida Thiram, por exemplo, quando usado de forma excessiva, prejudica as plantações de tomate (*Lycopersicon esculentum*), assim como o fungicida Moncut reduz a microbiota responsável por manter as terras saudáveis. Os polinizadores e a atividade destes podem também ser comprometidos aquando da aplicação de pesticidas, dado que promovem falhas na coordenação, paralisia e até mesmo morte, diminuindo assim as suas populações. Os organismos não alvo, como artrópodes e minhocas, envolvidos na manutenção do solo agrícola, são afetados de forma negativa, tendo sido já comprovado que 45 tipos diferentes de pesticidas têm toxicidade aguda para minhocas cruciais na manutenção da qualidade do solo [4,8], da mesma forma que as águas subterrâneas podem também ser contaminadas. Em resumo, o ataque a organismos não alvo benéficos ao solo e/ou a plantas, a proliferação rápida de pragas secundárias, a libertação de metabolitos secundários que constituem moléculas tóxicas contaminantes, o desenvolvimento de resistência a pesticidas e a contaminação ambiental constituem cinco fatores que tornam os pesticidas sintéticos convencionais uma opção pouco viável [4,6,9-12].

2. Biopesticidas

O crescimento contínuo da população humana mundial juntamente com uma ameaça constante de um conjunto de fatores de stress biótico e abiótico e a perda progressiva de solos férteis ressalta a necessidade de se adotarem alternativas que, sob o ponto de vista ecológico, causem menos danos, sobretudo para garantir uma maior segurança alimentar [7,13]. Nesse sentido, surgem os biopesticidas, produtos naturais envolvidos no controlo de pragas [14-17], geralmente considerados de risco reduzido, podendo ser de origem microbiana, botânica, mineral ou sintética. Por outras palavras, os biopesticidas reúnem características dos pesticidas convencionais, promovendo o controlo das pragas, com a diferença

de que são produtos naturais, derivando de plantas, animais, bactérias e certos minerais, ao invés dos pesticidas sintéticos [9,18].

A US EPA reconhece três categorias de biopesticidas: biopesticidas bioquímicos (moléculas de ocorrência natural usadas no controlo de pragas) [19-26]; protetores incorporados em plantas (PIPs), que são o resultado de transgenes cuja informação genética codifica e promove a síntese de compostos naturais envolvidos no controlo de pragas em plantações (por exemplo, a toxina transgénica da espécie bacteriana *Bacillus thuringiensis*) e, por fim, os organismos de controlo biológico (por exemplo fungos microbianos) [27-30]. As autoridades reguladoras da maioria dos outros países não incluem, no entanto, PIPs na sua definição de biopesticida e, como tal, o termo biopesticida e a sua definição precisa é ainda tema de debate nos dias de hoje, embora todos eles, independentemente da definição atribuída pela respetiva entidade, incluem as seguintes características e qualidades desejáveis de tal forma que possam ser identificados como tal: uso irrestrito; ocorrência natural; toxicidade reduzida ou nula para organismos não alvo (especificidade de alvo); ausência de resíduos no meio ambiente (baixa persistência ambiental); tecnologia verde; baixa toxicidade em mamíferos; seguro para agricultores e residentes próximos do local de aplicação e poder ser usado na agricultura orgânica.

Os biopesticidas incluem desde moléculas pequenas a estruturas complexas, como espinosinas, avermectinas e toxinas da espécie *Bacillus thuringiensis* [31-33], resultando, geralmente, da biossíntese microbiana ou vegetal [34]. Uma classe de microrganismos que reúne uma série de características vantajosas são, por exemplo, as microalgas [35]. Estas possuem compostos valiosos, como aminoácidos essenciais, hidratos de carbono, minerais, oligoelementos (micronutrientes essenciais), fito-hormonas, entre outros, que lhes conferem a capacidade de promover a germinação de sementes, o crescimento da planta e a formação de flores e de frutos, assim como de expandir a tolerância a um conjunto de fatores de stress abióticos (alta salinidade, seca e geada, por exemplo) e bióticos (agentes patogénicos, pragas e insetos, por exemplo), o que é extremamente benéfico para os agricultores [11,36,37].

No entanto, não só ao nível dos microrganismos como um todo nos podemos referir a biopesticidas, isto é, sabe-se que determinadas moléculas e os mecanismos a elas associados podem também apresentar atividade pesticida e, portanto, atuar como biopesticidas [38]. Um exemplo é o RNA de interferência (RNAi) crucial para proteger as plantações de pragas em que pequenas moléculas de RNA vão promover a degradação do RNA mensageiro (RNAm) ao nível intracelular. Assim, este silenciamento pós-transcricional de genes específicos invalida a síntese proteica. Quando este mecanismo se processa no interior das células das pragas, observa-se uma redução do seu crescimento e/ou a um aumento da

mortalidade da sua população. As pequenas moléculas de RNA acima mencionadas que vão promover a degradação do RNA mensageiro são ribonucleoproteínas uma vez que apresentam associadas pequenas proteínas. Tais moléculas apresentam, portanto, atividade biopesticida, e foram já várias as descritas, com as mais variadas sequências genómicas, concebidas para suprimir a síntese de proteínas essenciais em diversas pragas, incluindo insetos, nematoides, vírus e fungos [39]. Outro exemplo de molécula que apresenta atividade biopesticida é a Romidepsina, um depsipéptido cíclico de 16 membros. É um produto natural obtido da bactéria *Chromobacterium violaceum* e atua como bioherbicida, bloqueando determinadas enzimas e induzindo, assim, apoptose [40].

3. Estrutura molecular, aplicação e fontes naturais de biopesticidas

Um conjunto de novos biopesticidas promissores foi alvo de debate no simpósio “Biopesticidas: Estado da Arte e Oportunidades Futuras”, realizado no Encontro Nacional Outono 2013 da American Chemical Society (ACS) na respetiva Divisão Agroquímica. A estrutura química dos mesmos encontra-se representada na Tabela 2, assim como a respetiva aplicação biológica enquanto biopesticidas e as fontes naturais [34].

Tabela 2. Exemplos de biopesticidas bioquímicos registados pela US EPA.

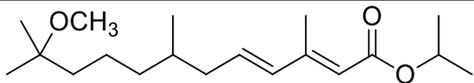
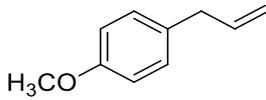
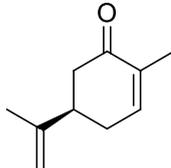
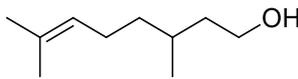
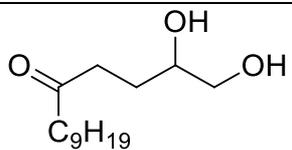
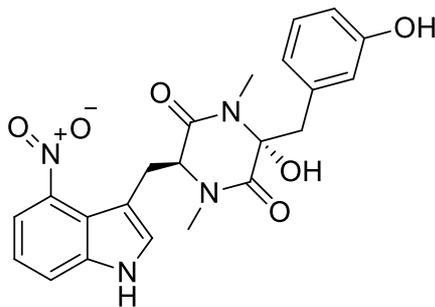
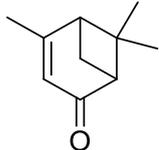
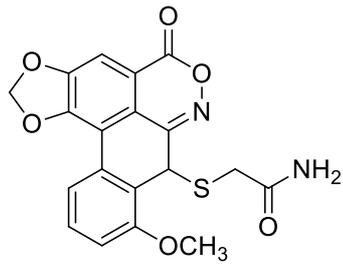
Estrutura	Nome do composto	Aplicação biológica	Fonte natural
	(S)-Metopreno	Inseticida	Regulador do crescimento de insetos
	4-Allianisol	Inseticida	Óleo de manjerição
	L-Carvona	Inseticida	Óleo de semente de cominho
	Citronelol	Inseticida	Óleo essencial de citronela, gerânio e outros

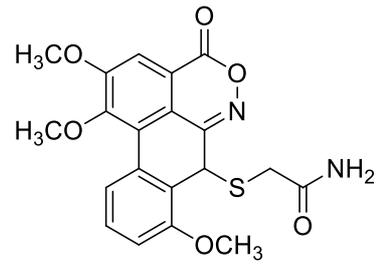
Tabela 2. Exemplos de biopesticidas bioquímicos registados pela US EPA (continuação).

Estrutura	Nome do composto	Aplicação biológica	Fonte natural
	Monocarpato de glicerol	Fungicida, Miticida	Gordura animal ou vegetal
	Taxtomina A	Herbicida	<i>Streptomyces</i> spp.
	Verbenona	Inseticida	Óleo essencial de várias plantas

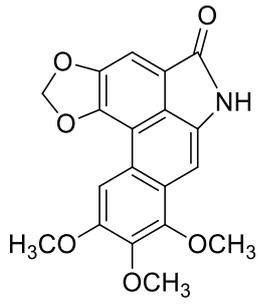
Um outro conjunto de pesticidas de origem natural provém da espécie vegetal *Asarum heterotropoides* com forte atividade antibacteriana contra bactérias fitopatogénicas causadoras de doenças em plantas. Atualmente, poucos são já os bactericidas comerciais (estreptomicina, mesomicina e tiodiazol de cobre, por exemplo) usados para controlar essas doenças bacterianas de plantas, cujo uso prolongado e excessivo aumentou a resistência das bactérias fitopatogénicas, tendo também levado a graves problemas ambientais e toxicológicos. Tornou-se, portanto, de extrema importância encontrar novos tipos de bactericidas verdes com elevada eficiência e toxicidade reduzida. Nesse sentido, isolaram-se compostos de *A. heterotropoides*, planta perene amplamente plantada na China. Lignanais, derivados de benzeno, amidas, derivados de fenantreno, terpenos e flavonas são alguns exemplos de fitoquímicos isolados da planta em questão e exibem diferentes tipos de atividade biológica, incluindo antifúngica, antibacteriana, antioxidante e anti-inflamatória. Na Figura 1 ilustram-se alguns exemplos de estruturas moleculares dos compostos isolados [41].



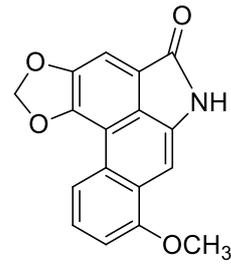
1



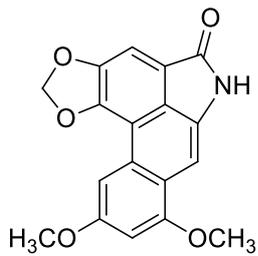
2



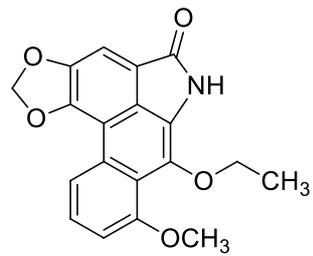
3



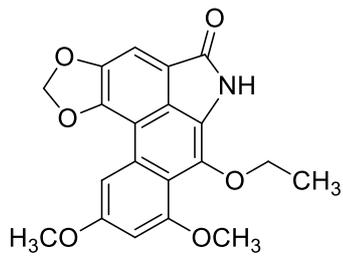
4



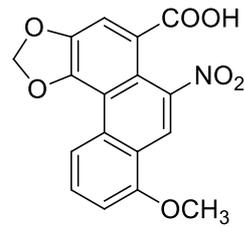
5



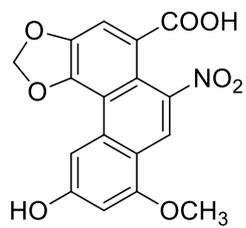
6



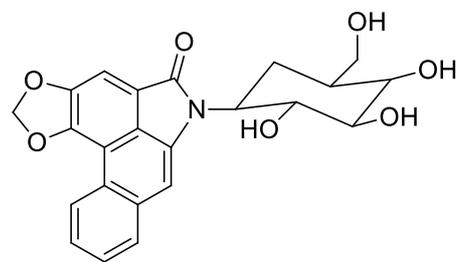
7



8



9



10

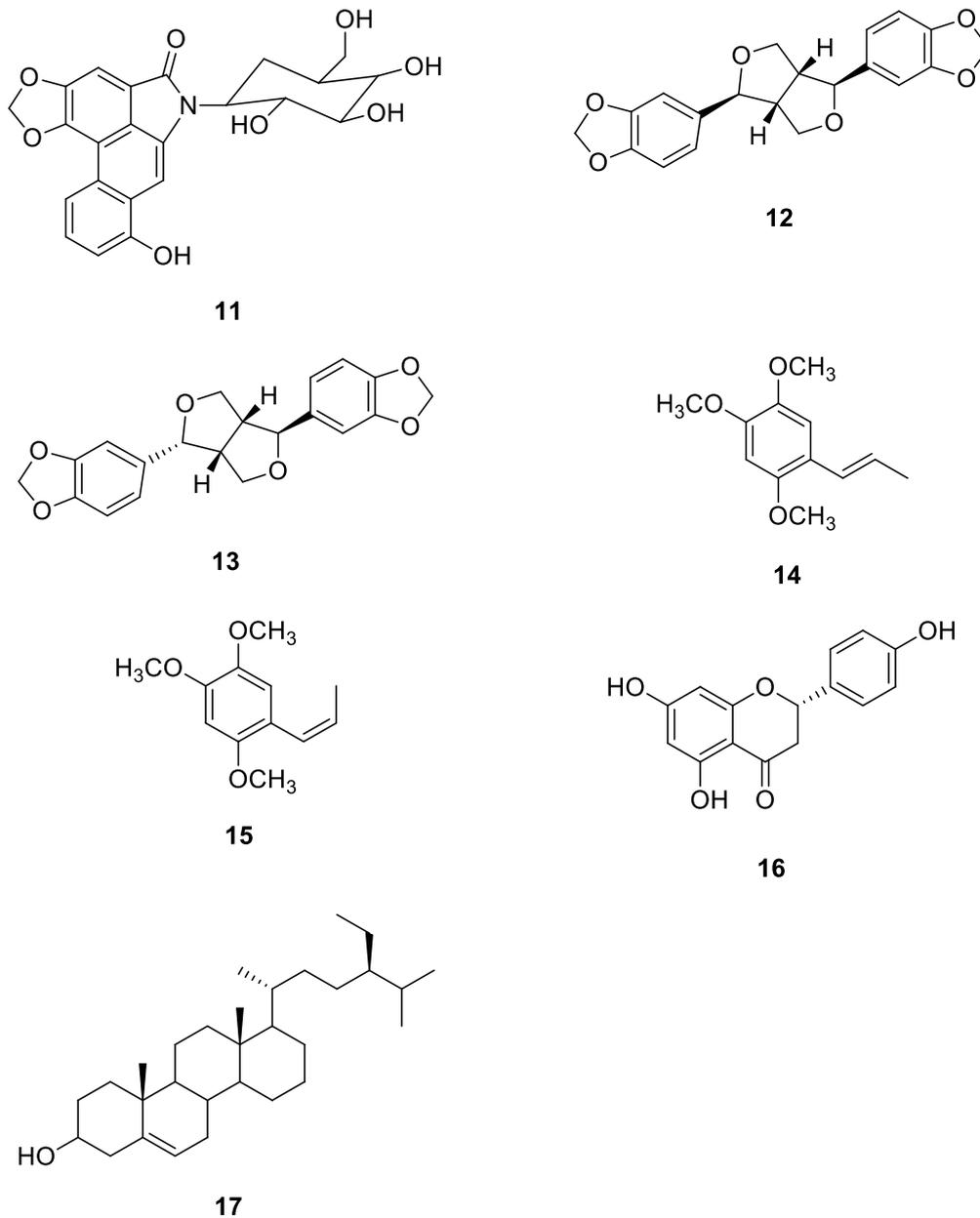


Figura 1. Estruturas dos compostos 1-17 isolados de *A. heterotropoides*.

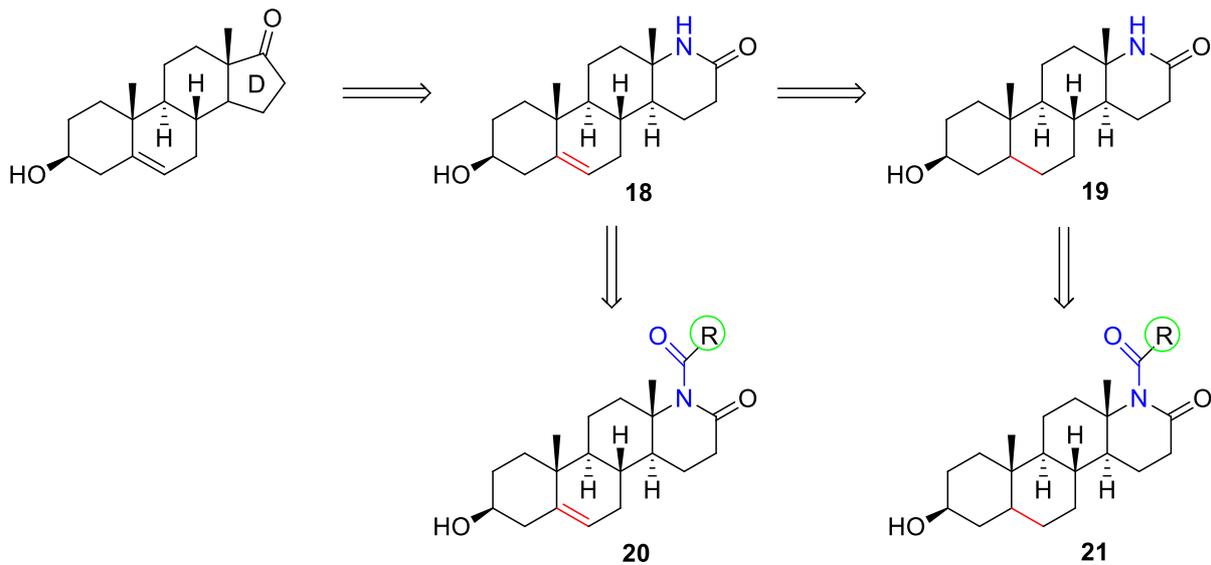
4. Pesticidas semissintéticos

Atualmente, dependemos de pesticidas sintéticos convencionais para controlar os danos causados por pragas. No entanto, como já visto anteriormente, o desenvolvimento de resistência aos mesmos, o ressurgimento de pragas e efeitos negativos dos seus resíduos na saúde humana e no ambiente são consequências diretas e adversas, razão pela qual têm sido procuradas outras alternativas, como produtos naturais extraídos de plantas [42,43], animais e/ou microrganismos [44-46]. As ligações C-P

contidas em produtos naturais são um exemplo ilustrativo disso mesmo, pois oferecem a possibilidade de descobrir novos herbicidas com novos mecanismos de ação [47]. A sua atividade pesticida é, todavia, baixa comparativamente com a dos agroquímicos convencionais. Assim, alterar a estrutura de produtos naturais, promovendo modificações em determinados grupos funcionais, guiados por estudos de SAR apresenta-se como uma potencial abordagem para desenvolver novos pesticidas que maximizem a respetiva atividade pesticida e ultrapassem as limitações das moléculas naturais de partida ou usadas como inspiração para o design [48-54].

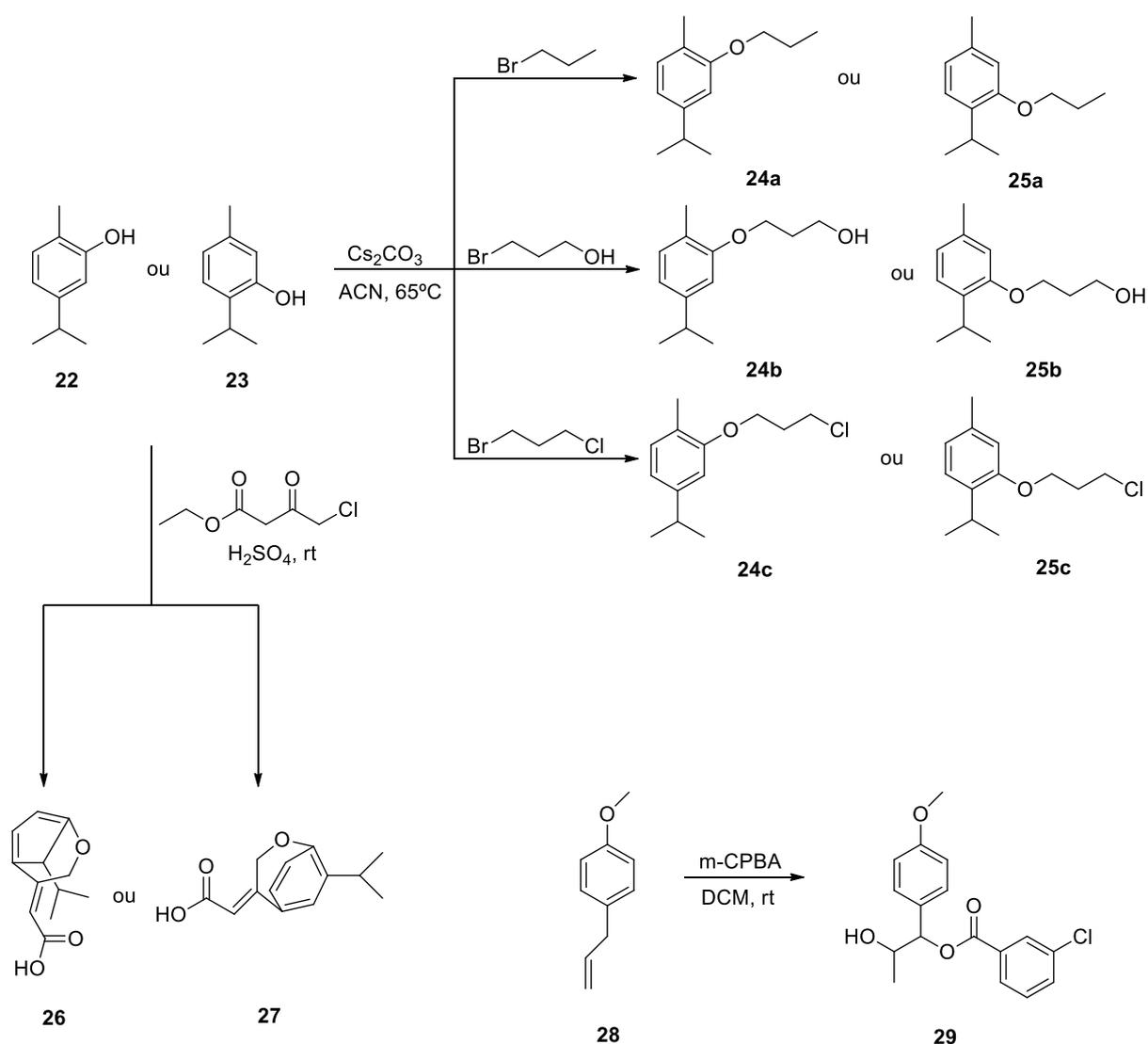
Nos últimos anos, compostos heterocíclicos, considerados importantes sintões orgânicos, têm despertado o interesse dos químicos devido à sua diversidade de estruturas e de aplicações nos mais variados campos [55,56]. Os heterociclos nitrogenados, sobretudo os derivados da piperidina, têm tido grande destaque devido a um conjunto de propriedades biológicas que possuem, como antiviral, anticancerígena, analgésica, anti-inflamatória, antimicrobiana, bactericida, fungicida, herbicida e inseticida. O anel de piperidina, por exemplo, faz parte da estrutura molecular de vários pesticidas convencionais e naturais promissores.

Os esteroides, uma classe importante de compostos multicíclicos, exibem diversas atividades biológicas, cujas propriedades dependem das características estruturais do sistema de anéis e das cadeias laterais. Derivados de esteroides com substituintes heterocíclicos que contêm nitrogénio no anel D demonstraram ter propriedades anticancerígenas, antifúngicas, antivirais e inseticidas. A 2-piperidona foi usada para substituir o anel D para formar as moléculas **18** e **19**, levando à subsequente síntese de esteroides derivados de piperidona (moléculas **20** e **21**, respetivamente) com a introdução de diferentes cadeias laterais (grupos R) (Esquema 1). A atividade pesticida destes derivados foi avaliada contra as espécies *Myzus persicae*, *Aphis citricola*, *Brevicoryne brassicae* Linn. e *Bemisia tabaci* (Gennadius), tendo os resultados demonstrado que a atividade inseticida dos mesmos foi superior comparativamente à do composto que lhes deu origem, observando-se uma taxa de mortalidade significativamente maior [57].



Esquema 1. Alterações químicas na estrutura de derivados de esteróides.

Monoterpenos, metabolitos secundários de plantas, constituem um grupo de compostos naturais de origem botânica com elevada atividade biológica contra diversas pragas, estando também envolvidos em processos de sinalização [58-63]. O carvacrol e o timol, monoterpenos fenólicos obtidos a partir do óleo essencial de alguns membros da família botânica Lamiaceae atuam como mecanismo de defesa química contra microrganismos fitopatogénicos [64]. Estes compostos podem sofrer alterações na sua estrutura química (nomeadamente no grupo hidroxilo) de modo a aumentar a sua atividade biológica [65-68], melhorar as suas propriedades físico-químicas e contornar eventuais problemas de estabilidade em virtude de condições ambientais (temperatura, luz, oxigénio) que possam levar à libertação de radicais fenóxido que, uma vez na sua forma livre, prosseguem para reações oxidativas e de polimerização que levam à diminuição da eficácia inseticida. Nesse sentido, recentemente o nosso grupo de investigação efetuou alterações químicas indicadas no Esquema 2 nas moléculas de carvacrol **22** e timol **23**.



Esquema 2. Alterações químicas na estrutura do carvacrol **22** e do timol **23**.

A atividade inseticida dos compostos obtidos por alquilação dos grupos hidroxilo, resultando em derivados éter O-alkilados, foi testada em células de inseto *Sf9* (*Spodoptera frugiperda*), tendo o estudo demonstrado que a presença do átomo de cloro na cadeia lateral (nos compostos **24c** e **25c**) aumenta significativamente a respetiva toxicidade [58].

Plutella xylostella é uma espécie de insetos lepidópteros, mais especificamente de traças, que, nos últimos anos, tem causado inúmeros estragos na produção de alimentos como brócolos, repolho e couve flor. O timol e o eugenol, produtos naturais encontrados em óleos essenciais de diferentes plantas, surgem como alternativa à utilização de inseticidas comerciais usados e aos quais a planta desenvolve populações resistentes. Testes de atividade biológica de ambos os compostos naturais mostraram atividade inseticida contra a espécie *P. xylostella*, assim como a ação repelente contra determinadas

pragas agrícolas e larvicida contra mosquitos. Assim, alterações nas suas estruturas químicas, no sentido de maximizar as respetivas atividades biológicas, tornou-se numa via promissora, além do facto de serem baratos e se encontrarem já disponíveis comercialmente. Pandiyan *et al.* [69] procederam, então, à alquilação e acilação do timol e eugenol, tendo sido observado que a maioria dos derivados alquilados e acilados (Figura 2) apresentaram maior atividade larvicida e ovicida contra *P. xylostella*, comparativamente à dos inseticidas comerciais, como deltametrina e azadiractina, cujas eficácias são reduzidas.

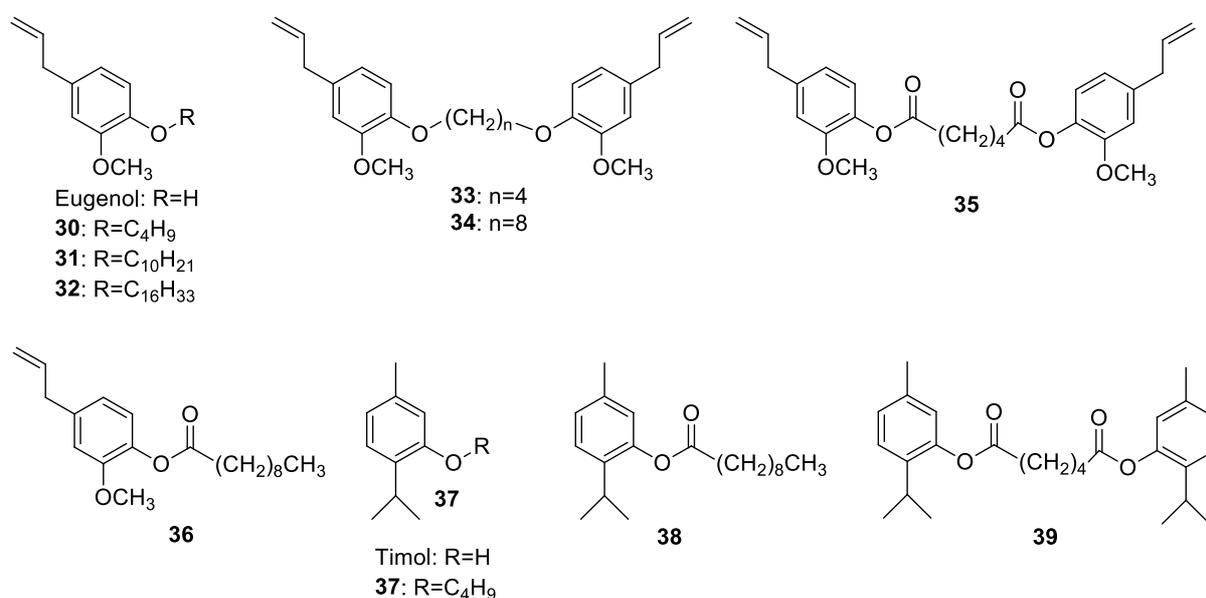


Figura 2. Estruturas químicas do timol, eugenol e derivados.

O derivado de eugenol **34** foi aquele que apresentou maior atividade larvicida, ao passo que o derivado de timol **37** foi o que apresentou maior atividade ovicida [70].

5. Ácidos aminobenzóicos em pesticidas

Colletotrichum fructicola é uma espécie fúngica patogénica que causa podridão amarga em peras, tendo já causado enormes perdas económicas e de colheita. Um grupo de investigadores descobriu que o ácido *p*-aminobenzóico (PABA, Figura 3), metabolito encontrado nas secreções da rizobactéria do género *Lysobacter* [71], mostrou um amplo espetro de atividade antifúngica ao interferir no ciclo celular de *C. fructicola*, tendo sido também estudada a sua estabilidade e difusão na pele e no mesocarpo da pera, onde se degrada ao fim de 15 dias. Os estudos *in vivo* comprovaram que o PABA é responsável por combater a infeção promovida pela espécie fúngica *C. fructicola* em peras [72].

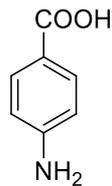


Figura 3. Estrutura química do ácido *p*-aminobenzoico (PABA, ou ácido 4-aminobenzoico).

O ácido antranílico (Figura 4) é um aminoácido com propriedades anti-inflamatórias, antineoplásicas e antimaláricas que tem a capacidade de se ligar a metais de transição devido à presença de grupos quelantes carboxilo e amino, dando assim origem a complexos de metais orgânicos com diversas aplicações na química medicinal, uma vez que podem ser utilizados no diagnóstico e tratamento de diversas doenças como artrite e cancro, assim como apresentam propriedades antimicrobianas, antifúngicas e antiparasitárias. Estes complexos metálicos de ácido antranílico apresentam também atividade catalítica na redução do 4-nitrofenol a 4-aminofenol, da mesma forma que combatem agentes patogénicos de plantas como bactérias, fungos e nematóides. Também derivados do ácido antranílico exibem atividade antibacteriana e anti-inflamatória. O ácido *N*-fenilantranílico, por exemplo, é um precursor farmacológico na síntese de inibidores antineoplásicos, anti-inflamatórios e antimaláricos [73].

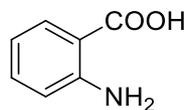
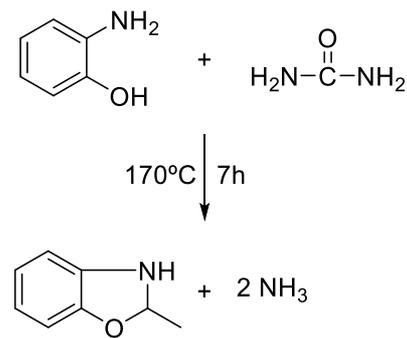


Figura 4. Estrutura química do ácido antranílico (ou ácido 2-aminobenzoico).

6. Aminoálcoois usados como pesticidas

Os fenóis naturais, sobretudo os de origem vegetal, presentes em plantas e/ou óleos essenciais, têm recebido cada vez mais atenção dadas as suas propriedades antimicrobianas, antibacterianas, antioxidantes, farmacológicas, nutricionais, entre outras [74]. Os fenóis são modificados sinteticamente para a obtenção de derivados que apresentam atividade pesticida, assim como reagentes de partida para a obtenção de precursores de princípios ativos de pesticidas.

A fosalona (Figura 5) é um composto químico organofosforado frequentemente usado como inseticida e acaricida, tendo sido sintetizado pela primeira vez em 1960 por Rhône Poulenc, e é um exemplo de um pesticida com origem numa reação onde o reagente de partida é um aminoálcool: o 2-aminofenol em reação com a ureia dá origem à benzoxazolona e a duas moléculas de amoníaco (Esquema 3).



Esquema 3. Reação do 2-aminofenol com a ureia com vista à formação de um intermediário da síntese da fosalona.

O amoníaco é posteriormente sujeito a um processo onde se vai formar sob a forma de solução aquosa. Esta é usada na síntese do sal de amoníaco do ácido *O, O*-dietilfosfórico, que constitui um intermediário na produção da fosalona. Os resultados alcançados mostraram que usando o sal de amoníaco ao invés dos sais de sódio a atividade pesticida é aumentada [75].

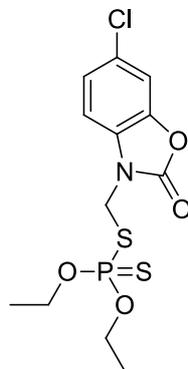


Figura 5. Estrutura química da fosalona.

7. Formulações de biopesticidas

Biopesticidas provenientes da espécie bacteriana *Bacillus thuringiensis (Bt)* representam atualmente 97% do mercado mundial de biopesticidas. Um grupo de pesquisa promoveu a sua formação e para tal usou águas residuais da indústria de amido como substrato uma vez serem ricos em carbono e nitrogénio [76,77]. No entanto, esta formulação de biopesticidas à base de *Bt* não se comprovou eficaz devido a

não garantir resistência à chuva e aos raios UV, de tal forma que foram adicionados ao meio um conjunto de compostos químicos de modo a que a nova formulação pudesse, portanto, adquirir a resistência pretendida. Assim, foram adicionados acetato de sódio com silicato de potássio (atua como tampão); melação (protege contra os raios UV, promove a adesão e é fagoestimulante); goma xantana (promove a adesão à folha); sorbitol (atua como agente aromatizante); carboximetilcelulose (atua como agente estabilizador e emulsificante); ácido sórbico, ácido acético e ácido propiónico (atuam como antimicrobianos) [78]. O longo tempo de vida útil e a ineficácia constituem dois obstáculos à comercialização de biopesticidas, sendo ambos afetados pela disponibilidade de humidade. Três sistemas de entrega de biopesticidas (TRE-G, PEC-G e PESTA) foram analisados com o auxílio de um analisador de sorção dinâmico de vapor de água, cujo objetivo consistiu em observar a variação de sorção de humidade de cada um dos sistemas no ar a 25°C e da humidade relativa, isto é, estudar o comportamento de absorção/perda de água das mesmas e assim avaliar a utilidade desta tecnologia na pesquisa e no desenvolvimento de biopesticidas. Estas formulações foram preparadas com os seguintes aditivos: Satintone 5HB, uma argila de caulim calcinada, é usada como um transportador nas formulações de grânulos de TRE-G e PEC-G; carboximetilcelulose de sódio e trealose atuam como ligantes para a formulação de TRE-G; e ainda a pectina, com utilidade como aglutinante na formulação de PEC-G. A composição dos ingredientes secos na formulação de TRE-G, neste estudo, foi de 76% de Satintone 5HB, 4% de carboximetilcelulose de sódio e 20% de trealose, ao passo que a composição da formulação de PEC-G foi de 85% de Satintone 5HB e 15% de pectina, constituindo uma formulação alternativa à do TRE-G. As interações da água com formulações farmacêuticas ou alimentícias são bem conhecidas [79]. Além de influenciar a atividade microbiana, a água facilita as reações químicas atuando como solvente e/ou reagente, sobretudo em reações de hidrólise. Em produtos alimentícios, os níveis de humidade medidos como atividade de água afetam as reações químicas, como auto-oxidação lipídica e degradação de vitaminas, assim como a estabilidade de proteínas e atividade enzimática, promovendo, dessa forma, mudanças conformacionais nas mesmas. Como a maioria das formulações de biopesticidas é constituída por ingredientes e materiais alimentares comuns, deduz-se que as mudanças induzidas pela humidade dentro das mesmas sejam idênticas às referidas anteriormente. Em síntese, as formulações podem ser diferenciadas pelas propriedades de sorção, ou seja, pela capacidade de absorção de água e taxas de reidratação/desidratação [80].

8. Outras formulações de pesticidas

O desenvolvimento de formulações de pesticidas de libertação controlada é uma ampla área de estudo que nos últimos anos tem despertado enorme interesse devido ao seu potencial em melhorar a eficácia dos pesticidas [81-85]. Baseiam-se em nanomateriais e nanotecnologia para conjugar o ingrediente ativo (pesticida), o transportador e o(s) adjuvante(s) com eficiência [86-88]. Foram já várias as vantagens descritas, tais como menor toxicidade para organismos não alvo e a capacidade de manter uma concentração específica por um determinado período de tempo de acordo com os requisitos de diferentes cenários de aplicação [89-91]. As formulações de pesticidas de libertação controlada são classificadas de acordo com a sua estrutura ou de acordo com o material de transporte. De acordo com a sua estrutura, podem ser classificadas como partículas, filmes, cápsulas, emulsões, sistemas em camadas, hidrogéis, grânulos porosos e fibras. Exemplo de formulações em cápsula são as primeiras formulações em pó de *Metarhizium anisopliae* (*M. anisopliae*), atualmente usado como inseticida biológico que exigiam muitos transportadores ou meios de cultura, o que as tornam grandes em volume, inconvenientes para transporte e uso e difíceis de preservar. Nesse sentido, *M. anisopliae* foi submetida a um microencapsulamento usando gelatina e goma arábica, o que resultou no aumento da resistência à degradação UV e da estabilidade em armazenamento. A preparação resultante constituiu um agente eficaz contra a espécie de formigas *Solenopsis invicta* [92].

Além das cápsulas, algumas formulações incluem sistemas que incorporam os ingredientes ativos num polímero ou matriz elástica para criar uma estrutura espacial tridimensional através de interações intermoleculares. Xiang *et al.* [93] desenvolveram um hidrogel de alginato-lentinano-amino-oligossacárido (hidrogel ALA) polimerizado com um pesticida de dupla ação, com capacidade de promover a resistência nas plantas contra a infeção pelo vírus do mosaico do tabaco e o crescimento das plantas através de interações eletrostáticas. Comparado com plantas tratadas apenas com água, o hidrogel de ALA induziu o aumento da resistência das plantas contra a infeção pelo vírus do mosaico do tabaco, tendo ainda promovido o aumento da libertação de íons de cálcio que contribuiu para o crescimento de *Nicotiana benthamiana*. A classificação com base nos materiais transportadores leva as formulações nanoencapsuladas a serem classificadas de acordo com o indicado na Tabela 3 [92].

Tabela 3. Classificações de encapsulamento de pesticidas de libertação controlada.

Classificação do encapsulamento	Material de suporte	Ingredientes ativos	Efeito biológico	Ref.
---------------------------------	---------------------	---------------------	------------------	------

	Polidopamina	Imidacloprida	Libertação sustentada de imidacloprida	[94]
	Amido	Carbofurano	Taxa lenta de liberação, elevada taxa de mortalidade larval e redução significativa na eclosão dos ovos	[95]
	Quitosano	PONNEEM	Maior estabilidade	[96]
Encapsulamento baseado em polímeros	β -ciclodextrina	Cianazina	Melhor estabilidade térmica e melhor atividade antifúngica do que a Cianazina livre	[97]
	Dialdeído carboximetilcelulose	Avermectina	Resistência UV, atividade inseticida aprimorada e maior molhabilidade comparativamente com a avermectina não encapsulada	[98]
	Zeína	Óleo essencial de citronela	Elevada eficiência de encapsulamento (>90%) e proteção eficaz dos repelentes contra a degradação UV	[99]
Encapsulamento baseado em lípidos	Lipossomas	Imidacloprida, λ -cialotrina	Elevada potência pesticida contra os pulgões das plantas	[100]

				e persistência apropriada em condições de estufa	
Encapsulamento à base de argila	Argila orgânica	Ácido diclorofenoxiacético	2,4-	Propriedades de libertação lenta na água e redução da lixiviação de herbicida através da coluna de solo	[101]
Encapsulamento baseado em material metálico	Estruturas orgânicas	metal- λ -Cialotrina		Elevada carga de fármaco, libertação sustentada e maior atividade inseticida em comparação com outras formulações comerciais de microcápsulas	[102]
Encapsulamento poroso de base inorgânica	Sílica mesoporosa	Citriodiol		Eficiência aprimorada e efeitos colaterais reduzidos	[103]
Encapsulamento baseado em nanocompósitos	Compostos de nitreto	Avermectina		Elevada capacidade de retenção, dispersibilidade eficiente em água, libertação controlada, maior proteção contra a degradação UV e maior capacidade	[104]

em aderir às
superfícies das
plantas

A nanotecnologia é vista como uma ferramenta promissora no setor agrícola, designadamente ao nível do melhoramento de formulações de pesticidas [105-108]. Os materiais nanoporosos podem ter estruturas porosas de tamanho micro (0-2 nm), *meso* (2-50 nm) ou macro (>50 nm) e, como exemplos, podem mencionar-se o carbono, as argilas, os polímeros, os alginatos e/ou o quitosano. Estes são usados em formulações de pesticidas através da adsorção, fixação de superfície, armadilha e encapsulamento dos ingredientes ativos (IAs). Por fim, dá-se a entrega controlada e específica dos IAs a pragas que impedem o crescimento das culturas. Na Tabela 4 estão indicados alguns exemplos de pesticidas e os respetivos métodos de formulação [109].

Tabela 4. Exemplos de diferentes tipos de pesticidas, respetivos métodos de formulação e aplicação e efeitos nas espécies não-alvo.

Tipos de pesticidas	Pesticida	Grupo	Formulações	Testes de destino/aplicativo	de espécies não-alvo	Efeitos em não-alvo
Herbicida	Glifosato	Organofosforados	Em xarope de sacarose/água	Testes de laboratório e campo baseados em abelhas	de de	A exposição oral afeta a microbiota intestinal e resulta em aumento da mortalidade
Herbicida	Oxifluorfeno	Éter aromático	Em <i>n</i> -hexano	Solos argiloso franco-argiloso)	(argilo-e	Possível carcinogenicidade e com bioacumulação a longo prazo

Inseticida	Malathion	Organofosforados	Formulação de emulsão	Testes de toxicidade aguda para espécies de peixes	de Necrose branquial e aumento do oncogene <i>ras</i>
Inseticida	Clorpirifós	Organofosforados	Em ciclohexano	Solos hortícolas	Redução da matéria orgânica do solo
Rodenticida	Fosfeto de alumínio	FGAR	Comprimidos sólidos	Conservação de grãos	A inalação de fosfina é fatal em humanos
Rodenticida	Coumatetralil	FGAR	Em óleo de milho com 5% DMSO	Controlo de roedores, administrado por via oral a 0,5 mg/kg	Transferência em ratos para o feto
Bactericida	Nanopartículas de prata	Nanopartículas	Dissolvido em água	Verificação de toxicidade para microalgas de água doce e marinhas	Toxicidade para microalgas de água doce/marinhas
Bactericida	Nanopartículas de Ag-TiO ₂	Nanopartículas	Solução e suspensão	Crescimento radicular e germinação de sementes	Inibição do crescimento radicular
Fungicida	Mancozeb	Ditiocarbamato	Pulverização aérea	Em plantações de banana	Infeções do trato urinário
Fungicida	Tributilestanho	Organoestanho	Administração oral	Biocida em tintas incrustantes	Altera os níveis séricos de TSH

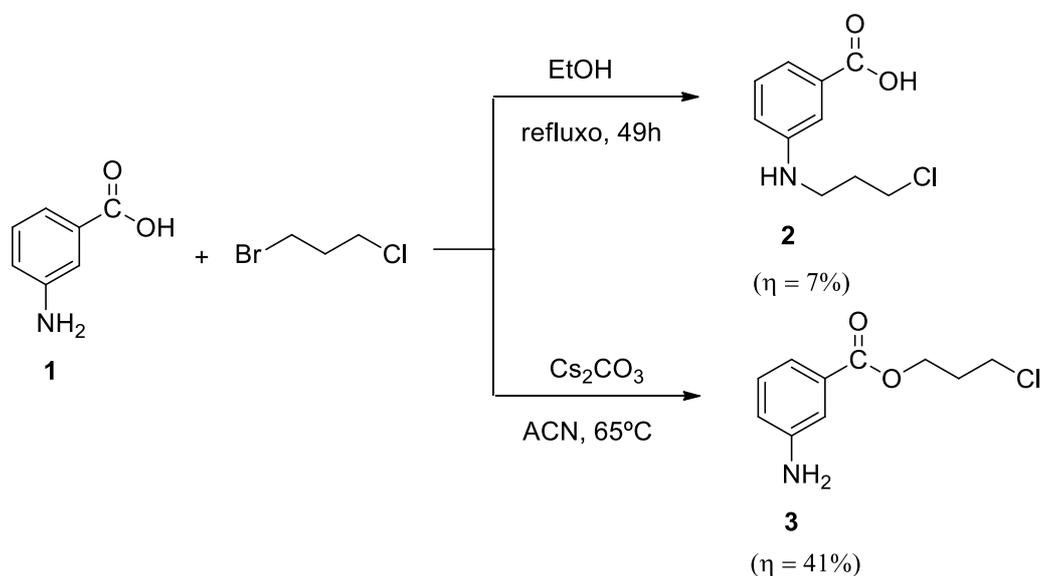
Larvicida	S-Metopreno	Larvicida microbiano	Pulverização	Controlo de larvas de mosquito	de de de	Redução de número de adultos e declínio de ovos depositados de mosquitos	no de e
Larvicida	Piriproxifeno	Éter aromático		Controlo de espécies de insetos	de de de	Organismos de alvo ecossistemas aquáticos	não nos

Capítulo 2 - Resultados e Discussão

2.1 Síntese dos derivados do ácido aminobenzóico

A síntese de derivados do ácido aminobenzóico iniciou-se com a reação de alquilação do isômero *meta*, ou seja do ácido 3-aminobenzóico **1** com 1-bromo-3-cloropropano, em etanol, por aquecimento a refluxo durante 49 h. Após purificação da mistura reacional por cromatografia em coluna, obteve-se o ácido 3-((3-cloropropil)amino)benzoico **2** na forma de um óleo incolor com um rendimento de 7% (Esquema 4).

Partindo novamente do ácido 3-aminobenzóico **1** e usando igualmente 1-bromo-3-cloropropano, na presença de uma base, o carbonato de céσιο, como solvente acetonitrilo, com aquecimento a 65°C, durante 20 horas, seguindo-se a purificação por cromatografia em coluna, obteve-se o éster correspondente, o 3-aminobenzoate de 3-cloropropilo **3** na forma de um óleo amarelo, com rendimento de 41%.



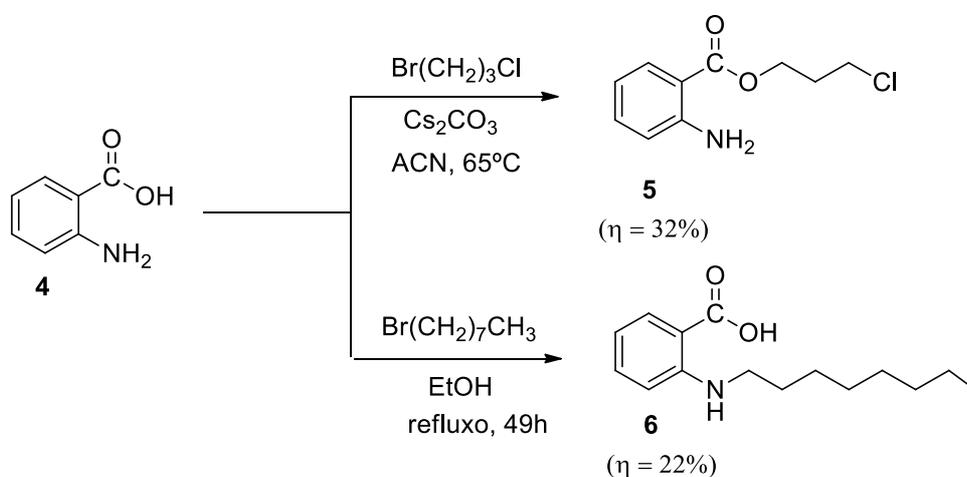
Esquema 4. Síntese dos derivados do ácido 3-aminobenzóico **2** e **3**.

A estrutura dos compostos **2** e **3** foi confirmada por RMN de ^1H e ^{13}C (no caso do composto **3**). Nos espetros correspondentes de ^1H surgem os sinais dos prótons aromáticos, designadamente H-2 (δ 7,34-7,35 ppm), H-4 (δ 6,85-6,88 ppm), H-5 (δ 7,21-7,28 ppm) e H-6 (δ 7,40-7,46 ppm), como tripletos, tanto para H-2 como H-5, duplos dupletos e multipletos para H-4 e H-6, respetivamente. Destacam-se os prótons alifáticos correspondentes aos prótons metilénicos, que no derivado *N*-alquilado **2** surgem como tripletos e um quinteto (δ 2,13-3,68 ppm) e no derivado éster **3** surgem também tripletos e um quinteto (δ 2,12-4,44 ppm).

No espectro de ^{13}C do composto **3** surgem os sinais dos carbonos aromáticos (δ 115,64-146,48 ppm) e dos carbonos metilênicos do grupo éster, CO_2CH_2 (δ 61,51 ppm), $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 31,65 ppm) e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 41,24 ppm). A presença do sinal (δ 166,54 ppm) confirma a formação da ligação éster.

No sentido de se obterem derivados do isômero *orto* do ácido aminobenzóico, ou seja, do ácido 2-aminobenzóico **4** (convencionalmente designado por ácido antranílico), à semelhança do anteriormente referido, efetuou-se a reação deste composto com 1-bromo-3-cloropropano, usando carbonato de céσιο como base, acetonitrilo como solvente e aquecimento a 65°C , durante 25 horas. Após purificação por cromatografia em coluna, obteve-se o éster correspondente, o 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo **5** na forma de um óleo castanho, com rendimento de 32% (Esquema 5).

A *N*-alquilação do ácido 2-aminobenzóico **4** foi também efetuada por reação com o 1-bromo-octano, em etanol, por aquecimento a refluxo, durante 55 h. Após purificação por cromatografia em coluna, obteve-se o ácido 2-(octilamino)benzóico **6** na forma de um óleo incolor com rendimento de 22% (Esquema 5).



Esquema 5. Síntese dos derivados do ácido 2-aminobenzóico **5** e **6**.

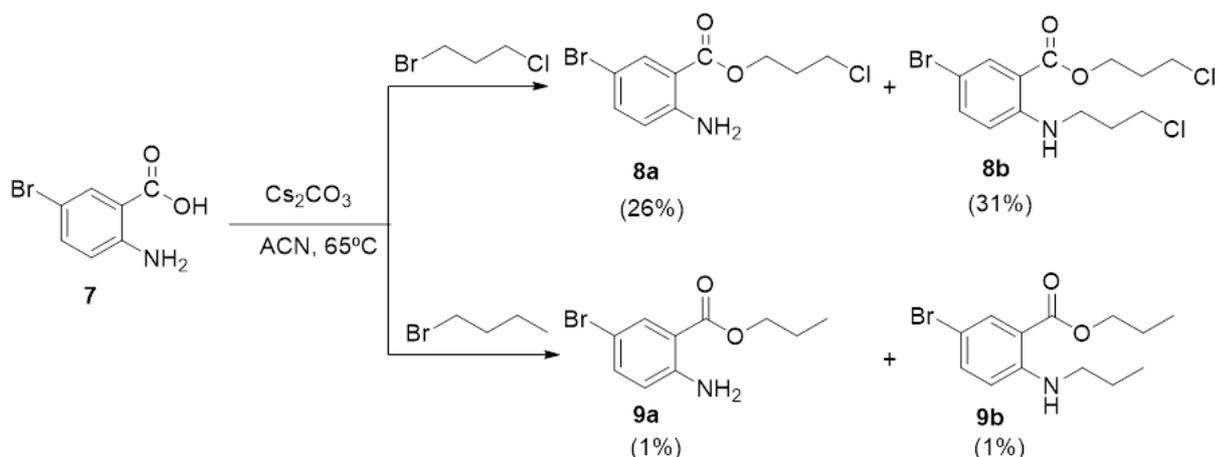
A estrutura dos compostos **5** e **6** foi confirmada por RMN de ^1H e ^{13}C . Nos espectros de ^1H dos dois compostos surgem os sinais dos prótons aromáticos, designadamente H-3 como multiplete ou duplo duplete (δ 6,68-6,70 ppm) e H-5 como multiplete ou duplo tripleto (δ 6,61-6,68 ppm), H-4 como duplos tripletos (δ 7,28-7,41 ppm) e H-6 como duplete ou duplo duplete (δ 7,85-8,00 ppm). Destacam-se os

protões alifáticos correspondentes aos protões metilénicos do éster **5**, CO_2CH_2 , $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ que surgem como um quinteto ou tripletos (δ 2,22-4,35 ppm). No derivado *N*-alquilado **6**, destacam-se os protões dos grupos metilénicos NHCH_2 , NHCH_2CH_2 , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ que surgem como um tripleto, multiplete ou quinteto (δ 1,31-3,22 ppm), assim como do grupo metilo que surge como um tripleto (δ 0,92 ppm).

Nos espetros de ^{13}C dos compostos **5** e **6** surgem os sinais dos carbonos aromáticos (δ 108,36-151,89 ppm). No caso do composto **5** surgem também os carbonos metilénicos do grupo éster, designadamente CO_2CH_2 (δ 60,86 ppm), $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 31,65 ppm) e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 41,31 ppm). No composto **6** destacam-se os carbonos dos grupos metilénicos do grupo amina, NHCH_2 , NHCH_2CH_2 , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 22,63-42,87 ppm), assim como o sinal do grupo metilo (δ 14,06 ppm). A presença do sinal do grupo carbonilo (δ 167,75 ppm) confirma a formação da ligação éster no composto **5** e o sinal a (δ 173,91 ppm) confirma a permanência do grupo ácido carboxílico no composto **6**.

Atendendo ao potencial interesse da presença de átomos de halogénio como substituintes do anel aromático ao nível dos pesticidas, decidiu-se usar o ácido 5-bromo-2-aminobenzoico **7** e efetuar a síntese de alguns derivados. Assim, efetuou-se a reação do ácido 5-bromo-2-aminobenzoico **7** com 1-bromo-3-cloropropano, carbonato de céσιο, em acetonitrilo e aquecimento a 65°C , durante 12 horas. Após purificação por cromatografia em coluna, obteve-se o éster correspondente, 2-amino-5-bromobenzoato de 3-cloropropilo **8a** na forma de um óleo castanho, com rendimento de 26% e também o derivado correspondente *N*-alquilado, 5-bromo-2-((3-cloropropil)amino)benzoato de 3-cloropropilo **8b** como um óleo castanho, em 1% (Esquema 6).

Partindo novamente do ácido 5-bromo-2-aminobenzoico **7**, mas usando o 1-bromopropano e as condições anteriormente descritas, obtiveram-se os compostos 2-amino-5-bromobenzoato de propilo **9a** e 5-bromo-2-(propilamino)benzoato de propilo **9b**, na forma de óleos castanhos e com rendimentos de 31% e 1%, respetivamente.



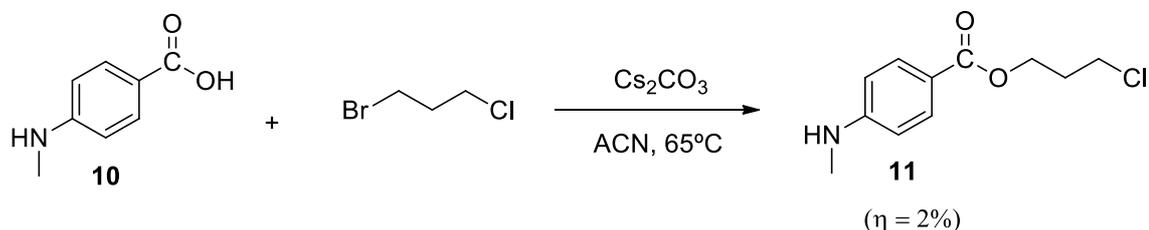
Esquema 6. Síntese dos derivados do ácido 5-bromo-2-aminobenzoico **8** e **9**.

A estrutura dos compostos **8a,b** e **9a,b** foi confirmada por RMN de ^1H e ^{13}C . Nos espectros de ^1H dos quatro compostos surgem os sinais dos prótons aromáticos, designadamente H-3 e H-6 como dupletos (δ 6,57-8,00 ppm) e H-4 como duplo duplete (δ 7,33-7,49 ppm). Destacam-se os prótons alifáticos correspondentes aos prótons metilênicos do éster **8a** e **9a**, CO_2CH_2 , $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ surgem como tripletos, quintetos ou sextetos (δ 1,79-4,44 ppm) assim como do grupo metilo que surge como um tripleto aparente (δ 1,03 ppm) no composto **9a**. Nos derivados *N*-alquilados **8b** e **9b**, destacam-se os prótons dos grupos metilênicos NHCH_2 , NHCH_2CH_2 , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ que surgem como um tripleto, quarteto, quinteto ou sexteto (δ 1,71-3,70 ppm).

Nos espectros de ^{13}C dos compostos **8a,b** e **9a,b** surgem os sinais dos carbonos aromáticos (δ 106,20-150,10 ppm). No caso do composto **8a** e **9a** surgem também os carbonos metilênicos do grupo éster, designadamente CO_2CH_2 (δ 61,39-66,29 ppm), $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 31,63-22,03 ppm) e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 41,28 ppm) para o composto **8a**, assim como do grupo metilo que surge como um tripleto (δ 10,52 ppm) no composto **9a**. No composto **8b** destacam-se os carbonos dos grupos metilênicos do grupo amina, NHCH_2 , NHCH_2CH_2 , $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 31,92-42,26 ppm). A presença do sinal do grupo carbonilo (δ 166,80-167,39 ppm) confirma a formação da ligação éster no composto **8a,b** e **9a**.

No sentido de se obter um derivado do isómero *para* do ácido aminobenzoico, partiu-se do ácido 4-(metilamino)benzoico **10** e efetuou-se a reação com 1-bromo-3-cloropropano, carbonato de cério, em acetonitrilo e aquecimento a 65°C , durante 38 horas. Após purificação por cromatografia em coluna,

obteve-se o éster correspondente, 4-(metilamino)benzoato de 3-cloropropilo **11** na forma de um óleo incolor com rendimento de 2% (Esquema 7).



Esquema 7. Síntese do 4-(metilamino)benzoato de 3-cloropropilo **11**.

No espectro de ^1H do composto **11** surgem os sinais dos prótons aromáticos, designadamente H-2 e H-6, H-3 e H-5 como dupletos (δ 7,97-8,20 ppm). Destacam-se os prótons alifáticos correspondentes aos prótons metilênicos do grupo éster, CO_2CH_2 , $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ que surgem como um quinteto e tripletos (δ 2,28-4,54 ppm).

No espectro de ^{13}C do composto **11** surgem os sinais dos carbonos aromáticos (δ 125,01-139,24 ppm) e dos carbonos metilênicos do grupo éster, CO_2CH_2 (δ 63,33 ppm), $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 31,58 ppm) e $\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ (δ 41,12 ppm), assim como a presença do grupo metilo (δ 29,69 ppm). A presença do sinal (δ 165,39 ppm) confirma a formação da ligação éster.

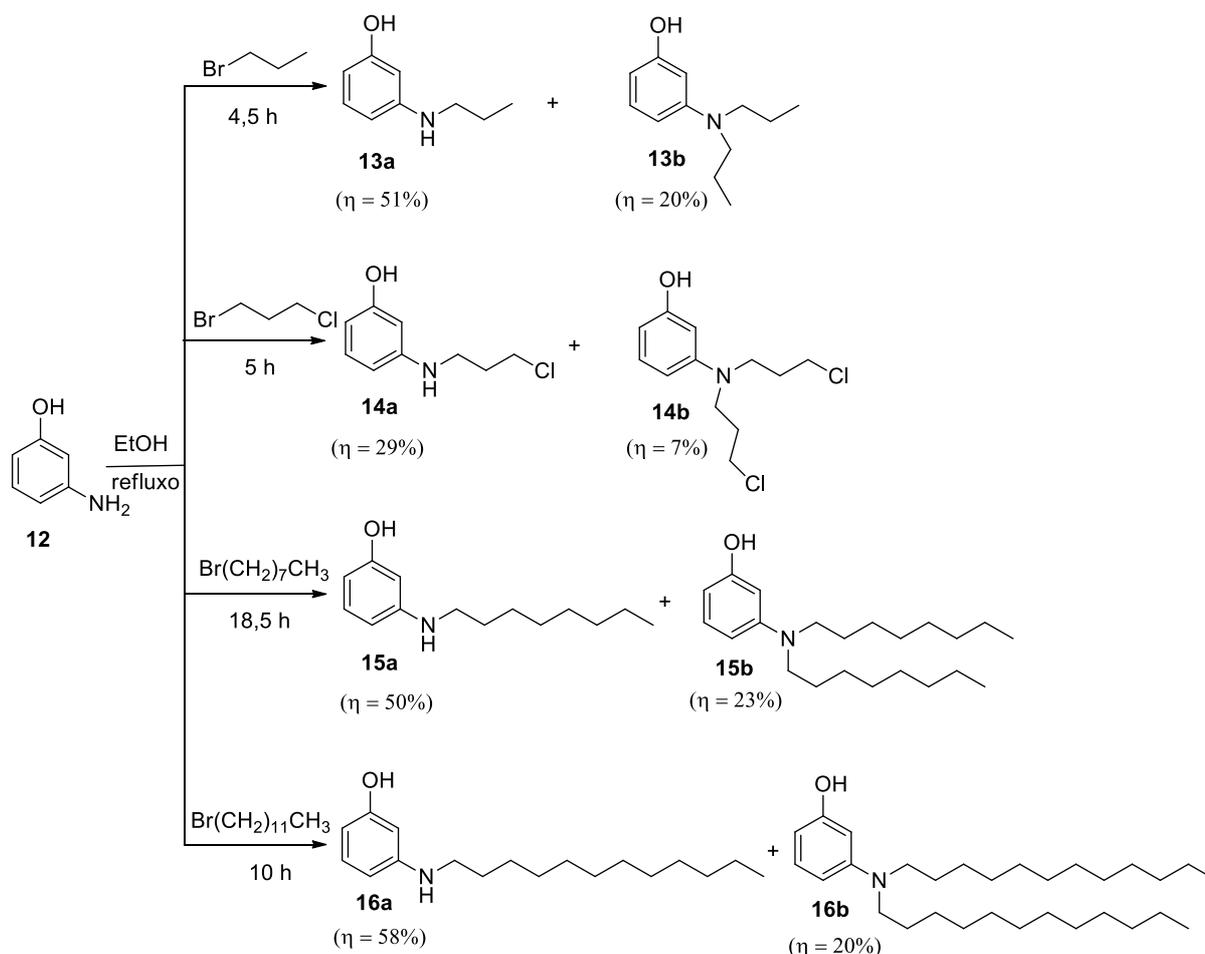
2.2 Síntese dos derivados do 3-aminofenol

A síntese de compostos fenólicos, derivados do 3-aminofenol, foi efetuada por reação de alquilação do grupo amina com brometos de alquilo com número variável de átomos de carbono e num dos casos com o átomo de cloro como terminal [110,111]. Foi possível verificar a formação dos derivados mono- e dialquilados correspondentes, tal como referido, em seguida.

A reação do 3-aminofenol **12** com 1-bromopropano, em etanol e sob refluxo, durante 4,5 horas, seguida de purificação por cromatografia em coluna originou o 3-(propilamino)fenol **13a** e o 3-(dipropilamino)fenol **13b** na forma de óleo e sólido castanhos, com rendimentos de 51 e 20%, respetivamente. Por reação do 3-aminofenol **12** com 1-bromo-3-cloropropano, em condições idênticas às referidas anteriormente, durante 5 horas, após purificação, isolaram-se os compostos 3-((3-

cloropropil)amino)fenol **14a**, 3-(bis(3-cloropropil)amino)fenol **14b** em 29 e 7%, respetivamente, como óleos castanhos.

No sentido da obtenção de derivados *N*-alquilados com cadeias carbonadas mais longas, efetuou-se a *N*-alquilação usando o 1-bromoheptano e 1-bromododecano, nas condições referidas acima e após 18,5 e 10 horas de reação, obtiveram-se os compostos correspondentes, designadamente o 3-(octilamino)fenol **15a** e 3-(dioctilamino)fenol **15b**, como óleos castanhos, assim como o 3-(dodecilamino)fenol **16a** e 3-(didodecilamino)fenol **16b** como sólidos castanho e roxo, em rendimentos de 20 a 58% (Esquema 8).



Esquema 8. Síntese dos derivados *N*-alquilados do 3-aminofenol **13a,b-16a,b**.

A estrutura dos compostos **13a,b-16a,b** foi confirmada por RMN de ¹H. Nos espetros correspondentes, surgiram os sinais aromáticos característicos do 3-aminofenol (δ 6,14-7,83 ppm), assim como os sinais alifáticos dos grupos metilénicos, designadamente N(H)CH₂CH₂CH₂ na forma de tripletos (δ 3,26-3,35 ppm), N(H)CH₂CH₂CH₂ na forma de multipletos (δ 1,75-2,00 ppm) e N(H)CH₂CH₂CH₂ na forma de

multipletos (δ 1,10-3,64 ppm). Os prótons metílicos (compostos **13a,b**, **15a,b** e **16a,b**) surgiram como tripletos (δ 0,84-1,05 ppm).

Os derivados di e monoalquilados foram distinguidos pela integração dos sinais alifáticos e pela presença do próton do NH como um singlete alargado a (δ 4,25-8,40 ppm) no caso dos compostos **14a**, **15a** e **16a**.

2.3. Ensaio de atividade biológica em *Sf9* dos compostos **3**, **5**, **8a** e **8b**

Foi apenas possível efetuar o estudo de atividade biológica com alguns derivados do ácido aminobenzóico, pelo que apenas os valores correspondentes são referidos. Estudos com os restantes compostos sintetizados serão efetuados em breve.

Os estudos indicados foram efetuados na REQUIMTE da Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, no âmbito do projeto *BioP&FoodP – Biopesticides and Food Preservatives from Nanoencapsulated Plant Extracts: Biological Evaluation, Molecular Modelling and Synthesis*, no qual a presente dissertação está integrada.

A atividade inseticida dos compostos **3**, **5**, **8a** e **8b**, foi determinada com base em ensaios efetuados em culturas bidimensionais (2D) de células derivadas de ovários de *Spodoptera frugiperda* (*Sf9*). Com base nos resultados de viabilidade celular é possível verificar a proliferação celular, determinar as células metabolicamente ativas numa cultura celular e identificar compostos que apresentam efeitos na proliferação celular ou efeitos tóxicos que, poderão até induzir a morte celular [112]. Nestes ensaios, a percentagem mais baixa de viabilidade celular significa que o composto é mais tóxico em *Sf9*, pelo que possui maior atividade inseticida.

O efeito dos derivados do ácido aminobenzóico **3**, **5**, **8a** e **8b** na viabilidade das células *Sf9* foi avaliado a 100 $\mu\text{g/mL}$, após 24h de exposição. Conforme mostrado na Figura 6, o composto **8a** contendo, simultaneamente, um átomo de bromo, o éster de 3-cloropropilo e o grupo amina livre não apresentou qualquer toxicidade. Por outro lado, os derivados **3**, **5** e **8b**, provocaram uma redução significativa na viabilidade, sendo o composto **5** o mais potente, provocando cerca de 40% de morte celular. Por esta razão, o composto **5** foi escolhido para os ensaios de encapsulamento, tendo em consideração uma futura aplicação como inseticida.

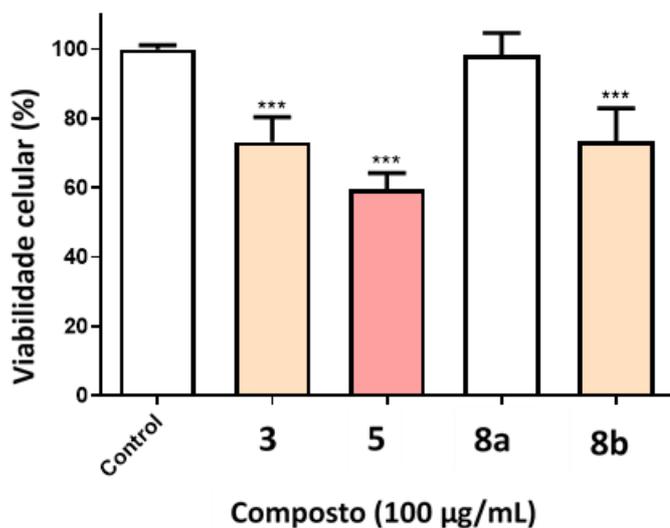


Figura 6. Viabilidade celular, em percentagem, dos compostos **3**, **5**, **8a** e **8b** (100 µg/mL) durante 24 h; C - controlo. Os resultados correspondem à média \pm DP de pelo menos três ensaios independentes.

2.4. Estudos de nanoencapsulamento

Tal como referido anteriormente, o 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo **5** foi selecionado para os estudos de nanoencapsulamento. Foi efetuado um estudo preliminar das suas propriedades fotofísicas, traçando-se os espectros de absorção e emissão de fluorescência correspondentes em solução. Este estudo foi necessário para determinar a eficiência de encapsulamento e a cinética de libertação, e os resultados obtidos surgem na Figura 7. O espectro de absorção mostra dois picos, o primeiro a 250 nm e o outro a 340 nm. O espectro de fluorescência, por excitação a 340 nm, revela a presença de uma banda entre 360 e 500 nm, com máximo por volta dos 410 nm.

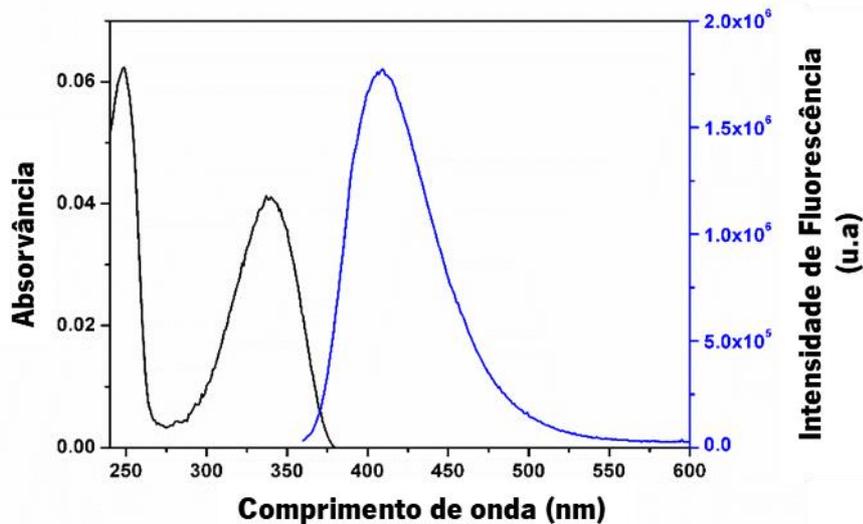


Figura 7. Espectros de absorvância e fluorescência (excitação a 340 nm) do composto **5** em etanol (1×10^{-5} M para absorção e 1×10^{-6} M para emissão).

O composto **5** foi encapsulado em nanolipossomas de lecitina/colesterol de ovo (EggPC:Ch 7:3), visando permitir uma liberação efetiva do composto carregado. A eficiência de encapsulamento obtida foi de 97,1%, mostrando que o derivado **5** pode ser encapsulado eficientemente nos nanolipossomas. A caracterização estrutural dos nanolipossomas carregados obtidos foi realizada por difusão dinâmica de luz (DLS), medindo o seu diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersidade e potencial zeta. Como esperado, foram obtidos lipossomas com tamanho de $82,4 \pm 1,3$ nm, PDI de $0,16 \pm 0,02$ e potencial zeta de $-4,75 \pm 1,28$ mV, similarmente aos resultados anteriores obtidos para a mesma formulação carregada com outros compostos [113].

O perfil cinético de liberação do composto **5** dos nanolipossomas foi determinado durante 24 h e os dados experimentais obtidos são exibidos na Figura 8. Os dados do perfil de liberação foram ajustados a dois modelos cinéticos, o modelo Weibull e o modelo de primeira ordem, e os parâmetros obtidos estão resumidos na Tabela 5.

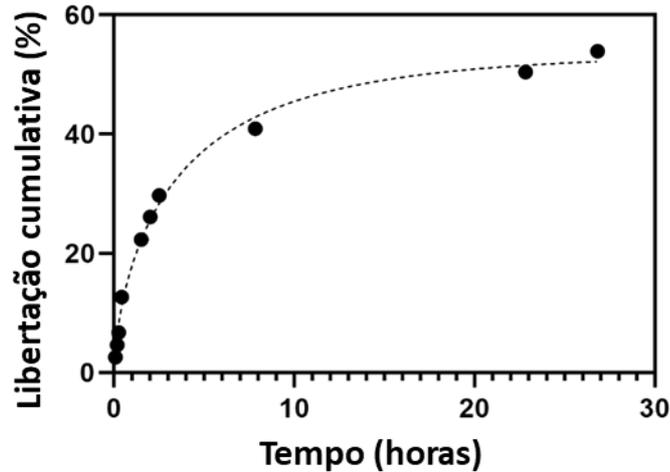


Figura 8. Liberação cumulativa do composto 5 a partir de nanolipossomas de EggPC:Ch, de acordo com o modelo de Weibull.

Tabela 5. Parâmetros obtidos pelo ajuste do perfil de liberação ao modelo cinético de primeira ordem e modelo Weibull, e respectivos coeficientes de determinação (R^2).

Primeira ordem		Weibull		
$K (s^{-1})$	R^2	b	a	R^2
0,38	0,97	0,41	0,67	0,99

A percentagem de liberação alcançada foi de 54%, após 26 h, indicando que a formulação EggPC:Ch é adequada para a liberação eficiente do composto 5. O modelo Weibull ajustou-se melhor aos resultados experimentais, apresentando um coeficiente de determinação mais elevado (Tabela 1). A partir do ajuste do modelo Weibull, espera-se uma difusão Fickiana, pois o valor de b está abaixo de 0,75. Apesar de não ser tão bom, o modelo de primeira ordem também se ajusta bem aos dados, permitindo a determinação de uma constante de velocidade de $0,38 s^{-1}$.

Capítulo 3 - Conclusão e Perspetivas

Futuras

No âmbito do trabalho experimental conducente a esta dissertação foi possível sintetizar vários de ésteres e/ou derivados *N*-alquilados de ácidos aminobenzóicos, designadamente do ácido 3-aminobenzóico, ácido 2-aminobenzóico, ácido 2-amino-5-bromobenzóico e ácido 4-(metilamino)benzóico por reação com 1-bromo-3-cloropropano, 1-bromopropano e 1-bromoeptano em diferentes condições reacionais. Foram também sintetizados vários derivados mono- e dialquilados do 3-aminofenol, usando os reagentes acima referidos e também e 1-bromododecano. Alguns ésteres obtidos a partir de ácidos aminobenzóicos foram submetidos a ensaios da atividade biológica em *Sf9* com uma concentração de composto de 100 µg/mL e 24h de exposição, de forma a avaliar a sua aplicação como potenciais inseticidas.

Os resultados sugerem que a posição relativa dos grupos ácido carboxílico e amina é importante, dado que para o mesmo substituinte na função éster, a posição *orto* se mostrou mais promissora e que a presença do átomo de bromo no anel aromático em posição *para* relativamente ao grupo amina suprimia completamente a toxicidade. O 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo **5** foi o derivado que apresentou a melhor atividade em *Sf9*, com uma perda de viabilidade celular de aproximadamente 40%.

Estudos de nanoencapsulamento com o 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo **5** usando nanolipossomas de lecitina de ovo/colesterol (EggPC:Ch 7:3) mostraram uma elevada eficiência de encapsulamento de 97,1%. Foi também determinado o perfil cinético de libertação desse composto a partir dos nanolipossomas durante 24 h. Os dados do perfil de libertação foram ajustados a dois modelos cinéticos, o modelo Weibull e o modelo de primeira ordem.

Os resultados mostraram que libertação alcançada foi de 54%, após 26 h, indicando que a formulação EggPC:Ch é adequada para a libertação eficiente do composto **5**. O modelo Weibull ajustou-se melhor aos resultados experimentais, apresentando um coeficiente de determinação mais elevado. A partir do ajuste do modelo Weibull, espera-se uma difusão Fickiana, pois o valor de *b* está abaixo de 0,75. Apesar de não ser tão bom, o modelo de primeira ordem também se ajusta bem aos dados e permitiu a determinação de uma constante de velocidade de 0,38 s⁻¹.

Estes estudos permitiram verificar que o composto mais ativo dos que foram estudados em *Sf9* pode ser eficientemente encapsulado em nanolipossomas. No entanto, tal como é pretendido, a sua libertação pode ocorrer a partir desse sistema e, em aproximadamente um dia, cerca de metade do composto ativo encapsulado foi libertado.

Num futuro próximo, pretende-se efetuar os estudos de atividade biológica em *Sf9* dos restantes compostos já sintetizados e dos quais não foi possível obter esses resultados por limitações de tempo.

Prosseguir com o *design* e síntese de novos derivados de ácidos aminobenzóicos, 3-aminofenol e seus isómeros com estruturas direcionadas pela combinação dos resultados experimentais de atividade em *Sf9* com estudos computacionais em curso, assim como efetuar os ensaios de nanoencapsulamento e libertação controlada correspondentes. Os processos de síntese dos compostos com melhor atividade inseticida serão otimizados no sentido da obtenção de melhores rendimentos.

Assim, pretende-se contribuir para o desenvolvimento compostos ativos contendo estruturas químicas relativamente simples que funcionem como alternativas promissoras aos inseticidas sintéticos atualmente disponíveis.

Capítulo 4 - Secção Experimental

4.1 Procedimentos Gerais

As cromatografias em camada fina (TLC) foram realizadas em placas sílica de gel 60 com indicador de fluorescência F_{254} (Merck) e reveladas pela incidência de radiação UV/Vis ($\lambda_{\text{máx}}$ 254 e 365 nm) numa câmara CN-6 (Vilber-Lourmart). Nas cromatografias em coluna utilizou-se sílica gel 60 (0,035-0,070 mm) (Acros Organics).

Os espectros de infravermelho foram registados num espectrofotómetro BOMEM MB 104. As amostras foram preparadas em pastilhas de KBr 1%.

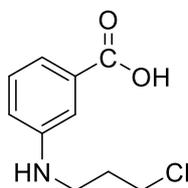
Os espectros de ressonância magnética nuclear foram determinados no aparelho Bruker Avance III 400 numa frequência de 400 MHz para ^1H e 100,6 MHz para ^{13}C , usando o pico de solvente como referência interna, a 25°C. Os desvios químicos são referidos em ppm, utilizando como referência o valor $\delta_{\text{H}} \text{Me}_4\text{Si} = 0$ ppm, e as constantes de acoplamento (J) surgem em Hz. A atribuição dos sinais de ^1H e ^{13}C foi efetuada por comparação dos desvios químicos, multiplicidade dos picos e valores de J . foram ainda usadas técnicas de correlação espetroscópica heteronuclear bidimensional, nomeadamente HMQC (correlação heteronuclear quântica múltipla) e HMBC (correlação heteronuclear através de múltiplas ligações). O solvente deuterado usado foi o clorofórmio da Euriso-top®.

Os espectros de ultravioleta/visível foram obtidos num espectrofotómetro Shimadzu UV-3600 Plus UV-Vis-NIR. Os espectros de fluorescência foram registados num espectraluorímetro Fluorolog 3.

Os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos comercialmente (Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fisher Chemical e Panreac).

4.2. Derivados do ácido aminobenzóico

[1] Ácido 3-((3-cloropropil)amino)benzóico **2**



A uma solução de ácido 3-aminobenzóico **1** (0,200 g; $1,46 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em etanol (5 mL) adicionou-se 1-bromo-3-cloropropano (0,20 mL; $2,05 \times 10^{-3}$ mol; 1,4 equiv) e colocou-se a mistura

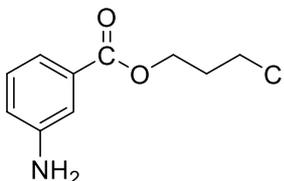
reacional sob refluxo durante 49 horas. Efetuou-se uma cromatografia em coluna (sílica: diclorometano/metanol de polaridade crescente) tendo-se obtido o composto **2** como um óleo incolor.

$\eta = 7\%$ (0,023 g)

$R_f = 0,42$ (sílica: diclorometano/metanol 90:10)

$^1\text{H NMR } \delta_{\text{H}}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 2,13 (quint, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,40 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,68 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, $\text{NHC}_2\text{H}_4\text{CH}_2$), 6,86 (dd, $J = 8,8$ e $2,4$ Hz, 1H, H-4), 7,27 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H, NH), 7,28 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5), 7,35 (t, $J = 1,6$ Hz, H-2), 7,46 (dd, $J = 7,6$ e $1,2$ Hz, 1H, H-6) ppm.

[2] 3-Aminobenzoato de 3-cloropropilo **3**



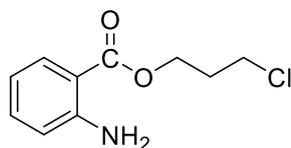
A uma solução de ácido 3-aminobenzóico **1** (0,200 g; $1,46 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em acetonitrilo (4mL) adicionou-se carbonato de cézio (2,38 g; $7,30 \times 10^{-3}$ mol; 5 equiv) e 1-bromo-3-cloropropano (0,173 mL; $2,56 \times 10^{-3}$ mmol; 2,56 equiv). A mistura reacional foi agitada, à temperatura de 65°C , durante 20 h, sendo a reação monitorizada por TLC (sílica: diclorometano/éter de petróleo 9:1). Após esse período, filtrou-se a mistura reacional, lavou-se o sólido com acetonitrilo e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O composto **3** foi obtido como um óleo amarelo.

$\eta = 41\%$ (0,127 g)

$R_f = 0,35$ (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1)

$^1\text{H NMR } \delta_{\text{H}}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 2,12 (quint, $J = 6,0$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,69 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4,44 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 6,85 – 6,88 (m, 1H, H-4), 7,21 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-5), 7,34 (t, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-2), 7,40 – 7,42 (m, 1H, H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_{\text{C}}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 31,65 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41,24 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 61,51 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 115,64 (C-2), 119,49 (C-4), 119,56 (C-6), 129,20 (C-5), 130,87 (C-1), 146,48 (C-3), 166,54 (C=O) ppm.

[3] 2-Aminobenzoato de 3-cloropropilo **5**

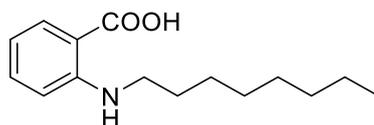
A uma solução de ácido 2-aminobenzóico **4** (0,200 g; $1,46 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em acetonitrilo (5mL), adicionou-se carbonato de cézio (2,38 g; $7,30 \times 10^{-3}$ mol; 5 equiv) e 1-bromo-3-cloropropano (0,173 mL; $2,56 \times 10^{-3}$ mol; 2,56 equiv). A mistura reacional foi agitada, à temperatura de 65°C, durante 25 h, sendo a reação monitorizada por TLC (sílica: diclorometano/éter de petróleo de polaridade crescente). Após esse período, filtrou-se a mistura reacional, lavou-se o sólido com acetonitrilo e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O composto **5** foi obtido como um óleo castanho.

η = 32% (0,098 g)

R_f = 0,74 (sílica: diclorometano)

1H NMR δ_H (CDCl₃, 400 MHz): 2,22 (quint, J = 6,0 Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂), 3,70 (t, J = 6,4 Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂), 4,35 (t, J = 6,4 Hz, 2H, OCH₂CH₂CH₂), 5,76 (s largo, 2H, NH₂), 6,63 – 6,68 (m, 2H, H-3 and H-5), 7,28 (dt, J = 8,8 e 1,6 Hz, 1H, H-4), 7,85 (d, J = 8,0 e 1,6 Hz, 1H, H-6) ppm.

^{13}C NMR δ_C (CDCl₃, 100,6 MHz): 31,65 (OCH₂CH₂CH₂), 41,31 (OCH₂CH₂CH₂), 60,86 (OCH₂CH₂CH₂), 110,36 (C-1), 116,10 (C-3), 116,61 (C-5), 130,95 (C-6), 134,11 (C-4), 150,52 (C-2), 167,75 (C=O) ppm.

[4] Ácido 2-(octilamino)benzoico **6**

A uma solução de ácido 2-aminobenzóico **4** (0,200 g; $1,46 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em etanol (5 mL) adicionou-se 1-bromooctano (0,202 mL, $1,16 \times 10^{-3}$ mol, 1,2 equiv) e colocou-se a mistura reacional sob refluxo durante 55 horas. Efetuou-se uma cromatografia em coluna (sílica: diclorometano/éter de petróleo de polaridade crescente) tendo-se obtido o composto **6** como um óleo incolor.

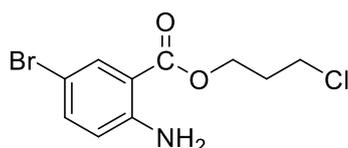
η = 22% (0,049 g)

R_f = 0,34 (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:5)

$^1\text{H NMR } \delta_H$ (CDCl_3 , 400 MHz): 0,92 (t, J = 6,0 Hz, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 1,31-1,45 (m, 10H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 1,71 (quint, J = 7,2 Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 3,22 (t, J = 7,2 Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 6,61 (dt, J = 7,2 e 1,2 Hz, H-5), 6,70 (dd, J = 8,0 e 0,8 Hz, 1H, H-3), 7,41 (dt, J = 6,8 e 1,6 Hz, H-4), 8,00 (dd, J = 8,0 e 1,6 Hz, 1H, H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_C$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 14,06 ($\text{NH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 22,63 (CH_2), 27,14 (CH_2), 29,10 (CH_2), 29,20 (CH_2), 29,31 (CH_2), 31,78 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 42,87 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 108,36 (C-1), 108,36 (C-3), 114,29 (C-5), 132,63 (C-6), 135,52 (C-4), 151,89 (C-2), 173,91 (C=O) ppm.

[5] 2-Amino-5-bromobenzoato de 3-cloropropilo **8a**



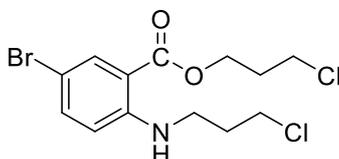
A uma solução de ácido 2-amino-5-bromobenzoico **7** (0,200 g; $7,89 \times 10^{-4}$ mol; 1 equiv) em acetonitrilo (5 mL) adicionou-se carbonato de céσιο (1,51 g; $4,28 \times 10^{-3}$ mol; 5,4 equiv) e 1-bromo-3-cloropropano (0,101 mL; $1,02 \times 10^{-3}$ mol; 1,3 equiv). A mistura reacional foi agitada, à temperatura de 65°C, durante 12 h, sendo a reação monitorizada por TLC (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1). Após esse período, filtrou-se a mistura reacional, lavou-se o sólido com acetonitrilo e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O composto **8a** foi obtido como um óleo castanho.

η = 26% (0,061 g)

R_f = 0,49 (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1)

$^1\text{H NMR } \delta_H$ (CDCl_3 , 400 MHz): 2,24 (quint, J = 6,0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,70 (t, J = 6,4 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4,44 (t, J = 6,0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 5,78 (s largo, 2H, NH_2), 6,57 (d, J = 8,8 Hz, 1H, H-3), 7,34 (dd, J = 8,8 e 2,4 Hz, 1H, H-4), 7,93 (d, J = 2,4 Hz, 1H, H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_C$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 31,63 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41,28 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 61,39 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 107,28 (C-1), 111,78 (C-5), 118,41 (C-3), 133,14 (C-6), 136,87 (C-4), 149,47 (C-2), 166,80 (C=O) ppm.

[6] 5-Bromo-2-((3-cloropropil)amino)benzoato de 3-cloropropilo **8b**

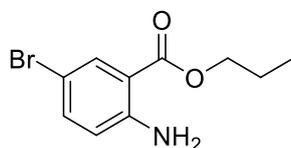
Na reação anterior foi também isolado o composto **8b**, sob a forma de um óleo castanho.

$\eta = 1,0\%$ (0,003 g)

$R_f = 0,67$ (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1)

$^1\text{H NMR } \delta_{\text{H}}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 2,14 (quint, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,24 (quint, $J = 6,0$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,41 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{NHC}_2\text{H}_4\text{CH}_2$), 3,67 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,70 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4,44 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 6,68 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-3), 7,45 (dd, $J = 6,8$ e 2,4 Hz, 1H, H-4), 7,98 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_{\text{C}}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 31,63 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 31,92 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 39,87 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41,27 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 42,26 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 61,43 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 106,20 (C-1), 111,35 (C-5), 113,17 (C-3), 133,70 (C-6), 137,43 (C-4), 150,10 (C-2), 167,39 (C=O) ppm.

[7] 2-Amino-5-bromobenzoato de propilo **9a**

A uma solução do ácido 2-amino-5-bromobenzoico **7** (0,150 g; $5,92 \times 10^{-4}$ mol; 1 equiv) em acetonitrilo (5 mL) adicionou-se carbonato de céσιο (1,13 g; $3,47 \times 10^{-3}$ mol; 5,9 equiv) e 1-bromopropano (0,069 mL; $7,57 \times 10^{-4}$; 1,3 equiv). A mistura reacional foi agitada, à temperatura de 65°C, durante 14 h, sendo a reação monitorizada por TLC (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1). Após esse período, filtrou-se a mistura reacional, lavou-se o sólido com acetonitrilo e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O composto **9a** foi obtido como um óleo castanho.

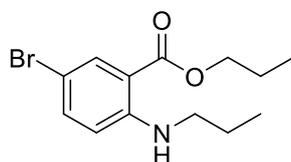
$\eta = 31,0 \%$ (0,0474 g)

$R_f = 0,71$ (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1)

$^1\text{H NMR } \delta_H$ (CDCl_3 , 400 MHz): 1,03 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,79 (sext, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,24 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,57 (d, $J = 8,0$ Hz 1H, H-3), 7,33 (dd, $J = 8,8$ Hz, 1H, H-4), 7,97 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_C$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 10,52 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 22,03 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 66,29 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 107,36 (C-1), 112,43 (C-5), 118,39 (C-3), 133,31 (C-6), 136,60 (C-4), 149,23 (C-2), 167,10 (C=O) ppm.

[8] 5-Bromo-2-(propilamino)benzoato de propilo 9b



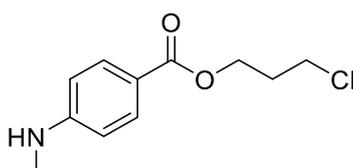
Na reação anterior foi também isolado o composto **9b**, sob a forma de um óleo castanho.

$\eta = 1,0\%$ (0,0016 g)

$R_f = 0,54$ (sílica: diclorometano/éter de petróleo 1:1)

$^1\text{H NMR } \delta_H$ (CDCl_3 , 400 MHz): 1,03 (t, $J = 7,6$ Hz, 6H, $2 \times \text{CH}_3$), 1,71 (sext, $J = 7,2$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,79 (sext, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,14 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 4,22 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,57 (d, $J = 9,2$ Hz, 1H, H-3), 7,39 (dd, $J = 9,2$ e $2,8$ Hz, 1H, H-4), 7,73 (s largo, 1H, NH), 8,00 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H, H-6) ppm.

[9] 4-(Metilamino)benzoato de 3-cloropropilo 11



A uma solução de ácido 4-(metilamino)benzóico **10** (0,200 g; $1,32 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em acetonitrilo (5 mL) adicionou-se carbonato de céσιο (2,12 g; $6,51 \times 10^{-3}$ mol; 5 equiv) e 1-bromo-3-cloropropano

(0,141 mL; $1,42 \times 10^{-3}$ mol; 1,1 equiv). A mistura reacional foi agitada, à temperatura de 65°C, durante 38 h, sendo a reação monitorizada por TLC (sílica: diclorometano/éter de petróleo de polaridade crescente). Após esse período, filtrou-se a mistura reacional, lavou-se o sólido com acetonitrilo e evaporou-se o solvente a pressão reduzida. O composto **11** foi obtido como um óleo incolor.

η = 2% (0,0053 g)

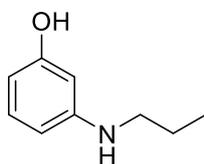
R_f = 0,56 (sílica: diclorometano/éter de petróleo 3:7)

$^1\text{H NMR } \delta_{\text{H}}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 1,69 (s, 3H, CH_3), 2,28 (quint, J = 6,0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 3,72 (t, J = 6,4 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 4,54 (t, J = 6,0 Hz, 2H, $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 7,97 (d, J = 8,0 Hz, 2H, H-3 e H-5), 8,20 (d, J = 8,0 Hz, 2H, H-2 e H-6) ppm.

$^{13}\text{C NMR } \delta_{\text{C}}$ (CDCl_3 , 100,6 MHz): 29,69 (CH_3), 31,58 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 41,12 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 62,33 ($\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$), 125,01 (C-1), 129,54 (C-3 e C-5), 130,29 (C-2 e C-6), 139,24 (C-4), 165,39 (C=O) ppm.

4.3. Derivados do 3-aminofenol

[10] 3-(Propilamino)fenol **13a**



A uma solução de 3-aminofenol **12** (2,0 g; $18,3 \times 10^{-3}$ mol; 1 equiv) em etanol (8 mL) adicionou-se 1-bromopropano (2,50 mL; $27,5 \times 10^{-3}$ mol; 1,5 equiv) e colocou-se a mistura reacional sob refluxo durante 4,5 horas. Efetuou-se uma cromatografia em coluna (sílica: diclorometano/metanol de polaridade crescente) tendo-se obtido o composto **13a** como um óleo castanho.

η = 51% (1,410 g)

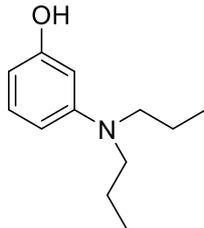
R_f = 0,17 (sílica: diclorometano)

IV (KBr): 3250, 2642, 2500, 2415, 1619, 1577, 1487, 1426, 1316, 1288, 1244, 1219, 1154, 1121, 1083, 1041, 1000, 975, 862, 782, 756, 688, 666 cm^{-1} .

^1H NMR δ_{H} (400MHz, CD_3OD): 1,05 (t, $J = 7,2\text{Hz}$, 3H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,75-1,86 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,35 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,92-7,01 (m, 3H, H-4, H-6, H-2), 7,35-7,42 (m, 1H, H-5) ppm.

^{13}C NMR δ_{C} (100,6 MHz, CD_3OD): 11,14 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 20,37 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 54,75 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 110,58 (C-2), 114,09 (C-6), 117,63 (C-4), 132,03 (C-5), 137,52 (C-3), 160,19 (C-1) ppm.

[11] 3-(Dipropilamino)fenol 13b



Na reação anterior foi também isolado o composto **13b**, sob a forma de um sólido castanho.

$\eta = 20\%$ (0,715g)

p.f. = [98,7 – 101,1] °C

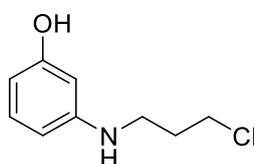
$R_f = 0,22$ (sílica: diclorometano)

IV (KBr): 3208, 3188, 3053, 2966, 2880, 2711, 2672, 2636, 2508, 1613, 1508, 1488, 1471, 1456, 1431, 1417, 1386, 1340, 1318, 1276, 1227, 1204, 1169, 1147, 1126, 1116, 1086, 1037, 1012, 999, 991, 965, 890 cm^{-1} .

^1H NMR δ_{H} (400MHz, CDCl_3): 0,84 (t, $J = 7,6\text{ Hz}$, 6H, 2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1,59 (s largo, 4H, 2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 3,30 (t, $J = 8,0\text{ Hz}$, 4H, 2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6,87 (s largo, 2H, H-4 e H-6), 7,05 (s largo, 1H, H-2) 7,17 (t, $J = 8,0\text{ Hz}$, 1H, H-5) ppm.

^{13}C NMR δ_{C} (100,6 MHz, CDCl_3): 10,85 (2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 18,86 (2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 58,17 (2 x $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 107,61 (C-2), 113,60 (C-4 e C-6), 130,63 (C-5), 158,22 (C-1) ppm.

[12] 3-((3-Cloropropil)amino)fenol 14a



A uma solução de 3-aminofenol **12** (1,4 g, $1,28 \times 10^{-2}$ mol; 1 equiv) in etanol (2 mL) adicionou-se 1-bromo-3-cloropropano (1,27 mL; $1,28 \times 10^{-2}$ mol; 1 equiv) e colocou-se a mistura reacional sob refluxo durante 5h. Monitorizou-se a reação por TLC (diclorometano/metanol, 9,5:0,5), evaporou se o solvente e a mistura foi purificada por cromatografia em coluna usando como solvente uma mistura de diclorometano/metanol, de polaridade crescente. O composto **14a** foi obtido como um óleo castanho.

η = 29% (0,688 g)

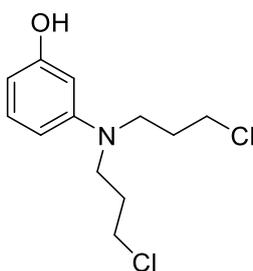
R_f = 0,54 (sílica: diclorometano/metanol 9,5:0,5)

IR (KBr 1%, cm^{-1}): ν = 3198, 2947, 2587, 1615, 1505, 1488, 1470, 1372, 1316, 1284, 1233, 1172, 1084, 1020, 1000, 859, 828, 780, 735, 693, 655 cm^{-1} .

^1H NMR δ_{H} (CDCl_3 , 400 MHz): 2,00-2,10 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,31 (t, J = 6,4 Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,64 (t, J = 6,3 Hz, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 4,25 (s largo, 2H, NH and OH), 6,14 (t, J = 2,1 Hz, 1H, H-2), 6,18-6,26 (m, 2H, H-4 e H-6), 7,03 (t, J = 8,0 Hz, 1H, H-5) ppm.

^{13}C NMR δ_{C} (CDCl_3 , 100,6 MHz): 31,77 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 41,02 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 42,57 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 99,86 (C-2), 104,81 (C-6), 106,06 (C-4), 130,29 (C-5), 149,25 (C-3), 156,73 (C-1) ppm.

[13] 3-(Bis(3-cloropropil)amino)fenol **14b**



Na reação anterior foi também isolado o composto **14b**, sob a forma de um óleo castanho.

η = 7% (0,222 g)

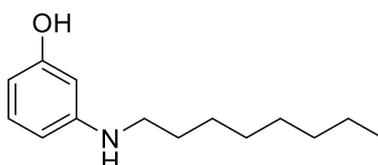
R_f = 0,71 (sílica: diclorometano/metanol, 9,5:0,5)

IV (KBr 1%, cm^{-1}): $\nu = 3189, 2956, 2653, 2552, 1615, 1578, 1505, 1488, 1464, 1451, 1360, 1316, 1288, 1235, 1169, 1117, 1082, 1055, 1011, 998, 945, 928, 879, 828, 785, 733, 698 \text{ cm}^{-1}$.

^1H NMR δ_{H} ($\text{CDCl}_3, 400 \text{ MHz}$): 1,93-1,99 (m, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 3,38 (t, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 3,49 (t, $J = 6,0 \text{ Hz}$, 4H, $\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 5,40 (s, 1H, OH), 6,14-6,26 (m, 3H, 2-H, H-4 e H-6), 7,00 (t, $J = 8,4 \text{ Hz}$, 1H, H-5) ppm.

^{13}C NMR δ_{C} ($\text{CDCl}_3, 100,6 \text{ MHz}$): 29,79 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 42,94 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 49,59 ($\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl})_2$), 100,01 (C-2), 102,58 (C-6), 105,53 (C-4), 130,34 (C-5), 148,68 (C-3), 156,81 (C-1) ppm.

[14] 3-(Octilamino)fenol **15a**



A uma solução de 3-aminofenol **12** (1,0 g; $9,1 \times 10^{-3} \text{ mol}$; 1 equiv) em etanol (6 mL) adicionou-se 1-bromooctano (1,86 mL; $10,8 \times 10^{-3} \text{ mol}$; 1,2 equiv) e colocou-se a mistura reacional sob refluxo durante 18,5 horas. Efetuou-se uma cromatografia em coluna (sílica: diclorometano/metanol de polaridade crescente) tendo-se obtido o composto **15a** como um óleo castanho.

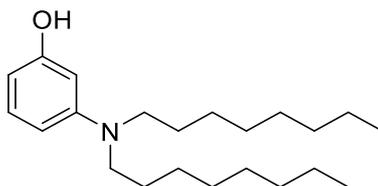
$\eta = 50\%$ (1,018g)

$R_f = 0,21$ (sílica: diclorometano)

IV: 3261, 2956, 2927, 2857, 2778, 2467, 1621, 1601, 1576, 1503, 1485, 1468, 1427, 1378, 1316, 1289, 1223, 1152, 1082, 1000, 959, 861, 782, 737, 688, 666 cm^{-1} .

^1H NMR δ_{H} (400 MHz, CDCl_3): 0,84 (t, $J = 7,2 \text{ Hz}$, 3H, $\text{NH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 1,10-1,22 (s, 10H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 1,72-1,85 (m, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 3,26 (t, $J = 8,4 \text{ Hz}$, 2H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 6,84 (dd, $J = 8,2$ e $J = 2,0 \text{ Hz}$, 1H, H-4), 6,99 (dd, $J = 8,2$ e $J = 1,2 \text{ Hz}$, 1H, H-6), 7,14 (t, $J = 8,4 \text{ Hz}$, 1H, H-5), 7,20 (t, $J = 2,0 \text{ Hz}$, 1H, H-2) 7,83 (s largo, 2H, NH, OH) ppm.

^{13}C NMR δ_{C} (100,6 MHz, CDCl_3): 14,00 ($\text{NH}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 22,50 (CH_2), 25,46 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 26,50 (CH_2), 28,88 (CH_2), 29,00 (CH_2), 31,60 (CH_2), 52,60 ($\text{NHCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 109,77 (C-2), 113,79 (C-6), 116,99 (C-4), 130,98 (C-5), 135,54 (C-3), 157,61 (C-1) ppm.

[15] 3-(Dioctilamino)fenol 15b

Na reação anterior foi também isolado o composto **15b**, sob a forma de um óleo castanho.

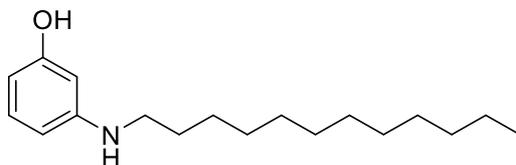
η = 23% (0,712g)

R_f = 0,56 (sílica: diclorometano)

IV: 3299, 2955, 2926, 2855, 2726, 1619, 1579, 1504, 1467, 1400, 1370, 1276, 1241, 1221, 1167, 1142, 1114, 1013, 999, 832, 821, 753, 723, 688 cm^{-1} .

$^1\text{H NMR } \delta_{\text{H}}$ (300 MHz, CDCl_3): 0,90 (t, J = 6,9 Hz, 6H, $2 \times \text{N}(\text{CH}_2)_7\text{CH}_3$), 1,28 (s largo, 20H, $2 \times \text{NCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 1,58 (s largo, 4H, $2 \times \text{NCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 3,24 (t, J = 7,8 Hz, 4H, $2 \times \text{NCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_5\text{CH}_3$), 6,38 (s largo, 3H, 2-H, H-4 e H-6), 7,09 (t, J = 7,8 Hz, 1H, H-5) ppm,

$^{13}\text{C NMR } \delta_{\text{C}}$ (100,6 MHz, CDCl_3): 14,04 ($2 \times \text{CH}_3$), 22,58 ($2 \times \text{CH}_2$), 26,75 ($2 \times \text{NCH}_2\text{CH}_2$), 27,00 ($2 \times \text{CH}_2$), 29,24 ($2 \times \text{CH}_2$), 29,35 ($2 \times \text{CH}_2$), 31,75 ($2 \times \text{CH}_2$), 52,30 ($2 \times \text{NCH}_2\text{CH}_2$), 100,82 (C-2), 105,93 (C-6, C-4), 130,15 (C-5), 148,18 (C-3), 157,01 (C-1) ppm.

[16] 3-(Dodecilamino)fenol 16a

A uma solução de 3-aminofenol **12** (2,0 g; $18,3 \times 10^{-3}$ mol, 1 equiv) em etanol (6 mL) adicionou-se 1-bromododecano (6,5 mL; $27,3 \times 10^{-3}$ mol; 1,5 equiv) e colocou-se a mistura reacional sob refluxo durante 10 horas. Efetuou-se uma cromatografia em coluna (sílica: clorofórmio/metanol de polaridade crescente) tendo-se obtido o composto **16a** como um sólido castanho.

η = 58% (2,931g)

p.f. = [54,7 – 57,1] °C

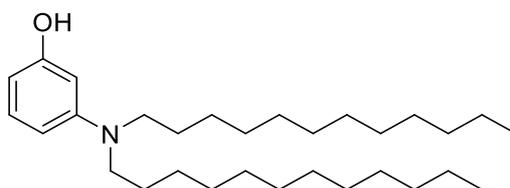
R_f = 0,17 (sílica: diclorometano)

IV (KBr): 3282, 2918, 2851, 2730, 2630, 2600, 2414, 1619, 1571, 1499, 1484, 1468, 1417, 1382, 1338, 1318, 1288, 1250, 1237, 1216, 1176, 1153, 1133, 1087 cm⁻¹.

¹H NMR δ_H (400 MHz, CDCl₃): 0,87 (t, *J* = 7,2Hz, 3H, NH(CH₂)₁₁CH₃), 1,10-1,35 (m, 18H, NHCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 1,78 (quint, *J* = 7,6 Hz, 2H, NHCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 3,26 (t, *J* = 8,4 Hz, NHCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 6,82 (dd, *J* = 8,4 e 1,6 Hz, 1H, H-4), 6,98 (dd, *J* = 8,0 e 1,2Hz, 1H, H-6), 7,14 (t, *J* = 8,0Hz, 1H, H-5), 7,22 (s largo, 1H, H-2), 8,40 (s largo, 2H, NH, OH) ppm.

¹³C NMR δ_C (100,6 MHz, CDCl₃): 14,07 (NH(CH₂)₁₁CH₃), 22,64 (CH₂), 25,55 (NHCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 26,57 (CH₂), 29,00 (CH₂), 29,31 (CH₂), 29,43 (CH₂), 29,49 (CH₂), 29,58 (CH₂), 29,59 (CH₂), 31,87 (CH₂), 52,54 (NHCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 109,69 (C-2), 113,72 (C-6), 116,92 (C-4), 130,97 (C-5), 135,67 (C-3), 157,65 (C-1) ppm.

[17] 3-(Didodecilamino)fenol **16b**



Na reação anterior foi também isolado o composto **16b**, sob a forma de um sólido roxo.

η = 20% (1,598g)

p.f. = [93,2 – 95,1] °C

R_f = 0,53 (sílica: diclorometano)

IV (KBr): 3175, 3046, 2916, 2850, 2636, 2605, 2537, 1613, 1511, 1490, 1471, 1446, 1418, 1406, 1373, 1355, 1318, 1284, 1226, 1212, 1204, 1181, 1141, 1126, 1091, 1044 cm⁻¹.

¹H NMR δ_H (400 MHz, CDCl₃): 0,85 (t, *J* = 7,2Hz, 6H, 2xN(CH₂)₁₁CH₃), 1,10-1,40 (m, 36H, 2xNCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 1,92 (s largo, 4H, NCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 3,29 (s largo, 2H, NCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 3,47 (s largo, 2H, NCH₂CH₂(CH₂)₉CH₃), 7,16 (s largo, 2H, 4-H, H-6), 7,28 (t, *J* = 8,0Hz, 1H, H-5), 7,45 (s largo, 1H, H-2), 8,68 (s largo, 1H, OH) ppm.

^{13}C NMR δ_c (100,6 MHz, CDCl_3): 14,03 ($2\times\text{N}(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}_3$), 22,59 ($2\times\text{CH}_2$), 24,77 ($2\times\text{NCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$), 26,46 ($2\times\text{CH}_2$), 28,93 ($2\times\text{CH}_2$), 29,24 ($2\times\text{CH}_2$), 29,34 ($2\times\text{CH}_2$), 29,38 ($2\times\text{CH}_2$), 29,49 ($2\times\text{CH}_2$), 29,52 ($2\times\text{CH}_2$), 31,82 ($2\times\text{CH}_2$), 59,11 ($2\times\text{NCH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CH}_3$), 108,91 (C-2), 113,21 (C-6), 118,19 (C-4), 130,96 (C-5), 138,05 (C-3), 158,89 (C-1) ppm.

4.4 Estudos de nanoencapsulamento

Para os estudos de nanoencapsulamento, foi utilizado 2-aminobenzoato de 3-cloropropilo **5**. Os lipossomas foram preparados utilizando uma mistura lipídica comercial utilizada na indústria alimentar, EggPC (fosfatidilcolina do ovo): colesterol (7:3) [114] e a técnica utilizada foi o método de injeção etanólica [115], onde foi realizada injeção simultânea do extrato e do lipídio, sob vórtex vigoroso, numa solução tampão aquosa.

4.4.1. Eficiência de encapsulamento

Para determinar uma curva de calibração (absorvância vs. concentração), foram realizadas diluições de concentração de 1×10^6 - 1×10^5 mg/mL. Os lipossomas carregados foram submetidos a centrifugação a 3000 rpm durante 10 minutos usando unidades de filtro centrífugo Amicon® Ultra 100 kDa. Em seguida, o filtrado (contendo o composto não encapsulado) foi pipetado, a água foi evaporada e a mesma quantidade de etanol foi adicionada. Após agitação vigorosa, foi medida a absorvância, permitindo determinar a concentração do composto utilizando uma curva de calibração previamente obtida no mesmo solvente. Três medições independentes foram realizadas para cada sistema. A eficiência de encapsulamento, EE (%), foi obtida através da equação 1:

$$EE(\%) = \frac{\text{Amostra total} - \text{Amostra do extrato nanoencapsulado}}{\text{Amostra total}} \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Capítulo 5 – Referências Bibliográficas

1. Fournier, B.; Dos Santos, S. P.; Gustavsen, J. A.; Imfeld, G.; Lamy, F.; Mitchell, E. A. D.; Mota, M.; Noll, D.; Planchamp, C.; Heger, T. J. Impact of a synthetic fungicide (fosetyl-Al and propamocarb-hydrochloride) and a biopesticide (*Clonostachys rosea*) on soil bacterial, fungal, and protist communities. *Sci Total Environ.* **2020**; 738:139635. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2020.139635
2. Ramli, N. H.; Yusup, S.; Bin, B. W.; Diba, S.; Aziz, R.; Mokhtar, S.; Ahmad, A. B. Effectiveness of biopesticides against brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in paddy cultivation. *Sustain Chem Pharm.* **2018**; 8:16-20. doi:10.1016/J.SCP.2018.01.001
3. Kamarulzaman, P. S. D.; Yusup, S.; Osman, N.; Yusof, N. H.; Kueh, B. W.; Talib, R. Effectiveness of neem based biopesticide to enhance rice (*Oryza sativa*) productivity. *Sustain Chem Pharm.* **2018**; 7:36-40. doi:10.1016/J.SCP.2017.12.001
4. Jain, U.; Saxena, K.; Hooda, V.; Balayan, S.; Singh, A. P.; Tikadar, M.; Chauhan, N. Emerging vistas on pesticides detection based on electrochemical biosensors – An update. *Food Chem.* **2022**; 371:131126. doi:10.1016/J.FOODCHEM.2021.131126
5. Dawkar, V. V.; Chikate, Y. R.; Lomate, P. R.; Dholakia, B. B.; Gupta, V. S.; Giri, A. P. Molecular insights into resistance mechanisms of lepidopteran insect pests against toxicants. *J Proteome Res.* **2013**; 12(11):4727-4737. doi:10.1021/PR400642P
6. Goh, M. S.; Lam, S. D.; Yang, Y. F.; Naqiuddin, M.; Addis, S. N. K.; Yong, W. T. L.; Luang-In, V.; Sonne, C.; Ma, N. L. Omics technologies used in pesticide residue detection and mitigation in crop. *J Hazard Mater.* **2021**; 420:126624. doi:10.1016/J.JHAZMAT.2021.126624
7. Glare, T. R.; O'Callaghan, M. Microbial biopesticides for control of invertebrates: Progress from New Zealand. *J Invertebr Pathol.* **2019**; 165:82-88. doi:10.1016/J.JIP.2017.11.014
8. Shahid, M.; Manoharadas, S.; Altaf, M.; Alrefaei, A. F. Organochlorine Pesticides Negatively Influenced the Cellular Growth, Morphostructure, Cell Viability, and Biofilm-Formation and Phosphate-Solubilization Activities of *Enterobacter cloacae* Strain EAM 35. *ACS Omega.* **2021**; 6(8):5548-5559. doi:10.1021/ACSOMEGA.0C05931
9. Pavela, R.; Benelli, G. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends Plant Sci.* **2016**; 21(12):1000-1007. doi:10.1016/j.tplants.2016.10.005
10. Evergetis, E.; Michaelakis, A.; Haroutounian, S. A. Exploitation of Apiaceae family essential oils as potent biopesticides and rich source of phellandrenes. *Ind Crops Prod.* **2013**; 41(1):365-370. doi:10.1016/J.INDCROP.2012.04.058
11. Tabanca, N.; Gao, Z.; Demirci, B.; Techen, N.; Wedge, D. E.; Ali, A.; Sampson, B. J.; Werle, C.; Bernier, U. R.; Khan, I. A.; Husnu, K. Molecular and phytochemical investigation of *Angelica dahurica* and *Angelica pubescentis* essential oils and their biological activity against *Aedes aegypti*, *Stephanitis pyrioides*, and *Colletotrichum* species. *J Agric Food Chem.* **2014**; 62(35):8848-8857. doi:10.1021/JF5024752
12. Le Dang, Q.; Kim, W. K.; Nguyen, C. M.; Choi, Y. H.; Choi, G. J.; Jang, K. S.; Park, M. S.; Lim, C. H.; Luu, N. H.; Kim, J. Nematicidal and antifungal activities of annonaceous acetogenins from *Annona squamosa* against various plant pathogens. *J Agric Food Chem.* **2011**; 59(20):11160-11167. doi:10.1021/JF203017F

13. Kalpna, Hajam, Y. A.; Kumar, R. Management of stored grain pest with special reference to *Callosobruchus maculatus*, a major pest of cowpea: A review. *Heliyon*. **2022**; 8(1):e08703. doi:10.1016/J.HELIYON.2021.E08703
14. Kumar, K. K.; Sridhar, J.; Murali-Baskaran, R. K.; Senthil-Nathan, S.; Kaushal, P.; Dara, S. K.; Arthurs, S. Microbial biopesticides for insect pest management in India: Current status and future prospects. *J Invertebr Pathol*. **2019**; 165:74-81. doi:10.1016/J.JIP.2018.10.008
15. Keswani, C.; Dilmashin, H.; Birla, H.; Singh, S. P. Regulatory barriers to Agricultural Research commercialization: A case study of biopesticides in India. *Rhizosphere*. **2019**; 11:100155. doi:10.1016/J.RHISPH.2019.100155
16. Malinga, L. N.; Laing, M. D. Efficacy of three biopesticides against cotton pests under field conditions in South Africa. *Crop Prot*. **2021**; 145:105578. doi:10.1016/J.CROPRO.2021.105578
17. Berrie, A.; Xu, X. Developing biopesticide-based programmes for managing powdery mildew in protected strawberries in the UK. *Crop Prot*. **2021**; 149:105766. doi:10.1016/J.CROPRO.2021.105766
18. Bapat, M. S.; Singh, H.; Shukla, S. K.; Singh, P. P.; Vo, D. N.; Yadav, A.; Sharma, A.; Kumar, D. Evaluating green silver nanoparticles as prospective biopesticides: An environmental standpoint. *Chemosphere*. **2022**; 286:131761. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.131761
19. Berini, F.; Katz, C.; Gruzdev, N.; Casartelli, M.; Tettamanti, G.; Marinelli, F. Microbial and viral chitinases: Attractive biopesticides for integrated pest management. *Biotechnol Adv*. **2018**; 36(3):818-838. doi:10.1016/J.BIOTECHADV.2018.01.002
20. Schnarr, L.; Segatto, M. L.; Olsson, O.; Zuin, V. G.; Kümmerer, K. Flavonoids as biopesticides – Systematic assessment of sources, structures, activities and environmental fate. *Sci Total Environ*. **2022**; 824:153781. doi:10.1016/J.SCITOTENV.2022.153781
21. Peng, J.; Shen, X.; El Sayed, K. A.; Dunbar, D. C.; Perry, T. L.; Wilkins, S. P.; Hamann, M. T.; Bobzin, S.; Huesing, J.; Camp, R.; Prinsen, M.; Krupa, D.; Wideman, M. A. Marine Natural Products as Prototype Agrochemical Agents. *J Agric Food Chem*. **2003**; 51(8):2246-2252. doi:10.1021/JF0207880
22. Cimmino, A.; Bahmani, Z.; Castaldi, S.; Masi, M.; Isticato, R.; Abdollahzadeh, J.; Amini, J.; Evidente, A. Phenazine-1-Carboxylic Acid (PCA), Produced for the First Time as an Antifungal Metabolite by *Truncatella angustata*, a Causal Agent of Grapevine Trunk Diseases (GTDs) in Iran. *J Agric Food Chem*. **2021**; 69(41):12143-12147. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C03877
23. Fry, F. H.; Okarter, N.; Baynton-Smith, C.; Kershaw, M. J.; Talbot, N. J.; Jacob, C. Use of a Substrate/Alliinase Combination To Generate Antifungal Activity in Situ. *J Agric Food Chem*. **2005**; 53(3):574-580. doi:10.1021/JF048481J
24. Alali, F. Q.; Liu, X. X.; McLaughlin, J. L. Annonaceous Acetogenins: Recent Progress. *J Nat Prod*. **1999**; 62(3):504-540. doi:10.1021/NP980406D
25. Nguyen, M. V.; Han, J. W.; Le Dang, Q.; Ryu, S. M.; Lee, D.; Kim, H.; Choi, G. J. Clerodane Diterpenoids Identified from *Polyalthia longifolia* Showing Antifungal Activity against Plant

- Pathogens. *J Agric Food Chem.* **2021**; 69(36):10527-10535. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C02200
26. Zhang, L.; Fasoyin, O. E.; Molnár, I.; Xu, Y. Natural products from Hypocrealean entomopathogenic fungi: Novel bioactive compounds Natural Product Reports Secondary metabolites from Hypocrealean entomopathogenic fungi: Novel bioactive compounds.
 27. Sala, A.; Barrena, R.; Sánchez, A.; Artola, A. Fungal biopesticide production: Process scale-up and sequential batch mode operation with *Trichoderma harzianum* using agro-industrial solid wastes of different biodegradability. *Chem Eng J.* **2021**; 425:131620. doi:10.1016/J.CEJ.2021.131620
 28. Sala, A.; Vittone, S.; Barrena, R.; Sánchez, A.; Artola, A. Scanning agro-industrial wastes as substrates for fungal biopesticide production: Use of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma harzianum* in solid-state fermentation. *J Environ Manage.* **2021**; 295:113113. doi:10.1016/J.JENVMAN.2021.113113
 29. Almeida, F. C. R.; Magalhães, D. M.; Favaris, P.; Rodríguez, J.; Azevedo, K. E. X.; Bento, J. M. S.; Alves, D. A. Side effects of a fungus-based biopesticide on stingless bee guarding behaviour. *Chemosphere.* **2022**; 287:132147. doi:10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.132147
 30. Ragavendran, C.; Dubey, N. K.; Natarajan, D. *Beauveria bassiana* (Clavicipitaceae): a potent fungal agent for controlling mosquito vectors of *Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *RSC Adv.* **2017**; 7(7):3838-3851. doi:10.1039/C6RA25859J
 31. Mejias, L.; Estrada, M.; Barrena, R.; Gea, T. A novel two-stage aeration strategy for *Bacillus thuringiensis* biopesticide production from biowaste digestate through solid-state fermentation. *Biochem Eng J.* **2020**; 161:107644. doi:10.1016/J.BEJ.2020.107644
 32. Brar, S. K.; Verma, M.; Tyagi, R. D.; Valéro, J. R.; Surampalli, R. Y. Sludge based *Bacillus thuringiensis* biopesticides: Viscosity impacts. *Water Res.* **2005**; 39(13):3001-3011. doi:10.1016/J.WATRES.2005.04.072
 33. Salunkhe, V. P.; Sawant, I. S.; Banerjee, K.; Wadkar, P. N.; Sawant, S. D. Enhanced Dissipation of Triazole and Multiclass Pesticide Residues on Grapes after Foliar Application of Grapevine-Associated *Bacillus* Species. *J Agric Food Chem.* **2015**; 63(50):10736-10746. doi:10.1021/ACS.JAFC.5B03429
 34. Isman, M. B. Botanical insecticides: a global perspective. In: Gross, A. D.; Coats, L. R.; Duke, S. O.; Seiber, J. N.; eds. *Biopesticides: State of the Art and Future Opportunities*. Vol 1172. American C. ACS Symposium Series. American Chemical Society; **2014**; 21-30. doi:10.1021/bk-2014-1172.ch002
 35. Ferreira, A.; Melkonyan, L.; Carapinha, S.; Ribeiro, B.; Figueiredo, D.; Avetisova, G.; Gouveia, L. Biostimulant and biopesticide potential of microalgae growing in piggery wastewater. *Environ Adv.* **2021**; 4:100062. doi:10.1016/J.ENVADV.2021.100062
 36. Smith, G. H.; Roberts, J. M.; Pope, T. W. Terpene based biopesticides as potential alternatives to synthetic insecticides for control of aphid pests on protected ornamentals. *Crop Prot.* **2018**; 110:125-130. doi:10.1016/J.CROPRO.2018.04.011
 37. Anderson, A. J.; Kim, Y. C. Biopesticides produced by plant-probiotic *Pseudomonas*

- chlororaphis* isolates. *Crop Prot.* **2018**; 105:62-69. doi:10.1016/J.CROPRO.2017.11.009
38. Xiong, H.; Li, Y.; Cai, Y.; Cao, Y.; Wang, Y. Isolation of *Bacillus amyloliquefaciens* JK6 and identification of its lipopeptides surfactin for suppressing tomato bacterial wilt.
39. Zhang, K.; Wei, J.; Huff Hartz, K. E.; Lydy, M. J.; Seok, L. T.; Sander, M.; Parker, K. M. Analysis of RNA Interference (RNAi) Biopesticides: Double-Stranded RNA (dsRNA) Extraction from Agricultural Soils and Quantification by RT-qPCR. *Environ Sci Technol.* **2020**; 54(8):4893-4902. doi:10.1021/ACS.EST.9B07781
40. Owens, D. K.; Bajsa-Hirschel, J.; Duke, S. O.; Carbonari, C. A.; Gomes, G.; Asolkar, R.; Boddy, L.; Dayan, F. E. The Contribution of Romidepsin to the Herbicidal Activity of *Burkholderia rinojensis* Biopesticide. *J Nat Prod.* **2020**; 83(4):843-851. doi:10.1021/ACS.JNATPROD.9B00405
41. Fan, X.; Kong, D.; He, S.; Chen, J.; Jiang, Y.; Ma, Z.; Feng, J.; Yan, H. Phenanthrene Derivatives from *Asarum heterotropoides* Showed Excellent Antibacterial Activity against Phytopathogenic Bacteria. *J Agric Food Chem.* **2021**; 69(48):14520-14529. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C04385
42. Luan, F.; Zeng, J.; Yang, Y.; He, X.; Wang, B.; Gao, Y.; Zeng, N. Recent advances in *Camellia oleifera* Abel: A review of nutritional constituents, biofunctional properties, and potential industrial applications. *J Funct Foods.* **2020**; 75:104242. doi:10.1016/J.JFF.2020.104242
43. Zhang, L. L.; Chen, Y.; Li, Z. J.; Li, X.; Fan, G. Bioactive properties of the aromatic molecules of spearmint (*Mentha spicata* L.) essential oil: a review. *Food Funct.* **2022**; 13(6):3110-3132. doi:10.1039/D1F004080D
44. Golec, J. R.; Hoge, B.; Walgenbach, J. F. Effect of biopesticides on different *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) life stages. *Crop Prot.* **2020**; 128:105015. doi:10.1016/J.CROPRO.2019.105015
45. Oliver, M. P.; Crouse, G. D.; Demeter, D. A.; Sparks, T. C. Synthesis and Insecticidal Activity of Spinosyns with C9- O -Benzyl Bioisosteres in Place of the 2',3',4'-Tri- O -methyl Rhamnose. *J Agric Food Chem.* **2015**; 63(23):5571-5577. doi:10.1021/ACS.JAFC.5B01987
46. Villaverde, J. J.; Sandín-España, P.; Sevilla-Morán, B.; López-Goti, C.; Alonso-Prados, J. L. Biopesticides from natural products: current development, legislative framework, and future trends. *BioResources.* **2016**; 11(2):5618-5640. doi:10.15376/biores.11.2.Villaverde
47. Zhou, C.; Luo, X.; Chen, N.; Zhang, L.; Gao, J. C-P Natural Products as Next-Generation Herbicides: Chemistry and Biology of Glufosinate. *ACS Appl Mater Interfaces.* Published online **2020**. doi:10.1021/ACS.JAFC.0C00052
48. Wang, Y.; Shao, Y.; Wang, Y.; Yu, X.; Zhi, X.; Yang, C.; Qu, H.; Yao, X.; Xu, H. Synthesis and quantitative structure-activity relationship (QSAR) study of novel isoxazoline and oxime derivatives of podophyllotoxin as insecticidal agents. *J Agric Food Chem.* **2012**; 60(34):8435-8443. doi:10.1021/JF303069V
49. Escribà, M.; Barbut, M.; Eras, J.; Canela, R.; Avilla, J.; Balcells, M. Synthesis of Allyl Esters of Fatty Acids and Their Ovicidal Effect on *Cydia pomonella* (L.). *J Agric Food Chem.* **2009**; 57(11):4849-4853. doi:10.1021/JF900097J

50. Liu, Z.; Song, R.; Zhang, D.; Wu, R.; Liu, T.; Wu, Z.; Song, B. New Synthetic Method and Insecticidal Activities of Novel Imidazopyridine Mesoionic Derivatives Containing an Ester Group. *J Agric Food Chem.* **2022**; 70(4):1019-1028. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C05879
51. Chand, P.; Babu, Y. S.; Bantia, S.; Chu, N.; Cole, L. B.; Kotian, P. L.; Laver, W. G.; Montgomery, J. A.; Pathak, V. P.; Petty, S. L.; Shrout, D. P.; Walsh, D. A.; Walsh, G. M. Design and Synthesis of Benzoic Acid Derivatives as Influenza Neuraminidase Inhibitors Using Structure-Based Drug Design. *J Med Chem.* **1997**; 40(25):4030-4052. doi:10.1021/JM970479E
52. Ruberto, G.; Renda, A.; Tringali, C.; Napoli, E. M.; Simmonds, M. S. J. Citrus limonoids and their semisynthetic derivatives as antifeedant agents against *Spodoptera frugiperda* larvae. A structure-activity relationship study. *J Agric Food Chem.* **2002**; 50(23):6766-6774. doi:10.1021/JF020607U
53. Huang, Y.; Guo, Z.; Song, H.; Liu, Y.; Wang, L.; Wang, Q. Design, Synthesis, and Biological Activity of β -Carboline Analogues Containing Hydantoin, Thiohydantoin, and Urea Moieties. *J Agric Food Chem.* **2018**; 66(31):8253-8261. doi:10.1021/ACS.JAFC.8B03087
54. Sparks, T. C.; Duke, S. O. Structure Simplification of Natural Products as a Lead Generation Approach in Agrochemical Discovery. *J Agric Food Chem.* **2021**; 69(30):8324-8346. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C02616
55. Zhao, L. X.; Peng, J. F.; Liu, F. Y.; Zou, Y. L.; Gao, S.; Fu, Y.; Ye, F. Design, Synthesis, and Herbicidal Activity of Diphenyl Ether Derivatives Containing a Five-Membered Heterocycle. *J Agric Food Chem.* **2022**; 70(4):1003-1018. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C05210
56. Wang, X. J.; Wang, M.; Wang, J. I. D.; Jiang, L.; Wang, J. I. J.; Xiang, W. S. Isolation and Identification of Novel Macrocyclic Lactones from *Streptomyces avermitilis* NEAU1069 with Acaricidal and Nematocidal Activity. *J Agric Food Chem.* **2009**; 58(5):2710-2714. doi:10.1021/JF902496D
57. Ma, S.; Jiang, W.; Hu, Y.; Wang, Q.; Wu, W.; Shi, B. Synthesis, Crystal Structure, and Insecticidal Activity of Steroidal N-Piperidone. *J Agric Food Chem.* **2022**; 70(5):1467-1476. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C06075
58. Natal, C. M.; Fernandes, M. J. G.; Pinto, N. F. S.; Pereira, R. B.; Vieira, T. F.; Rodrigues, A. R. O.; Pereira, D. M.; Sousa, S. F.; Fortes, A. G.; Castanheira, E. M. S.; Gonçalves, M. S. T. New carvacrol and thymol derivatives as potential insecticides: synthesis, biological activity, computational studies and nanoencapsulation. *RSC Adv.* **2021**; 11(54):34024-34035. doi:10.1039/D1RA05616F
59. Kavetsou, E.; Koutsoukos, S.; Daferera, D.; Polissiou, M. G.; Karagiannis, D.; Perdakis, D. C.; Detsi, A. Encapsulation of *Mentha pulegium* Essential Oil in Yeast Cell Microcarriers: An Approach to Environmentally Friendly Pesticides. *J Agric Food Chem.* **2019**; 67(17):4746-4753. doi:10.1021/ACS.JAFC.8B05149
60. Giunti, G.; Campolo, O.; Laudani, F.; Zappalà, L.; Palmeri, V. Bioactivity of essential oil-based nano-biopesticides toward *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Ind Crops Prod.* **2021**; 162:113257. doi:10.1016/J.INDCROP.2021.113257
61. Giunti, G.; Benelli, G.; Palmeri, V.; Laudani, F.; Ricupero, M.; Ricciardi, R.; Maggi, F.; Lucchi, A.; Guedes, R. N. C.; Desneux, N.; Campolo, O. Non-target effects of essential oil-based

- biopesticides for crop protection: Impact on natural enemies, pollinators, and soil invertebrates. *Biol Control*. **2022**; 176:105071. doi:10.1016/J.BIOCONTROL.2022.105071
62. Liu, Z.; Li, Q. X.; Song, B. Pesticidal Activity and Mode of Action of Monoterpenes. *J Agric Food Chem*. **2022**; 70(15):4556-4571. doi:10.1021/ACS.JAFC.2C00635
63. Finetti, L.; Ferrari, F.; Caló, G.; Cassanelli, S.; De Bastiani, M.; Civolani, S.; Bernacchia, G. Modulation of *Drosophila suzukii* type 1 tyramine receptor (DsTAR1) by monoterpenes: a potential new target for next generation biopesticides. *Pestic Biochem Physiol*. **2020**; 165:104549. doi:10.1016/J.PESTBP.2020.02.015
64. Sousa, R. M. O. F.; Rosa, J. S.; Oliveira, L.; Cunha, A.; Fernandes-Ferreira, M. Activities of apiaceae essential oils against armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Agric Food Chem*. **2013**; 61(32):7661-7672. doi:10.1021/JF403096D
65. Pinheiro, P. F.; Menini, L. A. P.; Bernardes, P. C.; Saraiva, S. H.; Carneiro, J. W. M.; Costa, A. V.; Arruda, T. R.; Lage, M. R.; Gonçalves, P. M.; Bernardes, C. O.; Alvarenga, E. S.; Menini, L. Semisynthetic Phenol Derivatives Obtained from Natural Phenols: Antimicrobial Activity and Molecular Properties. *J Agric Food Chem*. **2018**; 66(1):323-330. doi:10.1021/ACS.JAFC.7B04418
66. Floris, B.; Galloni, P.; Conte, V.; Sabuzi, F. Tailored Functionalization of Natural Phenols to Improve Biological Activity. *Biomol 2021, Vol 11, Page 1325*. **2021**; 11(9):1325. doi:10.3390/BIOM11091325
67. Eloy, M. A.; Ribeiro, R.; Meireles, L. M.; Cutrim, T. A. S.; Francisco, C. S.; Javarini, C. L.; Borges, W. S.; Costa, A. V.; de Queiroz, V. T.; Scherer, R.; Lacerda, V.; Morais, P. A. B. Thymol as an Interesting Building Block for Promising Fungicides against *Fusarium solani*. *J Agric Food Chem*. **2021**; 69(25):6958-6967. doi:10.1021/ACS.JAFC.0C07439
68. Le, T. M.; Huynh, T.; Endre, G.; Szekeres, A.; Fülöp, F.; Szakonyi, Z. Stereoselective synthesis and application of isopulegol-based bi- and trifunctional chiral compounds. *RSC Adv*. **2020**; 10(63):38468-38477. doi:10.1039/D0RA07739A
69. Pandiyan, G. N.; Mathew, N.; Munusamy, S. Larvicidal activity of selected essential oil in synergized combinations against *Aedes aegypti*. *Ecotoxicol Environ Saf*. **2019**; 174:549-556. doi:10.1016/J.ECOENV.2019.03.019
70. Da Camara, C. A. G.; Doboszewski, B.; De Melo, J. P. R.; Nazarenko, A. Y.; Dos Santos, R. B.; Moraes, M. M. Novel Insecticides from Alkylated and Acylated Derivatives of Thymol and Eugenol for the Control of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *J Braz Chem Soc*. **2022**; 33(2):196-204. doi:10.21577/0103-5053.20210137
71. Laborda, P.; Zhao, Y.; Ling, J.; Hou, R.; Liu, F. Production of Antifungal *p*-Aminobenzoic Acid in *Lysobacter antibioticus* OH13. *J Agric Food Chem*. **2018**; 66(3):630-636. doi:10.1021/ACS.JAFC.7B05084
72. Laborda, P.; Li, C.; Zhao, Y.; Tang, B.; Ling, J.; He, F.; Liu, F. Antifungal Metabolite *p*-Aminobenzoic Acid (pABA): Mechanism of Action and Efficacy for the Biocontrol of Pear Bitter Rot Disease. *J Agric Food Chem*. **2019**; 67(8):2157-2165. doi:10.1021/ACS.JAFC.8B05618

73. Nawaz, M.; Abbasi, M. W.; Tariq, M.; Graham, J. P.; Al-Hagri, A. S.; Elkarim, A. A.; Mohamed, M. E.; Nissapatorn, V.; Taha, M.; Hisaindee, S. Synthesis of metal anthranilate complexes: catalytic and antipathogenic studies. *BMC Chem.* **2022**; 16(1):1-14. doi:10.1186/S13065-022-00817-X
74. Truzzi, E.; Marchetti, L.; Benvenuti, S.; Ferroni, A.; Rossi, M. C.; Bertelli, D. Novel Strategy for the Recognition of Adulterant Vegetable Oils in Essential Oils Commonly Used in Food Industries by Applying ¹³C NMR Spectroscopy. *J Agric Food Chem.* **2021**; 69(29):8276-8286. doi:10.1021/ACS.JAFC.1C02279
75. News &Views. Greening the manufacture of pesticides for developing countries. *Green Chem.* **2003**; 5(1):G3-G6. doi:10.1039/B300502J
76. Vu, K. D.; Tyagi, R. D.; Brar, S. K.; Valero, J. R.; Surampalli, R. Y. Starch industry wastewater for production of biopesticides - ramifications of solids concentrations. *Environ Technol.* **2009**; 30(4):393-405. doi:10.1080/09593330902753495
77. Gnepe, J. R.; Tyagi, R. D.; Brar, S. K.; Valéro, J. R.; Surampalli, R. Y. Corrosion and stability study of *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki starch industry wastewater-derived biopesticide formulation. *J Environ Sci Health B.* **2014**; 49(11):889-896. doi:10.1080/03601234.2014.938561
78. Kumar, L. R.; Ndao, A.; Valéro, J.; Tyagi, R. D. Production of *Bacillus thuringiensis* based biopesticide formulation using starch industry wastewater (SIW) as substrate: A techno-economic evaluation. *Bioresour Technol.* **2019**; 294:122144. doi:10.1016/J.BIORTECH.2019.122144
79. Li, C.; Sheng, X.; Li, N.; Ping, Q.; Lu, P.; Zhang, J. Insecticidal characteristics and mechanism of a promising natural insecticide against saw-toothed grain beetle. *RSC Adv.* **2022**; 12(12):7066-7074. doi:10.1039/D1RA08740A
80. Lyn, M. E.; Burnett, D.; Garcia, A. R.; Gray, R. Interaction of Water with Three Granular Biopesticide Formulations. *J Agric Food Chem.* **2010**; 58(3):1804-1814. doi:10.1021/JF903309S
81. Piazzoni, M.; Negri, A.; Brambilla, E.; Giussani, L.; Pitton, S.; Caccia, S.; Epis, S.; Bandi, C.; Locarno, S.; Lenardi, C. Biodegradable floating hydrogel baits as larvicide delivery systems against mosquitoes. *Soft Matter.* **2022**; 18:6443. doi:10.1039/d2sm00889k
82. Duke, S. O. Interaction of Chemical Pesticides and Their Formulation Ingredients with Microbes Associated with Plants and Plant Pests. *J Agric Food Chem.* **2018**; 66(29):7553-7561. doi:10.1021/ACS.JAFC.8B02316
83. De Oliveira, J. L.; Campos, E. V. R.; Fraceto, L. F. Recent developments and challenges for nanoscale formulation of botanical pesticides for use in sustainable agriculture. *J Agric Food Chem.* **2018**; 66:8898-8913. doi:10.1021/acs.jafc.8b03183
84. Gutierrez-Villagomez, J. M.; Patey, G.; To, T. A.; Lefebvre-Raine, M.; Lara-Jacobo, L. R.; Comte, J.; Klein, B.; Langlois, V. S. Frogs Respond to Commercial Formulations of the Biopesticide *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*, Especially Their Intestine Microbiota. *Environ Sci Technol.* **2021**; 55(18):12504-12516. doi:10.1021/ACS.EST.1C02322
85. Yaakov, N.; Mani, K. A.; Felfbaum, R.; Lahat, M.; da Costa, N.; Belausov, E.; Ment, D.;

- Mechrez, G. Single Cell Encapsulation via Pickering Emulsion for Biopesticide Applications. *ACS Omega*. **2018**; 3(10):14294-14301. doi:10.1021/ACSOMEGA.8B02225
86. Kumar, A.; Kanwar, R.; Mehta, S. K. Recent Development in Essential Oil-Based Nanocarriers for Eco-Friendly and Sustainable Agri-Food Applications: A Review. *ACS Agric Sci Technol*. Published online **2022**. doi:10.1021/ACSAGSCITECH.2C00100
87. De Oliveira, J. L.; Fraceto, L. F.; Bravo, A.; Polanczyk, R. A. Encapsulation Strategies for *Bacillus thuringiensis*: From Now to the Future. *J Agric Food Chem*. **2021**; 69(16):4564-4577. doi:10.1021/ACS.JAFC.0C07118
88. Pinto, T. V.; Silva, C. A.; Siquenique, S.; Learmonth, D. A. Micro- and Nanocarriers for Encapsulation of Biological Plant Protection Agents: A Systematic Literature Review. *ACS Agric Sci Technol*. Published online **2022**. doi:10.1021/ACSAGSCITECH.2C00113
89. Liu, P.; Yang, M.; Hermanowicz, S. W.; Huang, Y. Efficacy-Associated Cost Analysis of Copper-Based Nanopesticides for Tomato Disease Control. *ACS Agric Sci Technol*. **2022**; 2(4):796-804. doi:10.1021/ACSAGSCITECH.2C00098
90. Li, Y.; Zhou, M.; Pang, Y.; Qiu, X. Lignin-Based Microsphere: Preparation and Performance on Encapsulating the Pesticide Avermectin. *ACS Sustain Chem Eng*. **2017**; 5(4):3321-3328. doi:10.1021/ACSSUSCHEMENG.6B03180
91. Chen, L.; Huang, J.; Chen, J.; Shi, Q.; Chen, T.; Qi, G.; Liu, M. Halloysite Nanotube-Based Pesticide Formulations with Enhanced Rain Erosion Resistance, Foliar Adhesion, and Insecticidal Effect. *ACS Appl Mater Interfaces*. Published online September 14, **2022**. doi:10.1021/ACSAMI.2C11234
92. Li, N.; Sun, C.; Jiang, J.; Wang, A.; Wang, C.; Shen, Y.; Huang, B.; An, C.; Cui, B.; Zhao, X.; Wang, C.; Gao, F.; Zhan, S.; Guo, L.; Zeng, Z.; Zhang, L.; Cui, H.; Wang, Y. Advances in Controlled-Release Pesticide Formulations with Improved Efficacy and Targetability. *J Agric Food Chem*. **2021**; 69(43):12579-12597. doi:10.1021/ACS.JAFC.0C05431
93. Xiang, S.; Lv, X.; He, L.; Shi, H.; Liao, S.; Liu, C.; Huang, Q.; Li, X.; He, X.; Chen, H.; Wang, D.; Sun, X. Dual-Action Pesticide Carrier That Continuously Induces Plant Resistance, Enhances Plant Anti-Tobacco Mosaic Virus Activity, and Promotes Plant Growth. *J Agric Food Chem*. **2019**; 67(36):10000-10009. doi:10.1021/ACS.JAFC.9B03484
94. Gao, Z.; Pang, L.; Feng, H.; Wang, S.; Wang, Q.; Wang, M.; Xia, Y.; Hu, S. Preparation and characterization of a novel imidacloprid microcapsule via coating of polydopamine and polyurea. *RSC Adv*. **2017**; 7(26):15762-15768. doi:10.1039/C7RA01527E
95. Fabiyi, O. A.; Saliu, O. D.; Claudius-cole, A. O.; Olaniyi, I. O.; Oguntebi, O. V.; Olatunji, G. A. Porous starch citrate biopolymer for controlled release of carbofuran in the management of root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *Biotechnol Reports*. **2020**; 25:e00428. doi:10.1016/J.BTRE.2020.E00428
96. Paulraj, M. G.; Ignacimuthu, S.; Gandhi, M. R.; Shajahan, A.; Ganesan, P.; Packiam, S. M.; Al-Dhabi, N. A. Comparative studies of tripolyphosphate and glutaraldehyde cross-linked chitosan-botanical pesticide nanoparticles and their agricultural applications. *Int J Biol Macromol*. **2017**; 104:1813-1819. doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.06.043
97. Gao, S.; Jiang, J.; Li, X.; Liu, Y.; Zhao, L.; Fu, Y.; Ye, F. Enhanced physicochemical properties and herbicidal activity of an environment-friendly clathrate formed by β -

- cyclodextrin and herbicide cyanazine. *J Mol Liq.* **2020**; 305:112858. doi:10.1016/J.MOLLIQ.2020.112858
98. Chen, L.; Zhou, H.; Hao, L.; Li, Z.; Xu, H.; Chen, H.; Zhou, X. Dialdehyde carboxymethyl cellulose-zein conjugate as water-based nanocarrier for improving the efficacy of pesticides. *Ind Crops Prod.* **2020**; 150:112358. doi:10.1016/J.INDCROP.2020.112358
99. Oliveira, J. L. D.; Campos, E. V. R.; Pereira, A. E. S.; Pasquoto, T.; Lima, R.; Grillo, R.; de Andrade, D. J.; dos Santos, F. A.; Fraceto, L. F. Zein Nanoparticles as Eco-Friendly Carrier Systems for Botanical Repellents Aiming Sustainable Agriculture. *J Agric Food Chem.* **2018**; 66(6):1330-1340. doi:10.1021/ACS.JAFC.7B05552
100. Moradi, F. G.; Hejazi, M. J.; Hamishehkar, H.; Enayati, A. A. Co-encapsulation of imidacloprid and lambda-cyhalothrin using biocompatible nanocarriers: Characterization and application. *Ecotoxicol Environ Saf.* **2019**; 175:155-163. doi:10.1016/J.ECOENV.2019.02.092
101. Hermosin, M. C.; Celis, R.; Facenda, G.; Carrizosa, M. J.; Ortega-Calvo, J. J.; Cornejo, J. Bioavailability of the herbicide 2,4-D formulated with organoclays. *Soil Biol Biochem.* **2006**; 38(8):2117-2124. doi:10.1016/J.SOILBIO.2006.01.032
102. Meng, W.; Tian, Z.; Yao, P.; Fang, X.; Wu, T.; Cheng, J.; Zou, A. Preparation of a novel sustained-release system for pyrethroids by using metal-organic frameworks (MOFs) nanoparticle. *Colloids Surfaces A Physicochem Eng Asp.* **2020**; 604:125266. doi:10.1016/J.COLSURFA.2020.125266
103. Plohl, O.; Gyergyek, S.; Zemljíč, L. F. Mesoporous silica nanoparticles modified with N-rich polymer as a potentially environmentally-friendly delivery system for pesticides. *Microporous Mesoporous Mater.* **2021**; 310:110663. doi:10.1016/J.MICROMESO.2020.110663
104. Hao, L.; Gong, L.; Chen, L.; Guan, M.; Zhou, H.; Qiu, S.; Wen, H.; Chen, H.; Zhou, X.; Akbulut, M. Composite pesticide nanocarriers involving functionalized boron nitride nanoplatelets for pH-responsive release and enhanced UV stability. *Chem Eng J.* **2020**; 396:125233. doi:10.1016/J.CEJ.2020.125233
105. Oliveira, J. L.; Campos, E. V. R.; Camara, M. C.; Vechia, J. F. D.; de Matos, S. T. S.; de Andrade, D. J.; Gonçalves, K. C.; do Nascimento, J.; Polanczyk, R. A.; de Araújo, D. R.; Fraceto, L. F. Hydrogels containing botanical repellents encapsulated in zein nanoparticles for crop protection. *ACS Appl Nano Mater.* **2020**; 3:207-217. doi:10.1021/acsanm.9b01917
106. Bae, M.; Lewis, A.; Liu, S.; Arcot, Y.; Lin, Y.; Bernal, J. S.; Cisneros-Zevallos, L.; Akbulut, M. Novel Biopesticides Based on Nanoencapsulation of Azadirachtin with Whey Protein to Control Fall Armyworm. *J Agric Food Chem.* **2022**; 70(26):7900-7910. doi:10.1021/ACS.JAFC.2C01558
107. Nuruzzaman, M.; Rahman, M. M.; Liu, Y.; Naidu, R. Nanoencapsulation, Nano-guard for Pesticides: A New Window for Safe Application. *J Agric Food Chem.* **2016**; 64(7):1447-1483. doi:10.1021/ACS.JAFC.5B05214
108. Kotliarevski, L.; Cohen, R.; Ramakrishnan, J.; Wu, S.; Mani, K. A.; Amar-Feldbaum, R.; Yaakov, N.; Zelinger, E.; Belausov, E.; Shapiro-Ilan, D.; Glazer, I.; Ment, D.; Mechrez, G. Individual Coating of Entomopathogenic Nematodes with Titania (TiO₂) Nanoparticles

- Based on Oil-in-Water Pickering Emulsion: A New Formulation for Biopesticides. *J Agric Food Chem*. Published online October 13, **2022**. doi:10.1021/ACS.JAFC.2C04424
109. Singh, G.; Ramadass, K.; Sooriyakumar, P.; Hettithanthri, O.; Vithange, M.; Bolan, N.; Tavakkoli, E.; Zwieter, L. V.; Vinu, A. Nanoporous materials for pesticide formulation and delivery in the agricultural sector. *J Control Release*. **2022**; 343:187-206. doi:10.1016/J.JCONREL.2022.01.036
 110. Raju, B. R.; Carvalho, M. M. T.; Leitão, M. I. P. S.; Coutinho, P. J. G.; Gonçalves, M. S. T. Synthesis, photophysical characterisation and photostability studies of NIR probes with aliphatic, aromatic and chlorinated terminals in 5- and 9-amino positions of benzo[*a*]phenoxazines. *Dye Pigment*. **2016**; 132:204-212. doi:10.1016/J.DYEPIG.2016.04.049
 111. Leitão, M. I. P. S.; Raju, B. R.; Naik, S.; Coutinho, P. J. G.; Sousa, M. J.; Gonçalves, M. S. T. Synthesis and photophysical studies of new benzo[*a*]phenoxazinium chlorides as potential antifungal agents. *Tetrahedron Lett*. **2016**; 57(35):3936-3941. doi:10.1016/J.TETLET.2016.07.065
 112. Aslantürk, Ö. S. In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages. In: Larramendy M, Soloneski S, eds. *Genotoxicity - A Predictable Risk to Our Actual World*. IntechOpen; **2018**: 1-2. doi:10.5772/intechopen.71923
 113. Fernandes, M. J. G.; Pereira, R. B.; Rodrigues, A. R. O.; Vieira, T.; Fortes, A. G.; Pereira, D. M.; Sousa, S. F.; Gonçalves, M. S. T.; Castanheira, E. M. S. Liposomal Formulations Loaded with a Eugenol Derivative for Application as Insecticides: Encapsulation Studies and In Silico Identification of Protein Targets. *Nanomaterials*. **2022**; 12(20):3583. doi:10.3390/NANO12203583
 114. Rodrigues, A. R. O.; Almeida, B. G.; Rodrigues, J. M.; Queiroz, M. J. R. P.; Calhelha, R. C.; Ferreira, I. C. F. R.; Pires, A.; Pereira, A. M.; Araújo, J. P.; Coutinho, P. J. G.; Castanheira, E. M. S. Magnetoliposomes as carriers for promising antitumor thieno[3,2-*b*]pyridin-7-arylamines: photophysical and biological studies. *RSC Adv*. **2017**; 7(25):15352-15361. doi:10.1039/C7RA00447H
 115. Jaafar-Maalej, C.; Diab, R.; Andrieu, V.; Elaissari, A.; Fessi, H. Ethanol injection method for hydrophilic and lipophilic drug-loaded liposome preparation. *J Liposome Res*. **2010**; 20(3):228-243. doi:10.3109/08982100903347923