



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS**  
**NATURAIS E SINTÉTICOS BIOATIVOS**



**PgPNB**

**NORMANDO ALEXANDRE DA SILVA COSTA**

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDOS *IN SILICO* E**  
**AValiação BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS DA**  
**PIPERINA**

**João Pessoa-PB**

**2019**

# **SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, ESTUDOS *IN SILICO* E AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DE NOVOS DERIVADOS DA PIPERINA**

NORMANDO ALEXANDRE DA SILVA COSTA

Tese apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba como requisito para a obtenção do título de Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: Farmacoquímica.

ORIENTADOR: PROF. DR. JOSÉ MARIA BARBOSA FILHO

COORIENTADOR: PROF. DR. PETRÔNIO FILGUEIRAS DE ATHAYDE FILHO

João Pessoa-PB  
2019

C838s Costa, Normando Alexandre da Silva.

Síntese, caracterização, estudos in silico e avaliação biológica de novos derivados da piperina / Normando Alexandre da Silva Costa. - João Pessoa, 2019.

252 f. : il.

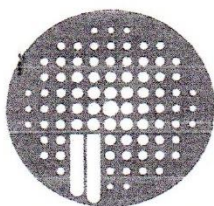
Orientação: José Maria Barbosa Filho.

Coorientação: Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Produtos naturais. 2. Ésteres. 3. Ácido pipérico. 4. Síntese orgânica. 5. Antitumoral. I. Filho, José Maria Barbosa. II. Filho, Petrônio Filgueiras de Athayde. III. Título.

UFPB/BC



# PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais  
e Sintéticos Bioativos

Ata da 292ª (ducentésima nonagésima segunda) Tese de Doutorado do aluno do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Normando Alexandre da Silva Costa**, candidato ao Título de "Doutor" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às quatorze horas (14h00) do dia cinco de fevereiro do ano dois mil e dezenove (05/02/2019), nas dependências do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o aluno **Normando Alexandre da Silva Costa**, candidato ao Título de "DOUTOR" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os pesquisadores Sócrates Golzio dos Santos, Ph.D em Farmacoquímica, Luis Cezar Rodrigues, Ph.D em Química Orgânica, Fábio Correia Sampaio, Ph.D em Cariologia, Vicente Carlos de Oliveira Costa, Ph.D em Farmacoquímica, Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, Ph.D em Química e José Maria Barbosa Filho, Ph.D em Química Orgânica. Sendo o primeiro, integrante do corpo docente da Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba e os demais integrantes do corpo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor José Maria Barbosa Filho, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o candidato **Normando Alexandre da Silva Costa**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Síntese, caracterização e estudos *in silico* de novos derivados da piperina com potencial atividade biológica". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de cinquenta minutos, o candidato foi arguido pelos Examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO**. Em face da aprovação, declarou o Presidente, achar-se o examinado **Normando Alexandre da Silva Costa**, legalmente habilitado a receber o Título de "DOUTOR" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguiera, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguiera (Secretária)

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (Orientador)

Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho (Coorientador)

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues (Examinador)

Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio (Examinador)

Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos (Examinador)

Prof. Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa (Examinador)





## **DEDICATÓRIA**

Ao meus amados pais, George e Nailza (*in memoriam*). As minhas irmãs, Nilzoneide e Neubes. A minha querida esposa, Fernanda, por sempre está ao meu lado. Ao meu filho Samuel. A todos que acreditam e lutam por seus sonhos.

## **AGRADECIMENTOS**

A realização desta tese marca o fim de uma importante etapa da minha vida. Gostaria de agradecer a todos aqueles que contribuíram de forma decisiva para a sua concretização.

A Deus soberano do universo, fonte de toda inteligência e sabedoria.

Aos meus pais, mesmo não presentes fisicamente, agradeço por firmarem em mim uma base sólida para encarar a vida.

As minhas irmãs, que sempre mantiveram carinho e amizade, acreditando e torcendo pelo meu sucesso.

A minha esposa, Fernanda, pelo apoio, companheirismo e amor.

Ao meu filho Samuel, pela esperança e o amor.

Ao Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho, orientador desta Tese, por todo empenho, sabedoria, compreensão, competência e exigência, habilidades essenciais que fizeram com que concluíssemos este trabalho.

Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde pela coorientação e amizade, durante esses quatro anos de doutorado, sempre com dedicação e competência.

A Helivaldo Diógenes e Bruno Freitas Lira, pela disponibilidade e apoio técnico para a conclusão desse trabalho.

Aos amigos do LPBS: Roxana, Rafael, Marília Gabriela, Welisson, Fernanda, Nara, Isabelle, Priscila e Michele.

Aos meus colegas de trabalho do Departamento de Biologia Molecular, pela amizade e companheirismo.

Aos técnicos: Rogério, Evandro e Alexsandro pela realização das análises de espectrometria.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Edeltrudes do laboratório de Micologia (CCS) que realizou os estudos de atividades antimicrobianas.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marianna Sobral do laboratório de Oncofarmacologia (IPeFarm) que realizou os estudos de atividade antitumoral.

A Caroline Mangueira e Nilmar de Medeiros, funcionárias do curso de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pela ajuda com a parte burocrática do curso e por todo apoio aos alunos.

Aos funcionários do IPeFarM, em especial ao Sr. Raimundo Nonato por todo auxílio.

Aos membros avaliadores: Prof. Dr. Sócrates Golzio, Prof. Dr. Luis Cézar, Prof. Dr. Fábio Correia, Prof. Dr. Vicente Carlos, por aceitarem fazer parte da minha banca de defesa de doutorado e colaborarem com este trabalho.

A todos os professores da Graduação e do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, pela ajuda na minha formação acadêmica.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro para elaboração desse trabalho.

“Você não sofre porque as coisas são impermanentes. Você sofre porque as coisas são impermanentes e você acha que elas são permanentes.”

(Thich Nhat Hanh)

## RESUMO

**Título:** Síntese, caracterização, estudos *in silico* e avaliação biológica de novos derivados da piperina.

A piperina é um alcaloide presente nas espécies do gênero *Piper*, essa molécula possui diversas atividades biológicas, muitas de interesse para a indústria farmacêutica, como atividade antitumoral. Sendo uma molécula de ocorrência natural, de extração simples com altos rendimentos. Neste trabalho, foi descrito a síntese e caracterização de 15 amido ésteres derivados da piperina, todas moléculas inéditas. Os Produtos finais foram obtidos através de uma reação substituição nucleofílica (S<sub>N</sub>2) entre o sal do ácido pipérico e as 2-cloroacetamidas substituídas, apresentando rendimentos entre 63 a 92%. A confirmação das estruturas foi feita utilizando métodos espectroscópicos, tais como IV, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C e análise elementar. As características físico-químicas, toxicológicas, biodisponibilidade oral, permeabilidade pela barreira hematoencefálica, interações com a enzima Citocromo p-450 e Glicoproteína-P, ambas análises realizadas por testes *in Silico* através de *Software* gratuitos (*SwissAdme*, *Osiris e Molispiration*). Com exceção da molécula HE12 todas as moléculas apresentam biodisponibilidade oral adequada. Na avaliação toxicológicas, as moléculas apresentaram risco reprodutivo, proveniente da estrutura natural da piperina, as moléculas HE03 e HE05 apresentaram também risco irritante e tumorigênico respectivamente. Na avaliação microbiológica das moléculas, foi usada a técnica de microdiluição para obter as concentrações inibitórias mínimas do crescimento dos microrganismos (CIM) contra os seguintes microrganismos patogênicos aos seres humanos: *Staphylococcus aureus* ATCC-13150; *Staphylococcus epidermidis* ATCC-12228; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-25853; *Cândida albicans* – ATCC 76645, LM-1108, LM; *Cândida tropicalis* ATCC 13803, LM 18 e *Aspergillus flavus* LM-714. Os resultados demonstraram que os compostos não apresentaram atividade biológica até a concentração máxima de 1024 µg/mL. Os derivados HE02 e HE03 foram submetidos a ensaios de toxicidade pré-clínica aguda, a dose letal (DL<sub>50</sub>) foi estimada em 2000mg/Kg para o HE02 e 5000 mg/kg para o HE03 (não provocou a morte de camundongos). Os compostos HE02 e HE03 apresentaram significativa atividade antitumoral *in vivo* em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE), considerando especialmente os parâmetros viabilidade e total celular, foi observado uma diminuição significativa nos animais tratados com HE02 e HE03 em todas as doses experimentais. Não houve diferença significativa entre as doses de 12,5 e 25 mg/kg de HE02 e HE03, apresentando, potente atividade antitumoral *in vivo* frente CAE. Além disso, o HE03, nessa linhagem tumoral e nas concentrações de 6,25 e 12,5 mg/kg, reduziu os parâmetros avaliados semelhante ao 5-Fluorouracil, utilizado como controle positivo nesse ensaio. Esses novos derivados revelam-se importantes compostos para serem avaliados em testes *in vivo*.

**Palavras chave:** Ésteres, Ácido pipérico, Síntese orgânica, Antitumoral.



## ABSTRACT

**Title:** Synthesis, characterization, in silico studies and biological evaluation of new piperine derivatives.

Piperine is an alkaloid present in species of the genus *Piper*, this molecule has several biological activities, many of interest to the pharmaceutical industry, as an antitumor activity. Being a naturally occurring molecule, simple extraction with high yields. In this work, the synthesis and characterization of 15 amido esters derived from piperine have been described, all molecules being unpublished. The final products were obtained by a nucleophilic substitution reaction ( $SN_2$ ) between the salt of the pentafluoric acid and the substituted 2-chloroacetamides, in yields ranging from 63 to 92%. Confirmation of the structures was done using spectroscopic methods, such as IR,  $^1H$  and  $^{13}C$  NMR and elemental analysis. The physico-chemical, toxicological, oral bioavailability, permeability by the blood-brain barrier, interactions with the enzyme Cytochrome p-450 and G-glycoprotein, both analyzes performed by *in silico* tests through free software (SwissAdme, Osiris and Molispiration). With the exception of the HE12 molecule, all molecules have adequate oral bioavailability. In the toxicological evaluation, the molecules presented reproductive risk, coming from the natural structure of piperine, the molecules HE03 and HE05 presented also irritant and tumorigenic risk respectively. In the microbiological evaluation of the molecules, the microdilution technique was used to obtain the minimum inhibitory concentrations of the microorganisms growth (MIC) against the following microorganisms pathogenic to humans: *Staphylococcus aureus* ATCC-13150; *Staphylococcus epidermidis* ATCC-12228; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-25853; *Candida albicans* - ATCC 76645, LM-1108, LM; *Candida tropicalis* ATCC 13803, LM 18 and *Aspergillus flavus* LM-714. The results demonstrated that the compounds did not present biological activity up to the maximum concentration of 1024  $\mu g/mL$ . The HE02 and HE03 derivatives were submitted to acute preclinical toxicity tests, the lethal dose (LD50) was estimated at 2000 mg / kg for HE02 and 5000 mg / kg for HE03 (did not cause death of mice). The compounds HE02 and HE03 showed significant *in vivo* antitumor activity in the Ehrlich Ascitic Carcinoma (CAE) model, especially considering the viability and total cell parameters, a significant decrease was observed in the animals treated with HE02 and HE03 at all experimental doses. There was no significant difference between the doses of 12.5 and 25 mg/kg of HE02 and HE03, presenting potent antitumor activity in vivo against CAE. In addition, HE03, in this tumor line and at concentrations of 6.25 and 12.5 mg/kg, reduced the evaluated parameters similar to 5-Fluorouracil, used as a positive control in this assay. Such new derivatives are important compounds for evaluation in *in vivo* tests.

**Keywords:** Esters, Piperic acid, Organic synthesis, Antitumor.

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Distribuição geográfica do gênero <i>Piper</i> .	5
<b>FIGURA 2.</b> Piperina, constituinte majoritário da <i>Piper nigrum</i> .	6
<b>FIGURA 3.</b> <i>Piper nigrum</i> e seus frutos.	7
<b>FIGURA 4.</b> Estruturas químicas dos derivados que demonstraram maior efeito inibitório das oxidases estudadas.	9
<b>FIGURA 5.</b> Exemplo de moléculas modificadas sinteticamente que mostraram melhores atividades biológicas.	10
<b>FIGURA 6.</b> Análogos da piperina sintetizados com aminoácidos e anilinas substituídas.	10
<b>FIGURA 7.</b> SwissADME - página de submissão.	14
<b>FIGURA 8.</b> A) Gráfico BOILED-Egg de correlação WlogP e TPSA: Na região amarela – moléculas com potencialidades em atravessar a barreira hematoencefálica; na região branca – moléculas com probabilidades de serem absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal; na região cinza – moléculas que apresentam biodisponibilidade oral desfavorável. B) Gráfico Bioavailability Radar: Moléculas plotadas completamente na área rósea apresentam condições excelentes para biodisponibilidade por administração do fármaco via oral.	15
<b>FIGURA 9.</b> Imagem do programa Osiris® Property Explore com os respectivos perfis toxicológicos, propriedades físico-químicas, <i>Druglikeness</i> e <i>Drug-Score</i> .	16
<b>FIGURA 10.</b> Estrutura geral dos novos derivados da piperina.	20
<b>FIGURA 11.</b> Paracetamol.	22
<b>FIGURA 12.</b> Estruturas da A1-16. Acetamidas derivadas do ácido paraminobenzóico (A13-15). A-16 Derivado da ciclohexalamina – acetamida alifática.	22
<b>FIGURA 13.</b> Cristais da piperina.	24
<b>FIGURA 14.</b> Estruturas e rendimentos dos derivados da piperina HE01-16.	29
<b>FIGURA 15.</b> Gráfico do radar de biodisponibilidade dos compostos HE07, HE14, HE15 e HE16 – apresenta a correlação entre tamanho da molécula, flexibilidade, solubilidade, lipofilicidade, saturação e polaridade.	141
<b>FIGURA 16.</b> Gráfico da correlação entre wlogp e tpsa, na forma de boiled-egg, para os derivados da piperina.	144
<b>FIGURA 17.</b> Efeito do tratamento com HE02 e 5-FU em camundongos transplantados com cae. A: massa tumoral. B: volume tumoral. C: viabilidade celular. D: total celular. Dados apresentados como média ± erro padrão da média de seis animais analisados por anova seguido de tukey. <sup>a</sup> <i>p</i> < 0,05 comparado ao grupo controle.	148
<b>FIGURA 18.</b> Efeito do tratamento com HE03 e 5-FU em camundongos transplantados com cae. A: massa tumoral. B: volume tumoral. C: viabilidade celular. D: total celular. Dados apresentados como média ± erro padrão da média de seis animais analisados por anova seguido de tukey. <sup>a</sup> <i>p</i> < 0,05 comparado ao grupo controle. <sup>b</sup> <i>p</i> < 0,05 comparado ao grupo HE03 (6,25 mg/kg).	148
<b>FIGURA 19.</b> Efeito do tratamento com HE02 e 5-FU na microdensidade dos vasos peritoneais de camundongos transplantados com cae. A: microdensidade dos vasos. Determinado pela área	

ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada. B: imagem representativa da membrana peritoneal dos camundongos submetidos aos diferentes tratamentos. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisado por anova seguido de tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle. .... 149

**FIGURA 20.** Efeito do tratamento com HE03 e 5-FU na microdensidade dos vasos peritoneais de camundongos transplantados com CAE. A: microdensidade dos vasos. Determinado pela área ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada. B: imagem representativa da membrana peritoneal dos camundongos submetidos aos diferentes tratamentos. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisado por anova seguido de tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle .. .... 150

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>TABELA 1.</b> Atividade biológicas apresentadas pela piperina.....	8
<b>QUADRO 1.</b> Efeitos da administração i.p. de doses únicas de HE02 em camundongos.....	146
<b>TABELA 2.</b> Rendimentos (%) e tempo de reação (h) dos intermediários ESM, ESE e ENP. .....	27
<b>QUADRO 2.</b> Efeitos da administração i.p. de doses únicas de HE03 em camundongos.....	146
<b>TABELA 3.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ de HE02. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz .....	32
<b>TABELA 4.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ de HE03. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz. .....	46
<b>TABELA 5.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ de HE04. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	58
<b>TABELA 6.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ de HE05. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	69
<b>TABELA 7.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE01. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	80
<b>TABELA 8.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE06. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	86
<b>TABELA 9.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ (50 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE07. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	92
<b>TABELA 10.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE09. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	97
<b>TABELA 11.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (200 MHz) e $^{13}\text{C}$ 50 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE10. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	100
<b>TABELA 12.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE11. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	105
<b>TABELA 13.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE12. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hz.. .....	109



<b>TABELA 14.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE13. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz..	113
<b>TABELA 15.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE14. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz..	118
<b>TABELA 16.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (400 MHz) e $^{13}\text{C}$ (100 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE15. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz..	123
<b>TABELA 17.</b> Dados dos espectros de RMN $^1\text{H}$ (500 MHz) e $^{13}\text{C}$ (125 MHz) em DMSO- $d_6$ do HE16. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em hz..	126
<b>TABELA 18.</b> Principais bandas de absorções dos derivados (HE01-09).....	130
<b>TABELA 19.</b> Principais bandas de absorções dos derivados (HE10-16).....	130
<b>TABELA 20.</b> Propriedades físico – químicas dos amidos ésteres HE01-16. ....	139
<b>TABELA 21.</b> Solubilidade, NLR, porcentagem de absorção e <i>drug-likeness</i> dos derivados HE (01-16).....	140
<b>TABELA 22.</b> Análise de toxicidade dos derivados da piperina.. ....	142
<b>TABELA 23.</b> Comportamento farmacocinético dos protótipos mediante padrões de absorção, interação com p-gp e inibição das isoformas da enzima citocromo p-450 oxidase.. ....	143
<b>TABELA 24.</b> Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ( $\mu\text{g/ml}$ ) dos compostos contra cepas bacterianas e fúngicas.....	151

## LISTA DE ESQUEMAS

<b>ESQUEMA 1.</b> Síntese dos novos derivados da piperina.....	21
<b>ESQUEMA 2.</b> Hidrolise básica da piperina .....	26
<b>ESQUEMA 3.</b> Esterificação do ácido 4-aminobenzóico.....	27
<b>ESQUEMA 4.</b> Reação geral para a síntese das acetamidas.....	28
<b>ESQUEMA 5.</b> Mecanismo proposto para a acilação da amina primária pela reação com o cloreto de 2-cloroacetila. ....	28
<b>ESQUEMA 6.</b> Mecanismo proposto para a substituição nucleofílica $SN_2$ para formação dos amidos ésteres.....	28

## LISTA DE ESPECTROS

<b>ESPECTRO 1.</b> Espectro de IV (KBr) Piperina.....	25
<b>ESPECTRO 2.</b> Espectro de IV (KBr) do ácido piperínico... ..	26
<b>ESPECTRO 3.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02. ....	33
<b>ESPECTRO 4.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02 (4,5 – 11,0 ppm).....	33
<b>ESPECTRO 5.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02 (6,0 – 8,3 ppm) .....	34
<b>ESPECTRO 6.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02 (6,90 – 8,25 ppm).....	34
<b>ESPECTRO 7.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02. ....	35
<b>ESPECTRO 8.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (100 – 170 ppm). ....	35
<b>ESPECTRO 9.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (101 – 131 ppm).. ..	36
<b>ESPECTRO 10.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (140 – 169 ppm).. ..	36
<b>ESPECTRO 11.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE02.....	37
<b>ESPECTRO 12.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (5,5 – 8,5 ppm).. ..	37
<b>ESPECTRO 13.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (7,70 – 8,30 ppm).....	38
<b>ESPECTRO 14.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (6,85 – 7,60 ppm). .....	38
<b>ESPECTRO 15.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (5,55 – 6,55 ppm).....	39
<b>ESPECTRO 16.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02.....	39
<b>ESPECTRO 17.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (10,63 – 10,87 ppm).....	40
<b>ESPECTRO 18.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (5,9 – 8,3 ppm). .....	40
<b>ESPECTRO 19.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (7,70 – 8,25 ppm).....	41
<b>ESPECTRO 20.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (6,70 – 7,55 ppm).....	41
<b>ESPECTRO 21.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (6,85 – 7,25 ppm).....	42
<b>ESPECTRO 22.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02.....	42

<b>ESPECTRO 23.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (3,5 – 9,0 ppm).	43
<b>ESPECTRO 24.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (5,6 – 8,6 ppm)..	43
<b>ESPECTRO 25.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (6,8 – 8,6 ppm)	44
<b>ESPECTRO 26.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (5,6 – 7,5 ppm	44
<b>ESPECTRO 27.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 .....	47
<b>ESPECTRO 28.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 (1,0 – 5,0 ppm).....	47
<b>ESPECTRO 29.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 (5,5 – 10,2 ppm).....	48
<b>ESPECTRO 30.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 (6,90 – 7,54 ppm).....	48
<b>ESPECTRO 31.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 .....	49
<b>ESPECTRO 32.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (100 – 170 ppm).....	49
<b>ESPECTRO 33.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (102 – 150 ppm)..	50
<b>ESPECTRO 34.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (158– 178 ppm).....	50
<b>ESPECTRO 35.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03.....	51
<b>ESPECTRO 36.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (1,0 – 8,0 ppm)..	51
<b>ESPECTRO 37.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (0,8 – 5,0 ppm)...	52
<b>ESPECTRO 38.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (9,35 – 10,25 ppm).....	52
<b>ESPECTRO 39.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (5,6 – 8,1 ppm).	53
<b>ESPECTRO 40.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (6,80 – 7,60 ppm).....	53
<b>ESPECTRO 41.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (5,70 – 6,55 ppm).....	54
<b>ESPECTRO 42.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03.....	54
<b>ESPECTRO 43.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (0,5 – 6,0 ppm).	55
<b>ESPECTRO 44.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (5,2 – 8,2 ppm).	55



<b>ESPECTRO 45.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (5,9 – 8,0 ppm)	56
<b>ESPECTRO 46.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE04.	59
<b>ESPECTRO 47.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE04 (4,4 – 10,6 ppm).	59
<b>ESPECTRO 48.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE04 (6,92 – 7,52 ppm)	60
<b>ESPECTRO 49.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04.	60
<b>ESPECTRO 50.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (100 – 150 ppm).	61
<b>ESPECTRO 51.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (118 – 136 ppm).	61
<b>ESPECTRO 52.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (145 – 172 ppm).	62
<b>ESPECTRO 53.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE04.	62
<b>ESPECTRO 54.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE04 (5,7 – 7,8 ppm).	63
<b>ESPECTRO 55.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE04 (6,85 – 7,50 ppm).	63
<b>ESPECTRO 56.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04.	64
<b>ESPECTRO 57.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (5,5 – 7,5 ppm).	64
<b>ESPECTRO 58.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (9,65 – 10,40 ppm).	65
<b>ESPECTRO 59.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (2,2 – 5,0 ppm).	65
<b>ESPECTRO 60.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04.	66
<b>ESPECTRO 61.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04 (1,1 – 6,2 ppm).	66
<b>ESPECTRO 62.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04 (5,7 – 8,1 ppm).	67
<b>ESPECTRO 63.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05.	70
<b>ESPECTRO 64.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05 (4,4 – 10,6 ppm).	70
<b>ESPECTRO 65.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05 (6,90 – 7,65 ppm).	71
<b>ESPECTRO 66.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05 (4,5 – 6,3 ppm).	71
<b>ESPECTRO 67.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05.	72

<b>ESPECTRO 68.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (95 – 170 ppm).....	72
<b>ESPECTRO 69.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (100 – 145 ppm).....	73
<b>ESPECTRO 70.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (164,2 – 168,0 ppm).....	73
<b>ESPECTRO 71.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE05.....	74
<b>ESPECTRO 72.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^1\text{H}$ -COSY do HE05 (6,0 – 7,7 ppm). .....	74
<b>ESPECTRO 73.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05.....	75
<b>ESPECTRO 74.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (6,85 – 7,65 ppm).....	75
<b>ESPECTRO 75.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (9,60 – 10,70 ppm).....	76
<b>ESPECTRO 76.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (4,3 – 6,3 ppm). .....	76
<b>ESPECTRO 77.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (5,88 – 6,22 ppm).....	77
<b>ESPECTRO 78.</b> Espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05.....	77
<b>ESPECTRO 79.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05 (4,2 – 8,0 ppm).. .....	78
<b>ESPECTRO 80.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05 (5,7 – 7,8 ppm).. .....	78
<b>ESPECTRO 81.</b> Expansão do espectro de RMN-2D $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05 (6,85 – 7,75 ppm). .....	79
<b>ESPECTRO 82.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01... ..	81
<b>ESPECTRO 83.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01 (3,5 – 10,5 ppm).....	81
<b>ESPECTRO 84.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01 (5,8 – 7,8 ppm).....	82
<b>ESPECTRO 85.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01 (6,8 – 7,7 ppm).....	82
<b>ESPECTRO 86.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01. ....	83
<b>ESPECTRO 87.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01 (102 – 148 ppm). ....	83
<b>ESPECTRO 88.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01 (118 – 126 ppm). ....	84
<b>ESPECTRO 89.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01 (147 – 173 ppm).. ....	84
<b>ESPECTRO 90.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06. ....	86

<b>ESPECTRO 91.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (4,4 – 10,6 ppm).....	87
<b>ESPECTRO 92.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (6,85 – 7,70 ppm) .....	87
<b>ESPECTRO 93.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (4,7 – 6,5 ppm) .....	88
<b>ESPECTRO 94.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06.....	88
<b>ESPECTRO 95.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (60 – 170 ppm) .....	89
<b>ESPECTRO 96.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (100 – 150 ppm).....	89
<b>ESPECTRO 97.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (162,0 – 168,0 ppm).....	90
<b>ESPECTRO 98.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE07.....	92
<b>ESPECTRO 99.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE07 (6,0 – 10,20 ppm).....	93
<b>ESPECTRO 100.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE07 (0,0 – 4,8 ppm).....	93
<b>ESPECTRO 101.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07... ..	94
<b>ESPECTRO 102.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (100 – 148 ppm).. ..	94
<b>ESPECTRO 103.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (17 – 66 ppm). .....	95
<b>ESPECTRO 104.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (146 – 172 ppm). .....	95
<b>ESPECTRO 105.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE09 .....	97
<b>ESPECTRO 106.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400MHz) do HE09 (4,6 – 8,6 ppm).....	98
<b>ESPECTRO 107.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE09. ....	98
<b>ESPECTRO 108.</b> Expansão do Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE09 (100 – 170 ppm).. ..	99
<b>ESPECTRO 109.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10. ....	101
<b>ESPECTRO 110.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10 (6,0 – 10,0 ppm).....	101
<b>ESPECTRO 111.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10 (5,0 – 8,5 ppm).....	102
<b>ESPECTRO 112.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10. ....	102
<b>ESPECTRO 113.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (100 – 170 ppm).. ..	103

<b>ESPECTRO 114.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (102 – 146 ppm).	103
<b>ESPECTRO 115.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (147 – 168 ppm).	104
<b>ESPECTRO 116.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11.	106
<b>ESPECTRO 117.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11 (4,6 – 10,6 ppm).	106
<b>ESPECTRO 118.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11 (6,6 – 7,8 ppm).	107
<b>ESPECTRO 119.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11 (6,85 – 8,00 ppm).	107
<b>ESPECTRO 120.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE12.	109
<b>ESPECTRO 121.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE12 (5,0 – 10,5 ppm).	110
<b>ESPECTRO 122.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE12 (6,90 – 7,95 ppm).	110
<b>ESPECTRO 123.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12.	111
<b>ESPECTRO 124.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12 (100 – 170 ppm).	111
<b>ESPECTRO 125.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12 (105 – 132 ppm).	112
<b>ESPECTRO 126.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13.	114
<b>ESPECTRO 127.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13 (3,5 – 11,0 ppm).	114
<b>ESPECTRO 128.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13 (5,5 – 8,2 ppm).	115
<b>ESPECTRO 129.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13.	115
<b>ESPECTRO 130.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13 (100 – 150 ppm).	116
<b>ESPECTRO 131.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13 (161,0 – 171,0 ppm).	116
<b>ESPECTRO 132.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14.	118
<b>ESPECTRO 133.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (1,2 – 4,8 ppm).	119
<b>ESPECTRO 134.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (6,0 – 10,6 ppm).	119
<b>ESPECTRO 135.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (6,0 – 8,3 ppm).	120
<b>ESPECTRO 136.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14.	120



<b>ESPECTRO 137.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14 (102 – 166 ppm). .....	121
<b>ESPECTRO 138.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14 (106 – 148 ppm). .....	121
<b>ESPECTRO 139.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do HE15.....	123
<b>ESPECTRO 140.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do HE15 (5,2 – 8,4 ppm).....	124
<b>ESPECTRO 141.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do HE15.....	124
<b>ESPECTRO 142.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do HE15 (100 – 152 ppm).....	125
<b>ESPECTRO 143.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16. ....	127
<b>ESPECTRO 144.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16 (6,6 – 7,6 ppm).....	127
<b>ESPECTRO 145.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16 (1,1 – 4,7 ppm).....	128
<b>ESPECTRO 146.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) do HE16.....	128
<b>ESPECTRO 147.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) do HE16 (100 – 150 ppm).....	129
<b>ESPECTRO 148.</b> Espectro de IV (KBr) do HE01 .....	131
<b>ESPECTRO 149.</b> Espectro de IV (KBr) do HE02.....	131
<b>ESPECTRO 150.</b> Espectro de IV (KBr) do HE03 .....	132
<b>ESPECTRO 151.</b> Espectro de IV (KBr) do HE04.....	132
<b>ESPECTRO 152.</b> Espectro de IV (KBr) do HE05.....	133
<b>ESPECTRO 153.</b> Espectro de IV (KBr) do HE06.....	133
<b>ESPECTRO 154.</b> Espectro de IV (KBr) do HE07.....	134
<b>ESPECTRO 155.</b> Espectro de IV (KBr) do HE09.....	134
<b>ESPECTRO 156.</b> Espectro de IV (KBr) do HE10.....	135
<b>ESPECTRO 157.</b> Espectro de IV (KBr) do HE11 .....	135
<b>ESPECTRO 158.</b> Espectro de IV (KBr) do HE12.....	136
<b>ESPECTRO 159.</b> Espectro de IV (KBr) do HE13.....	136
<b>ESPECTRO 160.</b> Espectro de IV (KBr) do HE14.....	137
<b>ESPECTRO 161.</b> Espectro de IV (KBr) do HE15.....	137
<b>ESPECTRO 162.</b> Espectro de IV (KBr) do HE16.....	138
<b>ESPECTRO 163.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de metila (ESM). .....	156
<b>ESPECTRO 164.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de metila (ESM).....	157

<b>ESPECTRO 165.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de etila (ESE)...	158
<b>ESPECTRO 166.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de etila (ESE)...	158
<b>ESPECTRO 167.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de n-propila (ENP)...	159
<b>ESPECTRO 168.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de n-propila (ENP).....	160
<b>ESPECTRO 169.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A1... ..	162
<b>ESPECTRO 170.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A1.. ..	162
<b>ESPECTRO 171.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A1 .....	163
<b>ESPECTRO 172.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A2 .....	164
<b>ESPECTRO 173.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ , 200 MHz) da acetamida A2.....	164
<b>ESPECTRO 174.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A2.....	165
<b>ESPECTRO 175.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A3. ....	166
<b>ESPECTRO 176.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A3. ....	166
<b>ESPECTRO 177.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A3.....	167
<b>ESPECTRO 178.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A4 .....	168
<b>ESPECTRO 179.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A4.....	168
<b>ESPECTRO 180.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A4 .....	169
<b>ESPECTRO 181.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A5... ..	170
<b>ESPECTRO 182.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ , 200 MHz) da acetamida A5.....	170
<b>ESPECTRO 183.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A5.....	171
<b>ESPECTRO 184.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A6. ....	172
<b>ESPECTRO 185.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ , 200 MHz) da acetamida A6.....	172
<b>ESPECTRO 186.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A6.....	173
<b>ESPECTRO 187.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A7. ....	174
<b>ESPECTRO 188.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A7. ....	174
<b>ESPECTRO 189.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A7.....	175
<b>ESPECTRO 190.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A9. ....	176
<b>ESPECTRO 191.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{DMSO}-d_6$ , 200 MHz) da acetamida A9. ....	176
<b>ESPECTRO 192.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A9....	177
<b>ESPECTRO 193.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A10 .....	178
<b>ESPECTRO 194.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A10.....	178
<b>ESPECTRO 195.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A10.....	179
<b>ESPECTRO 196.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A11. ....	180

<b>ESPECTRO 197.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A12 .....	181
<b>ESPECTRO 198.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A13. ....	182
<b>ESPECTRO 199.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A13. ....	182
<b>ESPECTRO 200.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A13 (7,50 – 8,60 ppm).. ....	183
<b>ESPECTRO 201.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A13. ....	183
<b>ESPECTRO 202.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A13 (114 – 170 ppm) . ....	184
<b>ESPECTRO 203.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A14.. ....	185
<b>ESPECTRO 204.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A13. ....	185
<b>ESPECTRO 205.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A14 7,1 – 8,7. ppm. ....	186
<b>ESPECTRO 206.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A14 (1,1 – 4,5 ppm). ....	186
<b>ESPECTRO 207.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A14. ....	187
<b>ESPECTRO 208.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A15. ....	188
<b>ESPECTRO 209.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15.. ....	188
<b>ESPECTRO 210.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15 (1,0 – 4,4 ppm).. ....	189
<b>ESPECTRO 211.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15 (7,1 – 8,6 ppm).. ....	189
<b>ESPECTRO 212.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A15. ....	190
<b>ESPECTRO 213.</b> Espectro de IV (KBr) da acetamida A16 .....	191

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**5-FU** – 5 - fluorouacil

**ADMET** – Absorção, Distribuição, Metabolismo, Eliminação, Toxicidade

**ALH** – Aceptores de Ligação de Hidrogênio

**ANOVA** – Análise de variância

**APT** – *Attached Proton Test*

**ATCC** – *American Type Culture Collection*

**ASD** – *Agar Sabouraud Dextrose*

**BHE** – Barreira hematoencefálica

**BHI** – *Brain na Heart Infusion*

**Calc** – Calculado

**CEUA** – Comissão de Ética no Uso de Animais

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** – Diclorometano

**CIM** – Concentração inibitória mínima

**cLogP** – Lipofilicidade

**CLSI** – *Clinical Laboratory Standards Institute*

**COSY** – *Correlation Spectroscopy*

**d** – dubleto

**dd** – duplo dubleto

**ddd** – duplo duplo dubleto

**DMF** – Dimetilformamida

**DMSO** – Dimetilsulfóxido

**Et<sub>3</sub>N** – Trietilamina

**EtOH** – Álcool etílico

**Exp** – Experimental

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** – Ácido sulfúrico

**HMBC** – *Heteronuclear Multiple-bond Coherence*

**HSQC** – *Heteronuclear Single Quantum Coherence*

**Hz** – Hertz

**IV** - Infravermelho

**J** - Constante de acoplamento

**KBr** – brometo de potássio

**KOH** – Hidróxido de potássio

**LogS** - Solubilidade

**MHz** – Megahertz

**MM** – Massa Molecular

**OECD** – *Organization for Economic Co-operation and Development*

**p. f.** – Ponto de fusão

**p-GP** – p-GlicoProteína

**q** - quarteto

**RMN <sup>13</sup>C** – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono

**RMN <sup>1</sup>H** – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**RPMI** – *Roswell Park Memorial Institute*

**s** – Singleto

**SN<sub>2</sub>** – Substituição Nucleofílica do tipo 2

**SNA** – Sistema Nervoso Autônomo

**SNC** – Sistema Nervoso Central

**t** – Tripleto

**THF** – Tetraidrofurano

**TMS** – Tetrametilsilano

**UFC** – Unidade Formadora de Colônia

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b>	2
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b>	5
2.1 O GÊNERO <i>PIPER</i>	5
2.1.1 Usos etnobotânicos de algumas espécies do gênero <i>Piper</i>	5
2.2 PIPERINA	6
2.2.1 Atividades farmacológicas da piperina	7
2.2.2 Alguns trabalhos envolvendo modificações estruturais na piperina	9
2.3 Estudos <i>In Silico</i>	11
<b>3. OBJETIVOS</b>	18
3.1 Objetivos gerais	18
3.2 Objetivos específicos:	18
<b>4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA</b>	20
4.1 Planejamento para a síntese dos novos derivados da piperina	20
4.2 Acetamidas	21
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	24
5.1 Planejamento para a síntese dos novos derivados da piperina	24
5.1.1 Extração da piperina dos frutos secos da <i>Piper nigrum</i>	24
5.1.2 Preparação do ácido pipérico (hidrólise básica da piperina)	25
5.1.3 Esterificação do ácido para-aminobenzóico	26
5.1.4 Síntese das acetamidas alifática e aromáticas substituídas	27
5.1.5 Síntese dos novos derivados amido ésteres (HE01-16)	28
5.2 Determinação estrutural dos novos derivados da piperina	30
5.2.1 Interpretação dos espectros de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ) - 2-oxo-2-(4-nitrofenilamina) - piperidinoato de etila (HE02)	30
5.2.2 Interpretação dos espectros de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-2-oxo-2-(4-etilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE03)	45
5.2.3 Interpretação dos espectros de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> ) -2-oxo-2-(4-metilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE04)	56
5.2.4 Interpretação dos espectros de RMN <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C (2 <i>E</i> ,4 <i>E</i> )-2-oxo-2-(4-bromofenilamina)-piperidinoato de etila (HE05)	67

5.2.5 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(fenilamina) - piperidinoato de etila (HE01).	79
5.2.6 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-clorofenilamina) - piperidinoato de etila (HE06).	85
5.2.7 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-isopropifenilamina) - piperidinoato de etila (HE07).	90
5.2.8 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(3-nitro-4-clorofenilamina) - piperidinoato de etila (HE09).	96
5.2.9 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-metóxfenilamina) - piperidinoato de etila (HE10).	99
5.2.10 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-trifluormetilfenilamina) - piperidinoato de etila (HE11).	104
5.2.11 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-sulfonilfenilamina) - piperidinoato de etila (HE12).	108
5.2.12 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de metila) -fenilamina] - piperidinoato de etila (HE13).	112
5.2.13 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de etila) -fenilamina] - piperidinoato de etila (HE14).	117
5.2.14 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de n-propila) -fenilamina] - piperidinoato de etila (HE15).	122
5.2.15 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(cicloexilamina) - piperidinoato de etila (HE16).	125
5.3 Análise dos espectros de infravermelhos dos derivados HE01-16.	129
5.4 Discussão das avaliações biológicas.	139
5.4.1 Estudos <i>in silico</i> .	139
5.4.1.1 Estudo <i>in silico</i> das propriedades físico-químicas dos derivados da piperina	139
5.4.1.2 Estudo <i>in silico</i> de toxicidade dos derivados da piperina	142
5.4.1.3 Estudo <i>in silico</i> das interações da piperina e seus derivados com proteínas e enzimas.	143
5.4.2 Resultado dos ensaios de toxicidade pré-clínica aguda e de atividade antitumoral <i>in vivo</i> do HE02 e HE03.	145

5.4.2.1 Resultados da toxicidade pré-clínica aguda .....	145
5.4.2.2 Atividade antitumoral <i>in vivo</i> em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE).....	147
5.4.2.3 Atividades antiangiogênicas do HE02 e HE03.....	149
5.4.3 Resultados da atividade antibacteriana e antifúngica da piperina e seus derivados (HE01-16).....	151
<b>6. SEÇÃO EXPERIMENTAL.....</b>	<b>153</b>
6.1 Materiais .....	153
6.2 Equipamentos .....	153
6.3 Preparação dos compostos intermediários.....	154
6.3.1 Isolamento da amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (piperina) (1) (Ikan, 1991) .....	154
6.3.2 Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (ácido pipérico) (2) .....	154
6.3.3 Preparação dos precursores das acetamidas A13, A14 e 15 através de esterificação do ácido paraminobenzóico (PABA).....	155
6.3.4 Preparação das 2-cloro-N- (aril ou alil) acetamida (A1-16).....	161
6.4 Preparação dos compostos finais.....	191
6.4.1 Síntese dos compostos 2-oxo-N-(alil ou arilamina)-piperidinoato de etila (HE01-16).....	191
6.5 Estudos <i>in silico</i> .....	202
6.6 Ensaio de toxicidade pré-clínica aguda e de atividade antitumoral <i>in vivo</i> do HE02 e HE03.....	202
6.6.1 Avaliação da toxicidade pré-clínica aguda .....	203
6.6.2 Avaliação do HE02 e HE03 sobre o SNC e SNA.....	203
6.6.3 Avaliação da atividade antitumoral <i>in vivo</i> em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE).....	203
6.6.4 Avaliação dos efeitos antitumorais do HE02 e HE03 .....	204
6.6.5 Avaliação dos efeitos antiangiogênicos do HE02 e HE03 .....	204
6.7 Estudo da atividade antibacteriana e antifúngica da piperina e seus derivados (HE01-16).....	204
6.7.1 Local de trabalho .....	204
6.7.2 Produtos testados .....	205



6.7.3 Meios de cultura .....	205
6.7.4 Microrganismos .....	205
6.7.5 Inóculo .....	206
6.7.5 Concentração inibitória mínima (CIM) .....	206
<b>7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS .....</b>	<b>209</b>
7.1 Conclusões.....	209
7.2 Perspectivas.....	210
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>212</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>222</b>

# Introdução

## 1. INTRODUÇÃO

A Química Medicinal, conforme a União de Química Pura e Aplicada (IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry), é uma disciplina que se baseia nos conhecimentos da química integrando diversas áreas do conhecimento, envolvendo as ciências biológicas, médicas e farmacêuticas, com a finalidade de descobrir, planejar, identificar e preparar moléculas bioativas, além do estudo e interpretação do seu modo de interação a nível molecular, seu metabolismo e das relações entre atividade biológica e estrutura química (WERMUTH et al., 2003).

Com os avanços tecnológicos da indústria farmacêutica, houve crescente interesse na descoberta de novas drogas capazes de produzir efeitos favoráveis à saúde e bem-estar do indivíduo. Assim, a principal meta da indústria farmacêutica é o alívio e a cura das doenças. A indústria farmacêutica tem incessantemente buscado moléculas com maior seletividade e menor latência de ação, toxicidade e efeitos colaterais. Essas características conferem boa aderência ao tratamento de pacientes e, como consequência, garante tolerabilidade maior ao uso (CORRÊA et al., 2011).

As estratégias modernas usadas na elaboração de novas moléculas-protótipo se baseiam na "prévia definição do mecanismo de ação terapêutica pretendida e por sua vez, do alvo-terapêutico escolhido" (BARREIRO, 2009).

Na química medicinal a relação estrutura química e atividade biológica (QSAR) compreende os "efeitos que a estrutura química de um composto pode causar durante sua interação com o receptor biológico" (KAPETANOVIC, 2008; ARROIO et al., 2010).

Uma importante área da química medicinal, a síntese de fármacos, permite a construção de compostos de vários níveis de complexidade, a qual visa a aquisição de novas moléculas bioativas que representam uma elevada parcela do mercado farmacêutico. O tratamento de enfermidades, atualmente, requer a busca de novos compostos candidatos a fármacos (VAN DE WATERBEEMD e GIFFORD, 2003).

Há várias estratégias usadas na química farmacêutica no planejamento, desenvolvimento e combinação para formação de novos fármacos, como latenciação, bioisosterismo, simplificação, homologação e hibridização molecular, sendo esta última uma boa estratégia na elaboração de novos fármacos que consiste na união covalente de dois grupos (fragmentos) farmacofóricos ou que já apresentem atividades farmacológicas reconhecidas, sendo que esta nova molécula hibridizada deverá ser mais bioativa que os fragmentos

moleculares separados e também mais ativos que a mistura equimolar das mesmas moléculas separadas (VIEGAS-JUNIOR *et al*, 2007).

A piperina, por ser uma molécula com amplo espectro de atividades biológicas, desempenha um importante papel na síntese orgânica e têm atraído atenção considerável na química farmacêutica. Assim como nos últimos anos, tem havido um amplo interesse na descoberta de novas moléculas derivadas, devido às suas atividades farmacológicas (FERREIRA, W. S. et al., 2012).

Neste trabalho pretende-se unir ao grupo pipérico, proveniente do alcalóide piperina, as acetamidas aromáticas ou alifáticas, moléculas com ampla atividade biológica e sintetizar uma série de compostos, avaliando estas moléculas quanto às suas propriedades de permeação e biodisponibilidade oral segundo a regra de Lipinski “*in silico*”, visando à obtenção de moléculas potencialmente terapêuticas para o desenvolvimento de novos medicamentos.

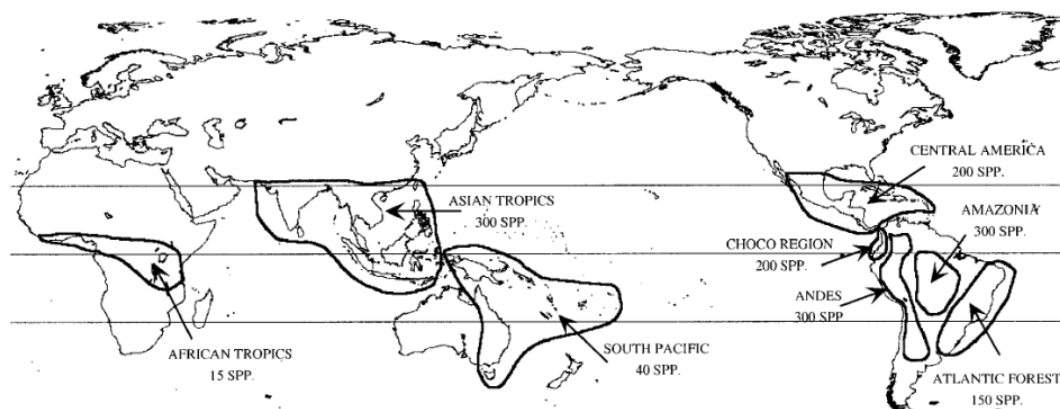
# Fundamentação Teórica

## 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 O GÊNERO *PIPER*

Esse gênero é bastante distribuído em regiões tropicais e subtropicais do globo (Figura - 1), entre os trópicos americanos se concentra a sua grande maioria, cerca de 700 espécies distribuídas em toda a América central, contabilizando 2000 espécies em todo o mundo (RUIZ et al., 2013).

**Figura 1.** Distribuição geográfica do gênero *Piper*.



**Fonte:** JARAMILLO E MANOS, 2001

O gênero *Piper* é de suma importância ecológica. Grandes variedades de insetos interagem com as espécies de *Piper*, onde observaram interações de predatismo, sequestro, biotransformação de metabólitos secundários, relações de competição e de comensalismo (NOVOTNY et al., 2003; RAMOS et al., 2008; VANIN et al., 2008).

#### 2.1.1 Usos etnobotânicos de algumas espécies do gênero *Piper*

Alguns espécimes pertencentes ao gênero *Piper* são usados na medicina tradicional em várias partes do globo. No Brasil duas espécies são usadas em dores de dentes, a *Piper corcovadensis* e a *P. scutifolium*, ambas espécies nativas e endêmicas da mata Atlântica, usadas para esses fins devido a efeitos adormecedores (anestésicos) da boca (WHITTON et al., 2003).

Há relatos de vários usos em toda América latina, no México a espécie *P. aduncum* (partes inteiras da planta cozida e como temperos) é usada como adstringente, estimulante e diurética, outra espécie utilizada é a *P. Sanctum*, a qual se usa como analgésica e sua infusão

no combate de asma e bronquite (GRIJALVA, 2006). Na Bolívia, algumas etnias usam plantas do gênero *Piper* como antiparasitários e antimaláricos, as espécies *P. rusby*, *P. leavilimum* e *P. aduncum* apresentam atividade leishmanicida e tripanocida contra as espécies *L. amazonenses*, *Leshmania sp.* e *Typanosoma cruzi* (FLORES, 2006). Na Colômbia utilizam as raízes maceradas da *P. darienense* e *P. phytolaccifolium* para serem usadas como anestésico em afecções bucais. As folhas da *P. peltatum* são aplicadas em forma de cataplasmas para tratar inflamações (FLORES, 2006).

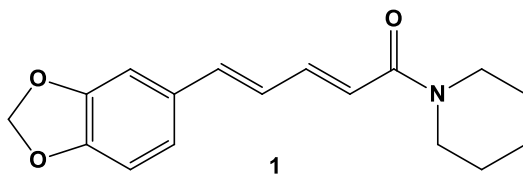
No continente africano a espécie *Piper guineense* é usada para o tratamento das dores estomacais. Nas ilhas do pacífico, utilizam-se as raízes da *P. methysticum* em forma de bebida como tranquilizantes para combater a ansiedade, usam-se ainda raízes e frutos de *P. chaba* são utilizadas para tratar a asma, bronquite, dores abdominais e hemorroidas (FLORES, 2006).

A mais conhecida espécie a *Piper nigrum*, conhecida como pimenta do reino, é usada principalmente como condimento e amplamente utilizada nas culturas indianas e chinesas para diversos fins (WHITTON et al., 2003).

## 2.2 PIPERINA

O alcaloide de ocorrência natural piperina (amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil) - *E*-4-pentadienóico - Figura 2) é o constituinte químico majoritário da *Piper nigrum*, aparecendo em maiores concentrações nos frutos das plantas (KARPAKAVALLI et al., 2012). *Piper nigrum* (popularmente denominada como pimenta do reino) tem seu uso propagado na medicina *ayurvédica* na Índia, país de onde é nativa. O Brasil é um dos maiores produtores da pimenta do reino, onde seu uso predominante é como condimento, oscilando entre a segunda e terceira posição no mercado mundial. Das 50 mil toneladas anuais, cerca de 45 mil são para a exportação, principalmente para os Estados Unidos e Europa (CEPLAC, 2015).

**Figura 2.** Piperina, constituinte majoritário da *Piper nigrum*.



Um aspecto importante deste alcaloide é a sua abundância, o qual é extraído com rendimentos em cerca de 3-7 %, a partir dos frutos secos (IKAN, 1991). Além do mais, devido

a maior concentração da substância nos frutos, a pimenta do reino é uma ótima fonte renovável para a piperina, uma vez que o manejo apropriado, pode-se realizar diversas coletas anuais sem o comprometimento da planta. A Figura 3 mostra a espécie *Piper nigrum* com os frutos em destaque.

**Figura 3.** *Piper nigrum* e seus frutos.



**Fonte:** <http://www.kew.org/science-conservation/plants-fungi/piper-nigrum-black-pepper> <> acessado em 10 de agosto de 2017.

### **2.2.1 Atividades farmacológicas da piperina**

A imensa pluralidade de atividades biológicas apresentada em estudos farmacológicos pela piperina é muito ampla, evidenciando esta importante amida presente nas espécies do gênero *Piper*. O uso da pimenta do reino como especiaria é tão antiga quanto o conhecimento de suas atividades inseticidas, que foram cientificamente confirmadas em 1924 (SCOTT, 1978). Desde então surgiram várias pesquisas com o intuito de identificar as propriedades farmacológicas atribuídas a esta molécula. Algumas delas encontram-se citadas na Tabela 1.



**Tabela 1.** Atividade biológicas apresentadas pela piperina.

ATIVIDADES BIOLÓGICAS	REFERÊNCIAS
Adipogênica	ZHANG et al., 2008
Amebicida	MARQUES et al., 2010
Anticonvulsivante	PEDERSEN et al., 2009
Antichagásica	LIMA et al., 2012
Antidiabéticos	NITTA et al., 2008
Antidepressiva	MAO et al., 2011; SONG LI et al., 2007; LEE et al., 2005
Antifúngica	MARQUES et al., 2010; LEE et al., 2001
Anti-inflamatória	BANG et al., 2009; BAE et al., 2010
Antitérmica	PARMAR et al., 1997
Antitumoral	SIMÕES et al., 2004; RAO et al., 2012
Fertilizante	PAWINEE PIYACHATURAWAT et al., 1997
Hepatoprotetora	MATSUDA et al., 2009
Inibição da resistência bacteriana	SANGWAN et al., 2008
Leshmanicida	SINGH et al., 2010
Tripanocida	FREIRE-DE-LIMA et al., 2008; RIBEIRO, 2004.

Na literatura encontram-se relatos sobre o efeito antitumoral da piperina. Além do estudo *in vitro* frente às linhagens de células cancerígenas, foi avaliada a atividade antitumoral da piperina *in vivo* (ratos), utilizando-se doses de 1,14 mg Kg<sup>-1</sup> animal. Constatou-se neste estudo a diminuição do crescimento do tumor induzido (linfoma de Dalton) em 37%, e a elevação da expectativa de vida dos animais acometidos pelo carcinoma de Ehrlich em até 58% (SUNILA e KUTTAN, 2004).

Estudos constataram a ação da piperina na inibição da atividade, da enzima monoamina oxidase (MAO), em ratos. Enzima responsável por catalisar a desaminação oxidativa de neurotransmissores como, por exemplo, dopamina e serotonina. As substâncias inibidoras da

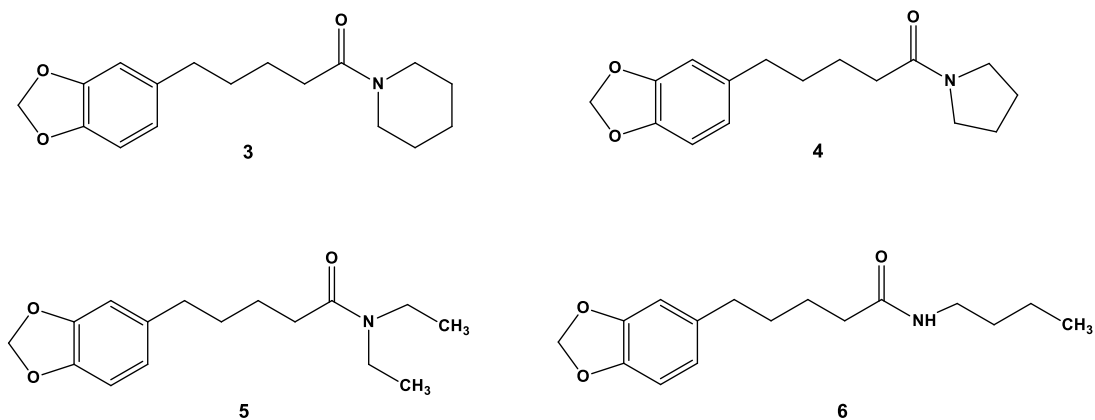
MAO são utilizadas no tratamento de transtornos mentais, especialmente como antidepressivas e, na terapia das doenças de Alzheimer e Parkinson (LEE et al., 2005).

### 2.2.2 Alguns trabalhos envolvendo modificações estruturais na piperina

Na literatura encontra-se várias atividades farmacológicas associadas à piperina, entre esses trabalhos destacam-se alguns que além de mostrarem o efeito da piperina evidenciaram também o efeito de derivados e análogos, com o objetivo de esboçar um perfil de relação estrutura-atividade (SAR) para os modelos estudados.

Koul e colaboradores demonstraram que a piperina e derivados inibem enzimas hepáticas (oxidases), dependentes do citocromo P450. Foi observado que a saturação da cadeia lateral da piperina resultou em um aumento da inibição enzimática, enquanto que, nas modificações do anel aromático e na função amídica foram poucos os análogos (Figura 4) que demonstraram seletividade em inibir a atividade das oxidases estudadas (KOUL et al., 2000).

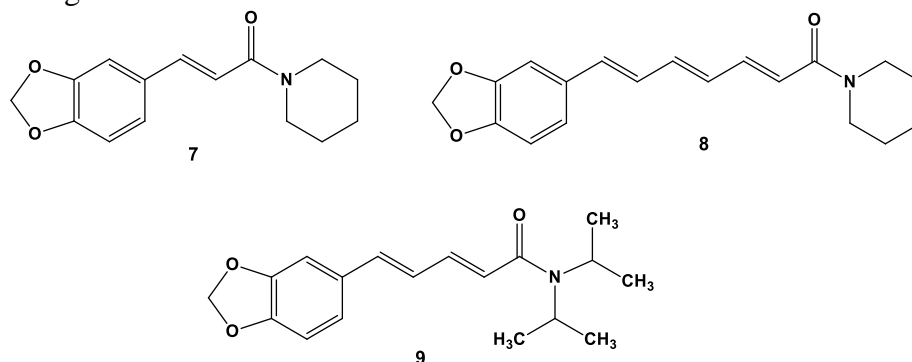
**Figura 4.** Estruturas químicas dos derivados que demonstraram maior efeito inibitório das oxidases estudadas.



Lin e colaboradores (1999) descreveram sobre a atividade biológica da piperina na proliferação de melanócitos, através desses estudos, Venkatasamy e colaboradores (2004) sintetizaram uma série de análogos e derivados do alcalóide natural, tendo como meta um estudo de relação estrutura-atividade (SAR). Foram examinados os seus efeitos biológicos sobre a proliferação e diferenciação dos melanócitos. A perda progressiva dos melanócitos e despigmentação da pele ocasiona o vitiligo, doença que assola cerca de 1% da população mundial, variando de 0,1-9% em diferentes países. A Figura 5 mostra alguns exemplos de moléculas modificadas sinteticamente que apresentaram atividades biológicas mais relevantes,

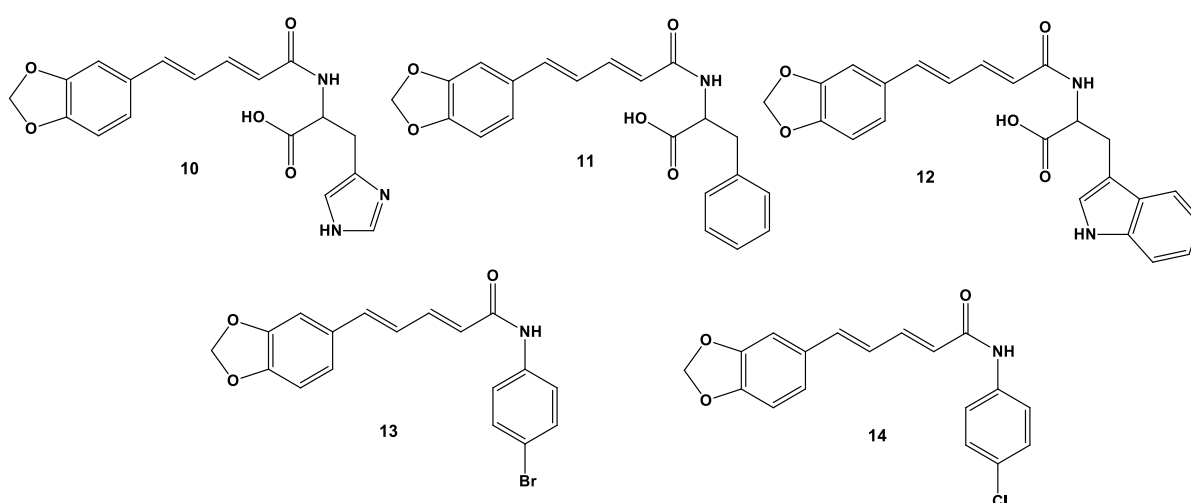
apontando a piperina como precursor de novos protótipos no tratamento do vitiligo (LIN et al., 1999; VENKATASAMY et al., 2004).

**Figura 5.** Exemplo de moléculas modificadas sinteticamente que mostraram melhores atividades biológicas.



Diversos relatos encontrados na literatura descrevem modificações estruturais na piperina, como exemplo o uso de análogos da piperina, sintetizados com diferentes anilinas substituídas e aminoácidos (Figura 6), onde foram testadas frente as atividades antitumorais e antimicrobianas (UMADEVI *et al*, 2013). Esses estudos demonstraram que o composto **12**, formado através de uma hibridização da piperina com o aminoácido triptofano, inibiu o crescimento de linhagens de células HeLa (primeira linhagem celular imortal cultivada com sucesso em laboratório).

**Figura 6.** Análogos da piperina sintetizados com aminoácidos e anilinas substituídas.



O Composto **10**, um híbrido do aminoácido histidina com a piperina possuindo em sua estrutura um anel imidazol, possui efeito citotóxico contra linhagem de células do câncer de

mama. Esses dados demonstram que os derivados da piperina apresentaram atividades superiores do que usando apenas a piperina isolada (UMADEVI *et al*, 2013).

### **2.3 Estudos *in silico***

O procedimento para obtenção de novos fármacos necessita de tempo e de recursos, por ser um processo oneroso, os estudos teóricos são cruciais para minimizar essas demandas, pois indicam quais são as moléculas mais adequadas para possíveis fármacos. Para vários autores não apenas moléculas com baixa toxicidade e com significante atividade biológica serão bons candidatos a fármacos, mas é necessário atender aos parâmetros ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção e Toxicidade). Tais parâmetros avaliam a potencialidade de absorção por via oral, importante via de administração de medicamentos, a concentração do fármaco no alvo terapêutico, seu metabolismo e sua consequente eliminação. (DAINA *et al*. 2017; SAVJANI *et al*. 2012; VEBER *et al*. 2002; LIPINSKI *et al*. 1997, 2001). Essas análises evitam que ocorram síntese de protótipos com farmacocinética desfavorável, evitando o gasto de recursos desnecessários.

A absorção de um composto é importante para o projeto de novos fármacos, principalmente para analisar a permeabilidade da droga administrada por uma via extravascular, onde o fármaco perfunde os tecidos até a circulação sanguínea e posteriormente atinge seu alvo biológico. (BARREIRO e FRAGA, 2014).

Outro aspecto importante é a distribuição, a qual é a saída do fármaco da circulação sanguínea para os demais fluidos (intersticiais e intracelulares), para isso o fármaco pode estar ligado a proteínas ou na sua forma livre, dependendo de fatores físico-químicos da molécula e da fisiologia do organismo. (BARREIRO e FRAGA, 2014).

O metabolismo (biotransformação) de um fármaco tem duas funções: a mais comum é a possibilidade de excretar substâncias lipossolúveis e a outra é a ativação de drogas administradas como pró-fármacos. A biotransformação só é possível através de várias reações que ocorrem nessa etapa, como oxidação, hidroxilação, desaminação, desalquilação e a hidrólise (BARREIRO e FRAGA, 2014). As reações metabólicas acontecem principalmente no fígado, mas poderá acontecer nos rins, no trato intestinal, nos pulmões e no sangue (TOZER e ROWLAND, 2009).

A principal via de excreção de um fármaco é a renal através da urina, portanto moléculas pequenas, para serem carreadas, e hidrossolúveis são mais fáceis de serem eliminadas (TOZER e ROWLAND, 2009).

Os parâmetros ADME podem ser previstos através de estudos *in silico*, baseando-se em critérios físico-químicos calculados. Dentre esses critérios a lipofilicidade, a solubilidade em água, tamanho da molécula e sua flexibilidade. Fazendo uma verificação prévia desses parâmetros poderá reduzir o tempo usual em estudos farmacocinéticos na fase clínica.

- **LIPOFILICIDADE:** É obtida pelo coeficiente de partição entre n-octanol e água ( $\log P_{o/w}$ ). Parâmetro crucial no desenvolvimento de novos fármacos, pois pode interferir na absorção, temos que moléculas lipossolúveis atravessam passivamente as membranas plasmáticas, porém se essa lipofilicidade for alta dificultará sua distribuição pela circulação sanguínea, devido os fluidos serem aquosos. Temos que um Log P favorável não deverá ser elevado de forma que prejudique a solubilidade nos fluidos biológicos, nem tão baixo que evite a interação e premeação de membranas lipídicas, ou seja, é o balanço ideal entre a solubilidade e lipofilia (ELDER et al., 2013; LIPINSKI et al., 1997).
- **SOLUBILIDADE:** Ter uma molécula solúvel facilita muitas atividades de desenvolvimento de drogas, principalmente a facilidade de manuseio e formulação. Além disso, para os projetos de descoberta dirigidos à administração oral, a solubilidade é uma das principais propriedades que influenciam na absorção. Além disso, uma droga destinada ao uso parenteral deve ser altamente solúvel em água para fornecer uma quantidade suficiente de ingrediente ativo no pequeno volume de tais produtos farmacêuticos (BARREIRO e FRAGA, 2014). A solubilidade, apesar de ser significativamente influenciada pelo Log P também é influenciada por outros tipos de fatores físico-químicos, como a ionização da molécula e de sua polaridade, fatores estes dependentes de suas características estruturais e do seu pKa (ALI et al. 2012). Moléculas ionizadas terão maiores dificuldades de interagirem com membranas lipofílicas, ocasionando uma má absorção destes compostos. (ALI et al. 2012). O fator solubilidade influencia em todos os parâmetros ADME.
- **TAMANHO DA MOLÉCULA:** Nesse parâmetro entra em consideração a massa molar, o volume e a área superficial da molécula, sendo o ideal moléculas com massa molar menor que 500g/mol, e área superficial polar inferior a 140 Å<sup>2</sup> (MUEGGE et al, 2001; EGAN et al, 2000). O tamanho da molécula interfere diretamente na absorção e na biodisponibilidade de fármacos administrados por

via oral, devido as moléculas grandes dificultar a entrada pelas barreiras hematoencefálicas e perfusão em meio intestinal (LIPINSKI et al, 1997).

- **FLEXIBILIDADE:** Diz respeito ao número de ligações rotacionáveis não terminais e não cíclicas. É totalmente influenciada pela TPSA (Topological Polar Surface Area), como também pelo número de aceptores e doadores de ligação de hidrogênio, outro fator é a presença de insaturações na molécula que também interfere na flexibilidade, pois leva a redução da fração de  $C_{sp}^3$  (LOVERING et al, 2009). Para drogas com menores números de ligações rotacionáveis ocorre uma boa biodisponibilidade quando administrada via oral, porém a flexibilidade é importante para o fármaco se ligar ao sítio ativo, efetivando sua ativação (VEBER et al, 2002).

Os parâmetros ADME acrescidos pela Toxicidade (ADMET) é conhecido como a regra de Linpiski (“Lipinski *rule*”) ou “regra dos cinco” (“*rule of five*”). A "regra dos cinco" é utilizada pelas indústrias farmacêuticas para estimar a solubilidade e a permeabilidade de fármacos administrados pela via oral. A partir dos resultados obtidos, pode-se prever as influências moleculares e estruturais de um fármaco na absorção de um composto (CAMPOS-BUZZI et al., 2010).

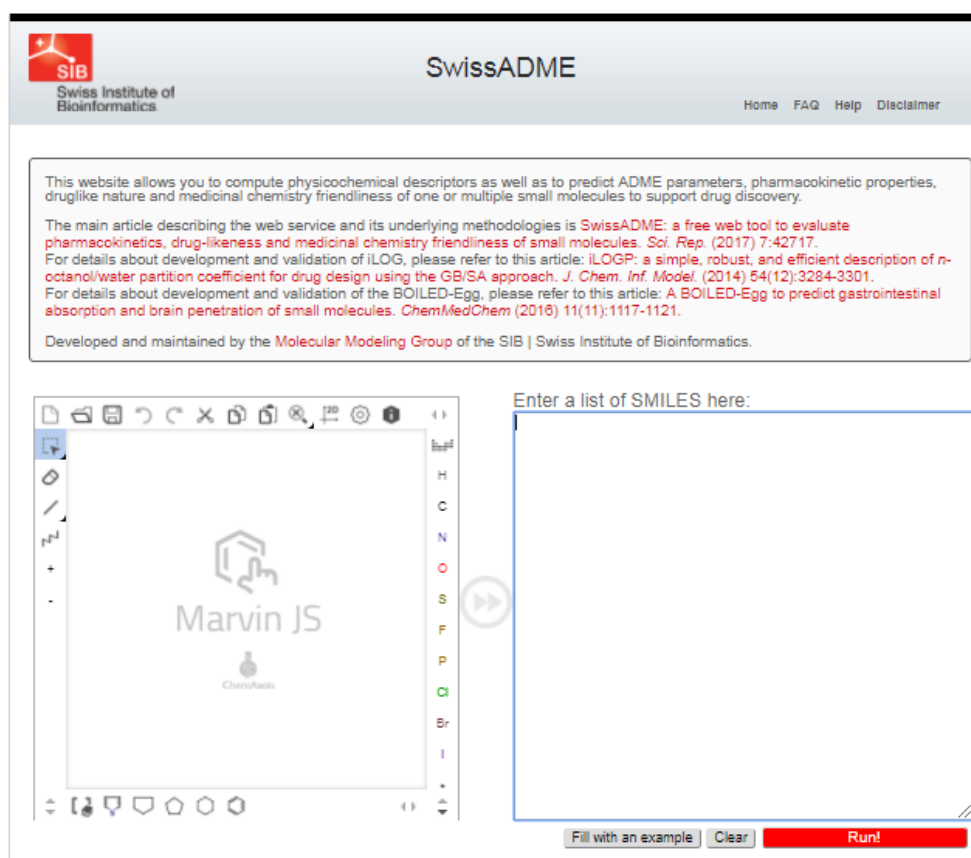
De acordo com a regra de Linpiski, para uma boa absorção após a administração por via oral ou de uma boa permeabilidade na Membrana lipídica, é mais provável para moléculas que não violam mais de um dos parâmetros a seguir:

- I. Peso molecular menor ou igual a 500g/mol;
- II. Log P menor ou igual a 5;
- III. Número de grupos aceptores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 10 (Obtido através da soma de átomos de N e O na molécula);
- IV. Número de grupos doadores de ligação de hidrogênio menor ou igual a 5 (Obtido através da soma dos grupos de NH e OH na molécula).

Atualmente existem vários métodos de estudos *in silico* desenvolvidos com a meta de prever os parâmetros ADME com base na estrutura molecular da droga. Dentre os softwares online e gratuito, o SwissADME (Figura 7) é o programa mais atual para os estudos *in silico* (DAINA et al. 2017). Esse software considera o Log P em cinco formas diferentes, na forma de XLogP3, onde existem fatores corretivos (CHENG et al. 2007), no tipo WLogP o qual considera unicamente fragmentação da molécula, sendo um método apenas atomístico

(WILDMAN e CRIPPEN, 1999), na forma de MlogP calculado através de uma relação linear entre 13 descritores moleculares (MORIGUCHI et al. 1994; MORIGUCHI et al. 1992), na forma de ILogP considerando a energia livre de solvatação (DAINA et al. 2014) e o método híbrido SILICOS-IT que considera 27 fragmentos e 7 descritores, os quais são calculados pelo programa FILTER-IT (<http://silicos-it.be.s3-website-eu-west-1.amazonaws.com/>), através da média aritmética dos cinco tem o valor final do LogP (DAINA et al, 2017).

**Figura 7.** SwissADME - página de submissão.



The screenshot displays the SwissADME web interface. At the top left is the SIB logo (Swiss Institute of Bioinformatics). The title 'SwissADME' is centered at the top. Navigation links 'Home', 'FAQ', 'Help', and 'Disclaimer' are on the top right. A large text box contains the following information:

This website allows you to compute physicochemical descriptors as well as to predict ADME parameters, pharmacokinetic properties, druglike nature and medicinal chemistry friendliness of one or multiple small molecules to support drug discovery.

The main article describing the web service and its underlying methodologies is *SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules*. *Sci. Rep.* (2017) 7:42717.

For details about development and validation of iLOGP, please refer to this article: *iLOGP: a simple, robust, and efficient description of n-octanol/water partition coefficient for drug design using the GB/SA approach*. *J. Chem. Inf. Model.* (2014) 54(12):3284-3301.

For details about development and validation of the BOILED-Egg, please refer to this article: *A BOILED-Egg to predict gastrointestinal absorption and brain penetration of small molecules*. *ChemMedChem* (2016) 11(11):1117-1121.

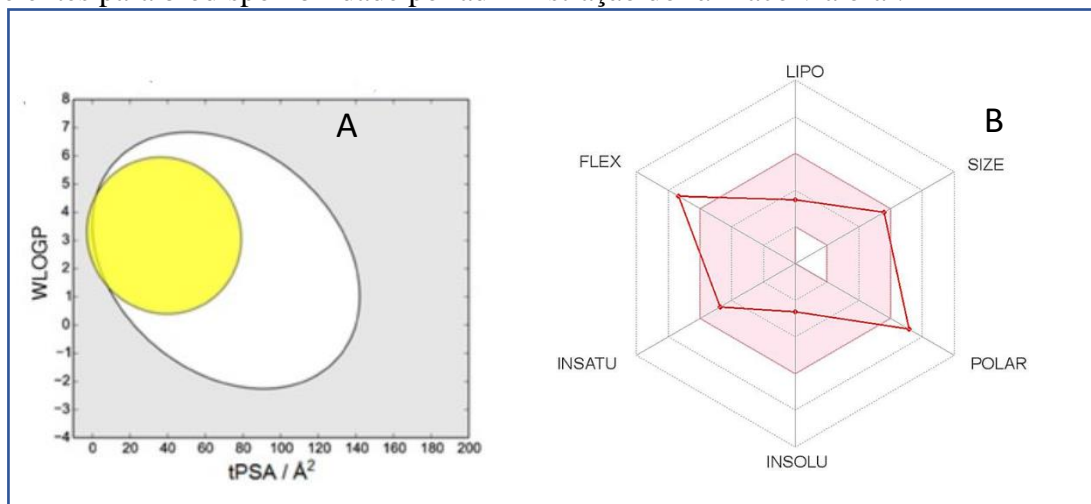
Developed and maintained by the *Molecular Modeling Group* of the SIB | Swiss Institute of Bioinformatics.

Below the text box, there is a chemical structure editor (Marvin JS) on the left and a text input field labeled 'Enter a list of SMILES here:' on the right. The Marvin JS editor shows a benzene ring structure. The text input field is empty. At the bottom right, there are three buttons: 'Fill with an example' (disabled), 'Clear' (disabled), and 'Run!' (active).

Outra inovação advinda do SwissADME são duas novas correlações, expostas na forma de dois gráficos, sendo eles: o BOILED-Egg (em analogia a um ovo cozido) cuja função é avaliar a molécula quanto a sua capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica, quanto a sua absorção pelo trato intestinal (passiva ou ativa) e a possibilidade de ligação com a glicoproteína-p. Moléculas com capacidade para atravessar a barreira hematoencefálica e com possibilidades de serem absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal ficam na região amarela; moléculas apenas com características de absorção gastrointestinal ficam na região branca; moléculas desfavoráveis ou fora dos padrões de *druglikeness* estarão fora da região do ovo (Figura 8a); E o radar de biodisponibilidade (Bioavailability Radar) o qual mostra uma

avaliação rápida do *druglikeness*, considerando seis propriedades físico-químicas (lipofilicidade, tamanho, polaridade, solubilidade, flexibilidade e saturação), através de estudos, que foi definido uma faixa físico-química em cada eixo através de uma adaptação de descritores (RITCHIE et al, 2011; LOVERING et al, 2009), formando um hexágono com área de cor rosa na qual o diagrama de radar da droga, em análise, deverá se moldar inteiramente para ser considerado como fármaco (Figura 8b). Moléculas inseridas completamente no hexágono (rosa) apresentam um conjunto de características favoráveis a uma boa disponibilidade oral (DAINA et al, 2017).

**Figura 8.** A) Gráfico BOILED-Egg de correlação WlogP e TPSA: Na região amarela – moléculas com potencialidades em atravessar a barreira hematoencefálica; na região branca – moléculas com probabilidades de serem absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal; na região cinza – moléculas que apresentam biodisponibilidade oral desfavorável. B) Gráfico Bioavailability Radar: Moléculas plotadas completamente na área rósea apresentam condições excelentes para biodisponibilidade por administração do fármaco via oral.



**Fonte:** A) Daina e Zoete (2016). B) Daina e colaboradores (2017).

Outro software gratuito Osiris ® Property Explore (disponível na internet pelo link: <http://www.organicchemistry.org/prog/peo/>), desenvolvido pela empresa farmacêutica *Actelion Pharmaceuticals Ltd.* permite que o usuário desenhe a estrutura molécula em 2D, e a partir disso, avaliar as diferentes propriedades como toxicidade, solubilidade, *Drugscore*, *Druglikeness*, entre outras (Figura 9). Na avaliação da toxicidade de uma molécula inclui os efeitos: mutagênico, tumorigênico, irritante e sobre a reprodução. De acordo com o programa efeitos tóxicos com elevados riscos são mostrados em vermelho, enquanto os parâmetros em verde indicam moléculas como possíveis candidatas a fármacos, já os amarelos indicam drogas com riscos tóxicos moderados (Osiris Property Explorer, 2001).



**Figura 9.** Imagem do programa Osiris ® Property Explore com os respectivos perfis toxicológicos, propriedades físico-químicas, *Druglikeness* e *Drug-Score*.



**Fonte:** <http://www.organicchemistry.org/prog/peo/> <> acessado em 15 de agosto de 2017

Duas propriedades importantes avaliadas pelo programa Osiris® são o *Druglikeness* e *Drug-score*.

O *Druglikeness* mede o quanto uma molécula se assemelha a um fármaco (utiliza-se da comparação de grupos funcionais e propriedades físico-químicas da molécula avaliada com fármacos já conhecidos).

O *Drug – Score* indica se o composto tem potencial global para ser qualificado como possível fármaco, através dos valores obtidos de *Druglikeness*, cLogP (lipofilicidade), LogS (solubilidade), peso molecular e riscos toxicológicos em um único valor com o intuito de avaliar se a molécula tem o potencial para se tornar um fármaco. Moléculas com valores de *Drug-score* próximos de 1 (um), são os mais prováveis de se tornarem fármacos.

# Objetivos

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVOS GERAIS

Os estudos químicos apresentados neste projeto estão direcionados a modificação estrutural da piperina preparando novas amidas, vinculando a piperina com acetamidas providas de diferentes grupos doadores e aceptores de elétrons. Pretendemos neste trabalho disponibilizar essas moléculas para realizarem estudos farmacológicos

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair piperina a partir da pimenta do reino e síntese do ácido pipérico 2;
- Avaliar o perfil dos compostos a serem sintetizados como potenciais candidatos a fármacos, utilizando-se parâmetros ADMET (Absorção, Distribuição, Metabolismo, Excreção, Toxicidade) *in silico*;
- Realizar a síntese das novas moléculas a partir do ácido pipérico, derivado da piperina com acetamidas;
- Caracterizar os produtos finais por métodos físicos usuais como: espectroscopia de infravermelho, ressonância magnética nuclear unidimensional ( $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ ), bidimensional 2D (COSY, HSQC e HMBC), análise elementar;
- Disponibilizar as moléculas inéditas para estudos biológicos.

# Estratégia sintética

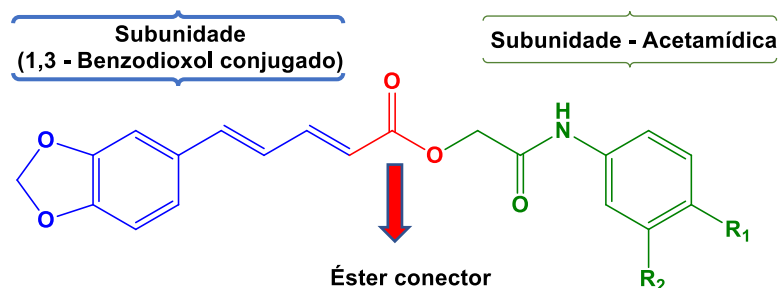
## 4. ESTRATÉGIA SINTÉTICA

### 4.1 PLANEJAMENTO PARA A SÍNTESE DOS NOVOS DERIVADOS DA PIPERINA

O planejamento do experimento, nesse caso uma estratégia sintética, é uma das etapas cruciais para um bom desenvolvimento de qualquer projeto ou estudo, garantindo uma maior chance de sucesso. Na química medicinal, onde se busca o planejamento de moléculas bioativas, esse processo é fundamental, pois com a inserção de moléculas ou de grupos substituintes a uma estrutura molecular bioativa já conhecida, podemos potencializar o seu efeito ou até mesmo inserir uma nova atividade biológica.

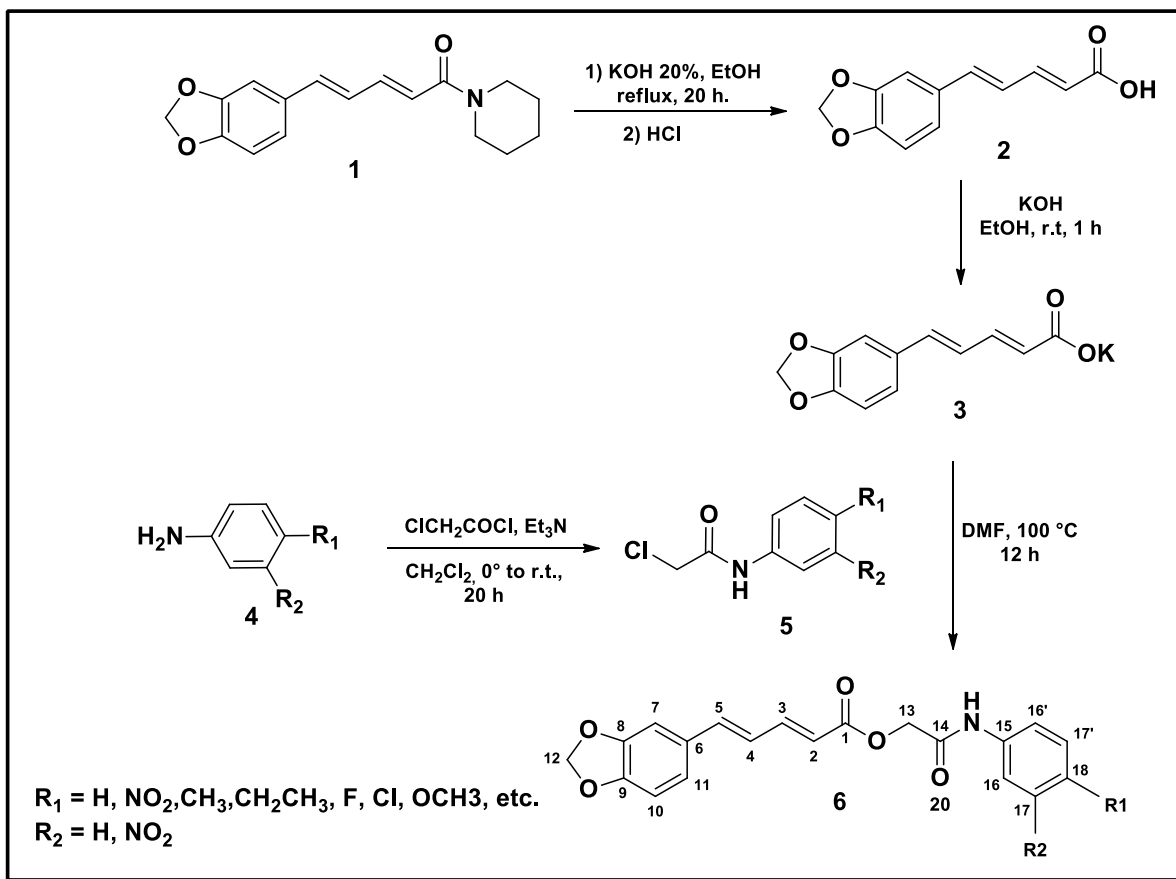
Nesse trabalho escolhemos a piperina, um alcaloide com uma ampla atividade biológica, onde serão feitas inserções de acetamidas substituídas, através da técnica clássica da hibridização molecular, onde as acetamidas serão inseridas na piperina, através de um éster conector (Figura 10).

**Figura 10.** Estrutura geral dos novos derivados da piperina.



As sínteses das novas moléculas derivadas da piperina foram obtidas a partir dos procedimentos descritos na literatura e realizados em quatro fases sintéticas descrita no Esquema 1.

**Esquema 1.** Síntese dos novos derivados da piperina.



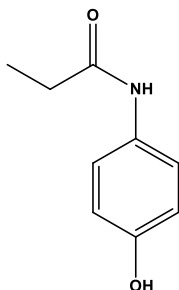
A piperina **1** será obtida através de uma extração etanólica da *P. nigrum* (popularmente conhecida como pimenta preta) (IKAN, 1991). O ácido pipérico **2** será obtido a partir **1** com através de uma hidrólise básica (IKAN, 1991). Uma reação de neutralização entre o ácido pipérico e uma solução etanólica de hidróxido de potássio será realizada para obter o sal de potássio do ácido pipérico **3**. A 2-cloro-*N*-(aril ou alil)acetamidas **5** serão obtidas com rendimentos excelentes a partir de uma reação de *N*-acetilação entre a aminas aromáticas ou alifáticas **4** e o cloreto de cloroacetila (MAO, 2011). A reação entre o sal de potássio do ácido pipérico **3** com a 2-cloro-*N*-(Aril ou Alil) acetamidas **5** em DMF proporcionará a formação dos derivados da piperina **6**.

## 4.2 ACETAMIDAS

As amidas apresentam uma série de atividades biológicas, como exemplo atividade analgésica, antitérmica, anti-inflamatória, antifúngica, antitumoral, dentre outras (KENNEDY JR, 2001). Uma amida muito famosa o paracetamol (Figura **11**) o qual possui atividades

analgésicas, é mundialmente conhecido, sendo um dos mais comercializados (THEJASWINI; GURUPADAYYA KOGANTI, 2015; KRISTENSEN et al., 2016).

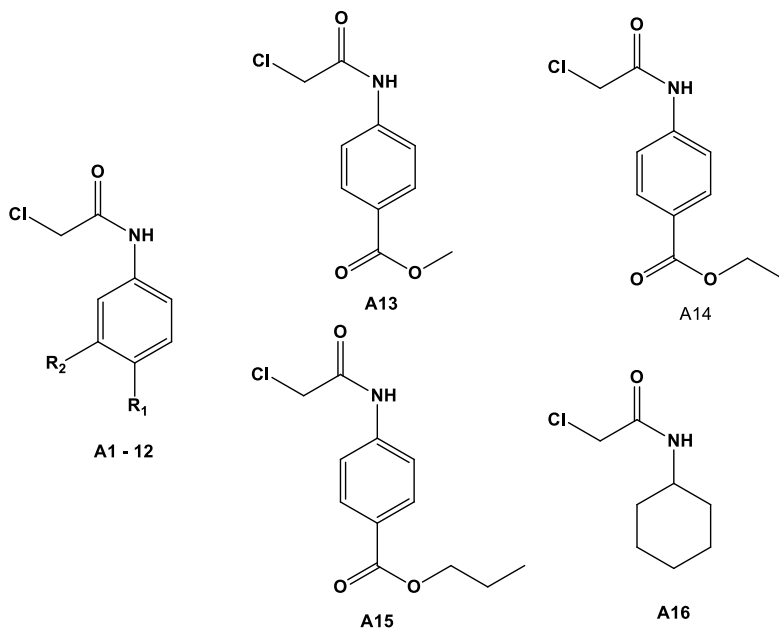
**Figura 11.** Paracetamol



Com base nessas características, resolveu investigar o efeito da hibridização de 14 acetamidas aromáticas e uma alifática (ciclohexalamina), onde as aromáticas possuem diferentes grupos substituintes, na Figura 12 temos as acetamidas utilizadas nesse trabalho.

**Figura 12.** Estruturas da A1-16. Acetamidas derivadas do ácido Paraminobenzóico (A13-15). A-16 Derivado da ciclohexalamina – acetamida alifática.

Composto	R1	R2
A1	H	H
A2	NO <sub>2</sub>	H
A3	CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	H
A4	CH <sub>3</sub>	H
A5	Br	H
A6	Cl	H
A7	CH(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H
A9	Cl	NO <sub>2</sub>
A10	OCH <sub>3</sub>	H
A11	CF <sub>3</sub>	H
A12	SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	H



# Resultados e discussões



## 5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão apresentados os progressos realizados em cada uma das etapas sintéticas desenvolvidas neste trabalho. A apresentação da discussão e dos resultados obtidos será feita em três etapas distintas: Preparação dos compostos intermediários, caracterização dos produtos finais (HE01-17) e os ensaios *in silico* e farmacológicos, respectivamente.

### 5.1 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS

#### 5.1.1 Extração da piperina dos frutos secos da *Piper nigrum*

A etapa inicial foi o isolamento da piperina da pimenta do reino, usando a metodologia descrita por Ikan (1991), onde usamos um aparelho de Soxhlet, e como solvente usamos o etanol a 95%. Após a extração com o isolamento e tratamentos usuais como a recristalização, obtemos a piperina na forma de cristais amarelos (Figura 13), com grau de pureza adequado, onde por meio de caracterizações convencionais de análise (ponto de fusão, infravermelho, cromatografia em camada delgada) confirmamos sua pureza através de comparação com dados da literatura.

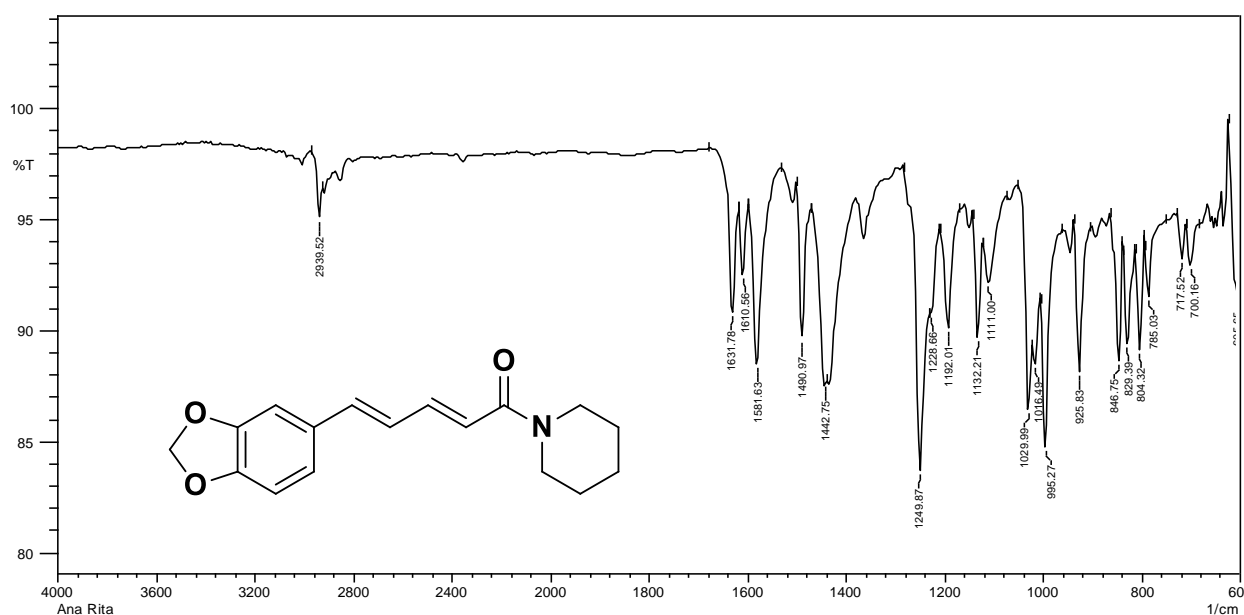
**Figura 13.** Cristais da piperina.



Fonte: próprio autor (2017).

O Ponto de fusão observado foi na faixa entre 126 – 128° C valor próximo ao obtido por Ikan (1991) 125 – 127 °C. No espectro de infravermelho (Espectro 1) observa-se em 1631 cm<sup>-1</sup> um estiramento referente a uma carbonila amídica conjugada, em 1249 cm<sup>-1</sup> vibração do OCH<sub>2</sub>O do metilenodioxi, em 1581- 1442 cm<sup>-1</sup> vibração do esqueleto aromático, ainda observamos em 2939 cm<sup>-1</sup> (anel aromático) e 925 cm<sup>-1</sup> e 846 cm<sup>-1</sup> (vibrações dos H aromáticos).

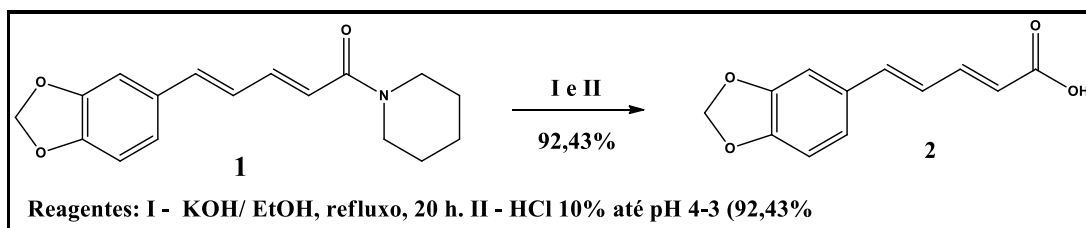
**Espectro 1.** Espectro de IV (KBr) Piperina.



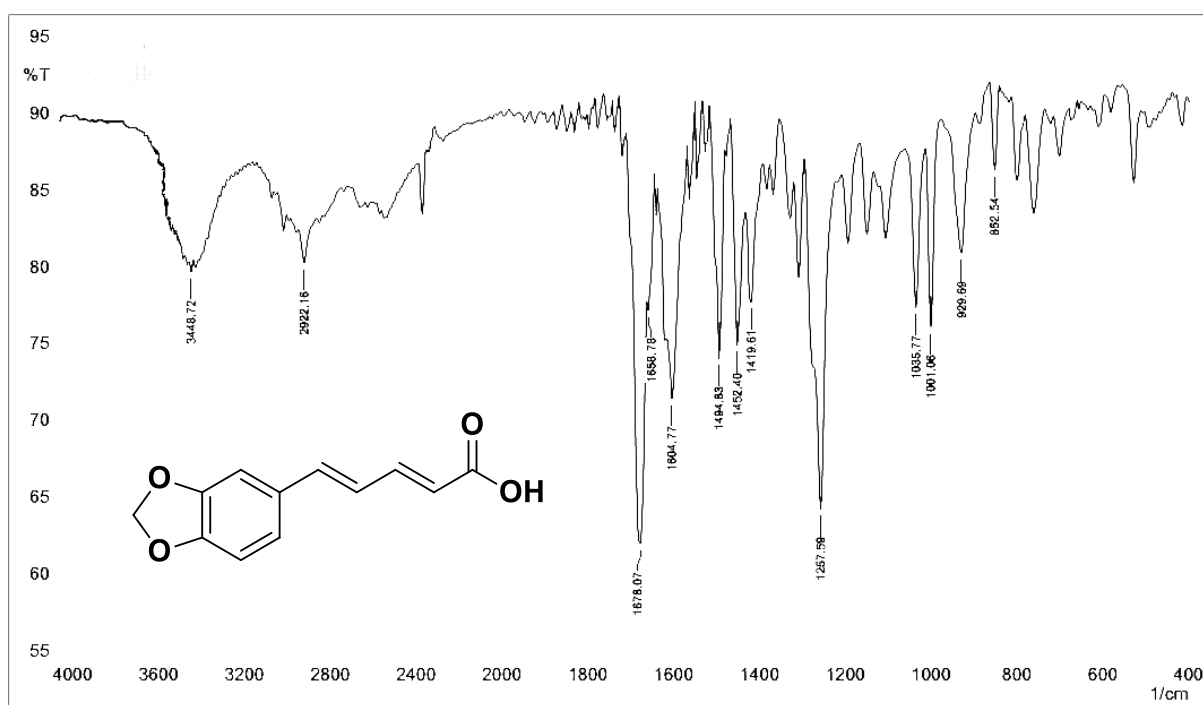
### 5.1.2 Preparação do ácido pipérico (hidrólise básica da piperina)

O primeiro derivado foi obtido através da hidrólise da função amida presente na piperina **1**, formando o ácido pipérico **2** (Esquema 2). A Reação encontra-se experimentalmente relatada no trabalho de Ikan (1991), mas optamos nas modificações propostas no trabalho de Ribeiro (2004) e Welisson (2006), onde aumenta-se o tempo de refluxo para 12 horas ao mesmo tempo que aumentamos a concentração de base utilizada, formando o ácido pipérico, após acidificação do meio reacional até pH 4-3, com bom rendimento (92,43%) e bom grau de pureza. No espectro de infravermelho (Espectro 2) na região entre 3500 – 3000 cm<sup>-1</sup> aparecimento de uma banda larga, devido ao estiramento da ligação OH do ácido carboxílico, um excelente indicador que a reação realmente ocorreu, outra banda característica é a carbonila do ácido conjugado em 1678 cm<sup>-1</sup> e a presença de O-CH<sub>2</sub>-O de metilenodioxi em 1257 cm<sup>-1</sup>.

## Esquema 2. Hidrolise básica da piperina.



## Espectro 2. Espectro de IV (KBr) do ácido piperínico.



### 5.1.3 Esterificação do ácido para-aminobenzóico

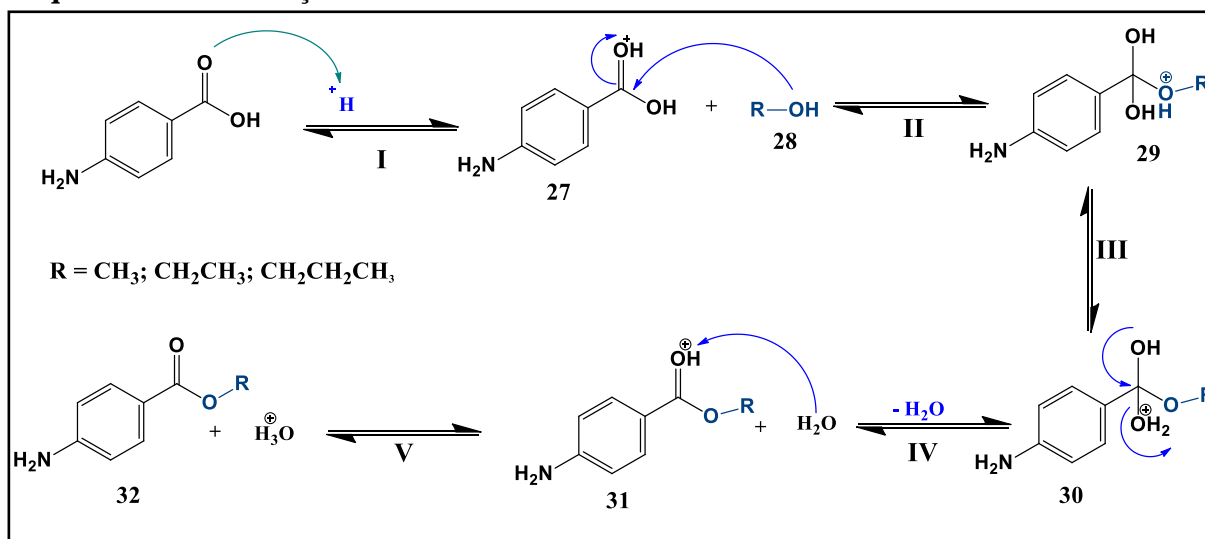
Os intermediários 4 - aminobenzoato de metila (**ESM**), 4 - aminobenzoato de etila (**ESE**) e 4 - aminobenzoato de n-propila (**ENP**) foram sintetizados com bons rendimentos conforme Tabela 2. Para a preparação dos precursores das acetamidas **A13-15** usamos esterificação do ácido para - aminobenzóico (PABA) com os álcoois correspondentes: metanol, etanol e n-propanol, em presença de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou HCl concentrados, caracterizando uma esterificação de Fisher, onde o mecanismo encontra-se no Esquema 3. O ácido mineral (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) protona o átomo de oxigênio do grupo carbonila, formando o íon oxônio **27** (Etapa I), que em seguida sofre ataque nucleófilo pela hidroxila do álcool **28**, formando um intermediário tetraédrico **29** (Etapa II). Em seguida ocorre a transferência de um próton de um oxigênio para

o outro, originando um segundo intermediário tetraédrico – prototopismo **30** (Etapa III). Ocorrendo em seguida a eliminação da água **31** (Etapa IV). Finalmente a perda de um próton regenera o catalisador ácido, originando o éster **32** (Etapa V)

**Tabela 2.** Rendimentos (%) e tempo de reação (h) dos intermediários ESM, ESE e ENP.

Compostos	Rendimento	Tempo de reação
ESM	60%	1h
ESE	52%	2h
ENP	40%	2h

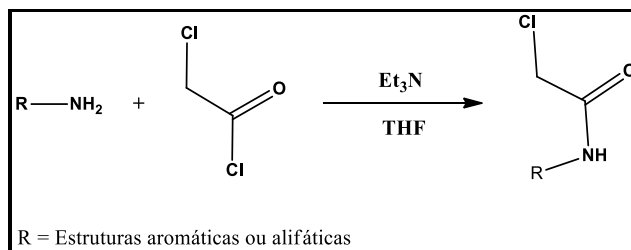
**Esquema 3.** Esterificação do ácido 4-aminobenzóico.



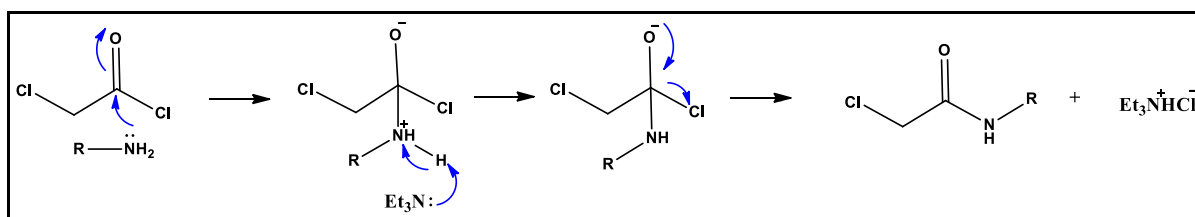
#### 5.1.4 Síntese das acetamidas alifática e aromáticas substituídas

Existem várias maneiras para preparar as acetamidas, seja usando como precursor cloretos de acila, anidridos de ácidos, ácidos carboxílicos, ésteres ou através de sais carboxilados. Ambas reações consistem em uma adição nucleofílica-eliminação de amônia ou de amida em um carbono acila. O método escolhido para esse trabalho foi a partir da reação de cloreto de cloroacila com aminas aromáticas ou alifática (Esquema 4). Utilizamos a trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ ) para neutralizar o  $\text{HCl}$  liberado durante a reação e o solvente usado foi o tetraidrofurano (THF). O mecanismo proposto para essa reação está apresentado no Esquema 5.

**Esquema 4.** Reação geral para a síntese das acetamidas.



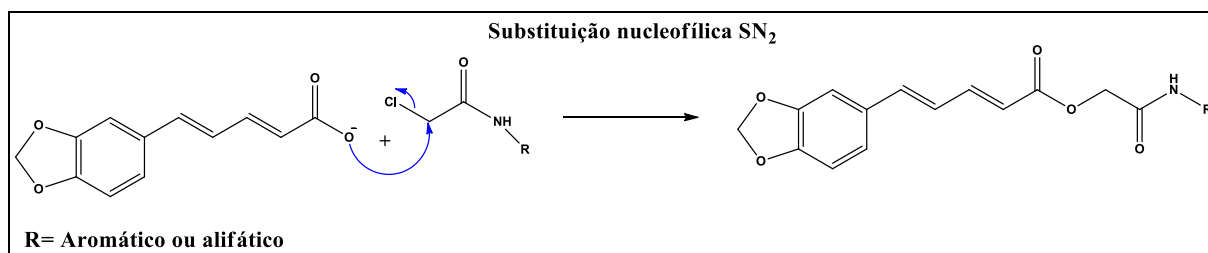
**Esquema 5.** Mecanismo proposto para a acilação da amina primária pela reação com o cloreto de cloroacetila.



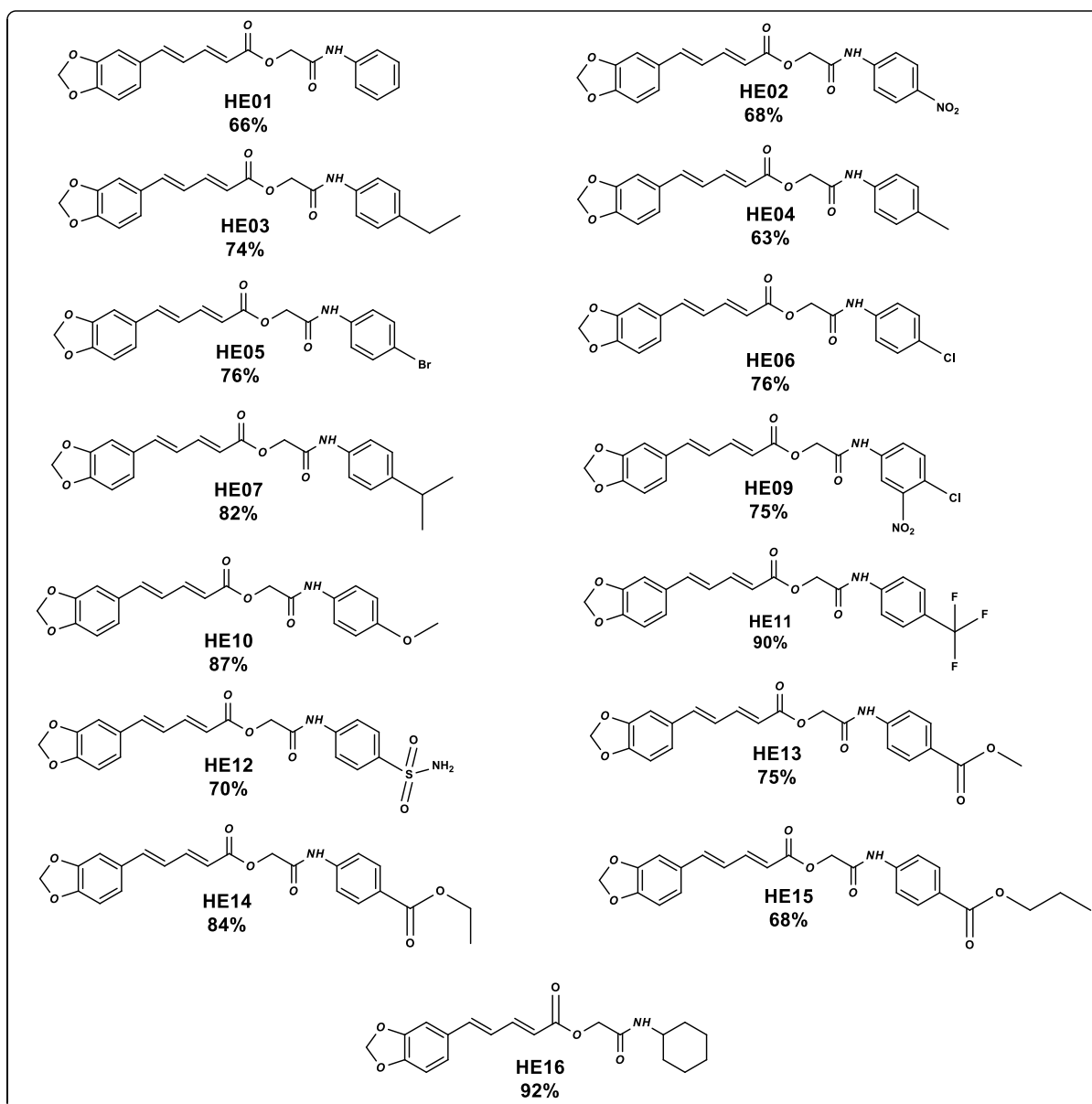
### 5.1.5 Síntese dos novos derivados amido ésteres (HE01-16)

Os novos derivados híbridos da piperina com acetamidas foram obtidos através de reações de adição das acetamidas (aromáticas e alifática) A1-16 com o sal do ácido pipérico utilizando a rota sintética do Esquema 6. As estruturas dos novos amidos ésteres estão apresentadas na Figura 14 bem como seus rendimentos.

**Esquema 6.** Mecanismo proposto para a substituição nucleofílica  $\text{S}_{\text{N}}2$  para formação dos amidos ésteres.



**Figura 14.** Estruturas e rendimentos dos derivados da piperina HE01-16.

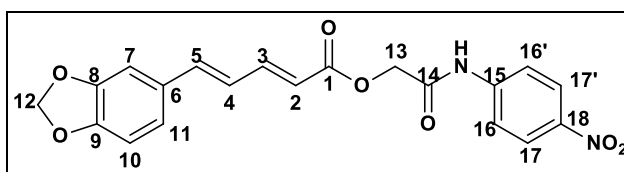


## 5.2 Determinação estrutural dos novos derivados da piperina

As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos nos espectros de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos amidos ésteres HE01 e HE (06-16) foram confirmadas através de comparação com a estrutura semelhante das moléculas HE (02-05), elucidadas nesta tese pelo uso de técnicas de espectroscopia uni (1D) de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  – APT e bidimensionais (2D) tais como COSY, HSQC e HMBC.

Os resultados indicaram que as técnicas de RMN utilizadas para a elucidação dos amidos ésteres sintetizados confirmaram com relativa precisão o esqueleto básico desses compostos.

### 5.2.1 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*) - 2-oxo-2-(4-nitrofenilamina) - piperidinoato de etila (HE02)



A estrutura HE02 foi confirmada a partir das técnicas espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como experimentos uni- (1D) e bidimensionais (2D), utilizando técnicas HSQC, COSY e HMBC.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz do composto HE02 (pag 33 e 34) revelou dois singletos intenso, um com integral para dois hidrogênios cada referente à H-13 em  $\delta$  4,81 ppm e outro com integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,05 ppm importante sinal indicando o  $\text{CH}_2$  do metilenodioxo proveniente da piperina. Na região  $\delta$  10,74 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,92 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,24 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H); 7,83 (d,  $J = 9,4$  Hz, 2H) e 8,22 (d,  $J = 9,3$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7; H-16,16' e H-17,17' respectivamente. Em 7,46 (ddd,  $J = 15,3$ ; 7,9; 2,4 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto assinalando o hidrogênios H-3. Na região de  $\delta$  7,06-7,01 (m, 3H) observa-se a presença de multipletto referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 125 MHz (pag 35 e 36) observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Onze sinais foram associados a carbonos

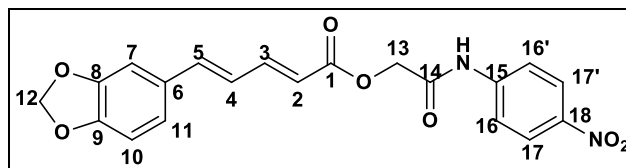
hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos e de alkenos do tipo  $sp^2$  e dois sinais de carbonos bihidrogenados do tipo  $sp^3$ . Os sete sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $sp^2$ .

O espectro de RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HSQC (pag 42-44) permitiu a distinção entre os sinais de hidrogênios e carbonos na região de  $\delta$  7,90 - 4,60 ppm:  $\delta$  4,81 (H-13) com 62,54 (C-13);  $\delta$  6,05 (H-12) com 101,42 (C-12);  $\delta$  6,12 (H-2) com 118,81 (C-2);  $\delta$  6,92 (H-10) com 108,52 (C-10);  $\delta$  7,06-7,01 (H-4) com 124,57 (C-4);  $\delta$  7,06-7,01 (H-5) com 141,14 (C-5);  $\delta$  7,06-7,01 (H-11) com 123,40 (C-11);  $\delta$  7,24 (H-7) com 105,79 (C-7);  $\delta$  7,46 (H-3) com 146,22 (C-3);  $\delta$  7,83 (H-16, 16') com 118,98 (C-16', 16') e  $\delta$  8,22 (H-17, 17') com 124,99 (C-17,17') ppm (Tabela 3).

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^1H$ -COSY (pag 37-39) permitiram correlacionar os núcleos de  $^1H$  com  $^1H$  distante 3 e 4 ligações. Observa-se o acoplamento entre o (H-3) em  $\delta$  7,46 ppm com três hidrogênios de alkenos um em  $\delta$  6,12 ppm (H-2) e os outros em  $\delta$  7,06-7,01 ppm (H-4) e (H-5). Outra correlação é o acoplamento dos hidrogênios aromáticos  $\delta$  6,92 ppm (H-10) com o (H-11) em  $\delta$  7,06-7,01 ppm. Outra correlação observada é entre o (H-16, 16')  $\delta$  7,83 ppm e o (H-17,17') 8,22 ppm ambos provenientes do anel aromático da acetamida (Tabela 3).

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HMBC (pag 39-42) permitiram atribuir inequivocamente os acoplamentos entre  $^1H$  e  $^{13}C$  distantes 2 e 3 ligações em:  $\delta$  com 4,81 (H-13) com 165,79 (C-1) e 166,60 (C-14);  $\delta$  6,05 (H-12) com 148,01 (C-8) e 148,34 (C-9);  $\delta$  6,12 (H-2) com 165,79 (C-1) e 146,22 (C-3) (assinalando sem equívocos a carbonila de éster);  $\delta$  6,92 (H-10) com 130,39 (C-6), 148,01 (C-8), 148,34 (C-9) e 123,40 (C-11);  $\delta$  7,06-7,01 (H-4) com 118,81 (C-2), 146,22 (C-3), 141,14 (C-5) e 130,39 (C-6);  $\delta$  7,06-7,01 (H-5) com 146,22 (C-3), 124,57 (C-4), 130,39 (C-6) e 105,79 (C-7);  $\delta$  7,06-7,01 (H-11) com 141,14 (C-5), 130,39 (C-6), 105,79 (C-7) e 148,34 (C-9);  $\delta$  7,24 (H-7) com 141,14 (C-5), 130,39 (C-6), 148,01 (C-8), 148,34 (C-9) e 123,40 (C-11);  $\delta$  7,46 (H-3) com 165,79 (C-1), 118,81 (C-2) e 141,14 (C-5);  $\delta$  7,83 (H-16, 16') com 144,59 (C-15), 124,99 (C-17, 17') e 142,43 (C-18);  $\delta$  8,22 (H-17, 17') com 144,59 (C-15), 118,98 (C-16, 16') e 142,43 (C-18);  $\delta$  10,74 (NH) com 62,54 (C-13), 166,60 (C-14), 144,59 (C-15) e 118,98 (C-16, 16') (NH e C-14 correlação importante para diferenciar a carbonila amídica da carbonila de éster) (Tabela 3).



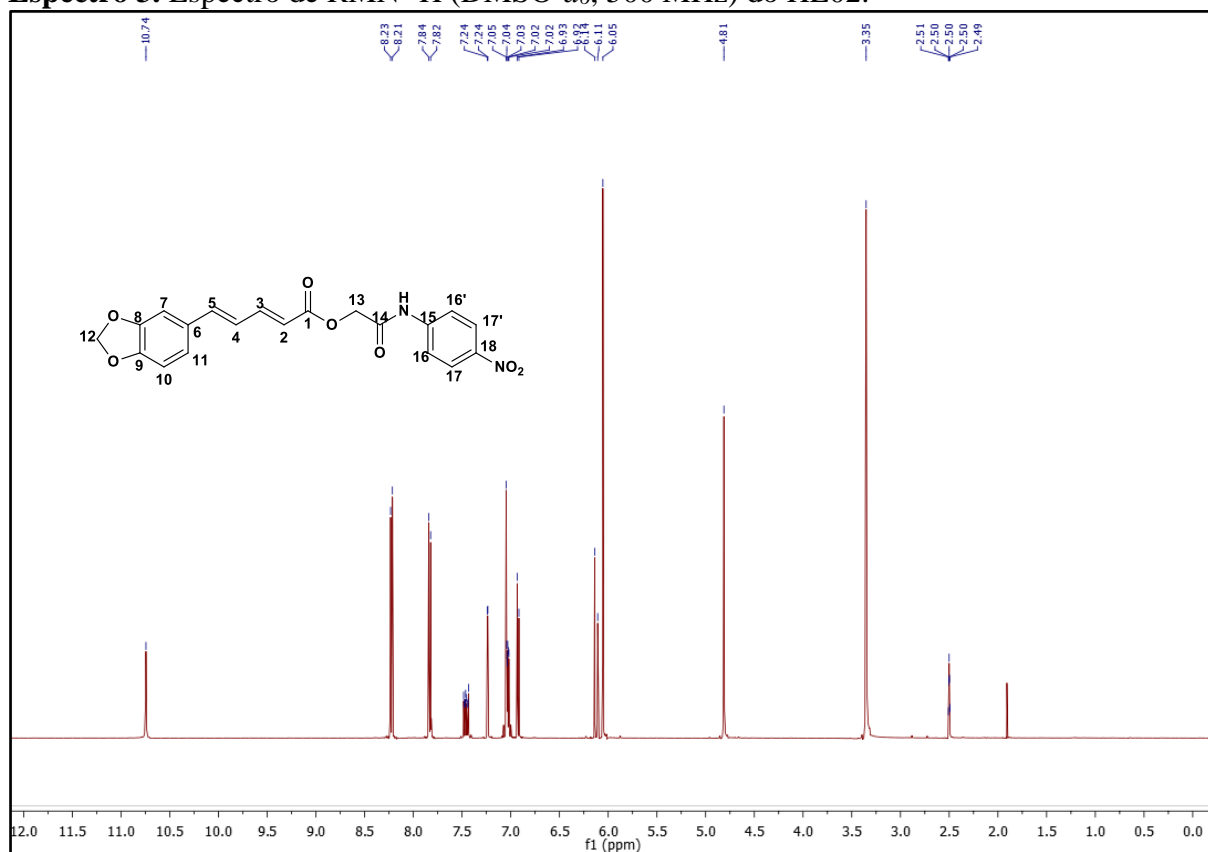


**Tabela 3.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  de HE02. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

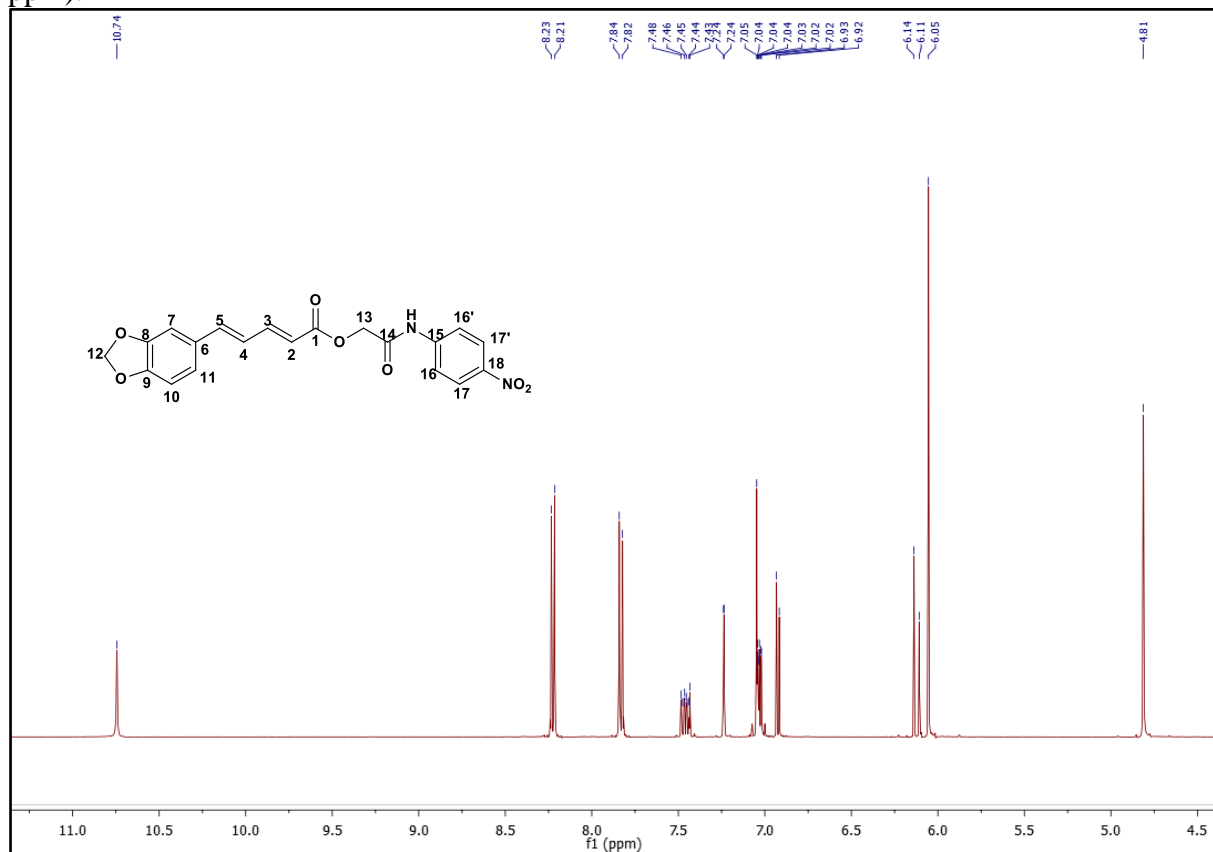
Átomo $\delta$ (ppm)	HSQC/APT		COSY $\delta$ ( $^3J$ e $^4J_{\text{HH}}$ ) <sup>c</sup>	HMBC $\delta$ ( $^2J$ e $^3J_{\text{HC}}$ ) <sup>d</sup>
<b>1</b>	165,79	-	-	-
<b>2</b>	118,81	6,12 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H)	7,46 (H-3)	C-1 e C-3
<b>3</b>	146,22	7,46 (ddd, $J = 15,3; 7,9; 2,4$ Hz, 1H)	6,12 (H-2) e 7,06-7,01 (H-4 e H-5)	C-1, C-2 e C-5
<b>4</b>	124,57	7,06-7,01 (m, 3H)	7,46 (H-3)	C-2, C-3, C-5 e C-6
<b>5</b>	141,14	7,06-7,01 (m, 3H)	7,46 (H-3)	C-3, C-4, C-6 e C-7
<b>6</b>	130,39	-	-	-
<b>7</b>	105,79	7,24 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)	-	C-5, C-6, C-8, C-9 e C-11
<b>8</b>	148,01	-	-	-
<b>9</b>	148,34	-	-	-
<b>10</b>	108,52	6,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,06-7,01 (H-11)	C-6, C-8, C-9 e C-11
<b>11</b>	123,40	7,06-7,01 (m, 3H)	6,92 (H-10)	C-5, C-6, C-7 e C-9
<b>12</b>	101,42	6,05 (s, 2H)	-	C-8 e C-9
<b>13</b>	62,54	4,81 (s, 2H)	-	C-1 e C-14
<b>14</b>	166,60	-	-	-
<b>15</b>	144,59	-	-	-
<b>16, 16'</b>	118,98	7,83 (d, $J = 9,4$ Hz, 2H)	8,22 (H-17, 17')	C-15, C-17, 17' e C-18
<b>17, 17'</b>	124,99	8,22 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H)	7,83 (H-16, 16')	C-15 e C-16, 16', C-18
<b>18</b>	142,43	-	-	-
<b>NH</b>	-	10,74 (s, 1H)	-	C-13, C-14, C-15 e C-16, 16'

<sup>a</sup>Valores deduzida pelos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  APT. <sup>b</sup>Valores obtidos das correlações heteronucleares bidimensionais através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) HSQC. <sup>c</sup>Valores obtidos das correlações homonucleares bidimensionais através de uma ligação ( $^2J_{\text{HH}}$  e  $^4J_{\text{HH}}$ ) COSY. <sup>d</sup>Valores obtidos das correlações bidimensionais através de duas ( $^2J_{\text{HC}}$ ) e três ( $^3J_{\text{HC}}$ ) ligações HMBC. <sup>e</sup>Multiplicidade de sinais para RMN  $^1\text{H}$ : singlete (s); duplete (d); tripeto (t); quarteto (q) e multipeto (m).

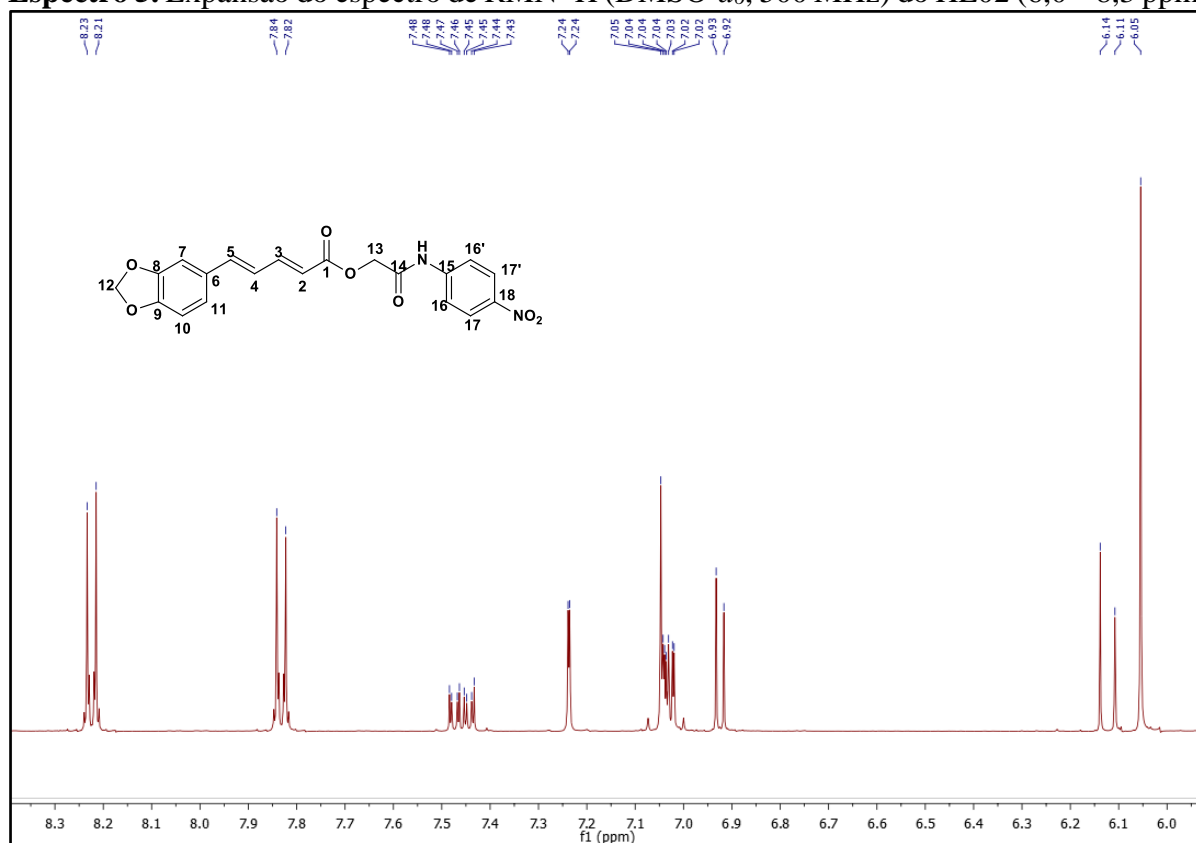
**Espectro 3.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) do HE02.



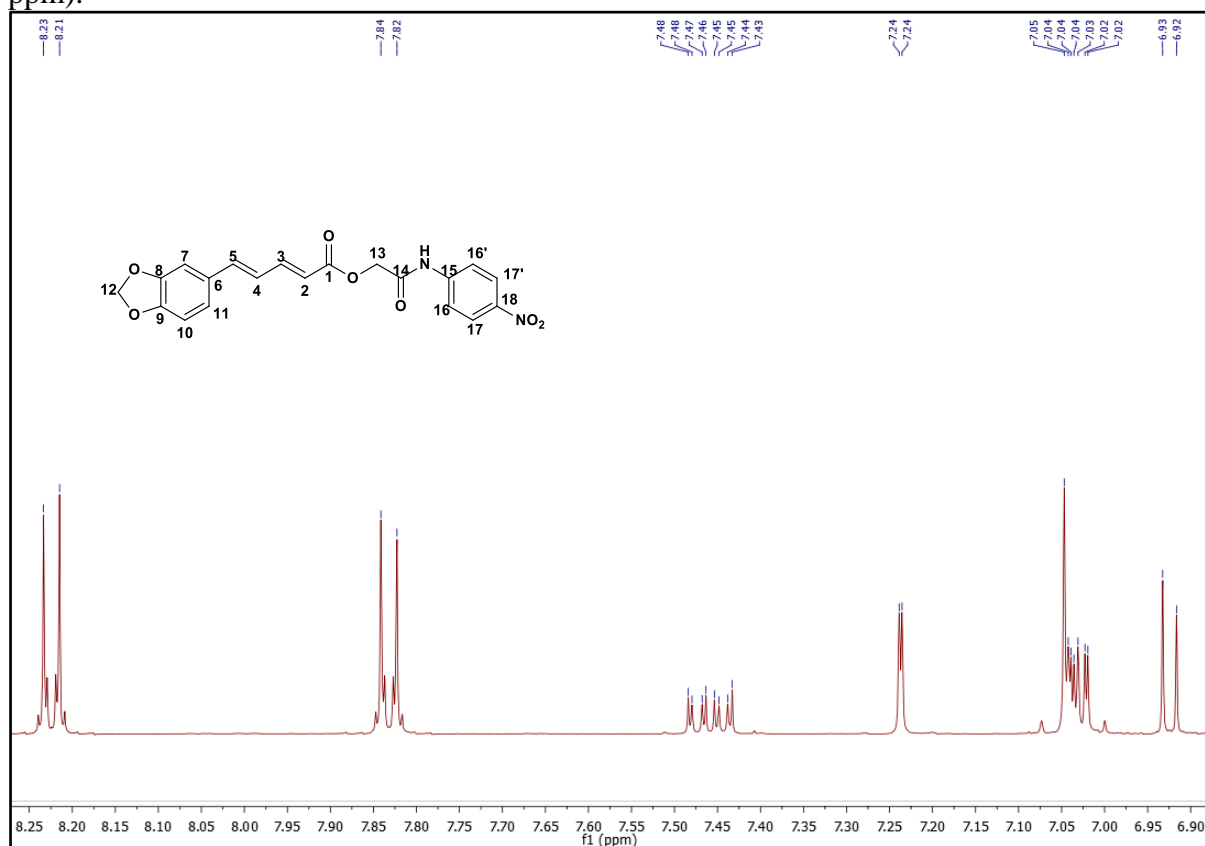
**Espectro 4.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) do HE02 (4,5 – 11,0 ppm).



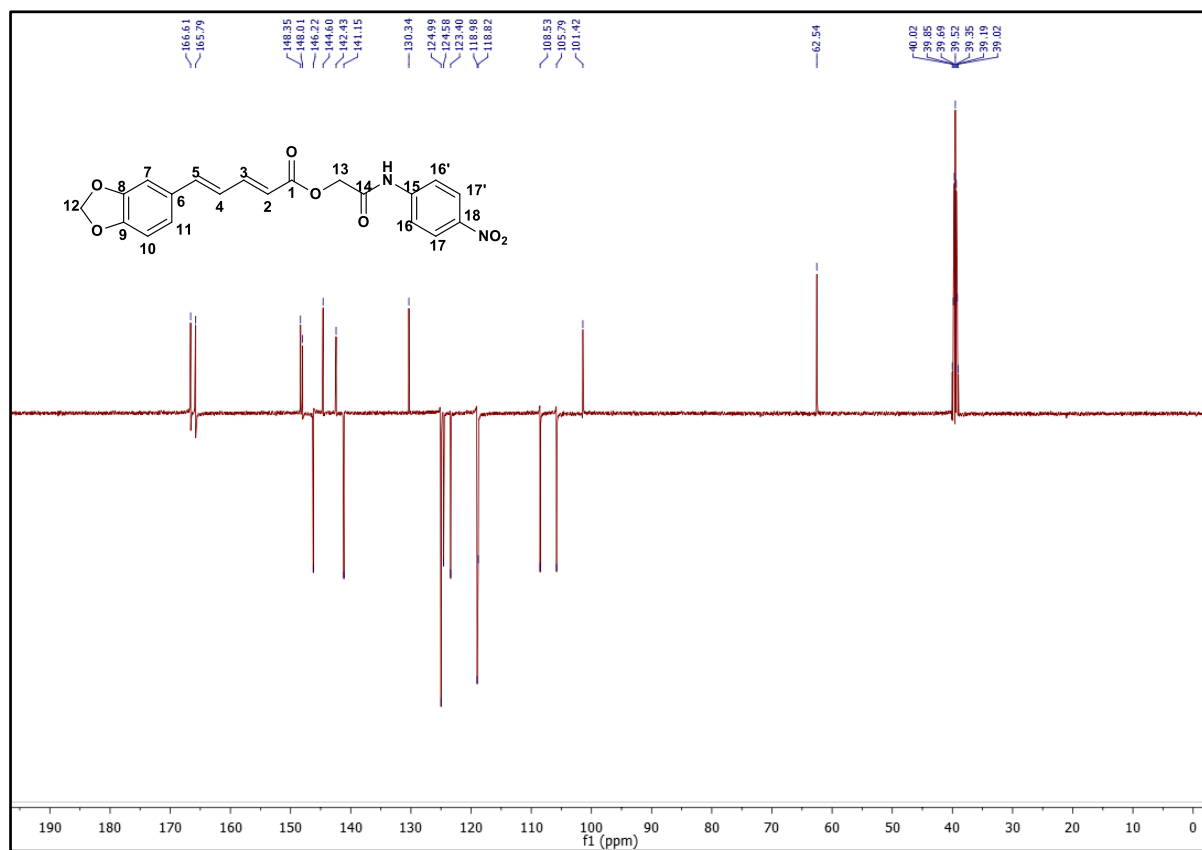
**Espectro 5.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02 (6,0 – 8,3 ppm).



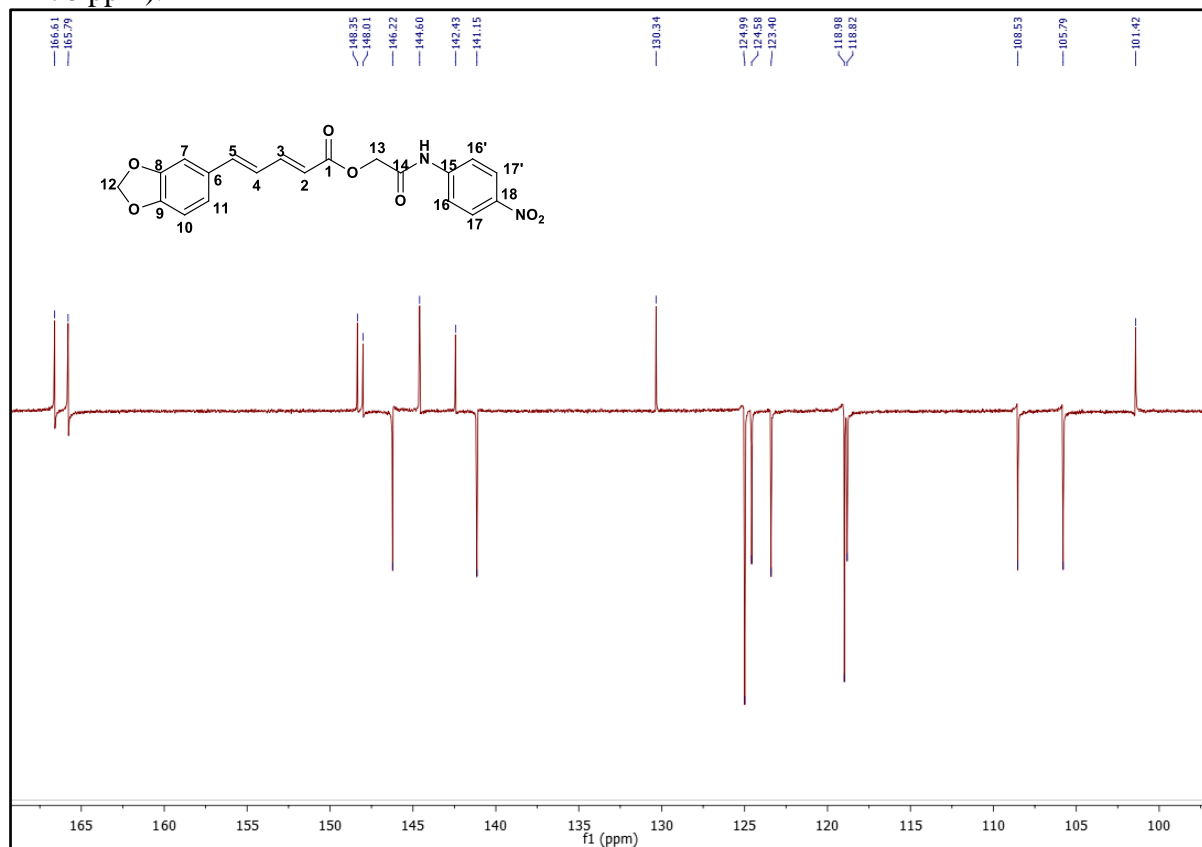
**Espectro 6.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE02 (90 – 8,25 ppm).



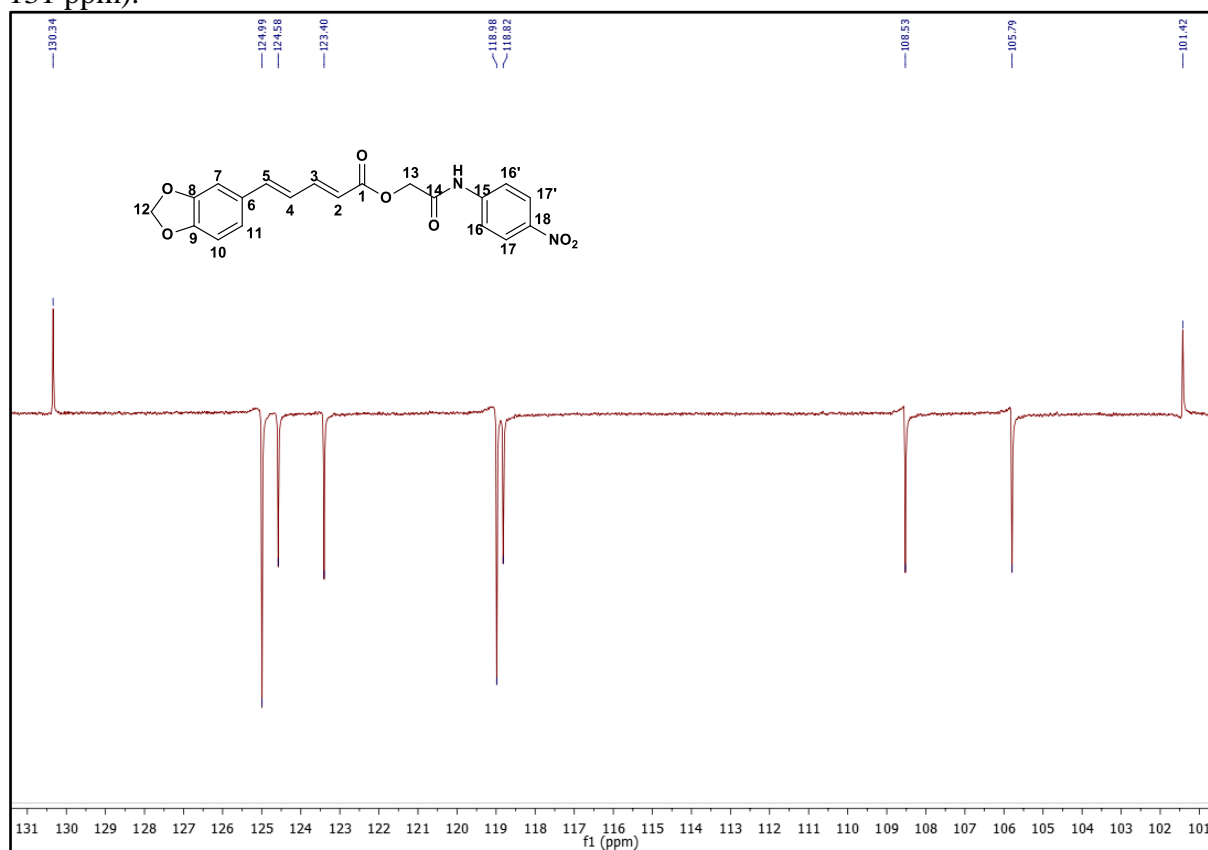
**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02.



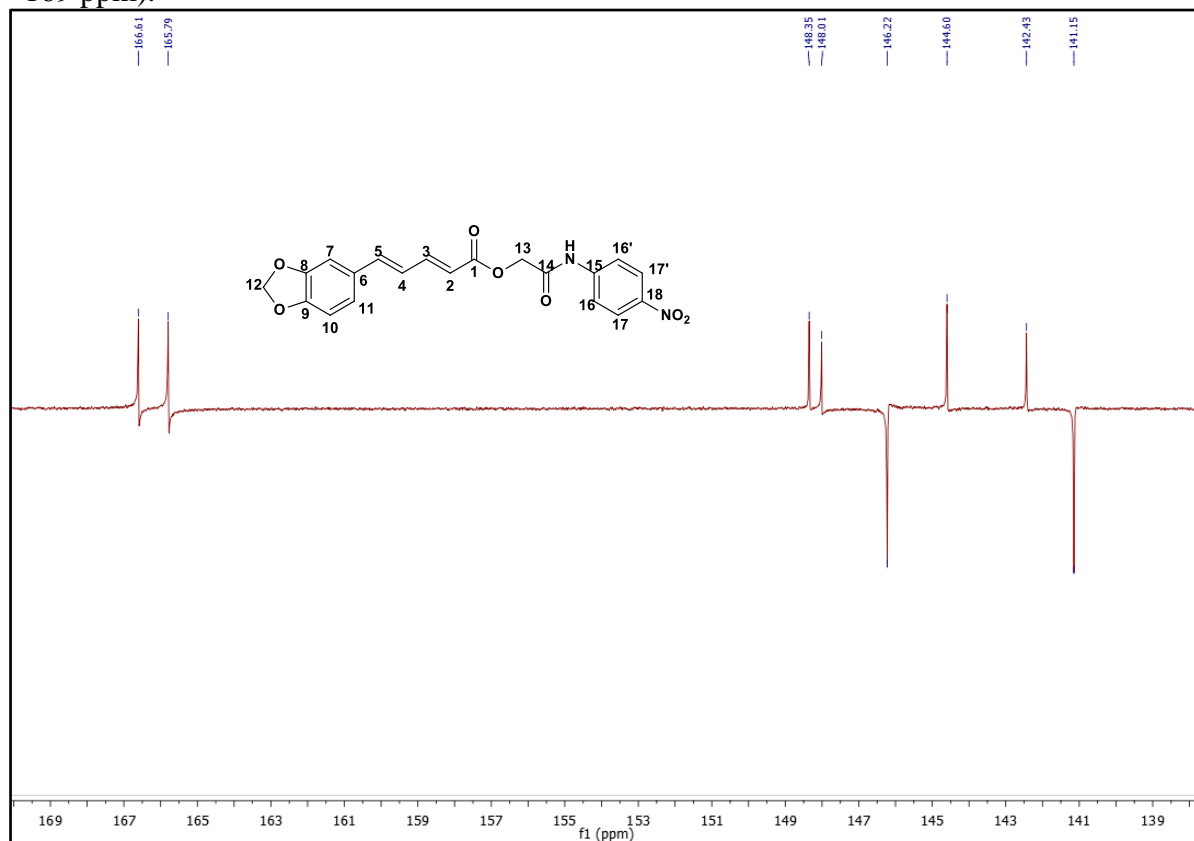
**Espectro 8.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (100 – 170 ppm).



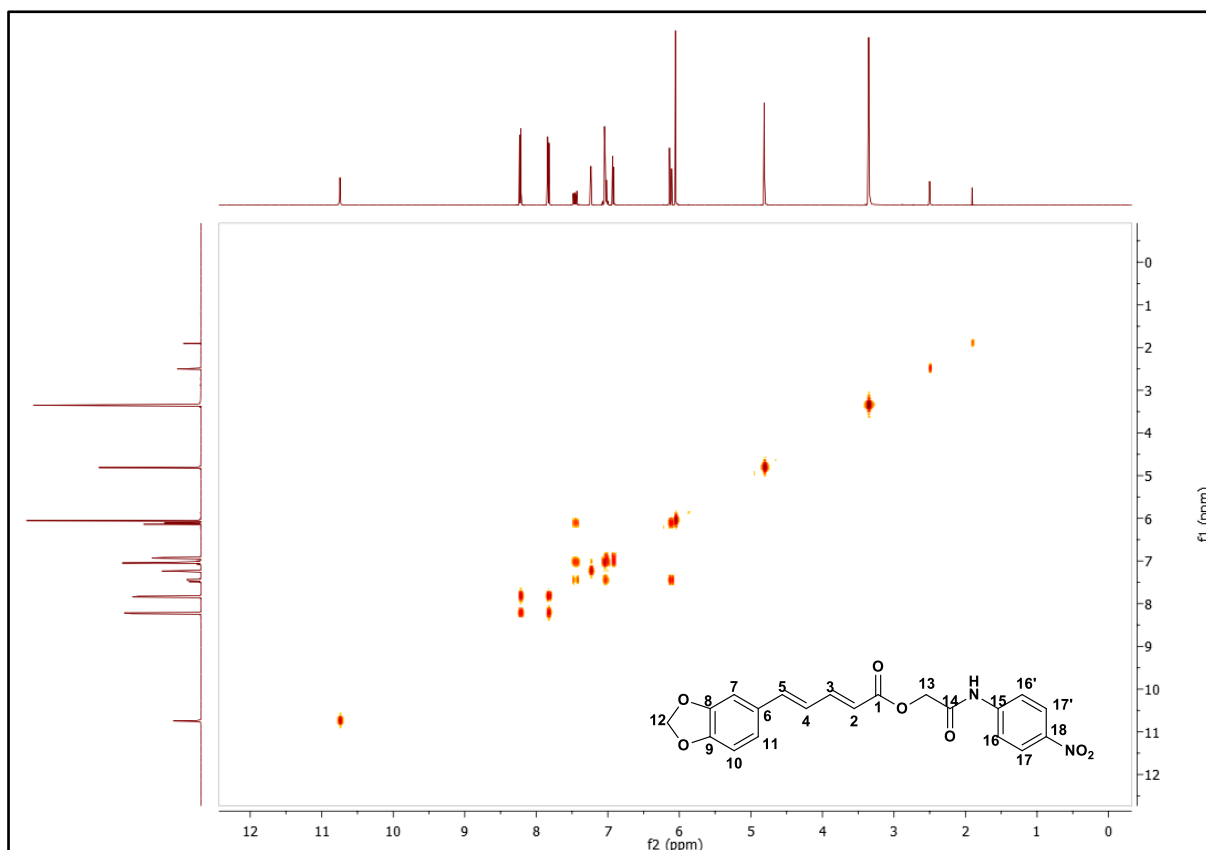
**Espectro 9.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (101 – 131 ppm).



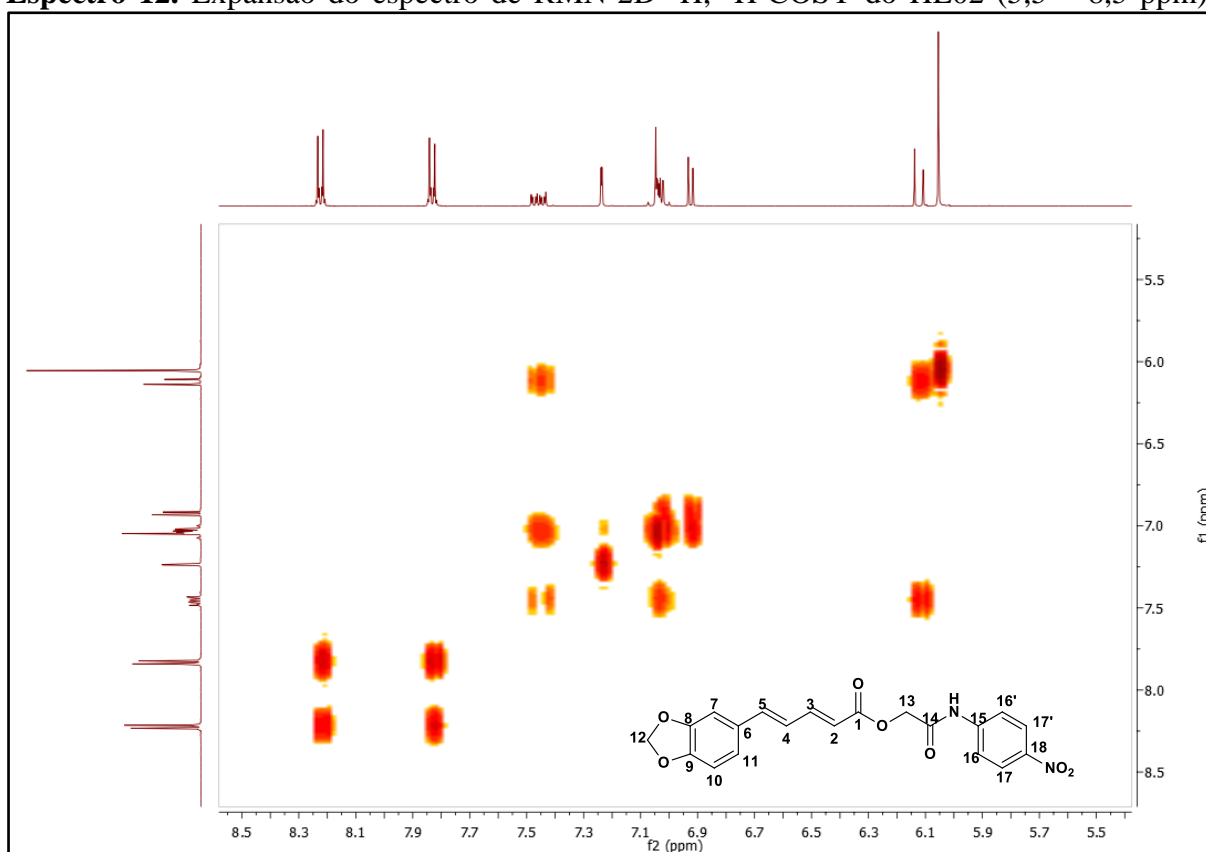
**Espectro 10.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE02 (140 – 169 ppm).



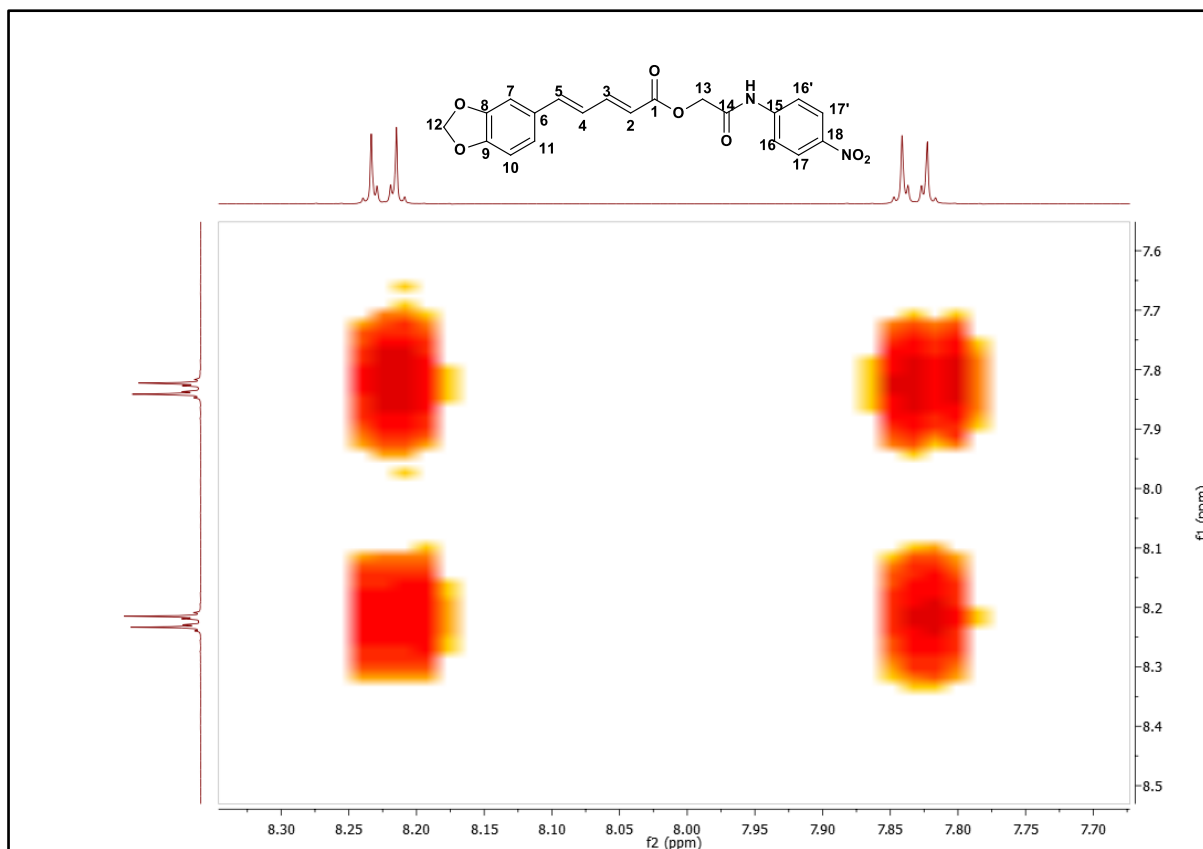
**Espectro 11.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE02.



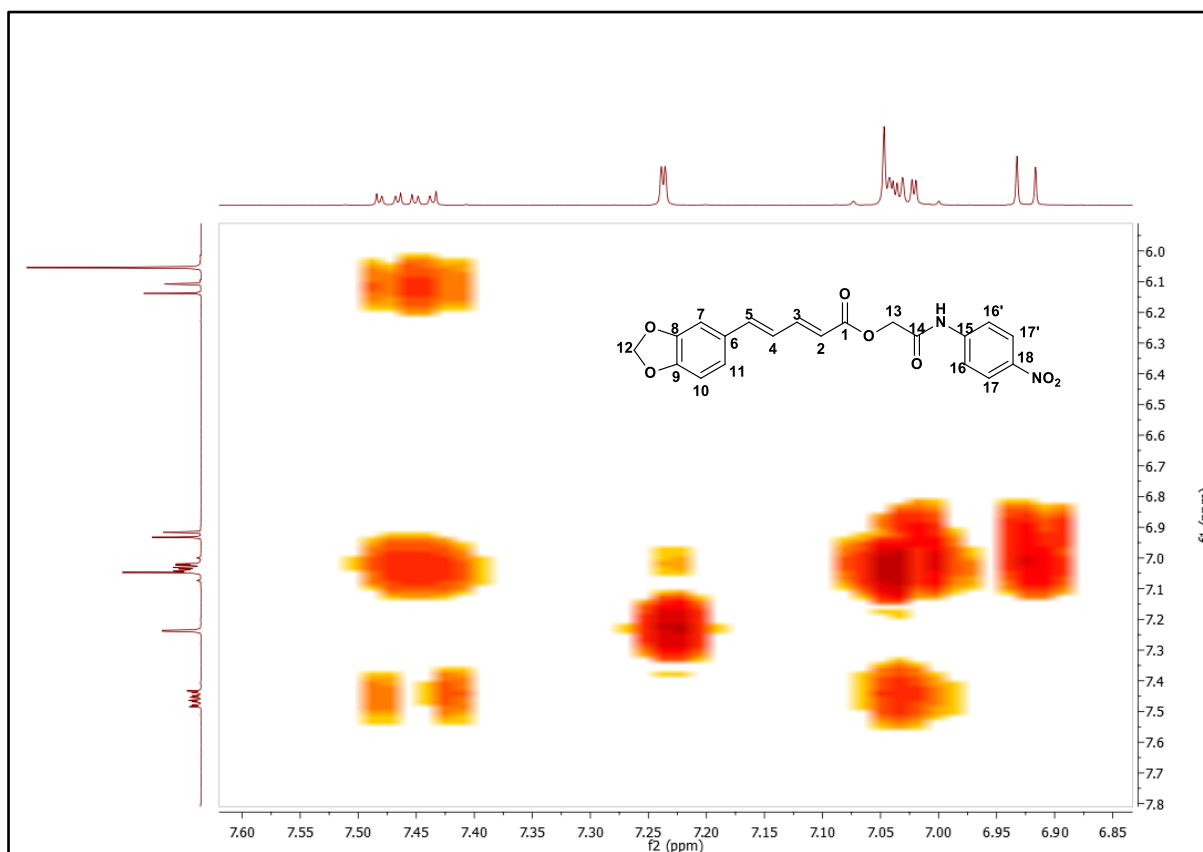
**Espectro 12.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (5,5 – 8,5 ppm).



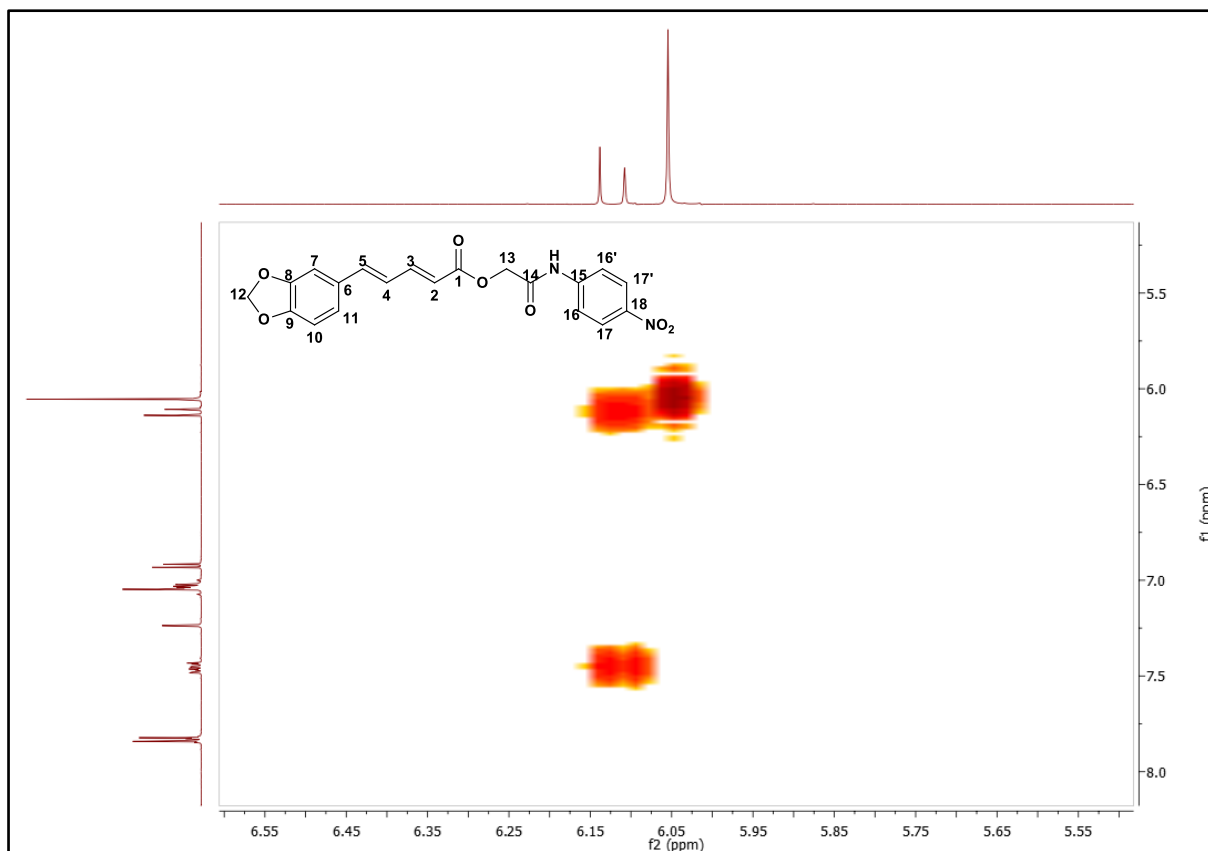
**Espectro 13.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (7,70 – 8,30 ppm).



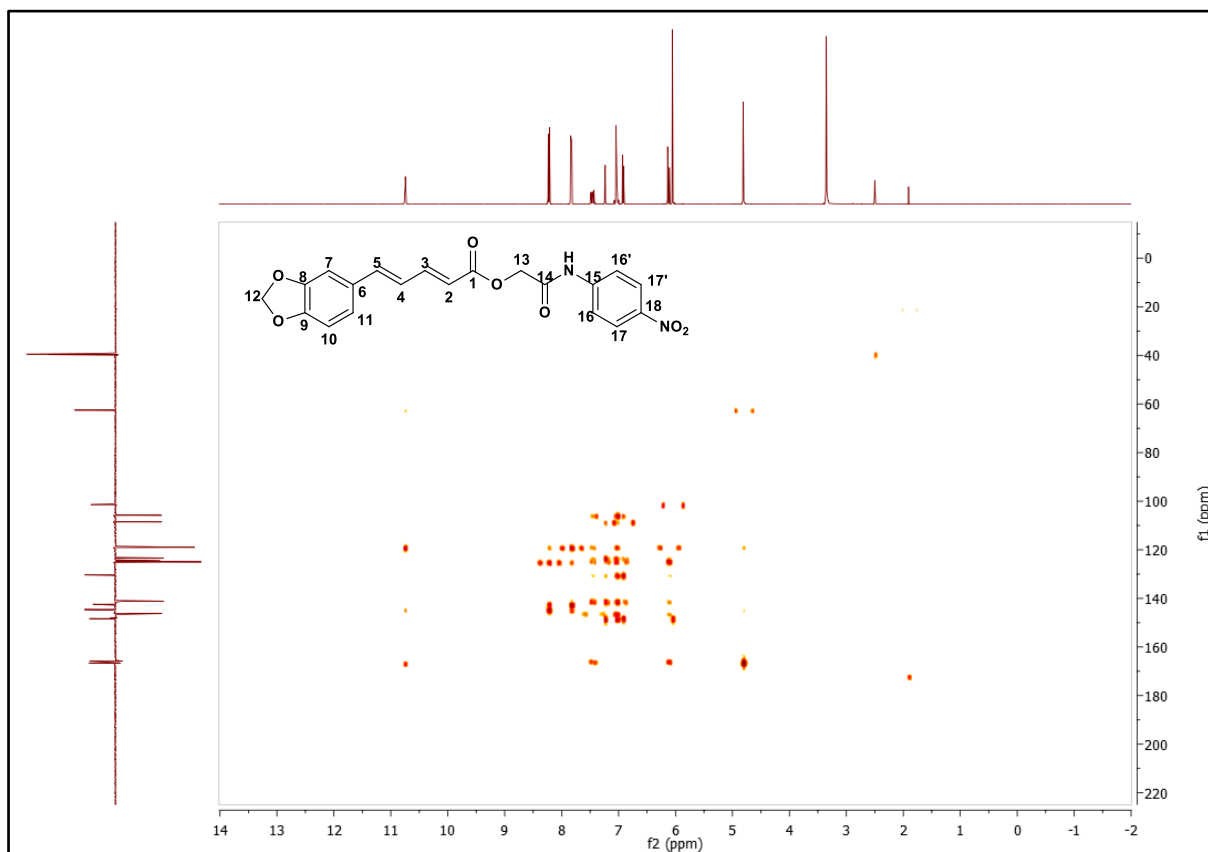
**Espectro 14.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (6,85 – 7,60 ppm).



**Espectro 15.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE02 (5,55 – 6,55 ppm).

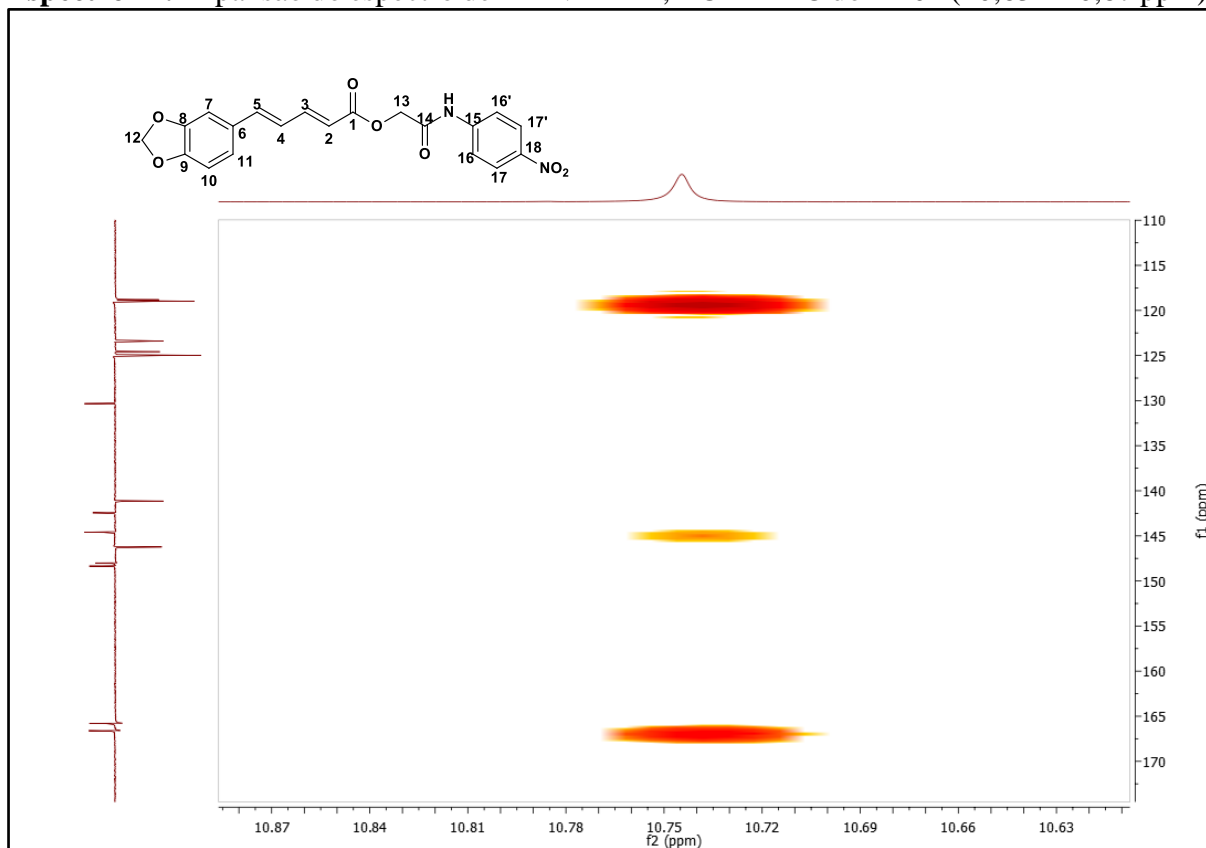


**Espectro 16.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02.

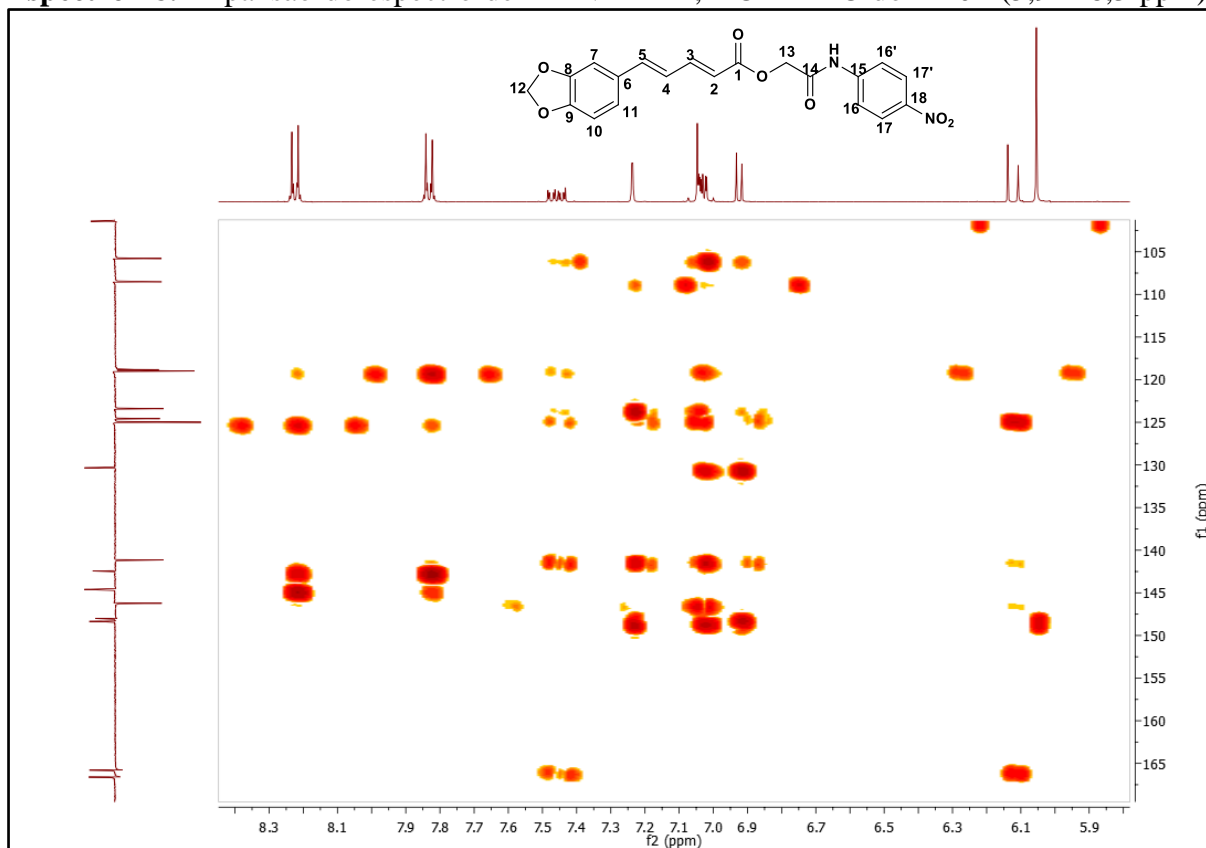




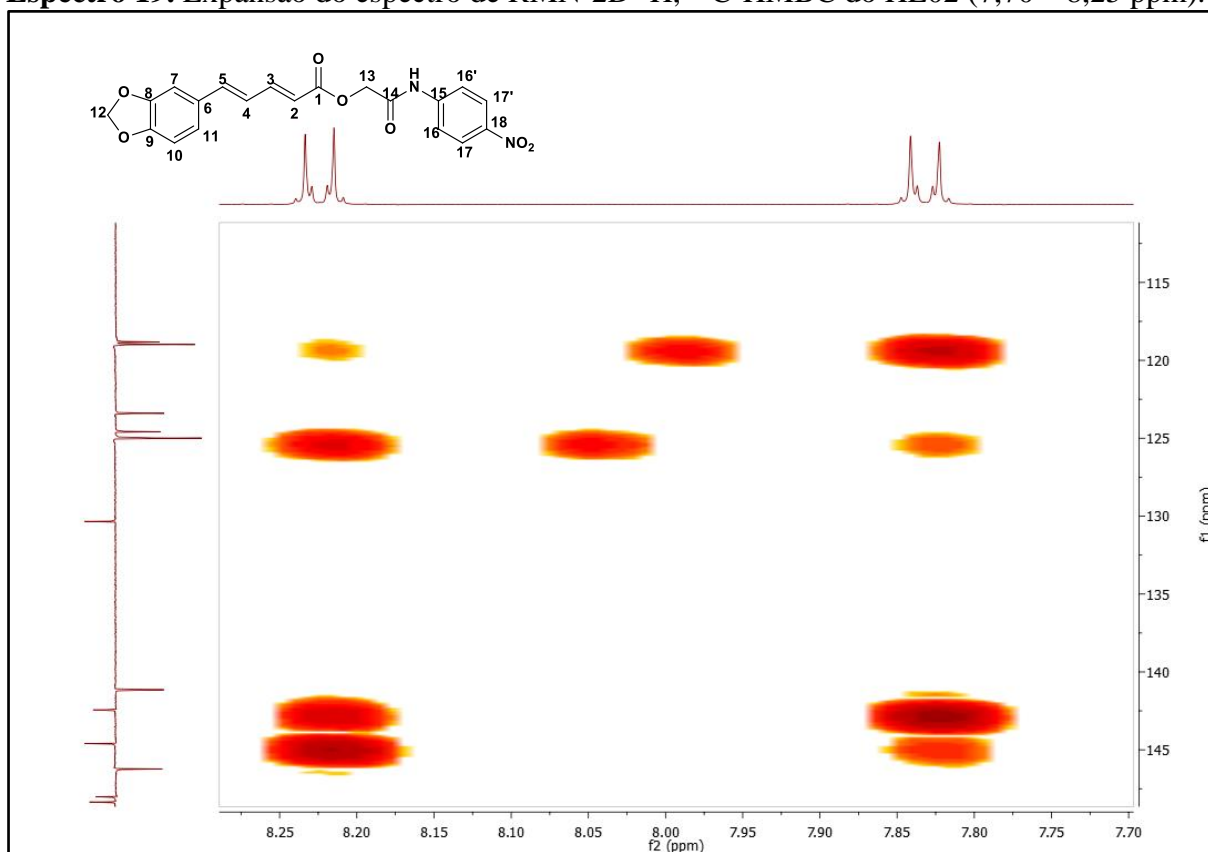
**Espectro 17.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (10,63 – 10,87 ppm).



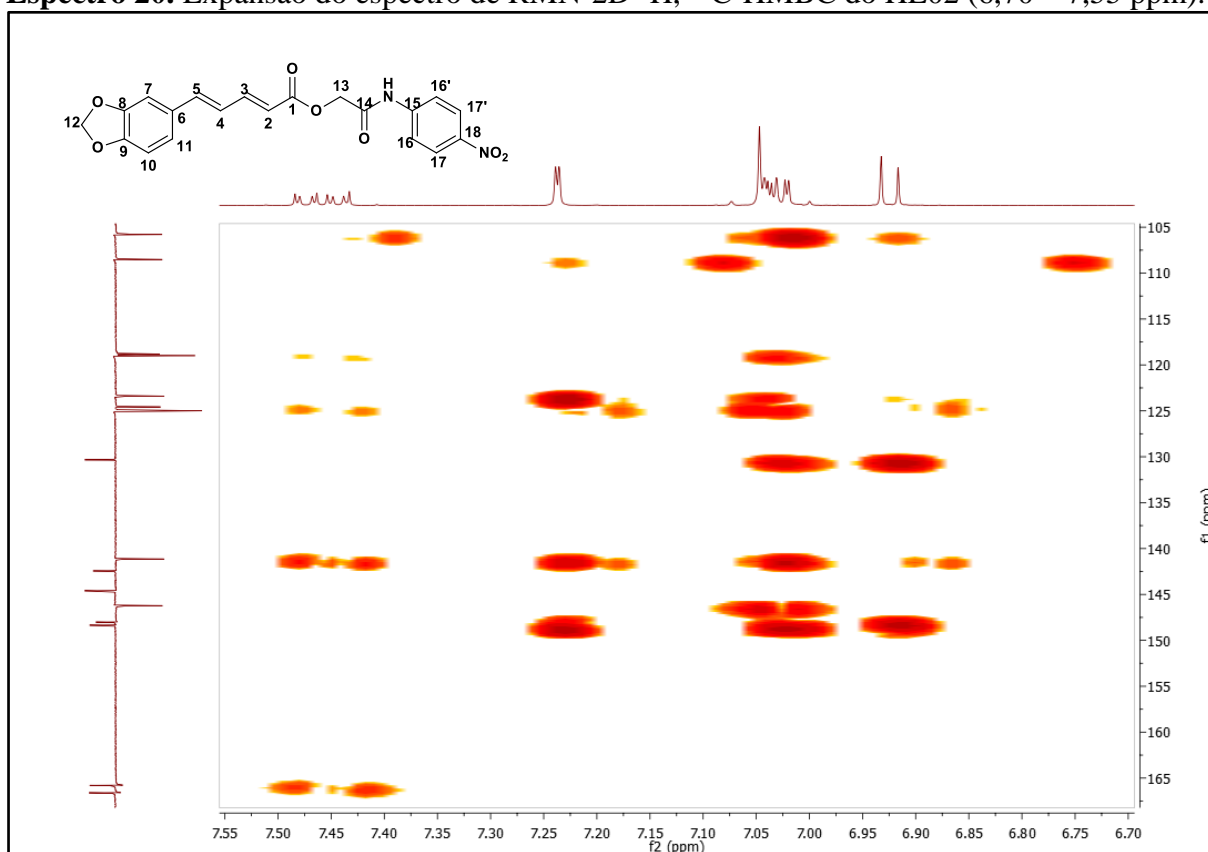
**Espectro 18.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (5,9 – 8,3 ppm).



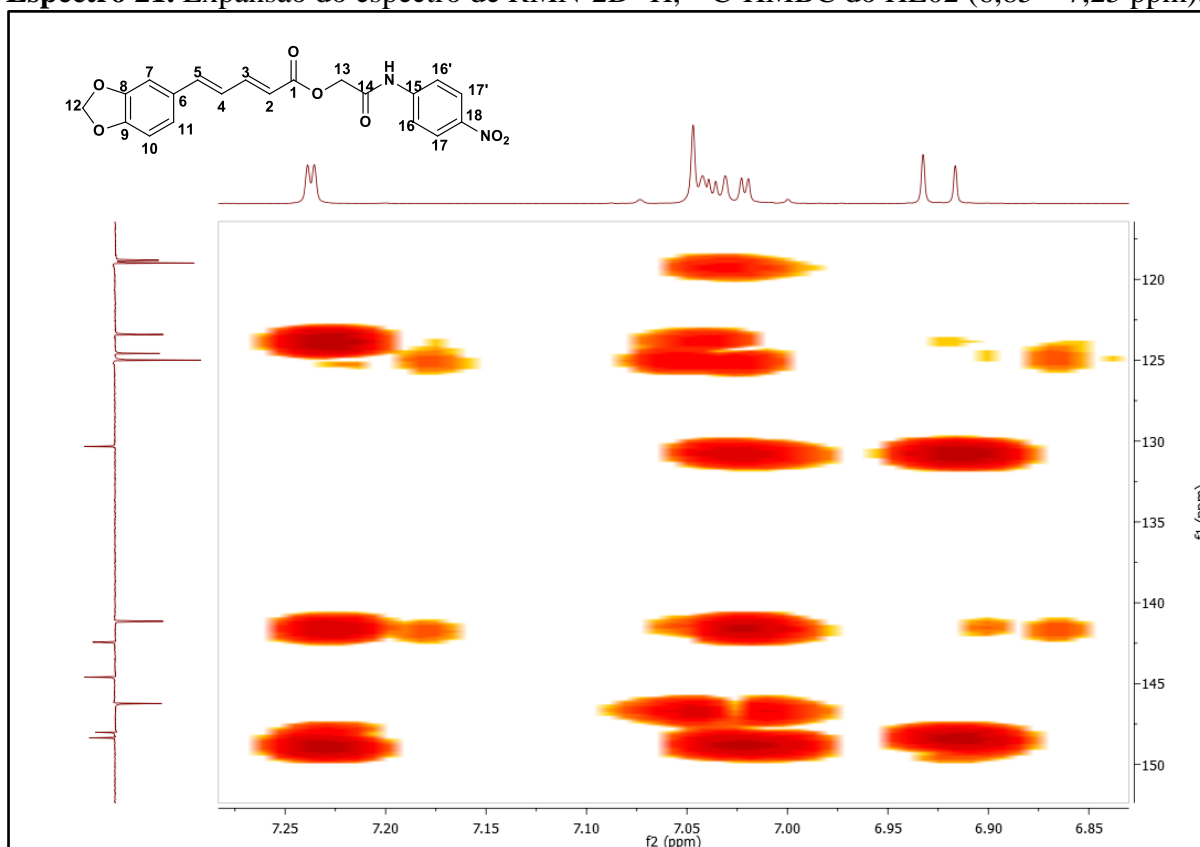
**Espectro 19.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (7,70 – 8,25 ppm).



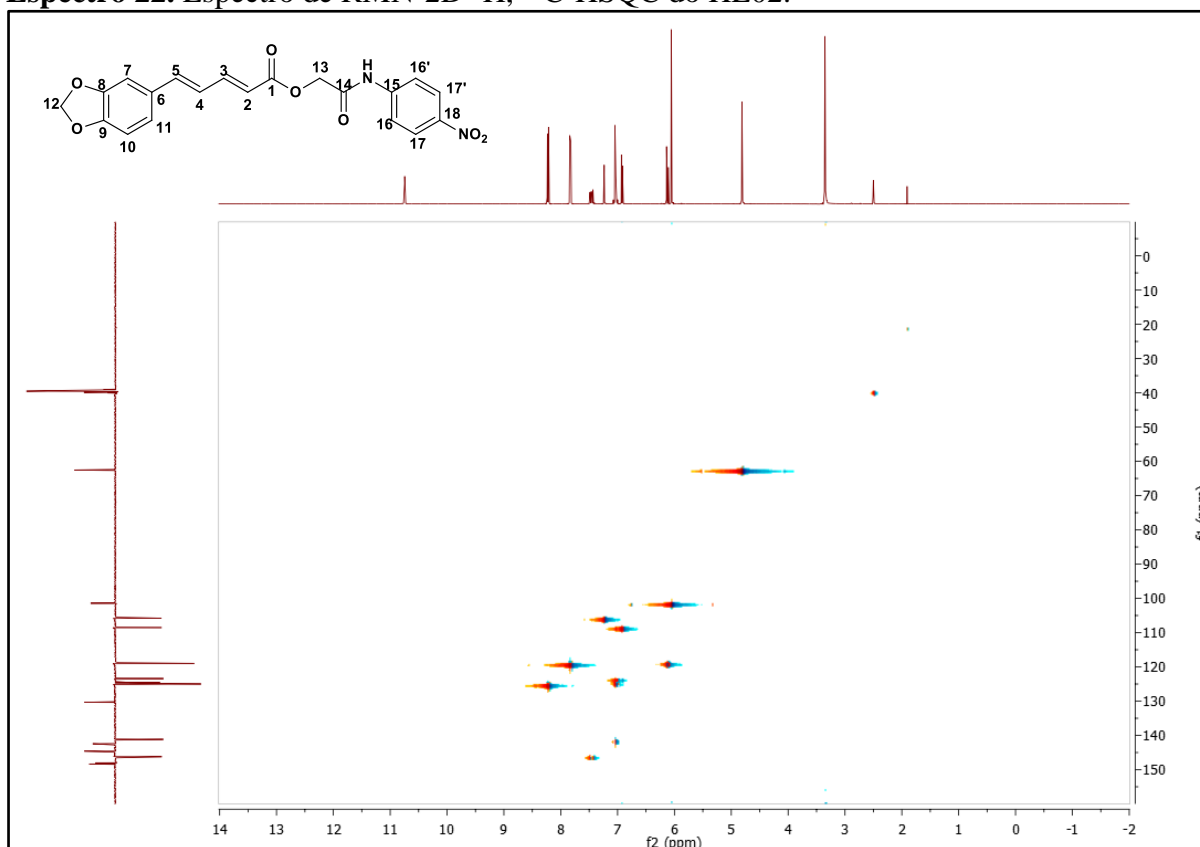
**Espectro 20.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (6,70 – 7,55 ppm).



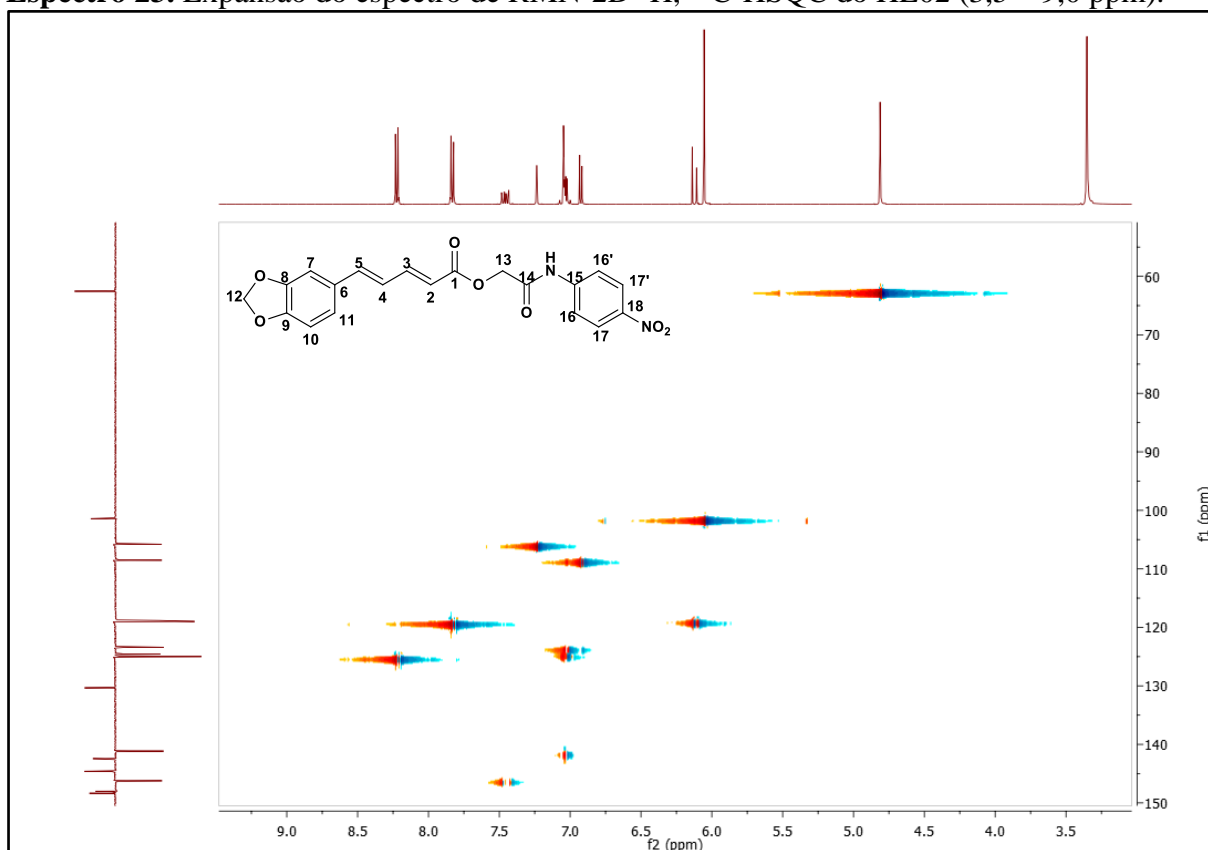
**Espectro 21.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE02 (6,85 – 7,25 ppm).



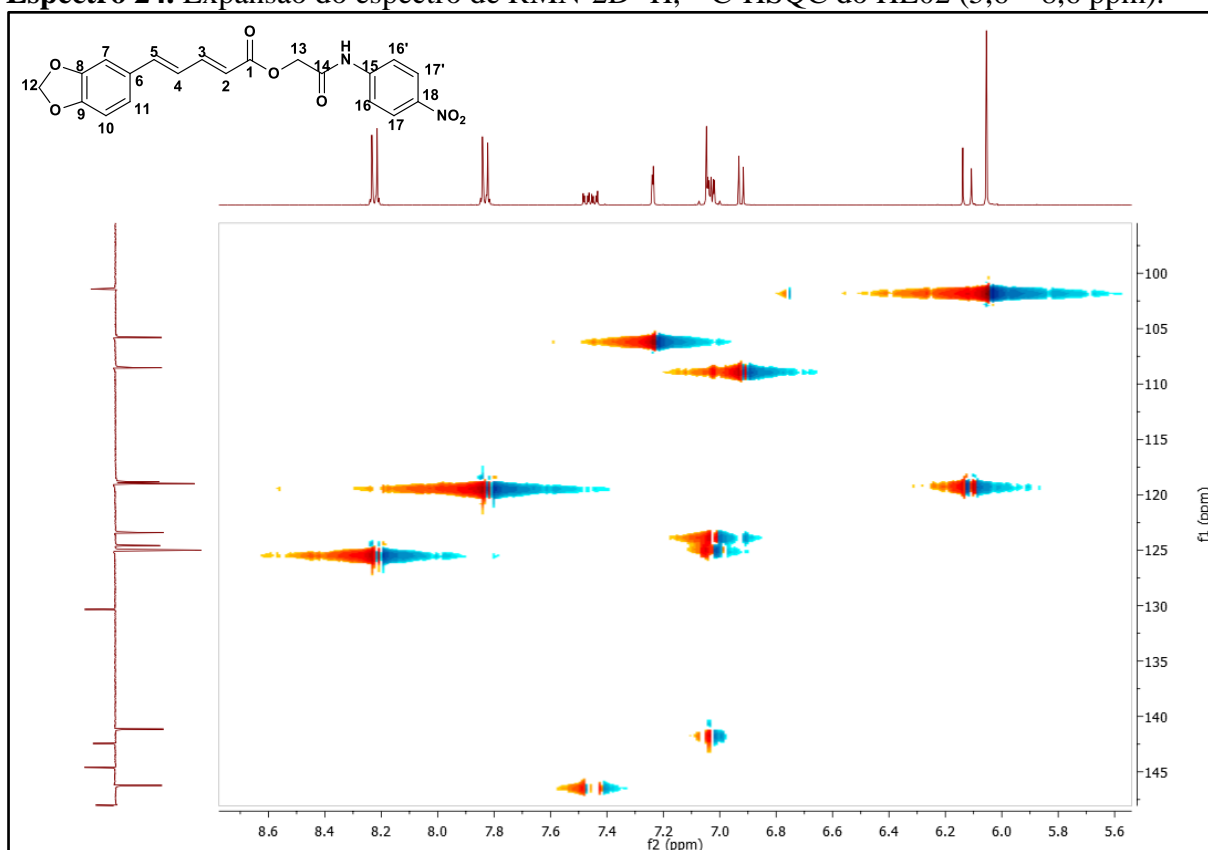
**Espectro 22.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02.



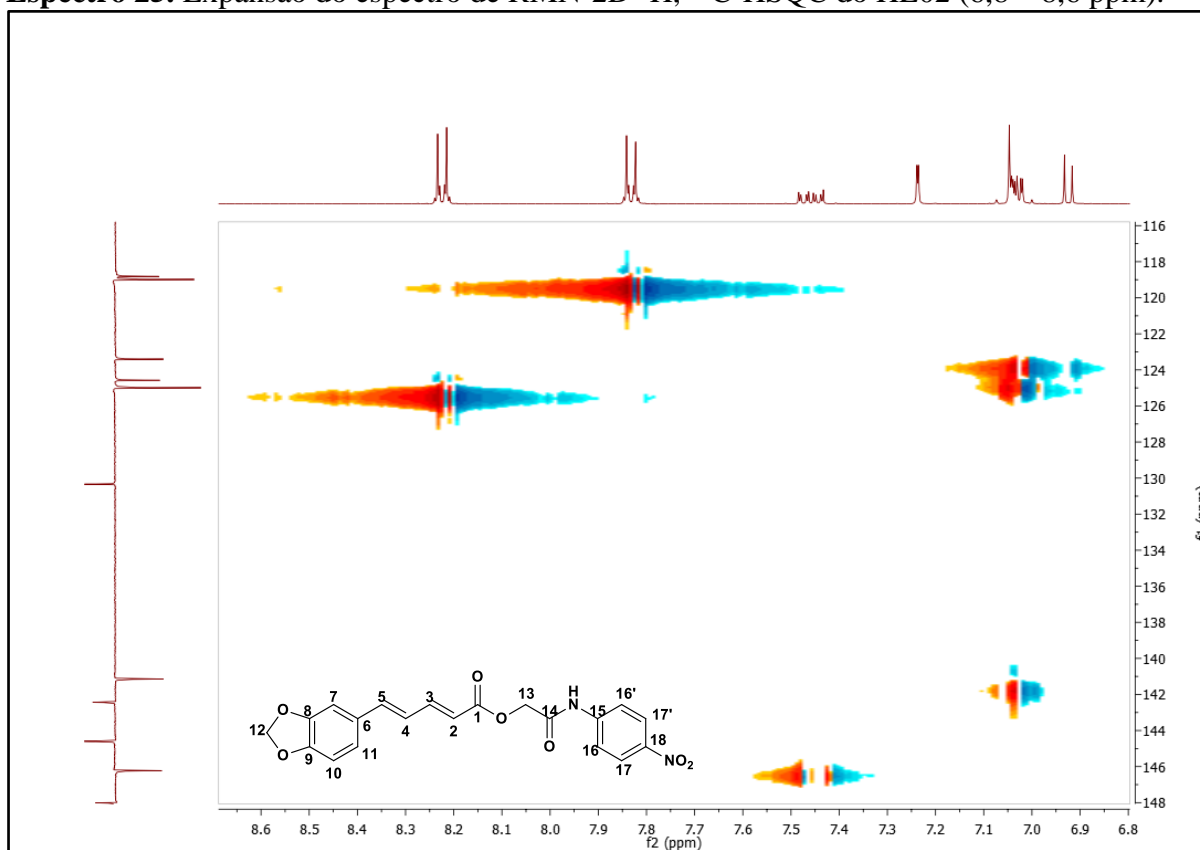
**Espectro 23.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (3,5 – 9,0 ppm).



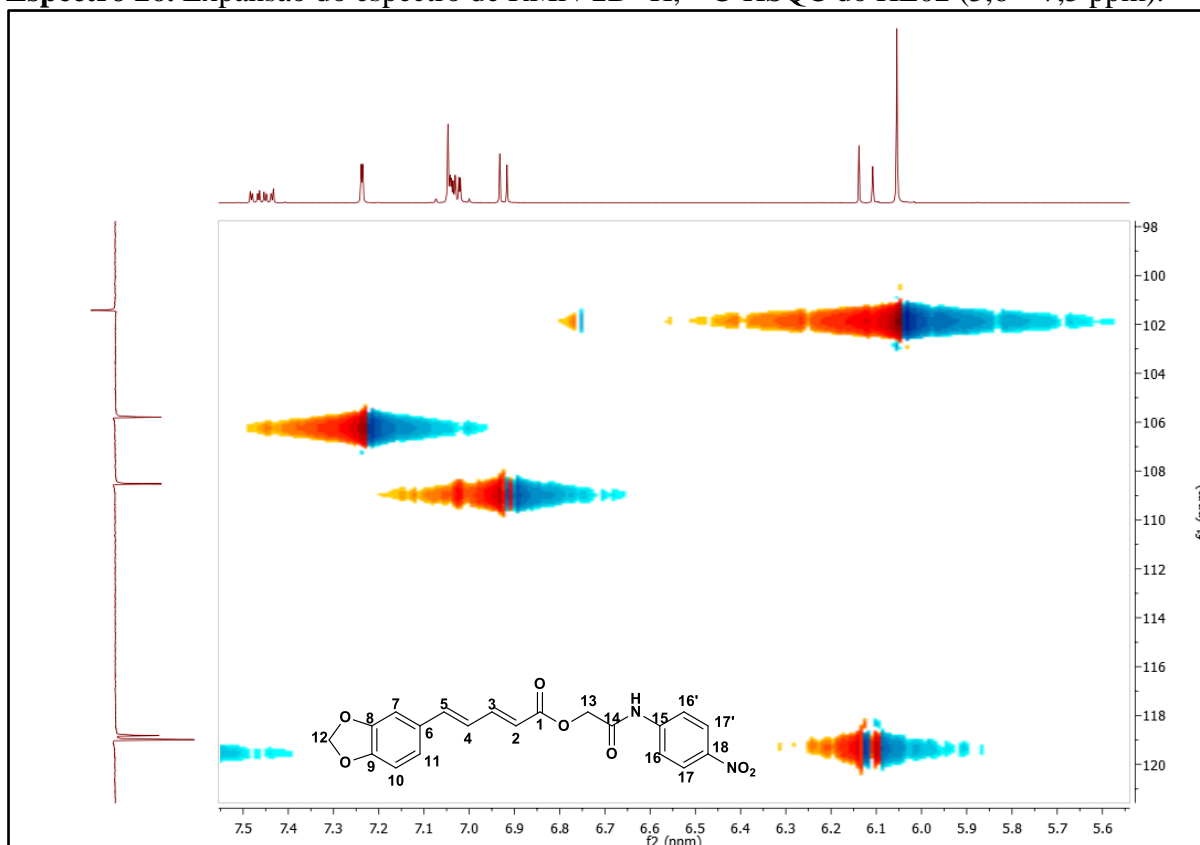
**Espectro 24.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (5,6 – 8,6 ppm).



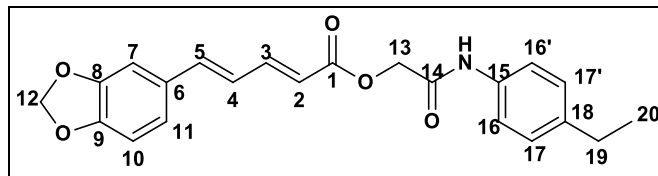
**Espectro 25.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (6,8 – 8,6 ppm).



**Espectro 26.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE02 (5,6 – 7,5 ppm).



### 5.2.2 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*)-2-oxo-2-(4-etilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE03)



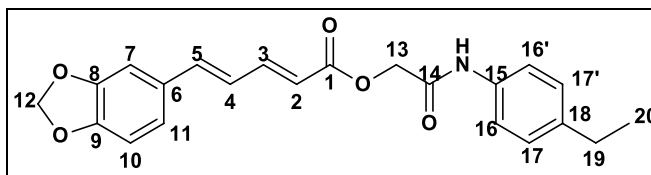
A estrutura HE03 foi confirmada a partir das técnicas espectroscópicas de infravermelho, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como experimentos uni- (1D) e bidimensionais (2D), utilizando técnicas HSQC e HMBC.

O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (pag 47-48) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,73 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,05 ppm, singlete importante integrando para dois hidrogênios, confirmando assim a presença do grupo metilenodióxido na estrutura. Na região de  $\delta$  1,15 ppm temos um tripleto para três hidrogênios referente ao H-20 e em  $\delta$  2,55 ppm um quarteto para dois hidrogênios referente ao H-19. Na região  $\delta$  10,01 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 125 MHz (pag 49-50) do composto HE03 observou-se a presença de vinte sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Treze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$ , um a carbonos trihidrogenados de alifáticos do tipo  $\text{sp}^3$  e três a carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$ . Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$ .

O espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC (pag 54-56) permitiram a distinção entre os sinais de hidrogênios e carbonos na região de  $\delta$  7,49-6,00 ppm:  $\delta$  6,12 (H-2) com 119,10 (C-2);  $\delta$  6,93 (H-10) com 108,52 (C-10);  $\delta$  7,05-7,02 (H-4) com 124,61 (C-4);  $\delta$  7,05-7,02 (H-5) com 140,96 (C-5);  $\delta$  7,05-7,02 (H-11) com 123,35 (C-11);  $\delta$  7,14 (H-17, 17') com 127,92 (C-17,17');  $\delta$  7,25 (H-7) com 105,79 (C-7);  $\delta$  7,47-7,42 (H-3) com 145,95 (C-3) e  $\delta$  7,49 (H-16, 16') com 119,45 (C-16', 16') ppm (Tabela 4).

O espectro RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC (pag 51-54) permitiram atribuir inequivocamente os acoplamentos entre  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  distantes 2 e 3 ligações em:  $\delta$  1,15 (H-20) com 138,94 (C-18) e 27,57 (C-19);  $\delta$  2,55 (H-19) com 127,92 (C-17, 17'), 138,94 (C-18) e 15,61 (C-20);  $\delta$  4,73 (H-13) com 165,30 (C-1) e 165,79 (C-14);  $\delta$  6,05 (H-12) com 148,01 (C-8) e 148,31 (C-9);  $\delta$  6,12

(H-2) com 124,61 (C-4);  $\delta$  6,93 (H-10) com 130,37 (C-6), 148,01 (C-8) e 148,31 (C-9);  $\delta$  7,05-7,02 (H-4) com 140,96 (C-5) e 130,37 (C-6);  $\delta$  7,05-7,02 (H-5) com 130,37 (C-6) e 105,79 (C-7);  $\delta$  7,05-7,02 (H-11) com 140,96 (C-5), 130,37 (C-6), 105,79 (C-7) e 148,31 (C-9);  $\delta$  7,25 (H-7) com 140,96 (C-5), 148,01 (C-8), 148,31 (C-9) e 123,35 (C-11);  $\delta$  7,14 (H-17, 17') com 136,12 (C-15), 119,45 (C-16, 16') e 27,57 (C-19);  $\delta$  7,49 (H-16, 16') com 127,92 (C-17, 17') e 138,94 (C-18);  $\delta$  10,01 (NH) com 119,45 (C-16, 16') ppm (Tabela 4).



**Tabela 4.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  de HE03. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo $\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) <sup>a</sup>	HSQC/APT $\delta$ ( $^1\text{H}$ ) <sup>b,d</sup>	HMBC $\delta$ ( $^2J$ e $^3J_{\text{CH}}$ ) <sup>c</sup>
1	165,30	-	-
2	119,10	6,12 (d, $J = 15,2$ Hz)	C-4
3	145,95	7,47-7,42 (m)	-
4	124,61	7,05-7,02 (m)	C-5 e C-6
5	140,96	7,05-7,02 (m)	C-6, C-7
6	130,37	-	-
7	105,79	7,25 (d, $J = 1,7$ Hz)	C-5, C-8, C-9 e C-11
8	148,01	-	-
9	148,31	-	-
10	108,52	6,93 (d)	C-6, C-8 e C-9
11	123,35	7,05-7,02 (m)	C-5, C-6, C-7 e C-9
12	101,40	6,05 (s)	C-8 e C-9
13	62,49	4,73 (s)	C1 e C-14
14	165,79	-	-
15	136,12	-	-
16, 16'	119,45	7,49 (d)	C-17, 17' e C-18
17, 17'	127,92	7,14 (d)	C-15, C-16, 16' e C-19
18	138,94	-	-
19	27,57	2,55 (q)	C-17, 17', C-18 e C-20
20	15,61	1,15 (t)	C-18 e C-19
NH	-	10,01 (s)	C-16, 16'

<sup>a</sup>Valores deduzida pelos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  APT. <sup>b</sup>Valores obtidos das correlações heteronucleares bidimensionais através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) HSQC. <sup>c</sup>Valores obtidos das correlações bidimensionais através de duas ( $^2J_{\text{CH}}$ ) e três ( $^3J_{\text{CH}}$ ) ligações HMBC. <sup>d</sup>Multiplicidade de sinais para RMN  $^1\text{H}$ : singlete (s); duplete (d); tripeto (t); quarteto (q) e multipeto (m).

**Chemical structure of compound 10:**

Cc1ccc(NC(=O)COC(=O)/C=C/c2cc3c(cc2)OCO3)cc1

**<sup>1</sup>H NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>):**

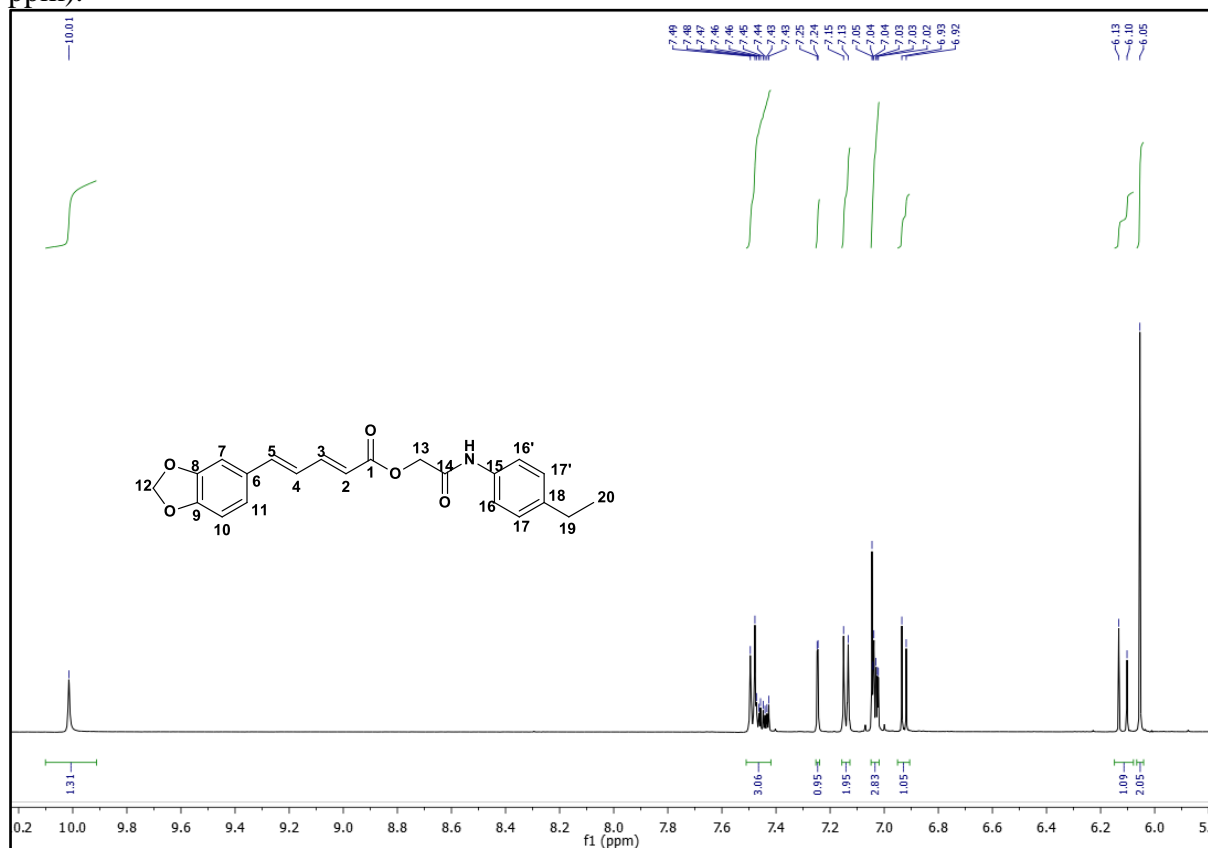
Chemical Shift (ppm)	Integration
1.13	3.00
2.50	2.17
3.36	2.10
4.73	1.09
6.9-7.5	1.05, 2.05, 0.95, 3.06

Chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum. The structure is a substituted benzene ring with a 1,3-dioxolane group at position 1, a 2,5-dimethyl-4-oxo-2,5-dihydro-1H-benzofuran group at position 2, and a 2,4-dimethyl-5-oxo-2,4-dihydro-1H-benzofuran group at position 3. The protons are numbered 1 through 20.

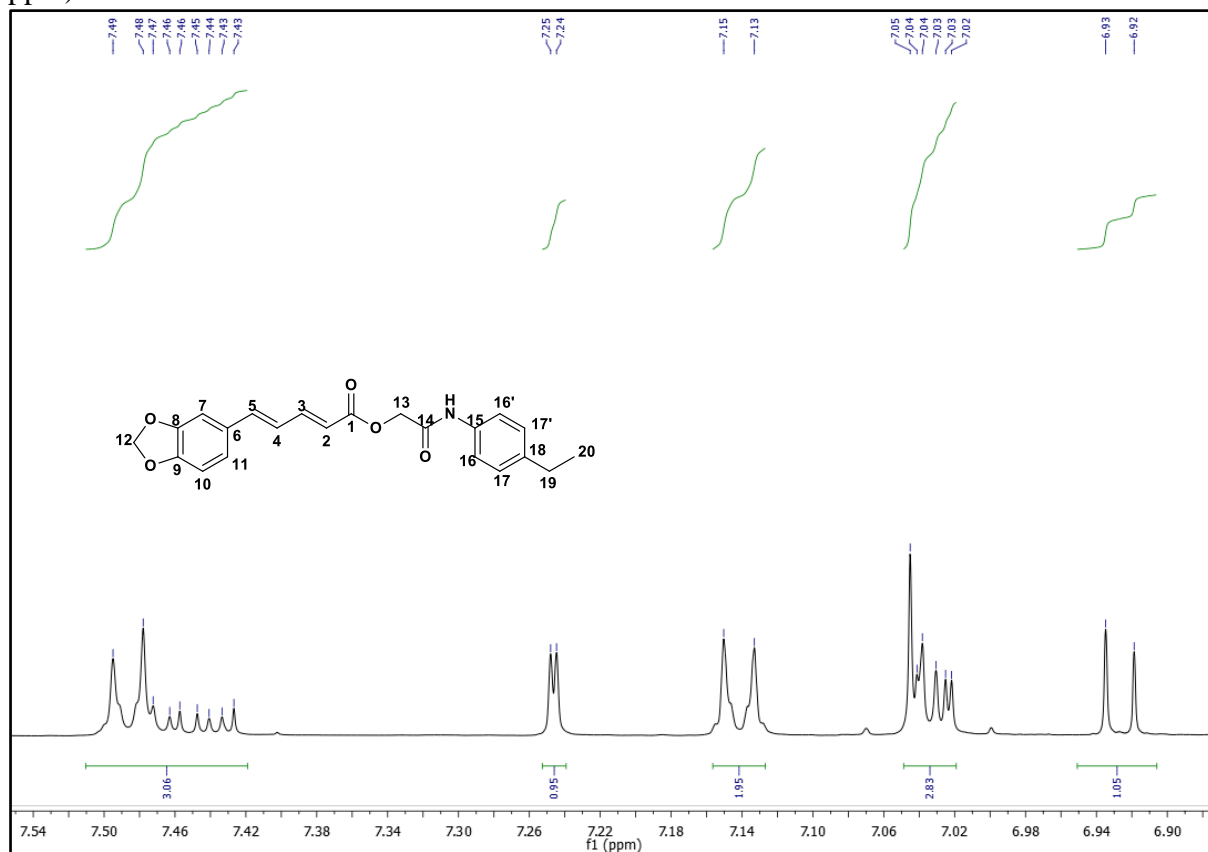
<sup>1</sup>H NMR spectrum (CDCl<sub>3</sub>) of compound 10. The spectrum shows peaks at 7.23 (s, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.13 (s, 1H), 3.36 (s, 1H), 2.57 (s, 1H), 2.55 (s, 1H), 2.54 (s, 1H), 2.52 (s, 1H), 2.51 (s, 1H), 2.50 (s, 1H), 2.49 (s, 1H), and 2.10 (s, 1H). The chemical structure of compound 10 is shown above the spectrum.



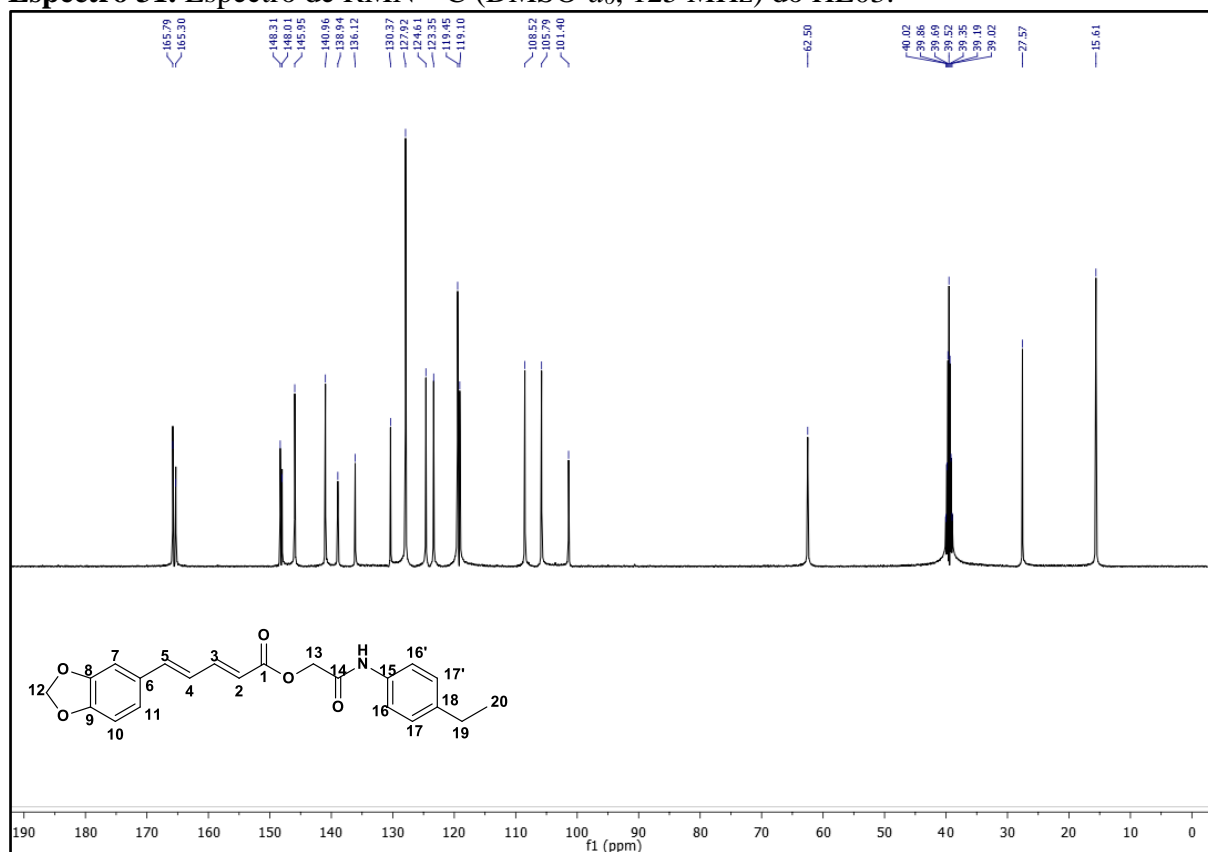
**Espectro 29.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 (5,5 – 10,2 ppm).



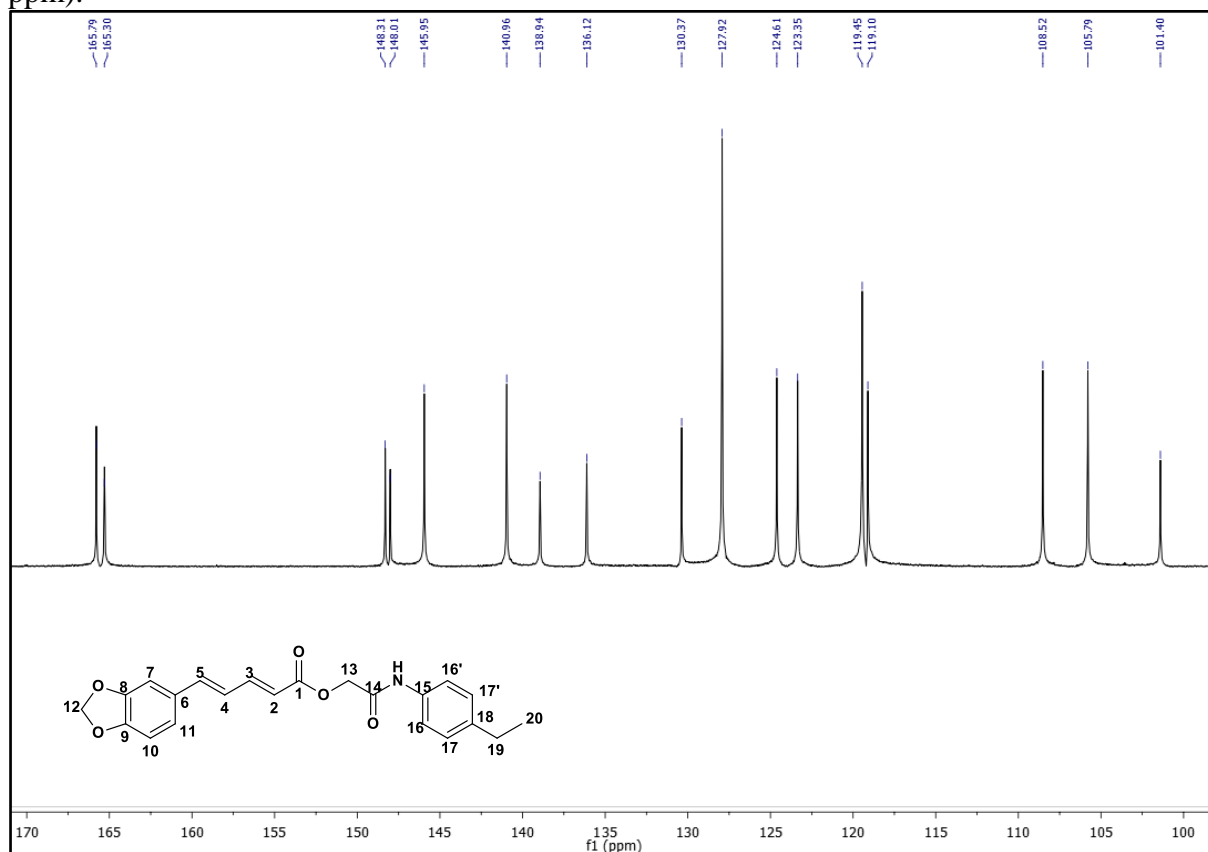
**Espectro 30.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE03 (6,90 – 7,54 ppm).



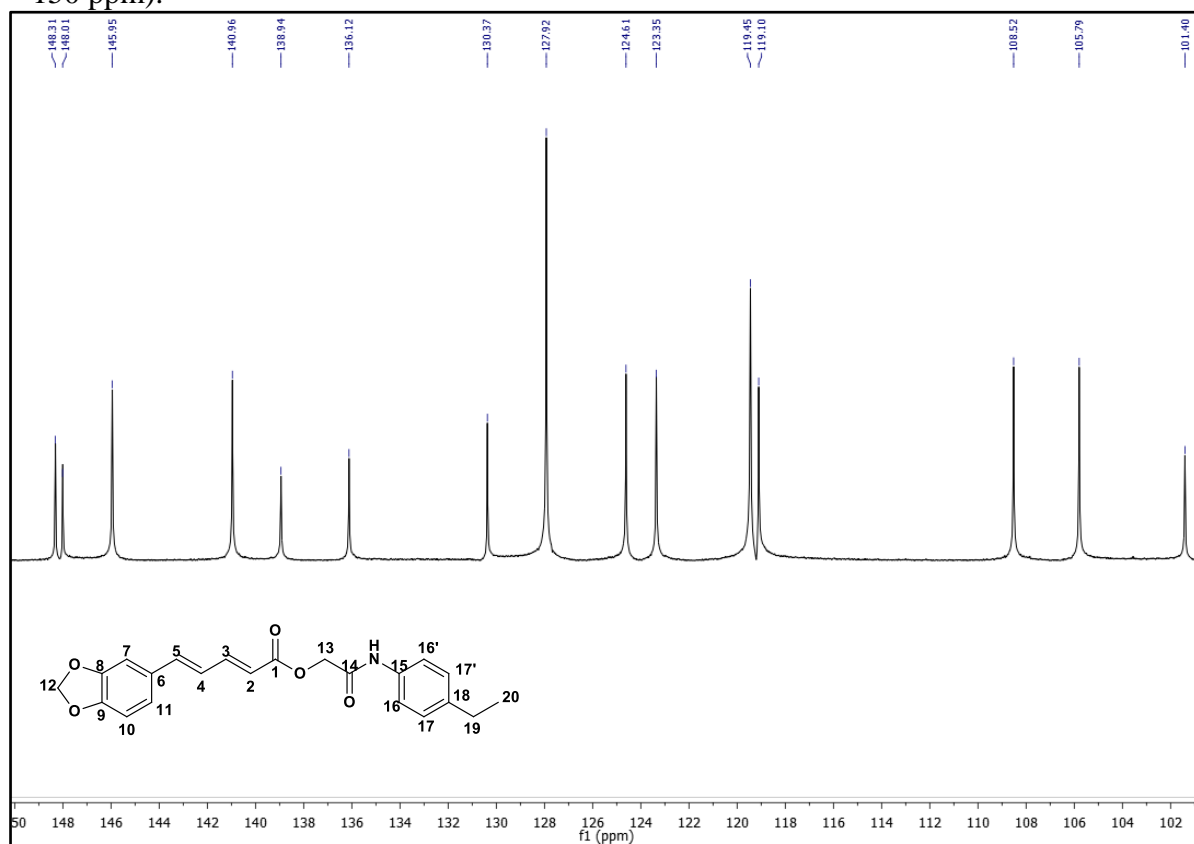
**Espectro 31.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03.



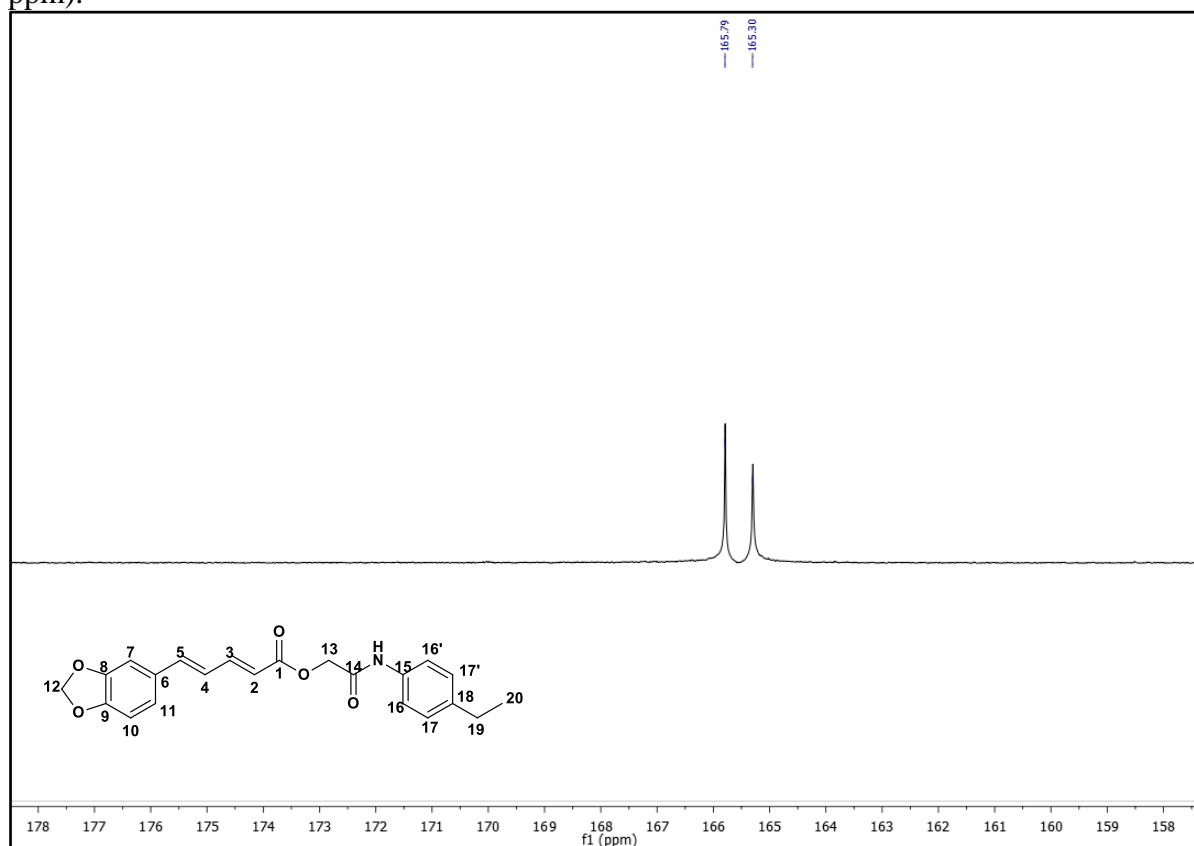
**Espectro 32.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (100 – 170 ppm).



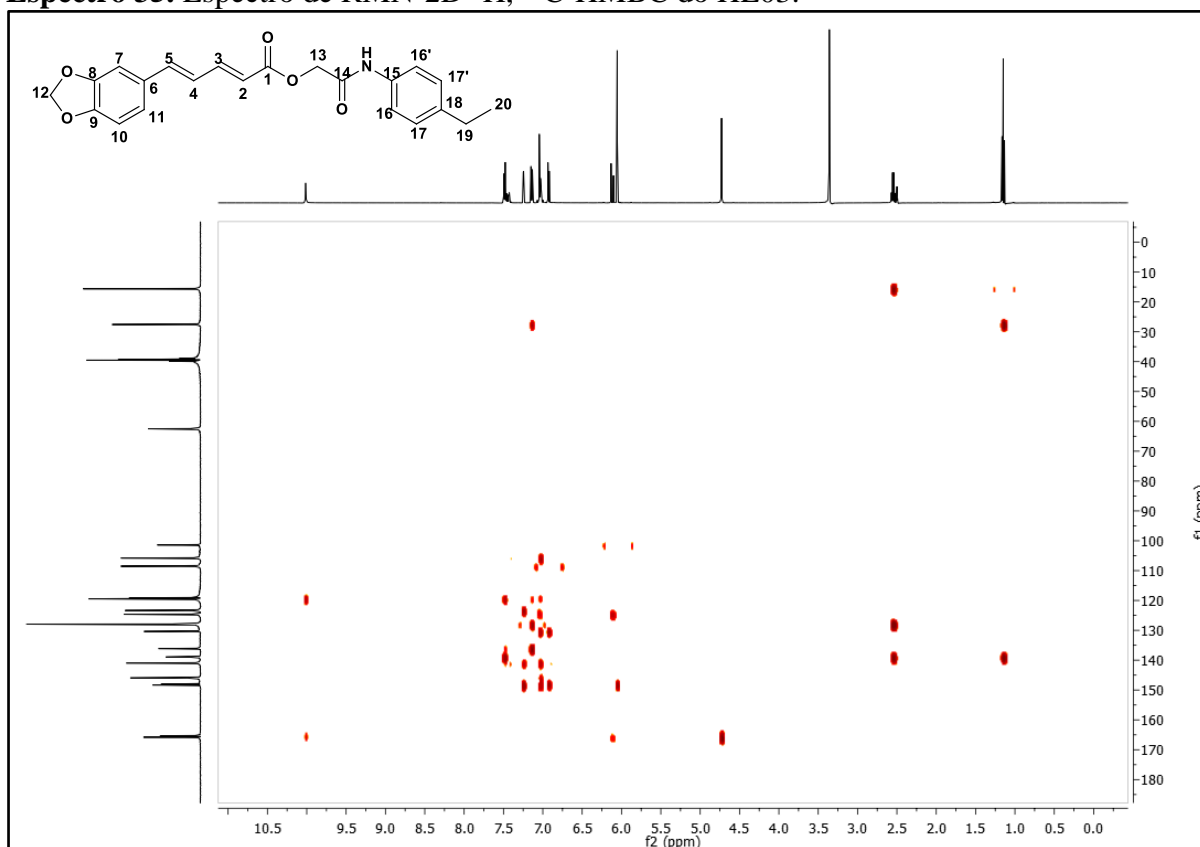
**Espectro 33.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (102 – 150 ppm).



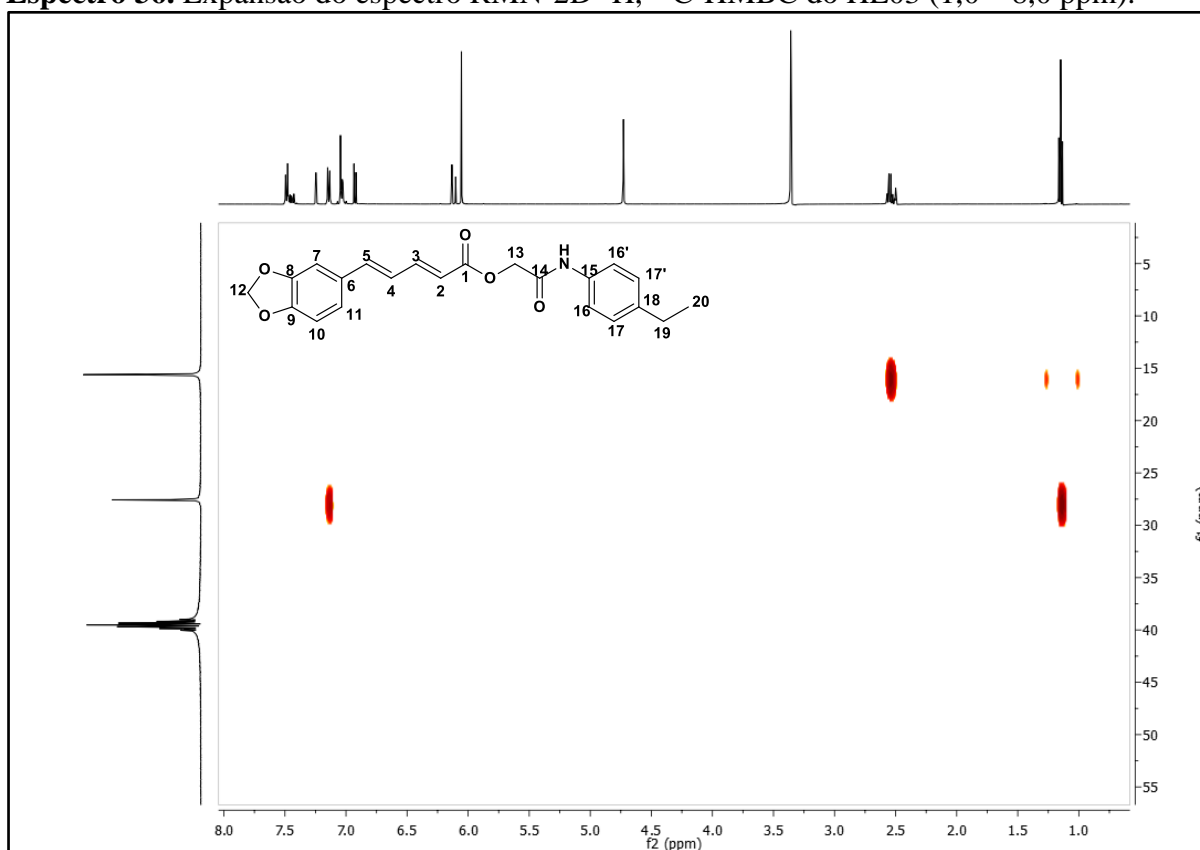
**Espectro 34.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE03 (158– 178 ppm).



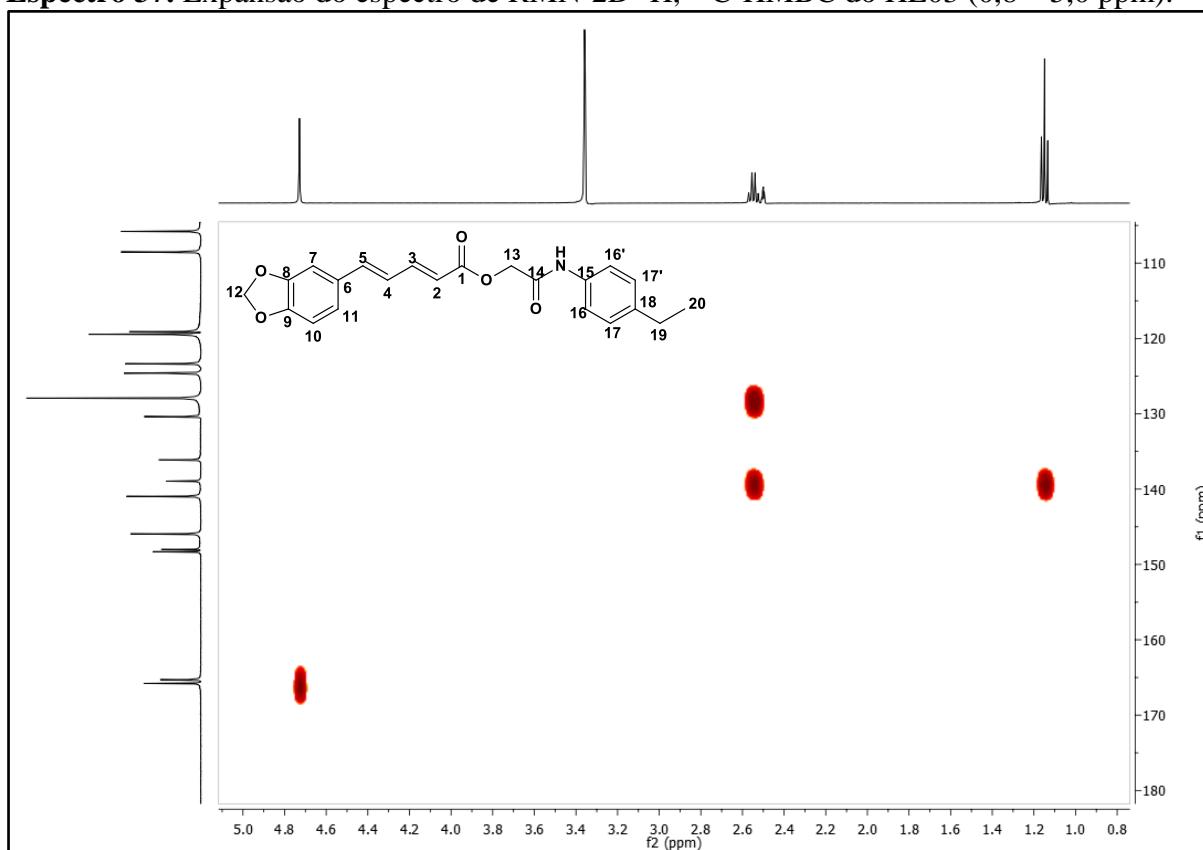
**Espectro 35.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03.



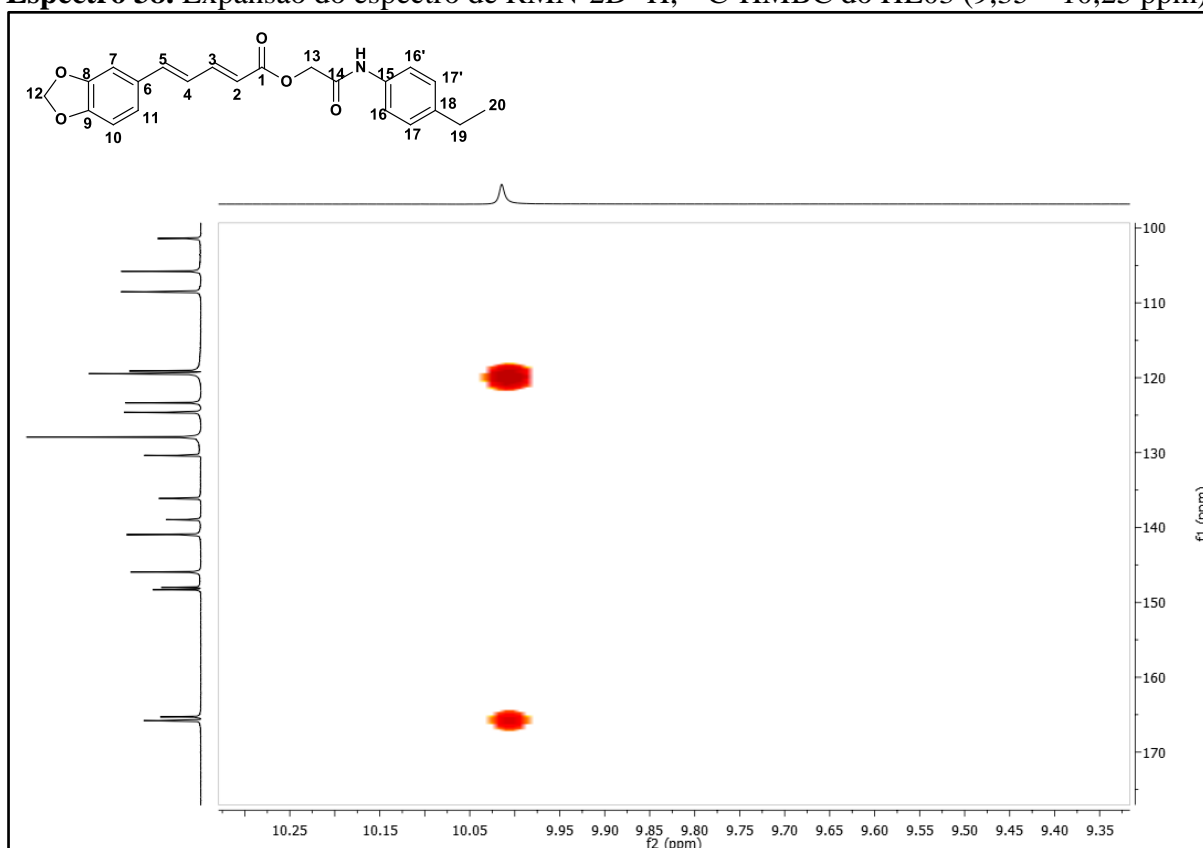
**Espectro 36.** Expansão do espectro RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (1,0 – 8,0 ppm).



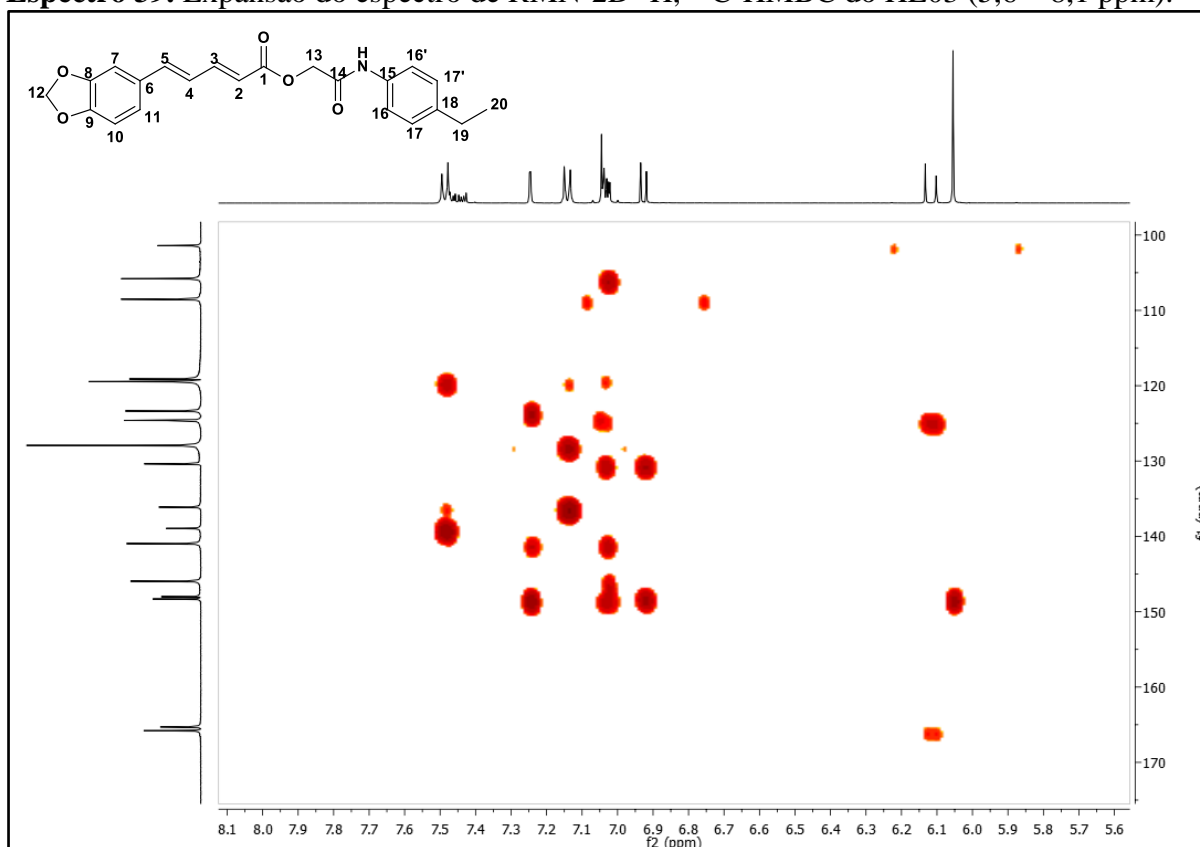
**Espectro 37.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (0,8 – 5,0 ppm).



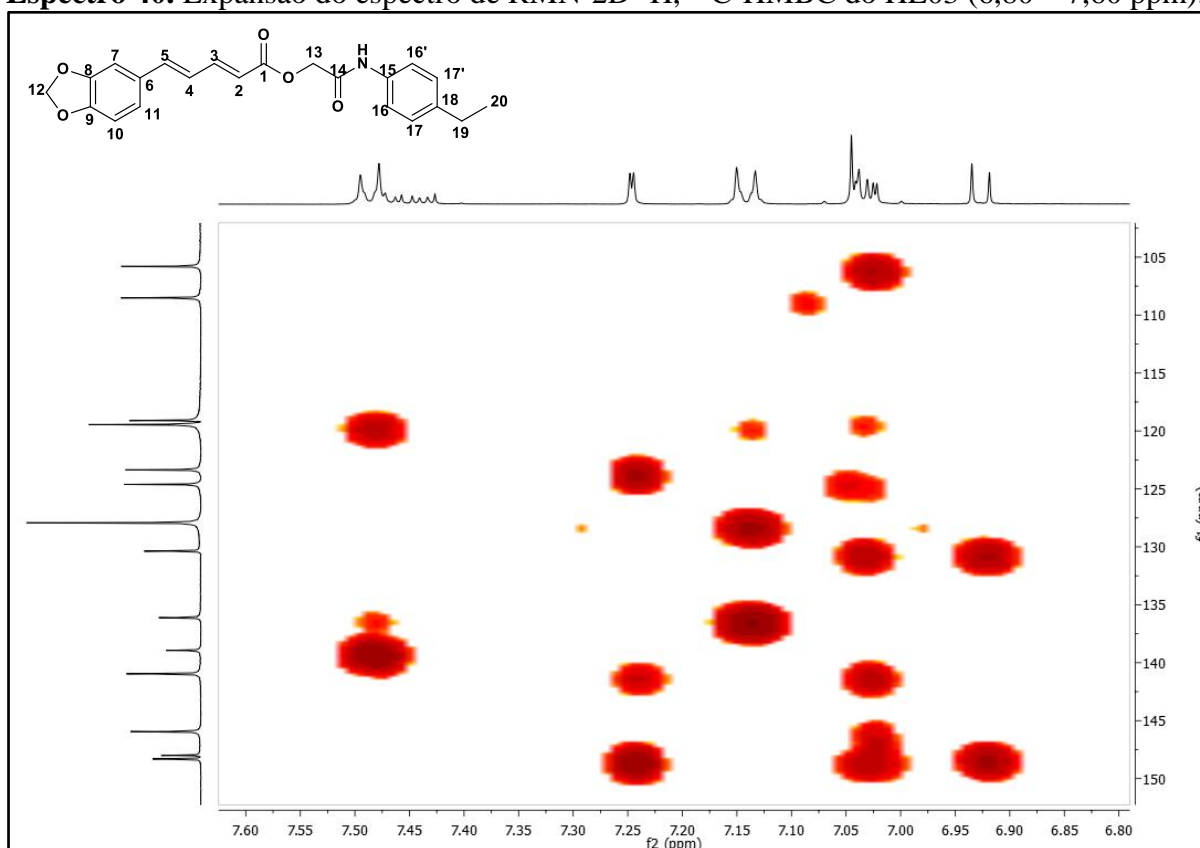
**Espectro 38.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (9,35 – 10,25 ppm).



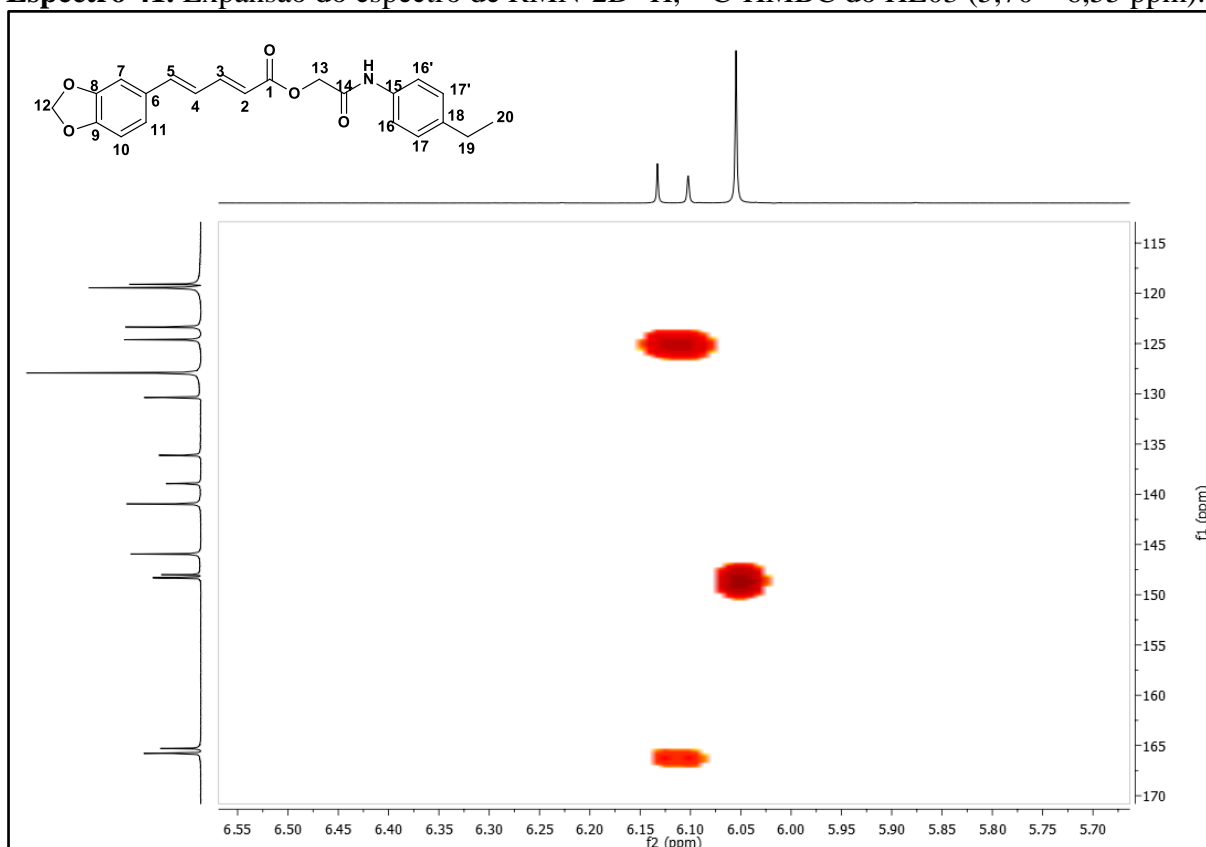
**Espectro 39.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (5,6 – 8,1 ppm).



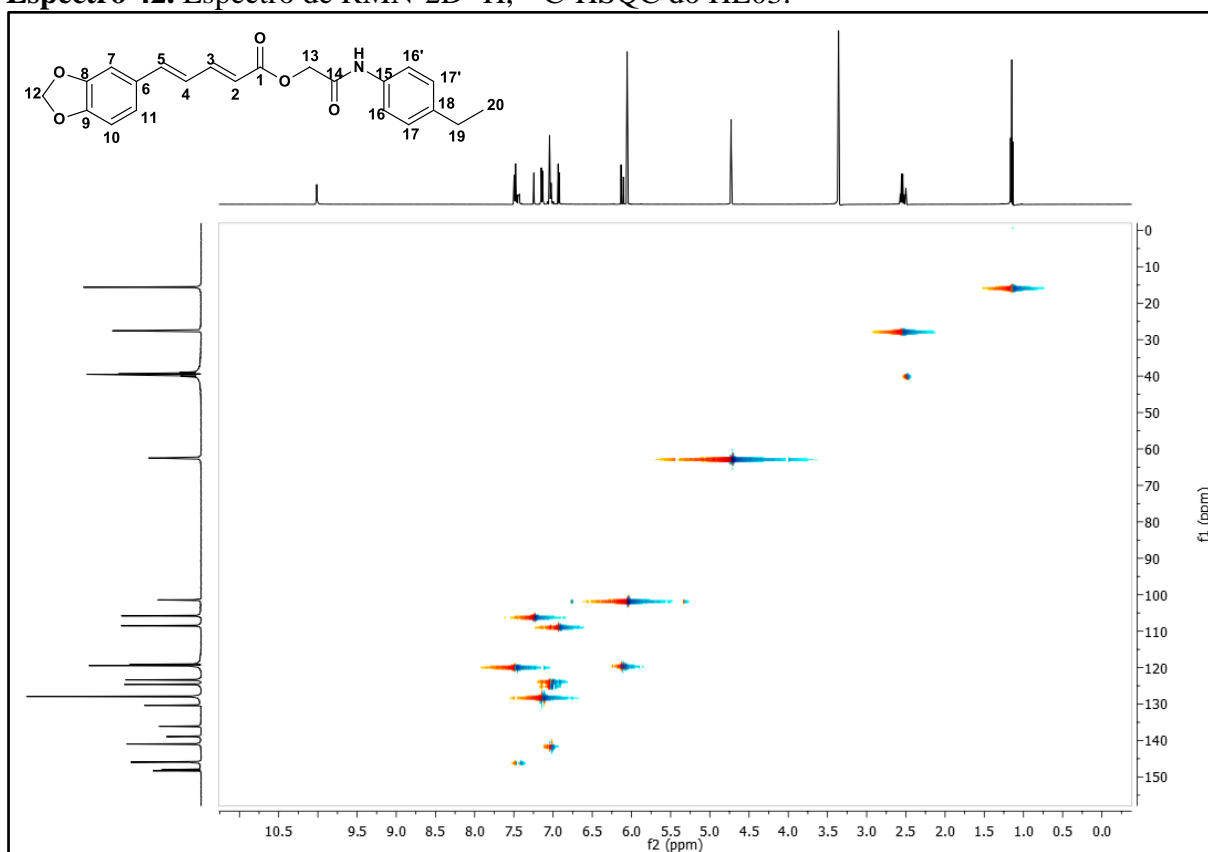
**Espectro 40.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (6,80 – 7,60 ppm).



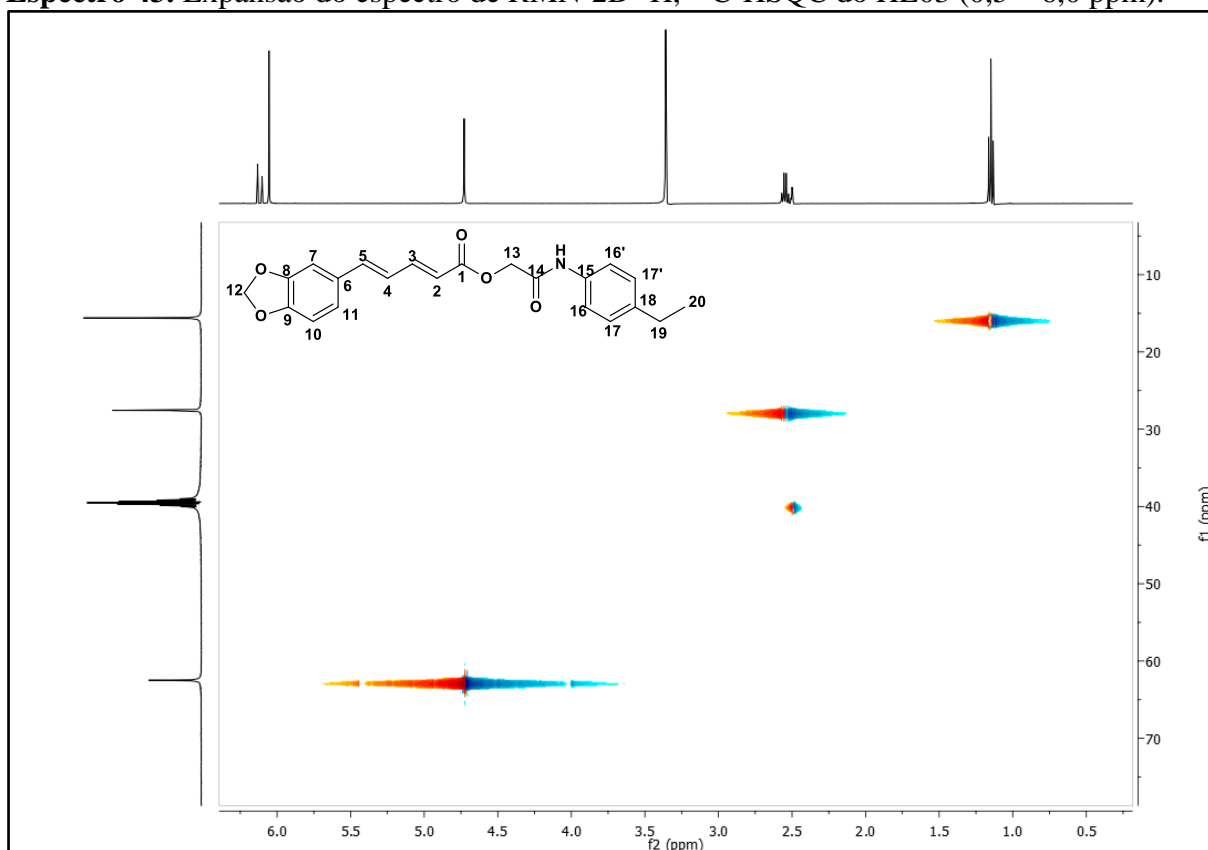
**Espectro 41.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE03 (5,70 – 6,55 ppm).



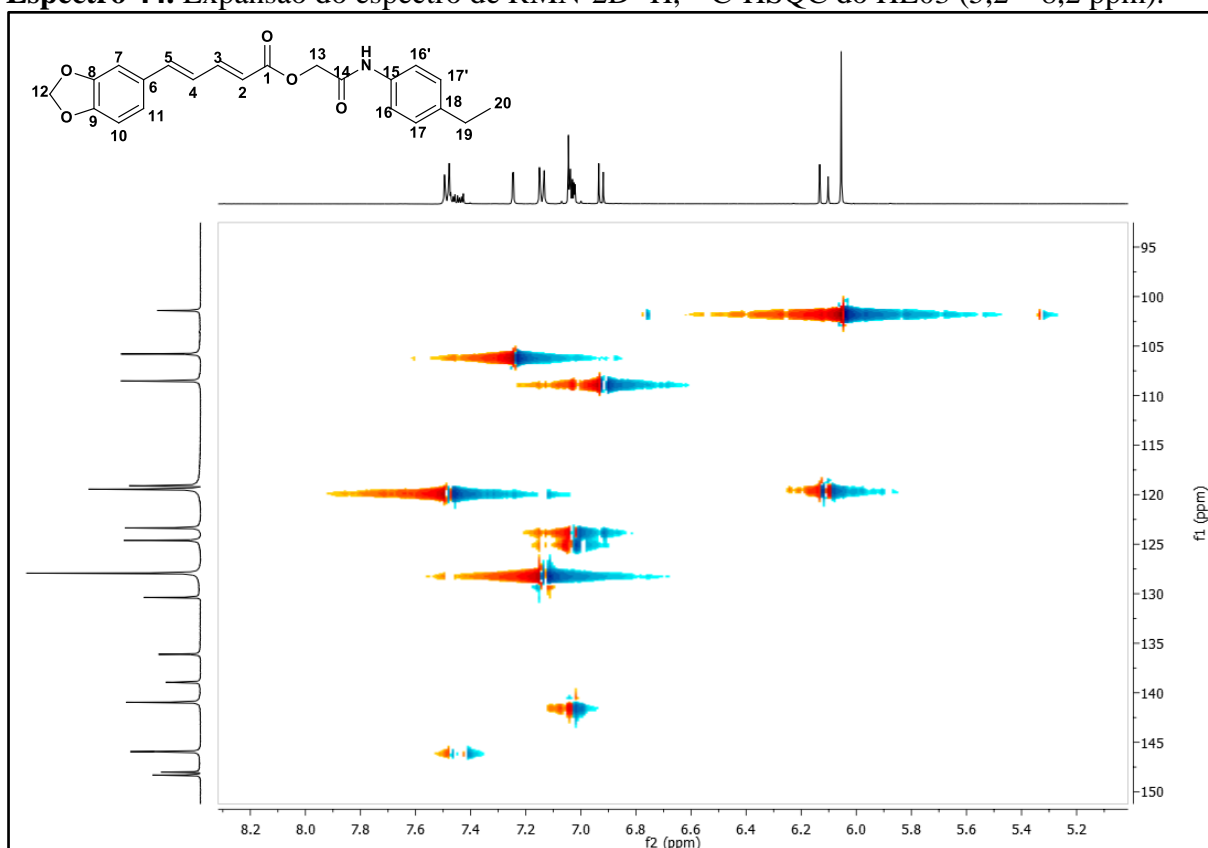
**Espectro 42.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03.



**Espectro 43.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (0,5 – 6,0 ppm).

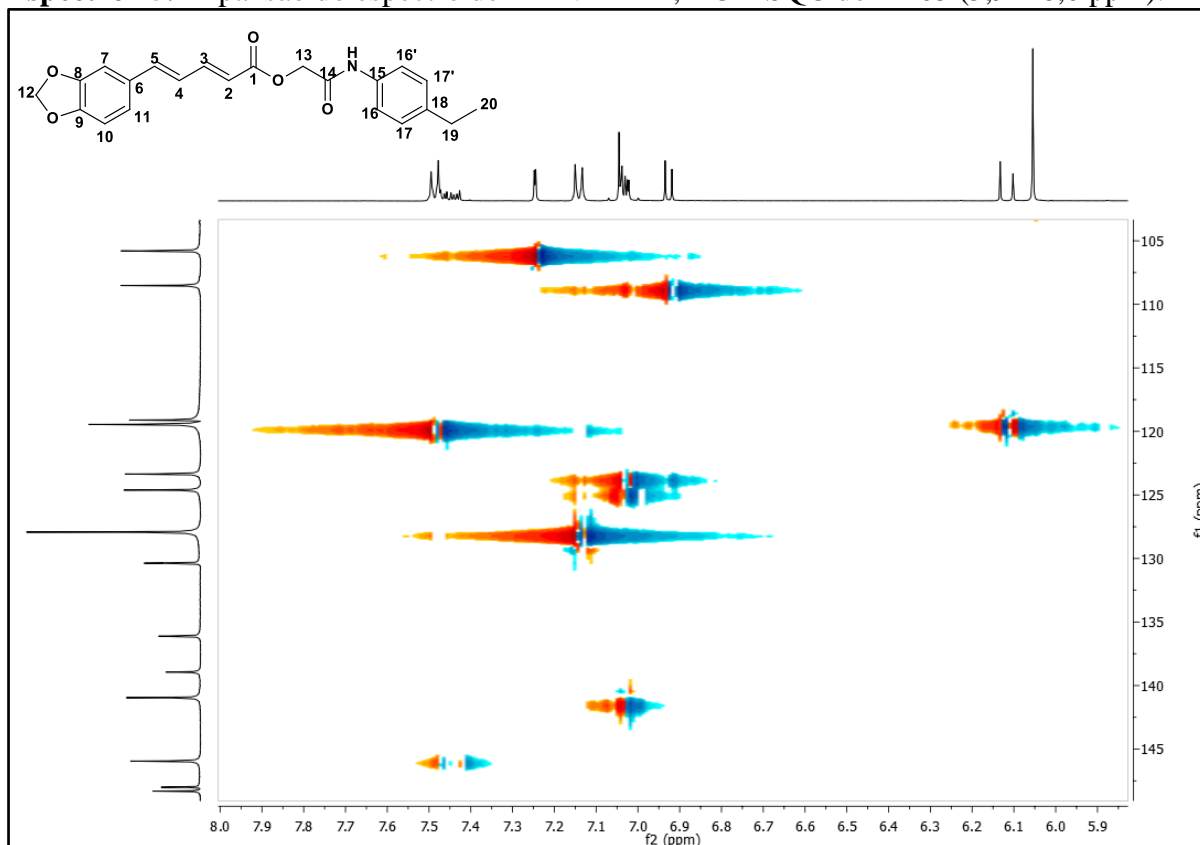


**Espectro 44.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (5,2 – 8,2 ppm).

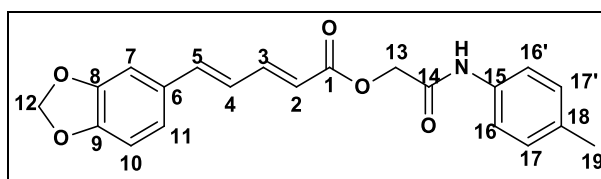




**Espectro 45.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE03 (5,9 – 8,0 ppm).



### 5.2.3 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*) -2-oxo-2-(4-metilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE04)



A estrutura HE04 foi confirmada a partir das técnicas espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como experimentos uni- (1D) e bidimensionais (2D), utilizando técnicas HSQC, COSY e HMBC.

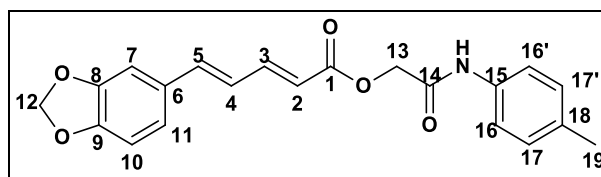
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 75 MHz (pag 60-62) do composto HE05 observou-se a presença de dezenove sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$ ,

um sinal para um carbono trihidrogenado do tipo  $sp^3$  e dois sinais de carbonos dihidrogenados do tipo  $sp^2$ . Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $sp^2$ . O espectro de RMN  $^1H$  a 500 MHz (pag 59-60) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,73 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm. Na região  $\delta$  10,02 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,11 ( $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,25 ( $J = 1,6$  Hz, 1H); 7,11 ( $J = 9,0$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7; H-17,17' respectivamente. Em  $\delta$  7,48-7,42 (m, 3H) presença de multipeto assinalados aos hidrogênios H-3 e H-16,16'. Na região de  $\delta$  7,05-7,02 (m, 3H) observa-se a presença de multipeto referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11.

O espectro de RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HSQC (pag 66-67) permitiu a distinção entre os sinais de hidrogênios e carbonos na região de  $\delta$  7,60-2,20 ppm:  $\delta$  2,25 (H-19) com 20,43 (C-19);  $\delta$  6,11 (H-2) com 119,10 (C-2);  $\delta$  6,93 (H-10) com 108,54 (C-10);  $\delta$  7,05-7,02 (H-4) com 124,63 (C-4);  $\delta$  7,05-7,02 (H-5) com 140,99 (C-5);  $\delta$  7,05-7,02 (H-11) com 123,40 (C-11);  $\delta$  7,11 (H-17, 17') com 129,15 (C-17,17');  $\delta$  7,25 (H-7) com 105,78 (C-7);  $\delta$  7,48-7,42 (H-3) com 145,98 (C-3) e  $\delta$  7,48-7,42 (H-16, 16') com 119,34 (C-16', 16') ppm (Tabela 5).

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^1H$ -COSY (pag 62-63) permitiram correlacionar os núcleos de  $^1H$  com  $^1H$  distante 3 e 4 ligações. Observa-se o acoplamento entre o (H-3) em  $\delta$  7,48-7,42 ppm com dois hidrogênios de alcenos um em  $\delta$  6,11 ppm (H-2) e o outro em  $\delta$  7,05-7,02 ppm (H-4). Outra correlação é o acoplamento dos hidrogênios aromáticos  $\delta$  6,93 ppm (H-10) com o (H-11) em  $\delta$  7,05-7,02 ppm. Outra correlação observada é entre o (H-16, 16')  $\delta$  7,48-7,42 ppm e o (H-17,17') 7,11 ppm ambos aromáticos provenientes do anel aromático da acetamida (Tabela 5).

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HMBC (pag 64-65) permitiram atribuir inequivocamente os acoplamentos entre  $^1H$  e  $^{13}C$  distantes 2 e 3 ligações em:  $\delta$  2,25 (H-19) com 115,15 (C-18);  $\delta$  4,73 (H-13) com 165,29 (C-1) e 165,81 (C-14);  $\delta$  6,06 (H-12) com 148,02 (C-8) e 148,32 (C-9);  $\delta$  6,11 (H-2) com 124,63 (C-4);  $\delta$  6,93 (H-10) com 130,38 (C-6), 148,02 (C-8) e 148,32 (C-9);  $\delta$  7,05-7,02 (H-4) com 140,99 (C-5) e 130,38 (C-6);  $\delta$  7,05-7,02 (H-5) com 130,38 (C-6) e 105,78 (C-7);  $\delta$  7,05-7,02 (H-11) com 140,99 (C-5), 130,38 (C-6), 105,78 (C-7) e 148,32 (C-9);  $\delta$  7,25 (H-7) com 140,99 (C-5), 148,02 (C-8), 148,32 (C-9) e 123,40 (C-11);  $\delta$  7,11 (H-17, 17') com 137,95 (C-15) e 20,43 (C-19);  $\delta$  7,48-7,42 (H-16, 16') com 129,15 (C-17, 17') e 20,43 (C-19);  $\delta$  10,02 (NH) com 119,34 (C-16, 16') ppm (Tabela 5).

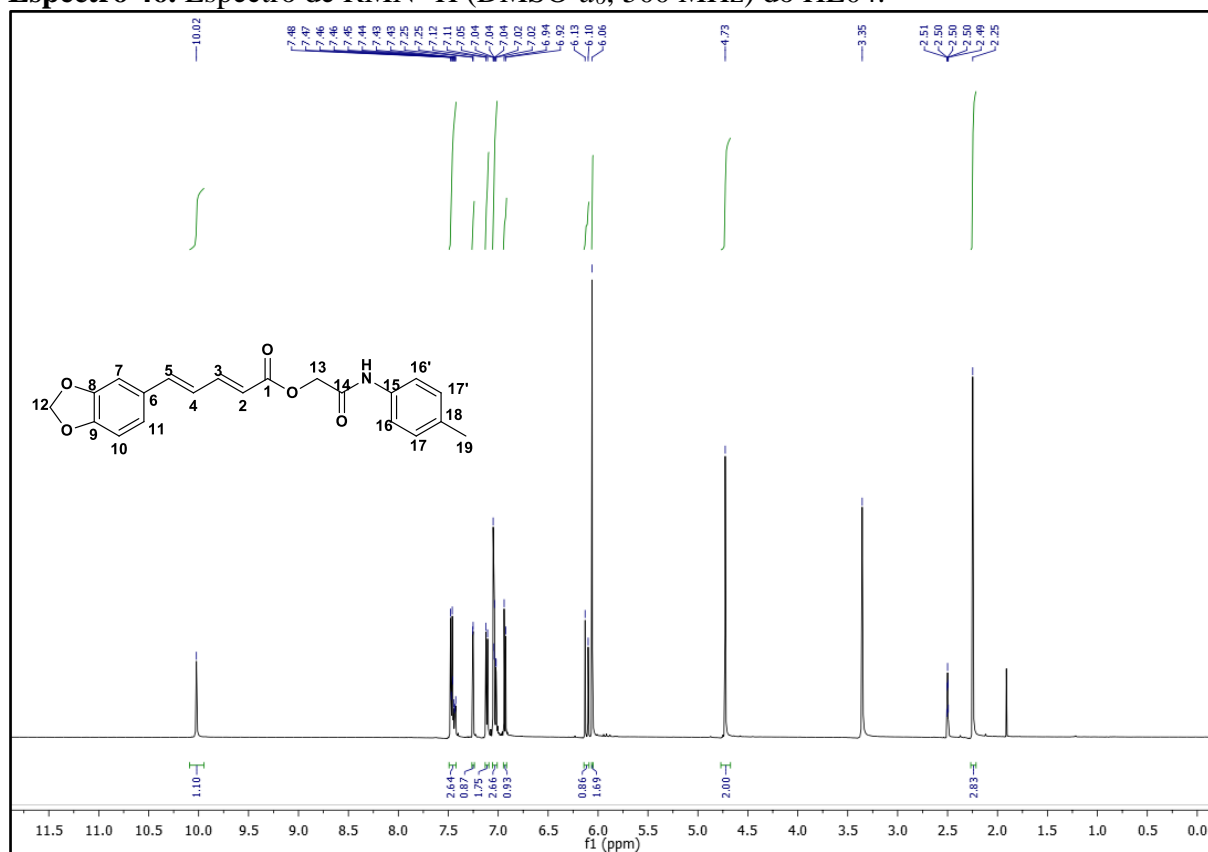


**Tabela 5.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  de HE04. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

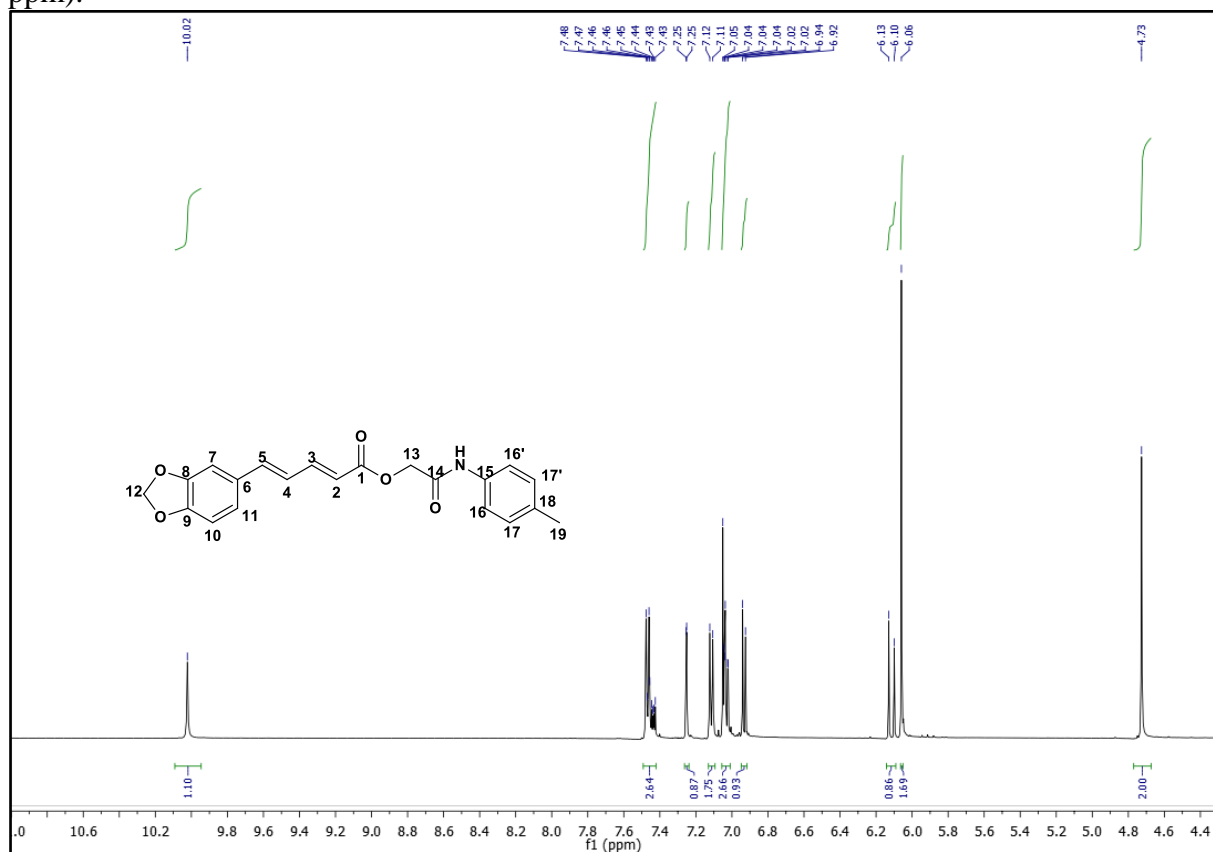
Átomo $\delta$ (ppm)	HSQC/APT		COSY	HMBC
	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ ) <sup>a</sup>	$\delta$ ( $^1\text{H}$ ) <sup>b,e</sup>	$\delta$ ( $^3J$ e $^4J_{\text{HH}}$ ) <sup>c</sup>	$\delta$ ( $^2J$ e $^3J_{\text{HC}}$ ) <sup>d</sup>
1	165,29	-	-	-
2	119,10	6,11 (d, $J = 15,2\text{Hz}$ , 1H)	7,48-7,42 (H-3)	C-4
3	145,98	7,48-7,42 (m, 3H)	6,11 (H-2) e 7,05-7,02 (H-4)	-
4	124,63	7,05-7,02 (m, 3H)	7,48-7,42 (H-3)	C-5 e C-6
5	140,99	7,05-7,02 (m, 3H)	-	C-6, C-7
6	130,38	-	-	-
7	105,78	7,25 (d, $J = 1,6\text{ Hz}$ , 1H)	-	C-5, C-8, C-9 e C-11
8	148,02	-	-	-
9	148,32	-	-	-
10	108,54	6,93 (d, $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H)	7,05-7,02 (H-11)	C-6, C-8 e C-9
11	123,40	7,05-7,02 (m, 3H)	6,93 (H-10)	C-5, C-6, C-7 e C-9
12	101,42	6,06 (s, 2H)	-	C-8 e C-9
13	62,51	4,73 (s, 2H)	-	C1 e C-14
14	165,81	-	-	-
15	135,95	-	-	-
16, 16'	119,34	7,48-7,42 (m, 3H)	7,11 (H-17, 17')	C-17, 17' e C-18
17, 17'	129,15	7,11 (d, $J = 8,2\text{ Hz}$ , 2H)	7,48-7,42 (H-16, 16')	C-15 e C-19
18	132,45	-	-	-
19	20,43	2,25 (s, 3H)	-	C-18
NH	-	10,02 (s, 1H)	-	C-16, 16'

<sup>a</sup>Valores deduzida pelos espectros de RMN  $^{13}\text{C}$  APT. <sup>b</sup>Valores obtidos das correlações heteronucleares bidimensionais através de uma ligação ( $^1J_{\text{CH}}$ ) HSQC. <sup>c</sup>Valores obtidos das correlações homonucleares bidimensionais através de uma ligação ( $^2J_{\text{HH}}$  e  $^4J_{\text{HH}}$ ) COSY. <sup>d</sup>Valores obtidos das correlações bidimensionais através de duas ( $^2J_{\text{HC}}$ ) e três ( $^3J_{\text{HC}}$ ) ligações HMBC. <sup>e</sup>Multiplicidade de sinais para RMN  $^1\text{H}$ : singlete (s); duplete (d); tripeto (t); quarteto (q) e multipeto (m).

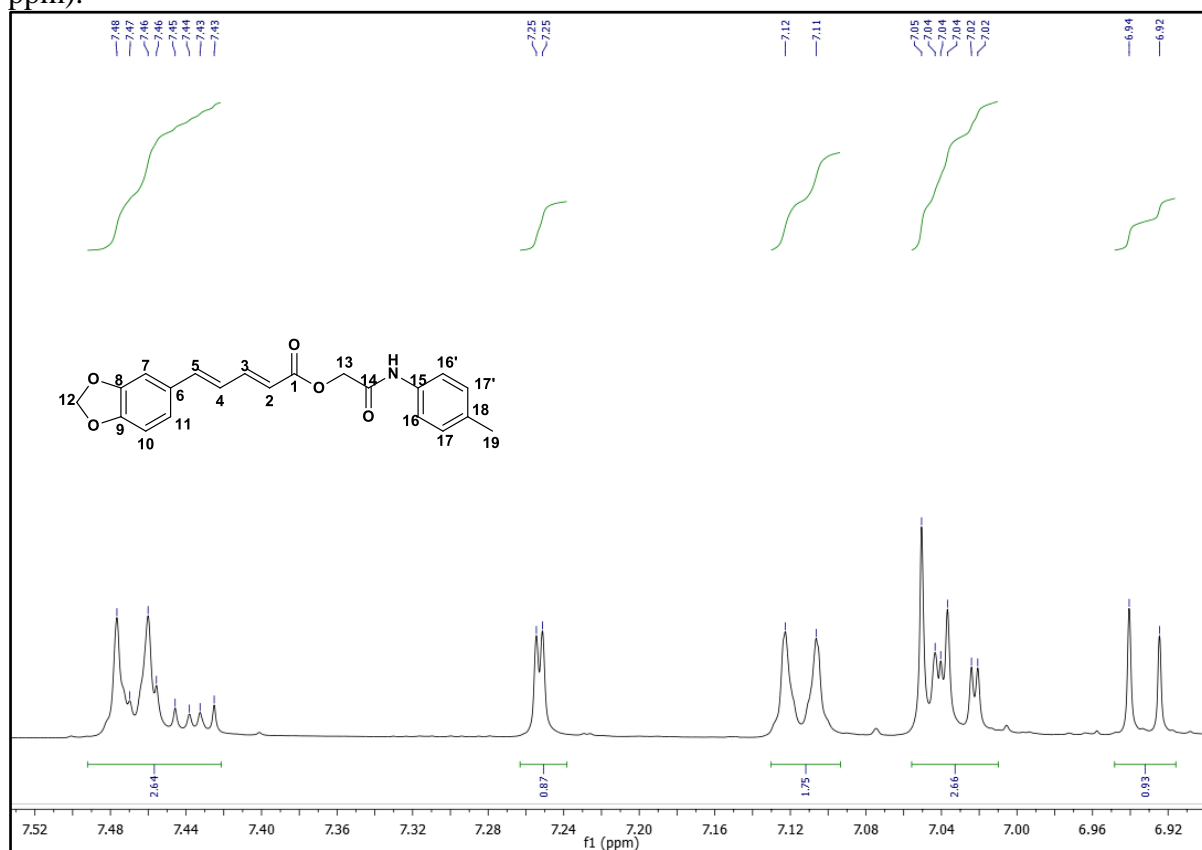
**Espectro 46.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE04.



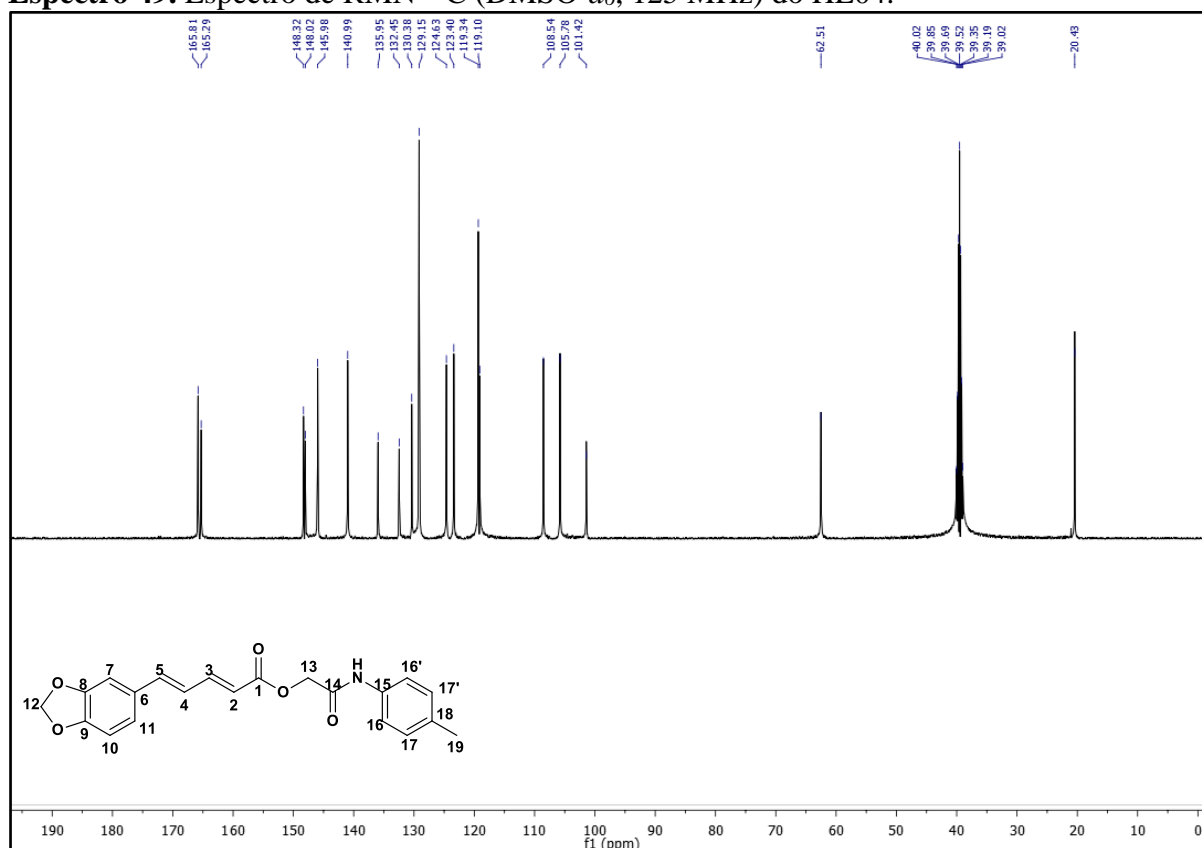
**Espectro 47.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE04 (4,4 – 10,6 ppm).



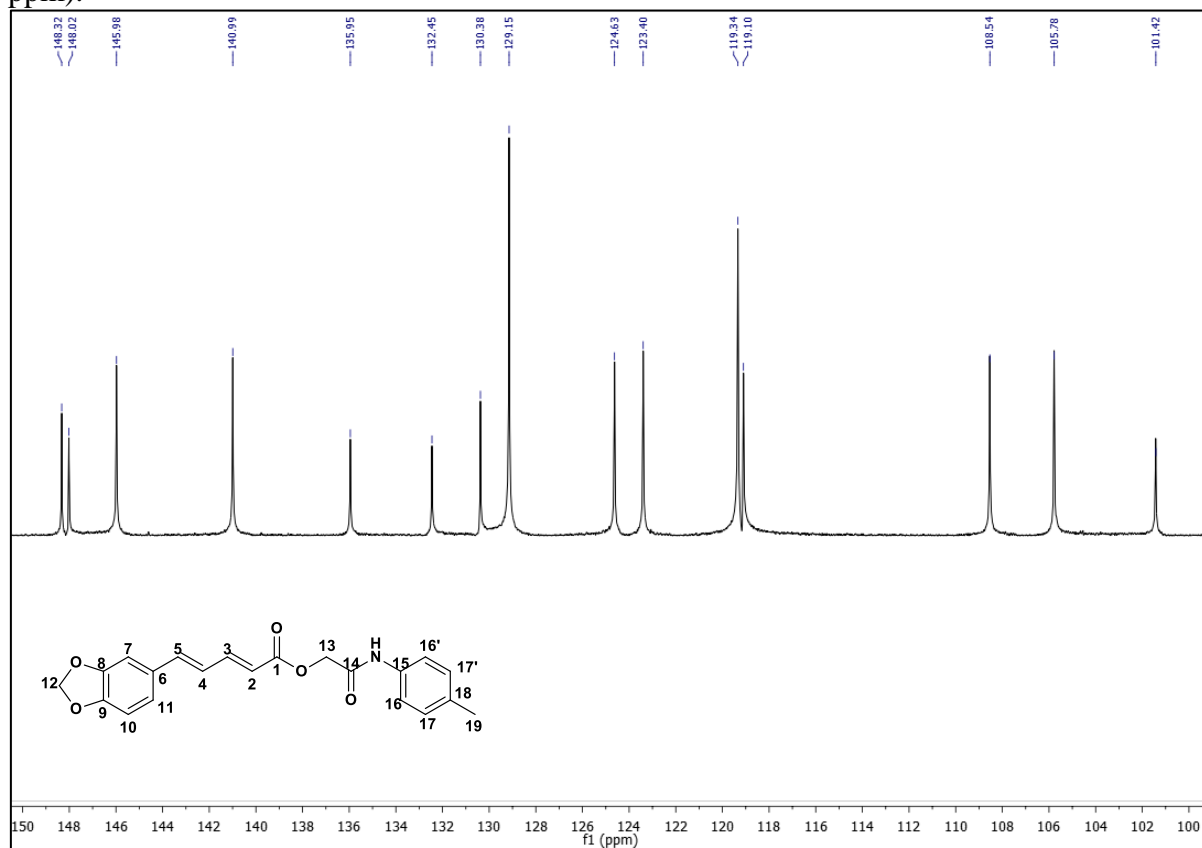
**Espectro 48.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE04 (6,92 – 7,52 ppm).



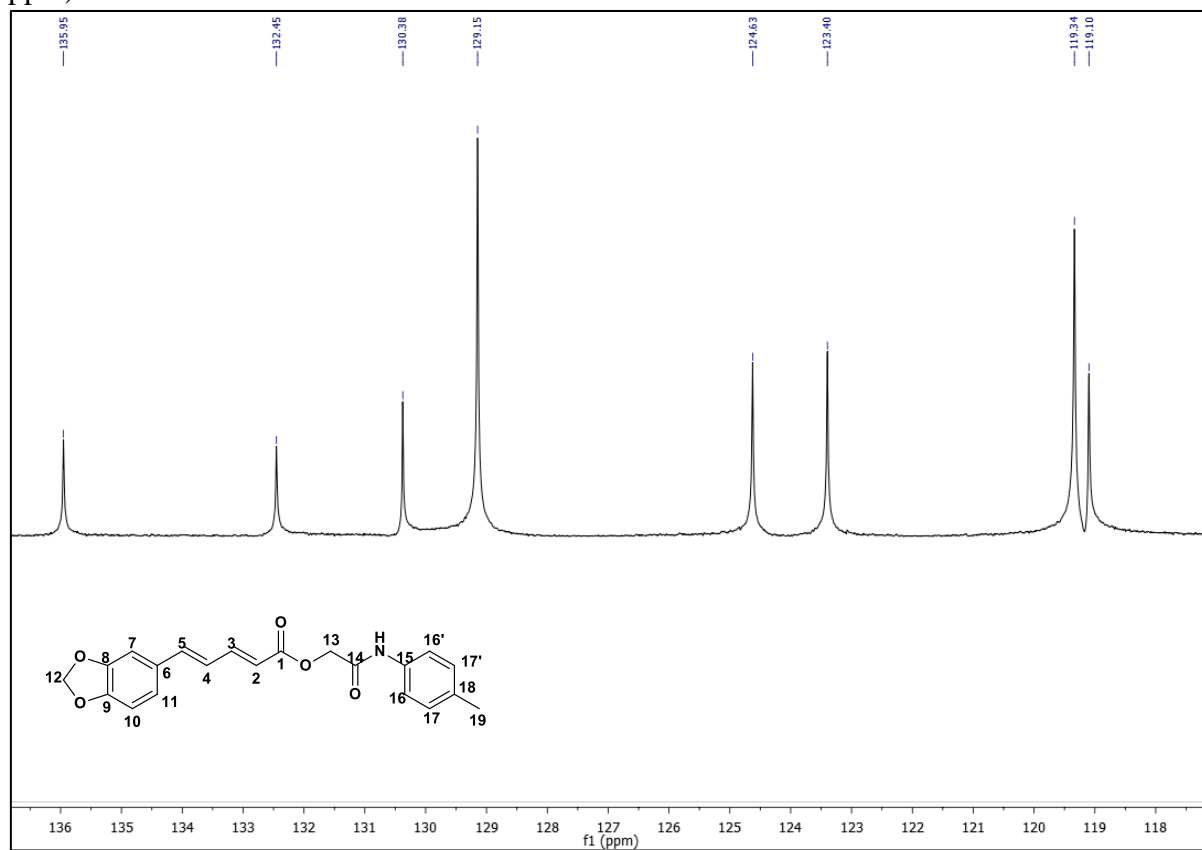
**Espectro 49.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04.



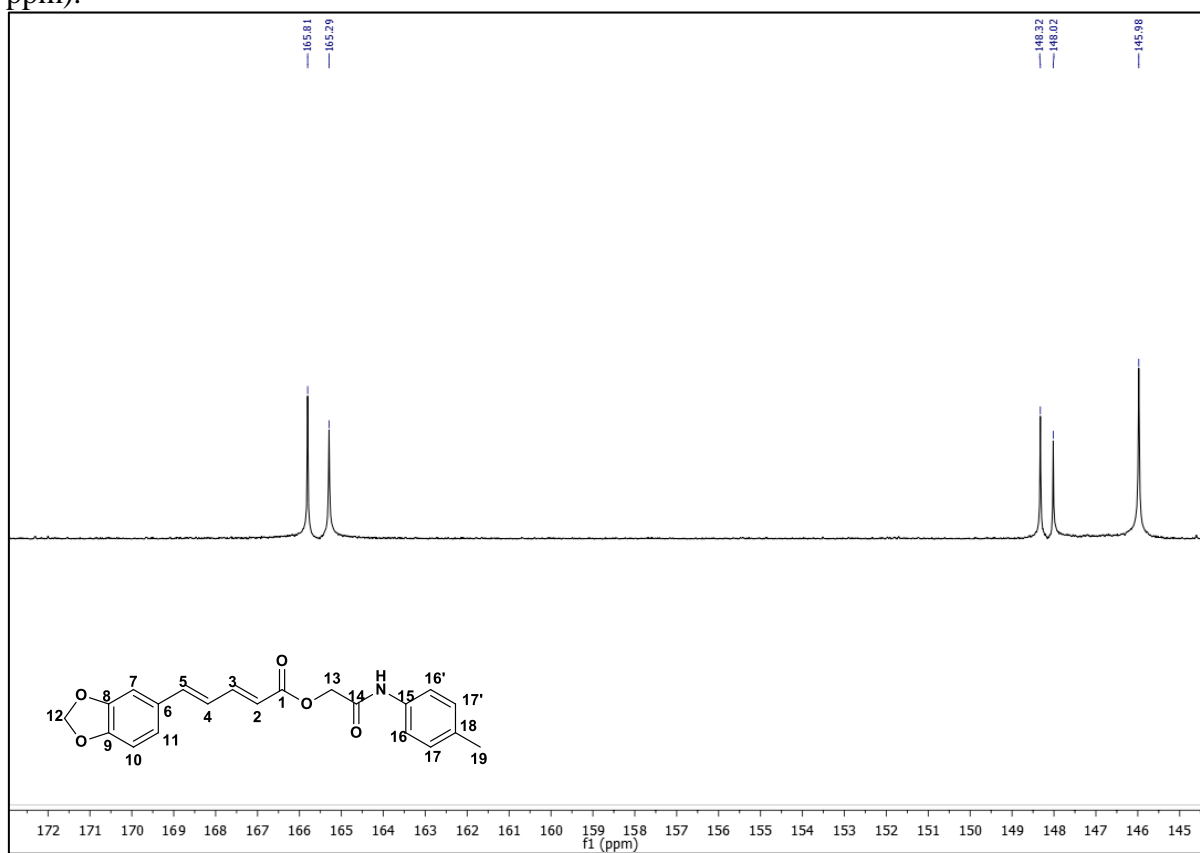
**Espectro 50.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (100 – 150 ppm).



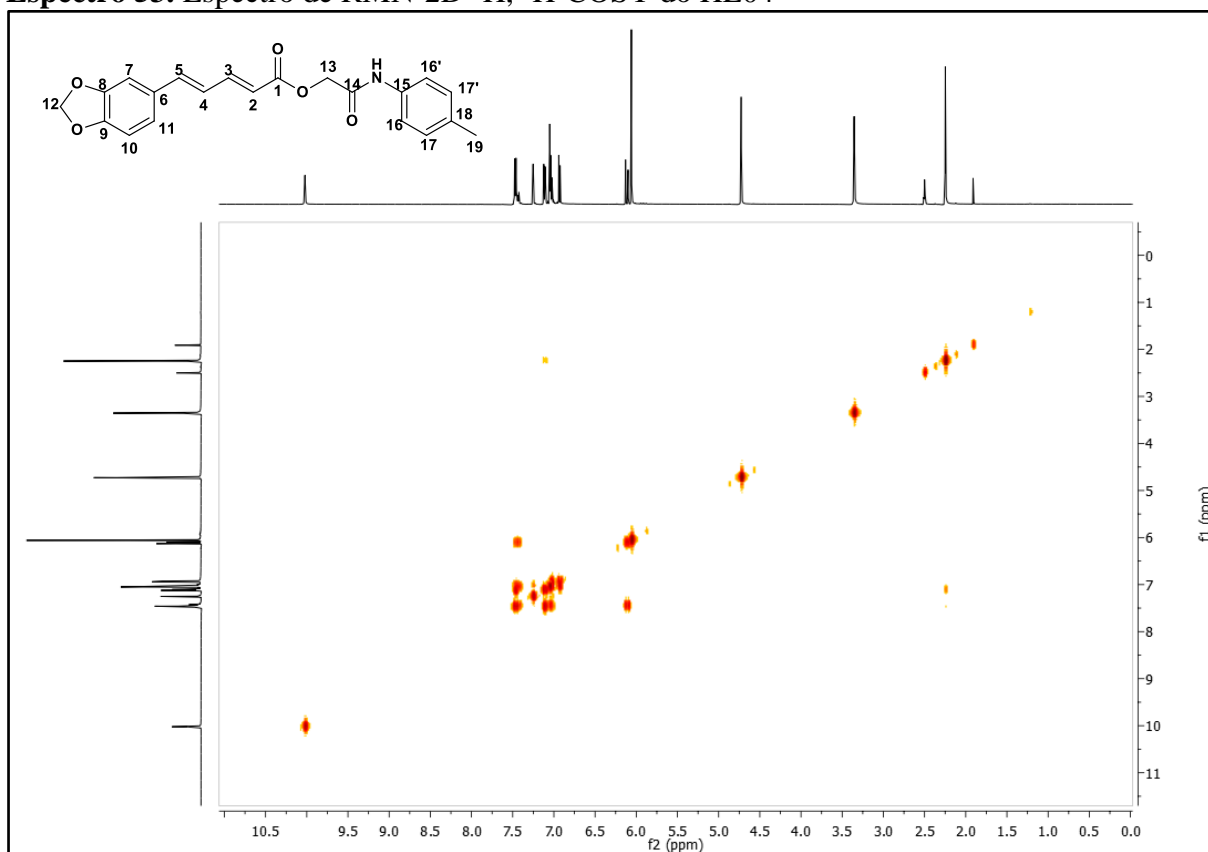
**Espectro 51.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (118 – 136 ppm).



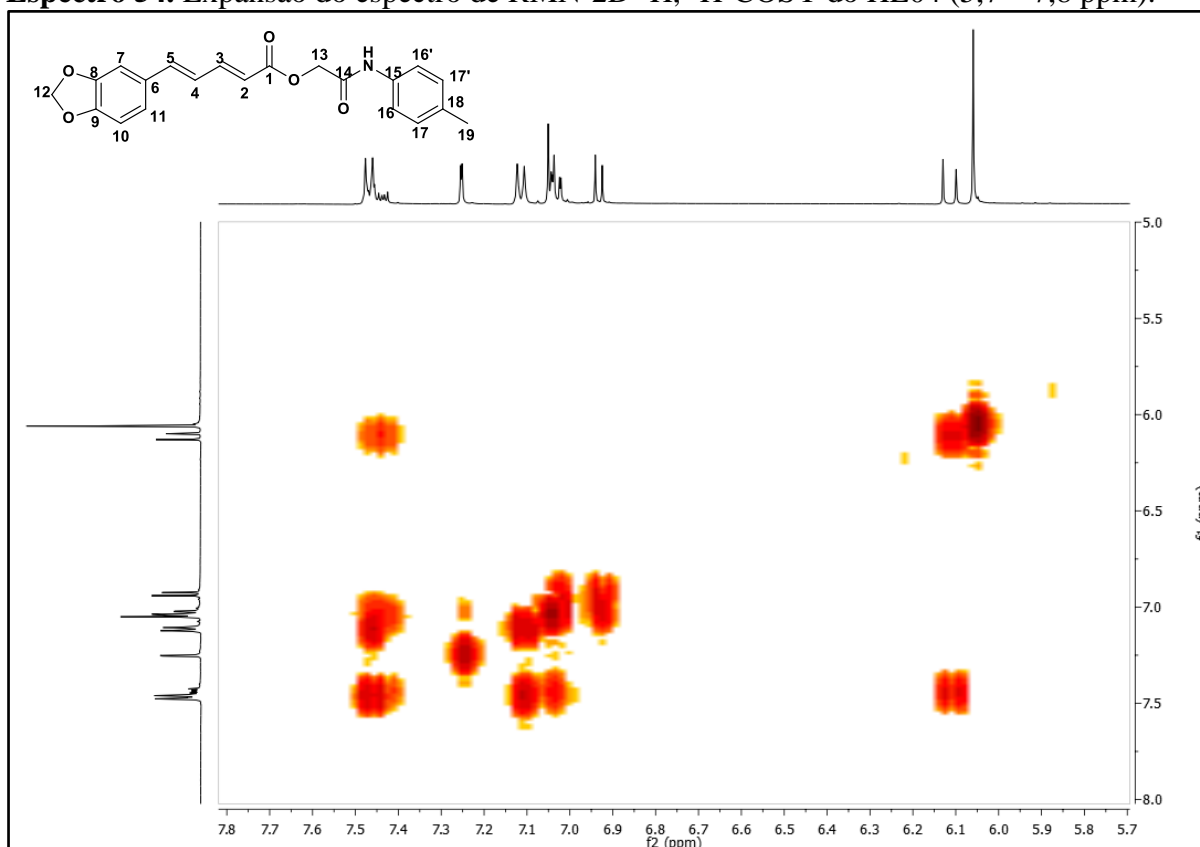
**Espectro 52.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE04 (145 – 172 ppm).



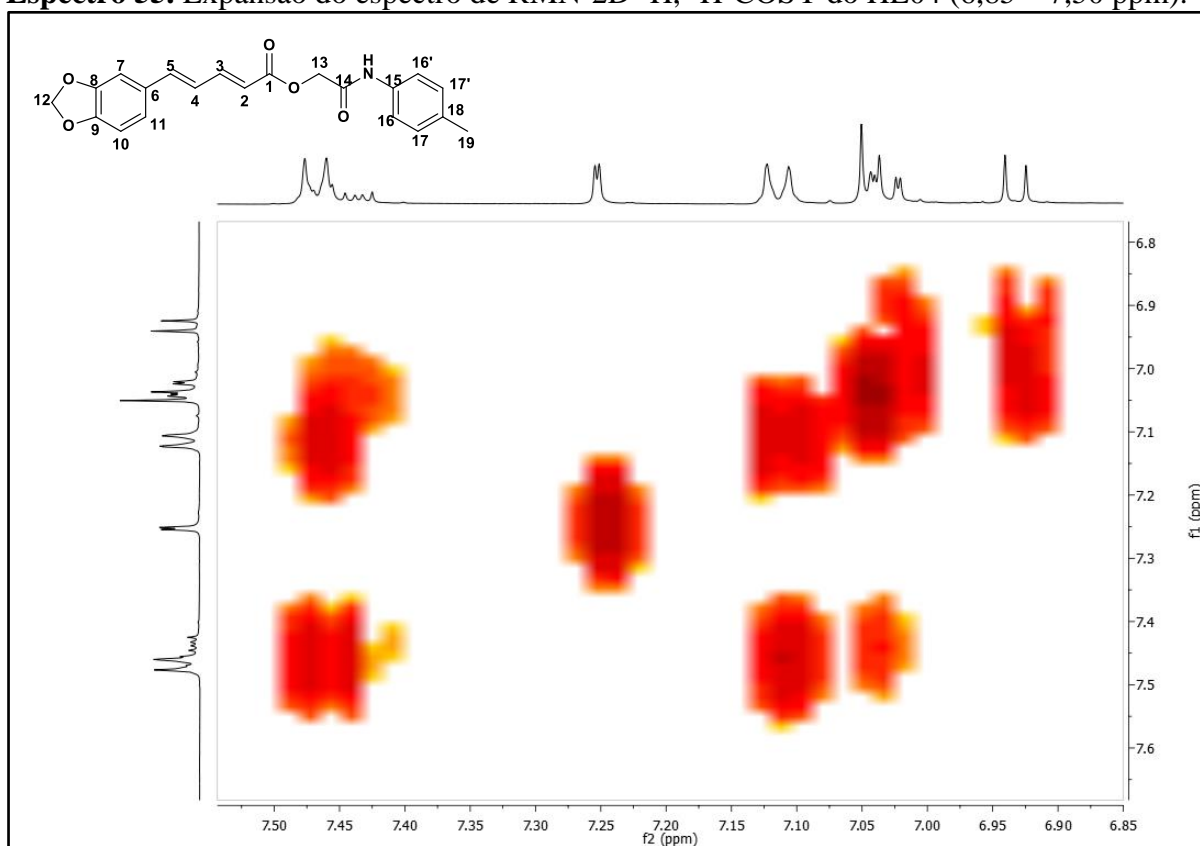
**Espectro 53.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE04



**Espectro 54.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE04 (5,7 – 7,8 ppm).

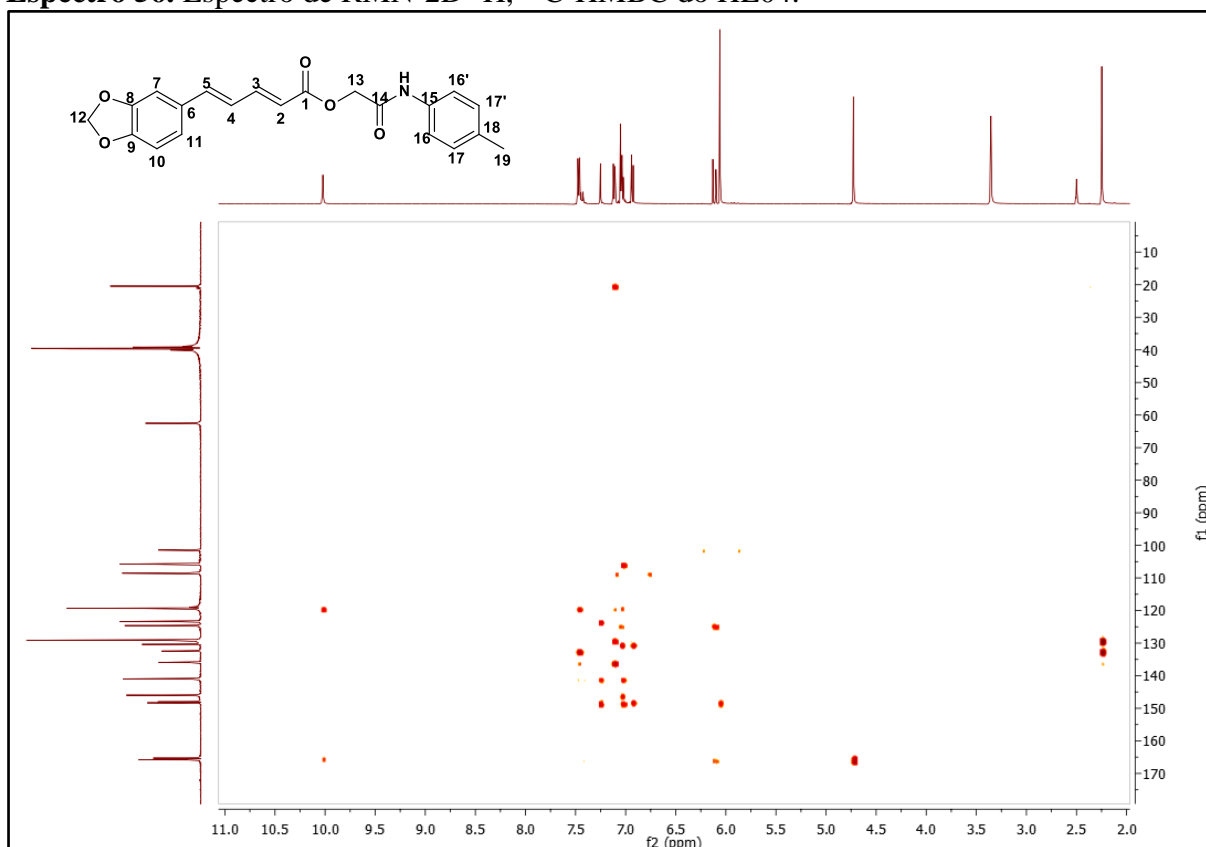


**Espectro 55.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE04 (6,85 – 7,50 ppm).

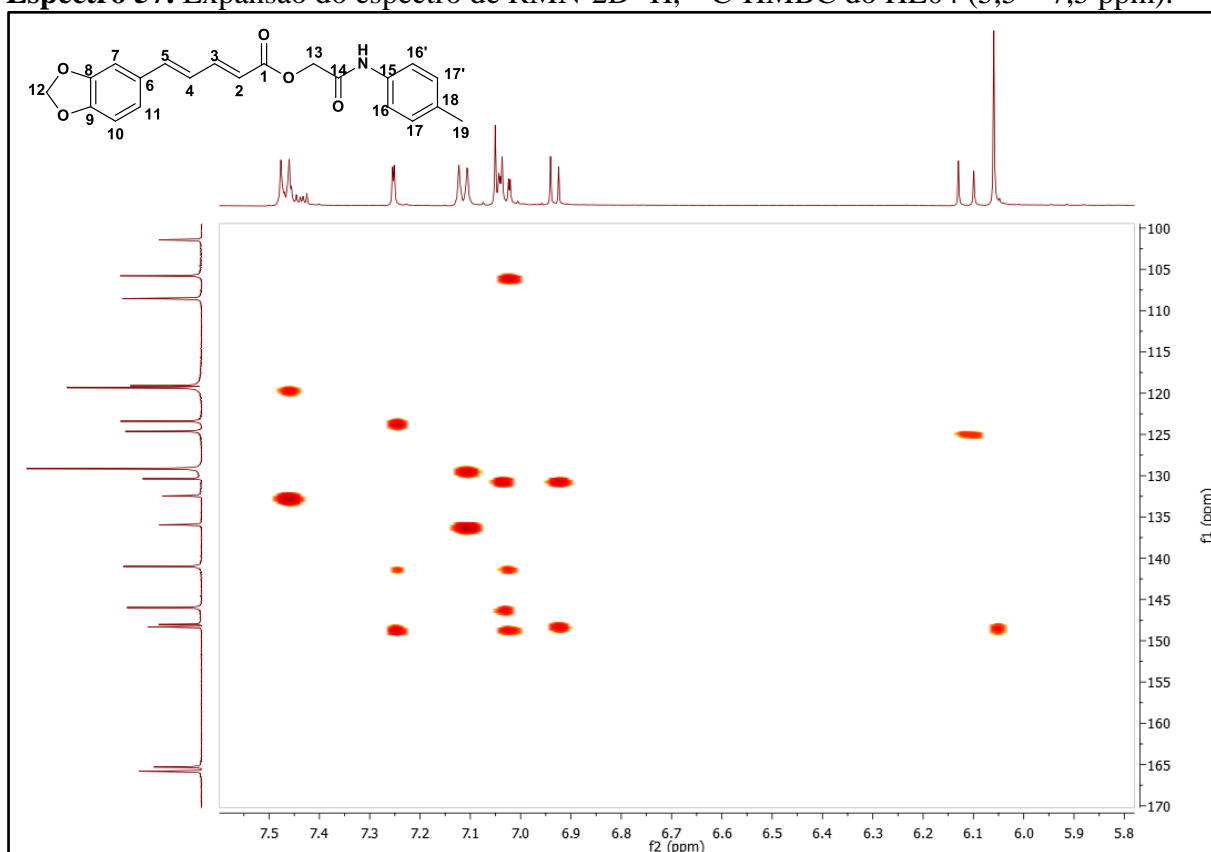




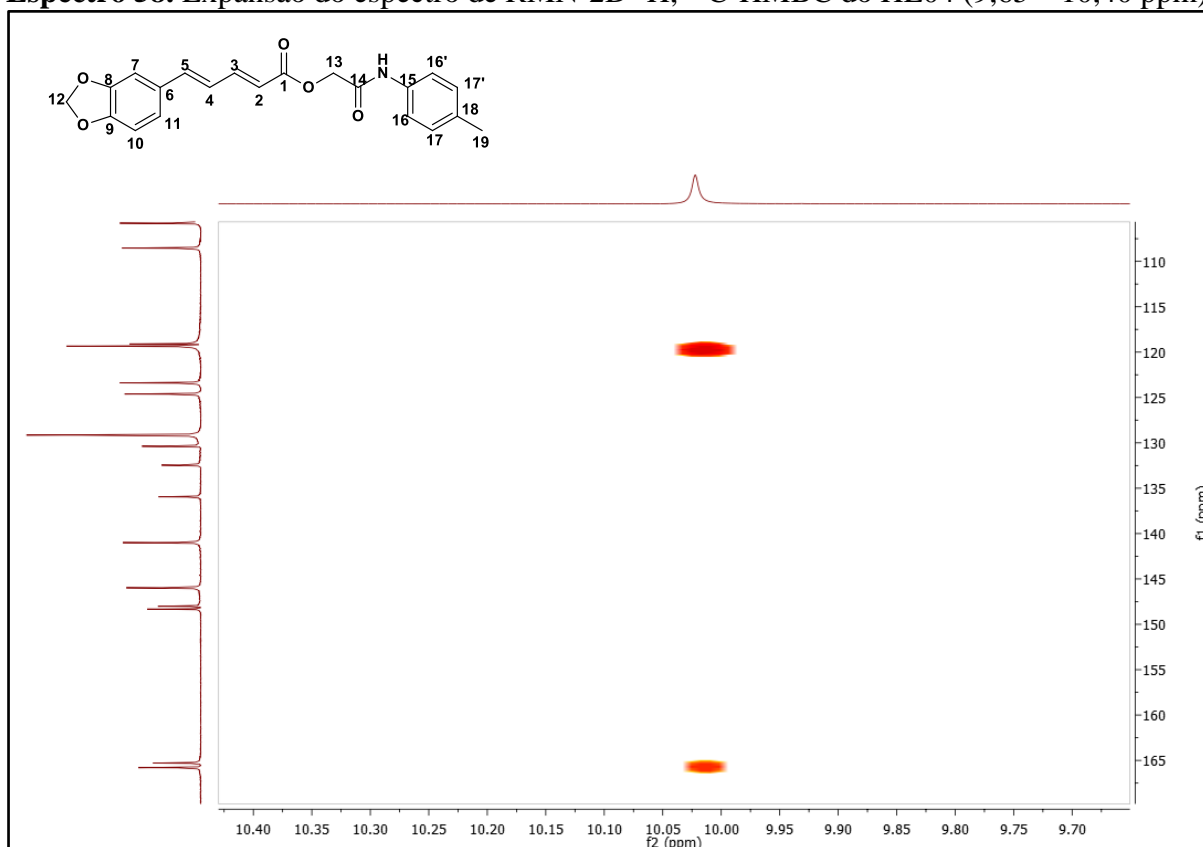
**Espectro 56.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04.



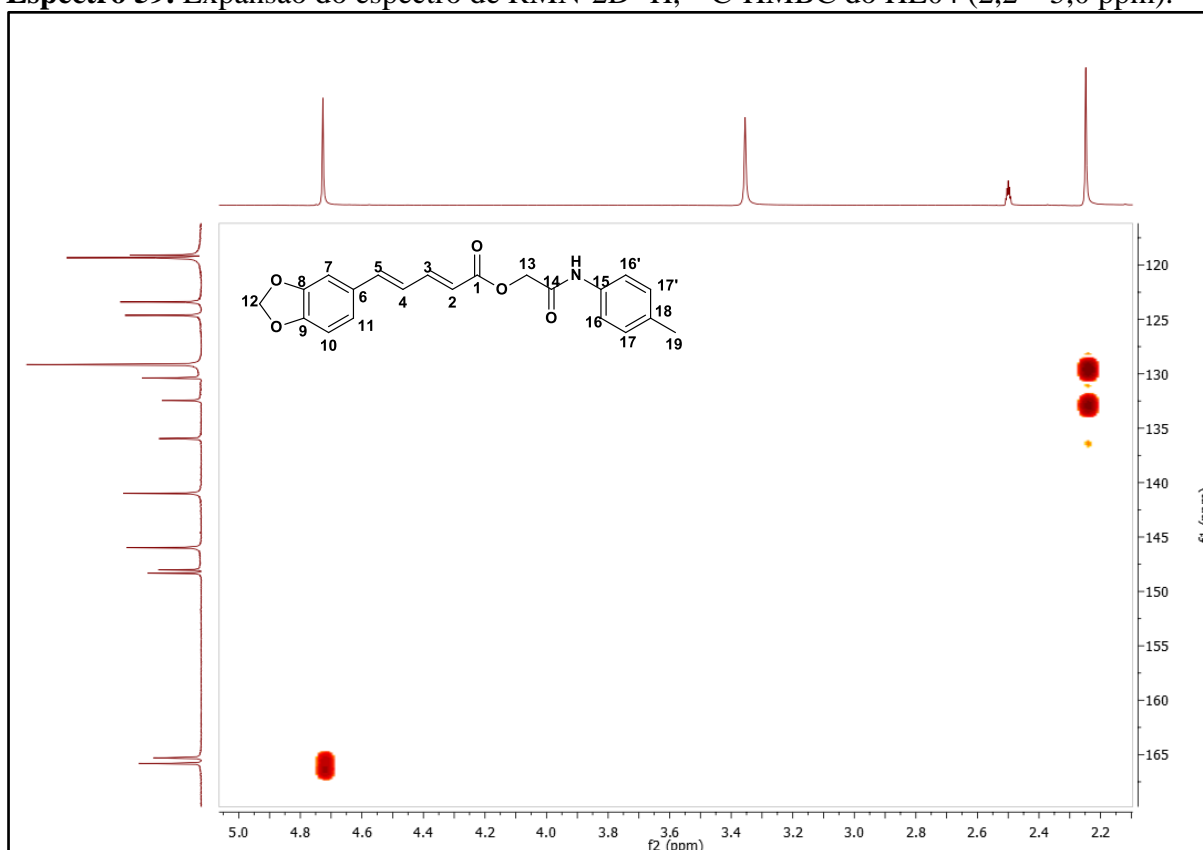
**Espectro 57.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (5,5 – 7,5 ppm).



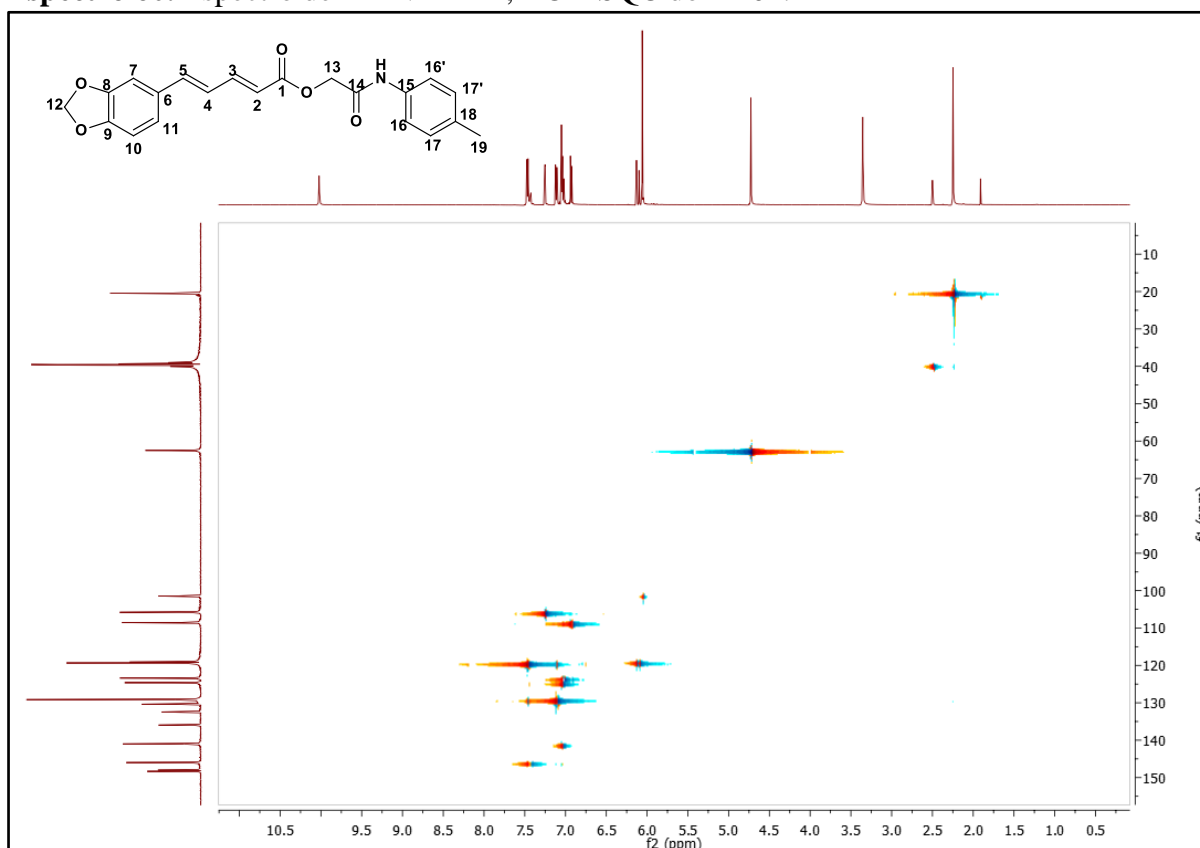
**Espectro 58.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (9,65 – 10,40 ppm).



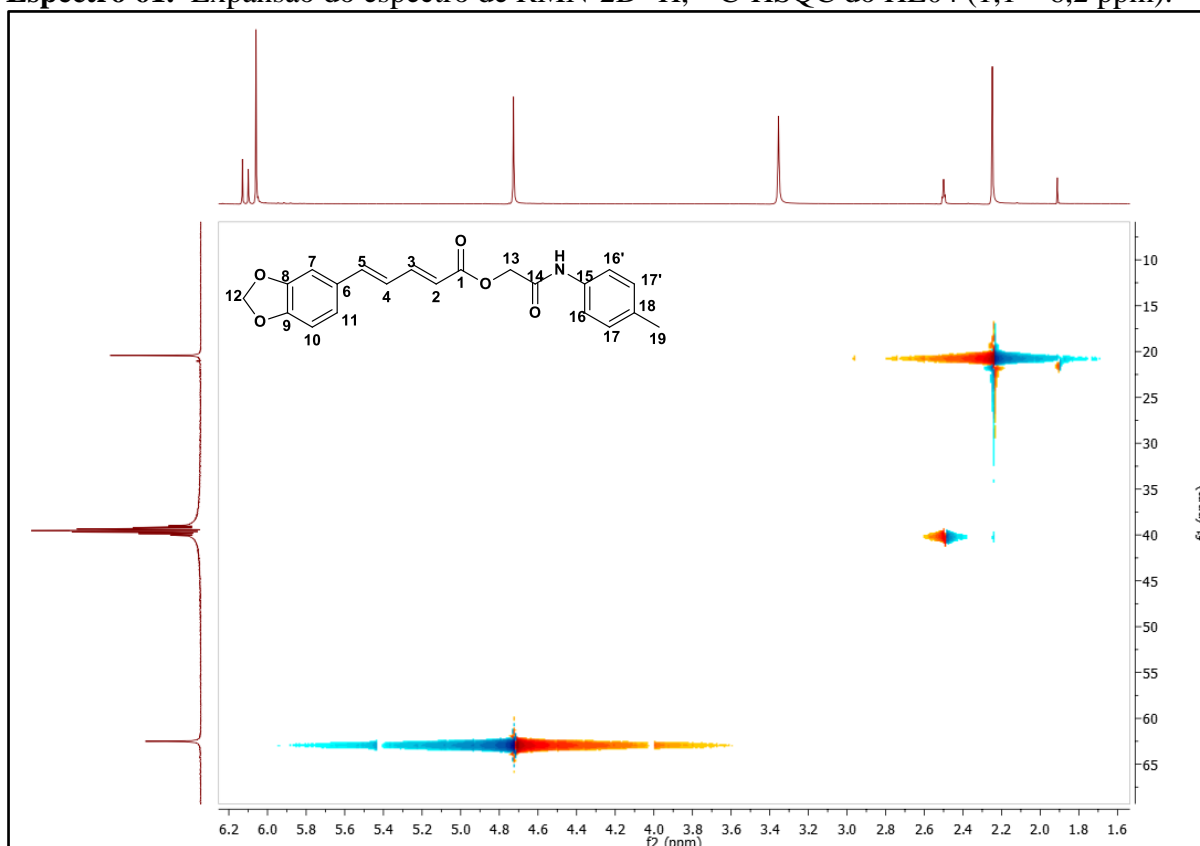
**Espectro 59.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE04 (2,2 – 5,0 ppm).



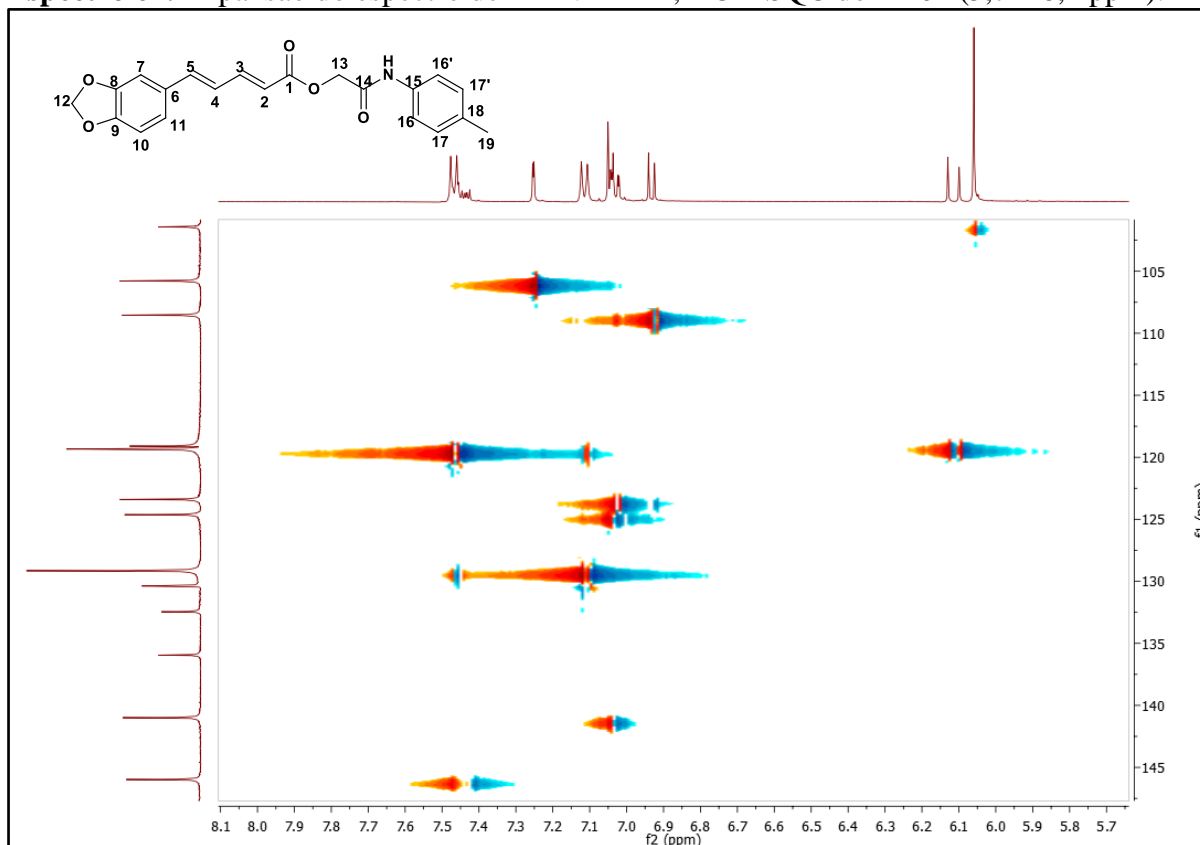
**Espectro 60.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04.



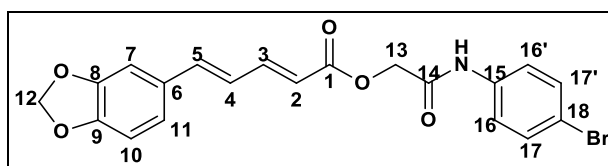
**Espectro 61.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04 (1,1 – 6,2 ppm).



**Espectro 62.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE04 (5,7 – 8,1 ppm).



#### 5.2.4 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*)-2-oxo-2-(4-bromofenilamina)-piperidinoato de etila (HE05)



A estrutura HE05 foi confirmada a partir das técnicas espectroscópicas de RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  como experimentos uni- (1D) e bidimensionais (2D), utilizando técnicas HSQC, COSY e HMBC.

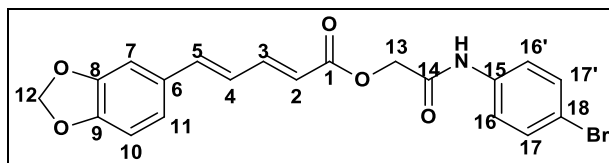
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 75 MHz (pag 72-73) do composto HE05 observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Onze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos e de alenos do tipo  $\text{sp}^2$  e dois a carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$ . Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não

hidrogenados do tipo  $sp^2$ . O espectro de RMN  $^1H$  a 500 MHz (pag 70-71) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,74 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm. Na região  $\delta$  10,26 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,11 ( $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,25 ( $J = 1,6$  Hz, 1H); 7,56 ( $J = 9,0$  Hz, 2H) e 7,50 ( $J = 9,0$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7 H-16,16'; H-17,17' respectivamente. Em  $\delta$  7,45 (ddd,  $J = 15,3$ ; 7,3 e 3,0 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,05-7,01 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11.

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HSQC (pag 77-79) permitiu a distinção entre os sinais de hidrogênios e carbonos na região de  $\delta$  7,60-6,00 ppm:  $\delta$  6,11 (H-2) com 118,98 (C-2);  $\delta$  6,93 (H-10) com 108,55 (C-10);  $\delta$  7,05-7,01 (H-4) com 124,61 (C-4);  $\delta$  7,05-7,01 (H-5) com 141,08 (C-5);  $\delta$  7,05-7,01 (H-11) com 123,42 (C-11);  $\delta$  7,50 (H-17, 17') com 131,62 (C-17,17');  $\delta$  7,25 (H-7) com 105,79 (C-7);  $\delta$  7,45 (H-3) com 146,10 (C-3) e  $\delta$  7,56 (H-16, 16') com 121,24 (C-16', 16') ppm (Tabela 6).

A análise do espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^1H$ -COSY (pag 74) permitiram correlacionar os núcleos de  $^1H$  com  $^1H$  distante 3 e 4 ligações. Observa-se o acoplamento entre o (H-3) em  $\delta$  7,45 ppm com dois hidrogênios de alcenos um em  $\delta$  6,11 ppm (H-2) e o outro em  $\delta$  7,05-7,01 ppm (H-4). Outra correlação é o acoplamento dos hidrogênios aromáticos  $\delta$  6.93 ppm (H-10) com o (H-11) em  $\delta$  7,05-7,01 ppm. Outra correlação observada é entre o (H-16, 16')  $\delta$  7,56 ppm e o (H-17,17') 7,50 ppm ambos aromáticos provenientes do anel aromático da acetamida (Tabela 6).

O espectro RMN-2D  $^1H$ ,  $^{13}C$ -HMBC (pag 75-77) permitiram atribuir inequivocamente os acoplamentos entre  $^1H$  e  $^{13}C$  distantes 2 e 3 ligações em:  $\delta$  4,74 (H-13) com 165,77 (C-1) e 165,81 (C-14);  $\delta$  6,06 (H-12) com 148,02 (C-8) e 148,34 (C-9);  $\delta$  6,11(H-2) com 124,61 (C-4);  $\delta$  6,93 (H-10) com 130,36 (C-6), 148,02 (C-8) e 148,34 (C-9);  $\delta$  7,05-7,01 (H-4) com 141,08 (C-5) e 130,36 (C-6);  $\delta$  7,05-7,01 (H-5) com 130,36 (C-6) e 105,79 (C-7);  $\delta$  7,05-7,01 (H-11) com 141,08 (C-5), 130,36 (C-6), 105,79 (C-7) e 148,34 (C-9);  $\delta$  7,25 (H-7) com 141,08 (C-5), 148,02 (C-8), 148,34 (C-9) e 123,42 (C-11);  $\delta$  7,50 (H-17, 17') com 137,83 (C-15) e 115,15 (C-18);  $\delta$  7,56 (H-16, 16') com 115,15 (C-18);  $\delta$  10,26 (NH) com 121,24 (C-16, 16') ppm (Tabela 6).

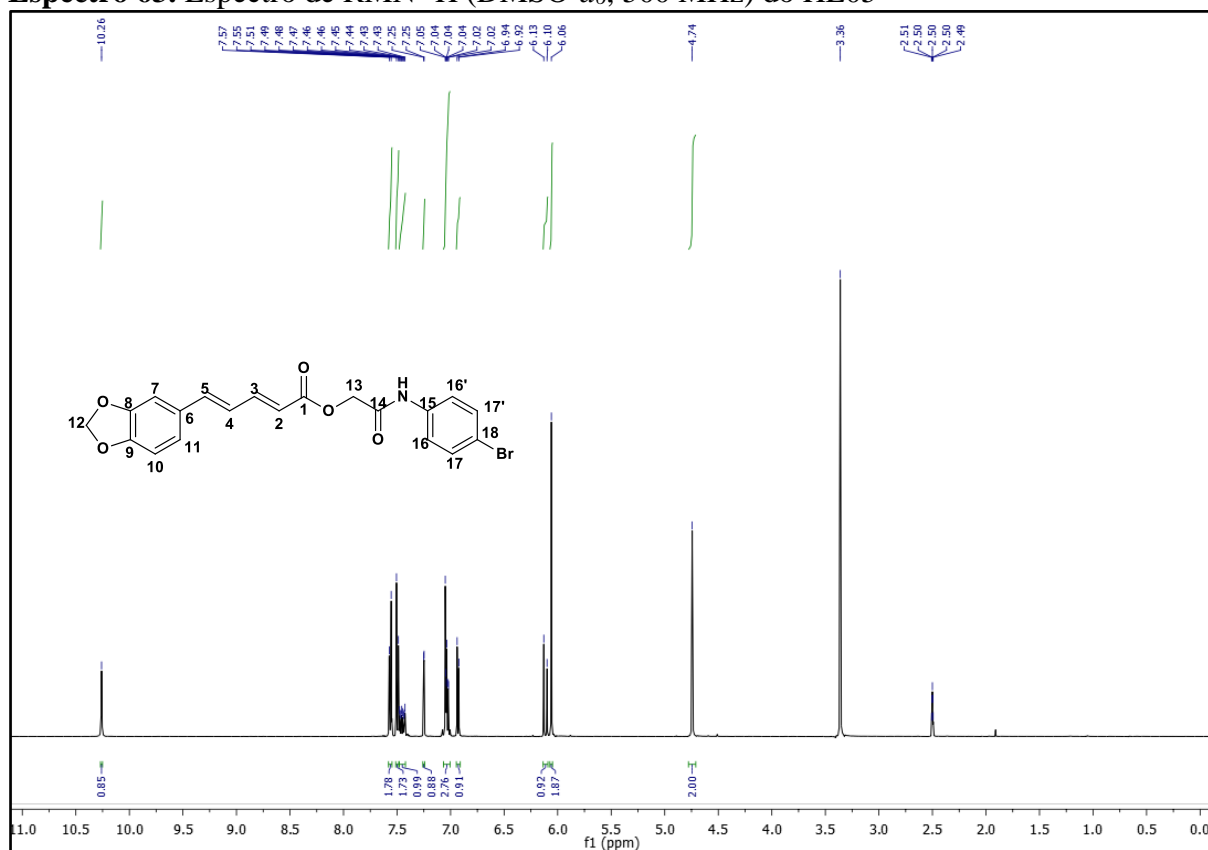


**Tabela 6.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em DMSO- $d_6$  de HE05. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

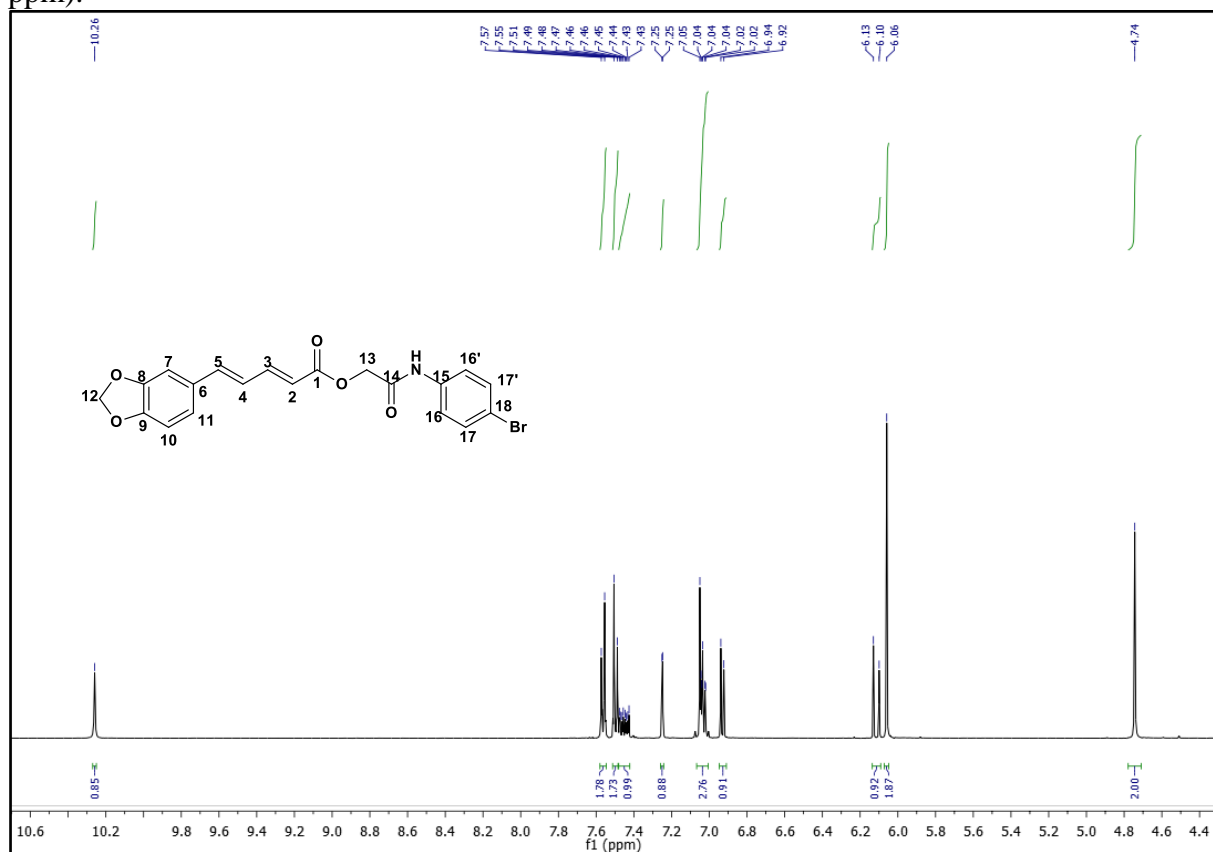
Átomo $\delta$ (ppm)	HSQC/APT		COSY $\delta$ ( $^3J$ e $^4J_{HH}$ ) <sup>c</sup>	HMBC $\delta$ ( $^2J$ e $^3J_{CH}$ ) <sup>d</sup>
	$\delta$ ( $^{13}C$ ) <sup>a</sup>	$\delta$ ( $^1H$ ) <sup>b,e</sup>		
1	165,77	-	-	-
2	118,98	6,11 (d, $J$ = 15,2 Hz, 1H)	7,45 (H-3)	C-4
3	146,10	7,45 (ddd, $J$ =15,3; 7,3; 3,0 Hz, 1H)	6,11 (H-2) e 7,05-7,01 (H-4)	-
4	124,61	7,05-7,01 (m, 3H)	7,45 (H-3)	C-5 e C-6
5	141,08	7,05-7,01 (m, 3H)	-	C-6, C-7
6	130,36	-	-	-
7	105,79	7,25 (d, $J$ =1,6 Hz, 1H)	-	C-5, C-8, C-9 e C-11
8	148,02	-	-	-
9	148,34	-	-	-
10	108,55	6,93 (d, $J$ = 8.0 Hz, 1H)	7,05-7,01 (H-11)	C-6, C-8 e C-9
11	123,42	7,05-7,01 (m, 3H)	6,93 (H-10)	C-5, C-6, C-7 e C-9
12	101,44	6.06 (s, 2H)	-	C-8 e C-9
13	62,51	4,74 (s, 2H)	-	C1 e C-14
14	165,81	-	-	-
15	137,83	-	-	-
16, 16'	121,24	7,56 (d, $J$ = 9,0 Hz, 2H)	7,50 (H-17, 17')	C-18
17, 17'	131,62	7,50 (d, $J$ = 9,0 Hz, 2H)	7,56 (H-16, 16')	C-15 e C-18
18	115,15	-	-	-
NH		10,26 (s, 1H)	-	C-16, 16'

<sup>a</sup>Valores deduzida pelos espectros de RMN <sup>13</sup>C APT. <sup>b</sup>Valores obtidos das correlações heteronucleares bidimensionais através de uma ligação (<sup>1</sup>J<sub>CH</sub>) HSQC. <sup>c</sup>Valores obtidos das correlações homonucleares bidimensionais através de uma ligação (<sup>2</sup>J<sub>HH</sub> e <sup>4</sup>J<sub>HH</sub>) COSY. <sup>d</sup>Valores obtidos das correlações bidimensionais através de duas (<sup>2</sup>J<sub>HC</sub>) e três (<sup>3</sup>J<sub>HC</sub>) ligações HMBC. <sup>e</sup>Multiplicidade de sinais para RMN <sup>1</sup>H: singlete (s); duplete (d); tripeto (t); quarteto (q) e multipeto (m).

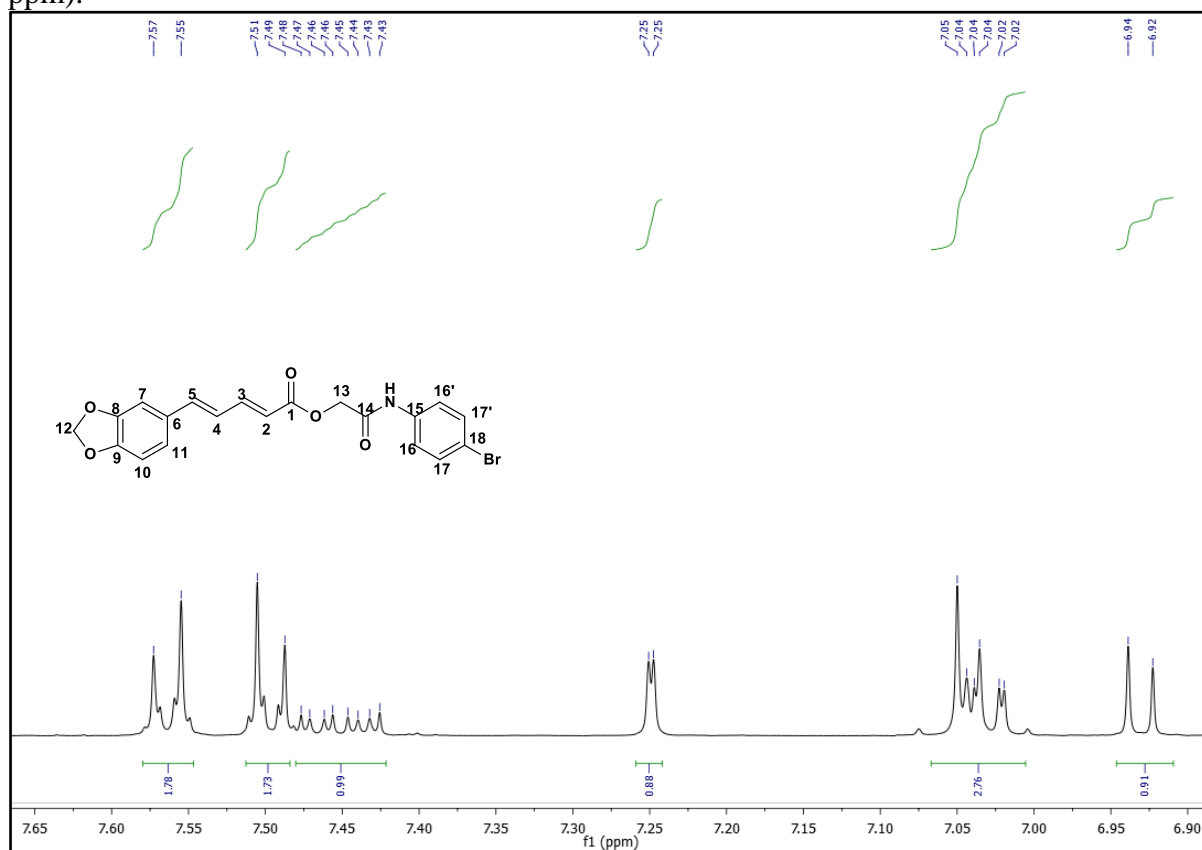
**Espectro 63.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE05



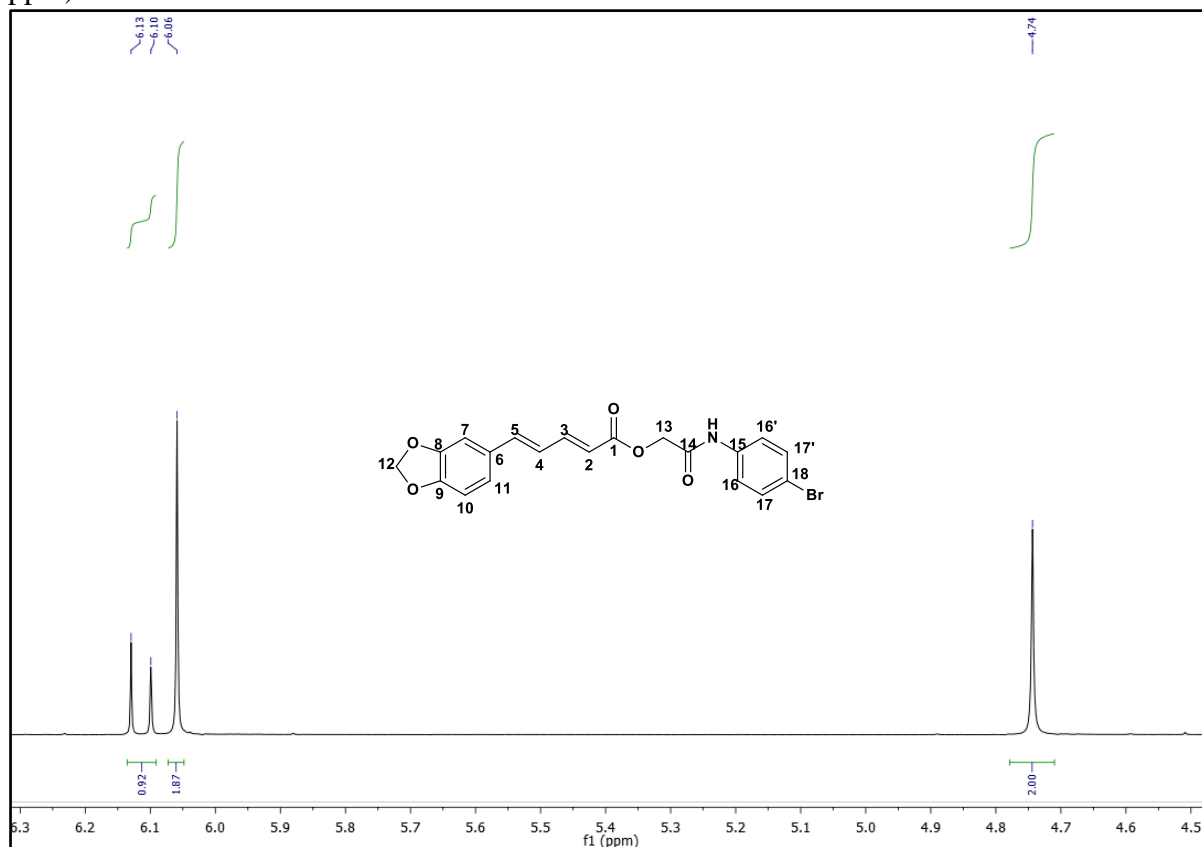
**Espectro 64.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE05 (4,4 – 10,6 ppm).



**Espectro 65.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05 (6,90 – 7,65 ppm).

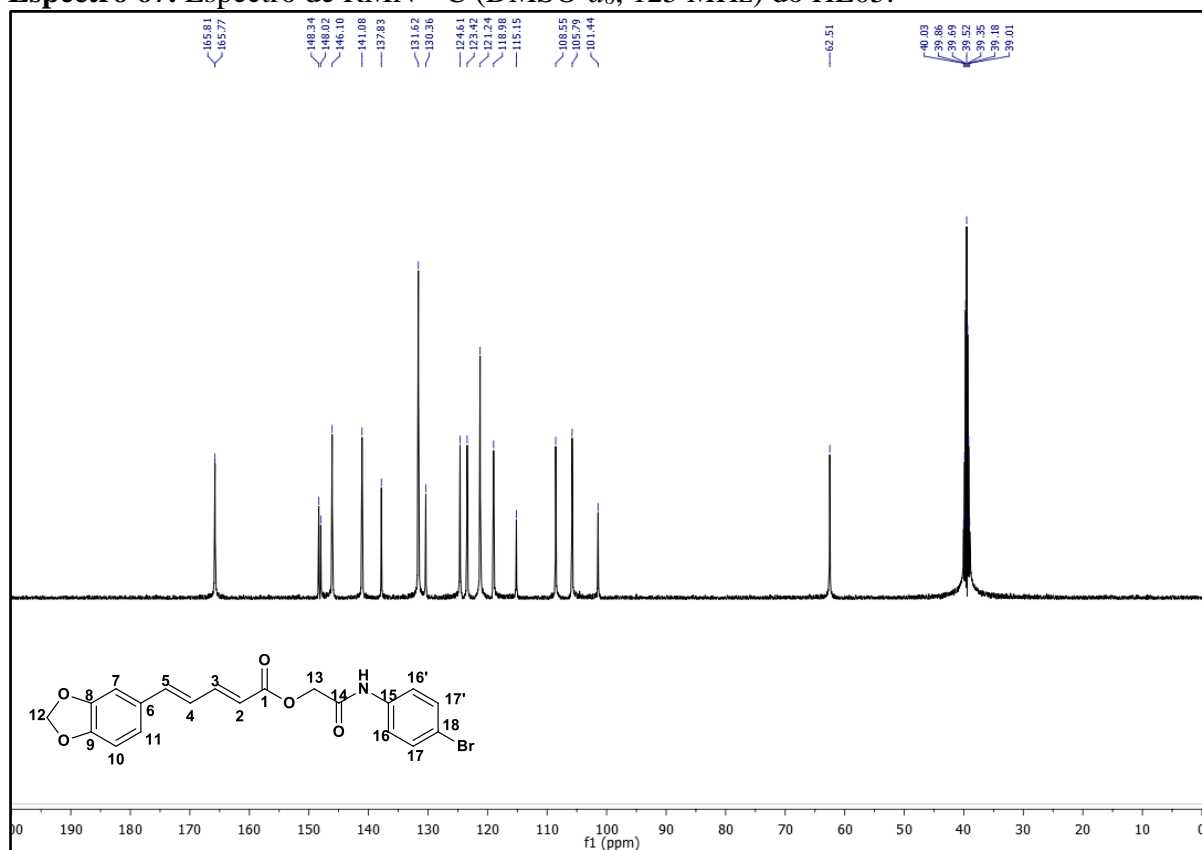


**Espectro 66.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE05 (4,5 – 6,3 ppm).

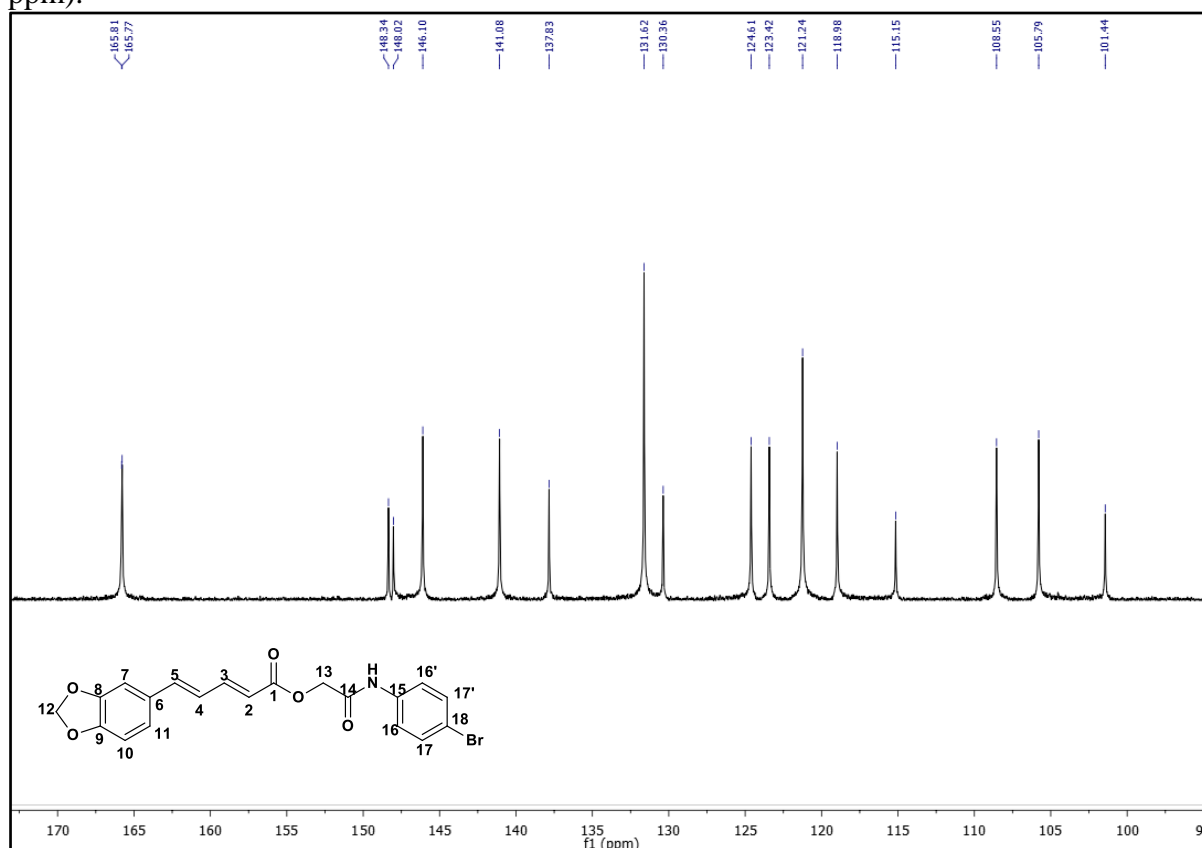




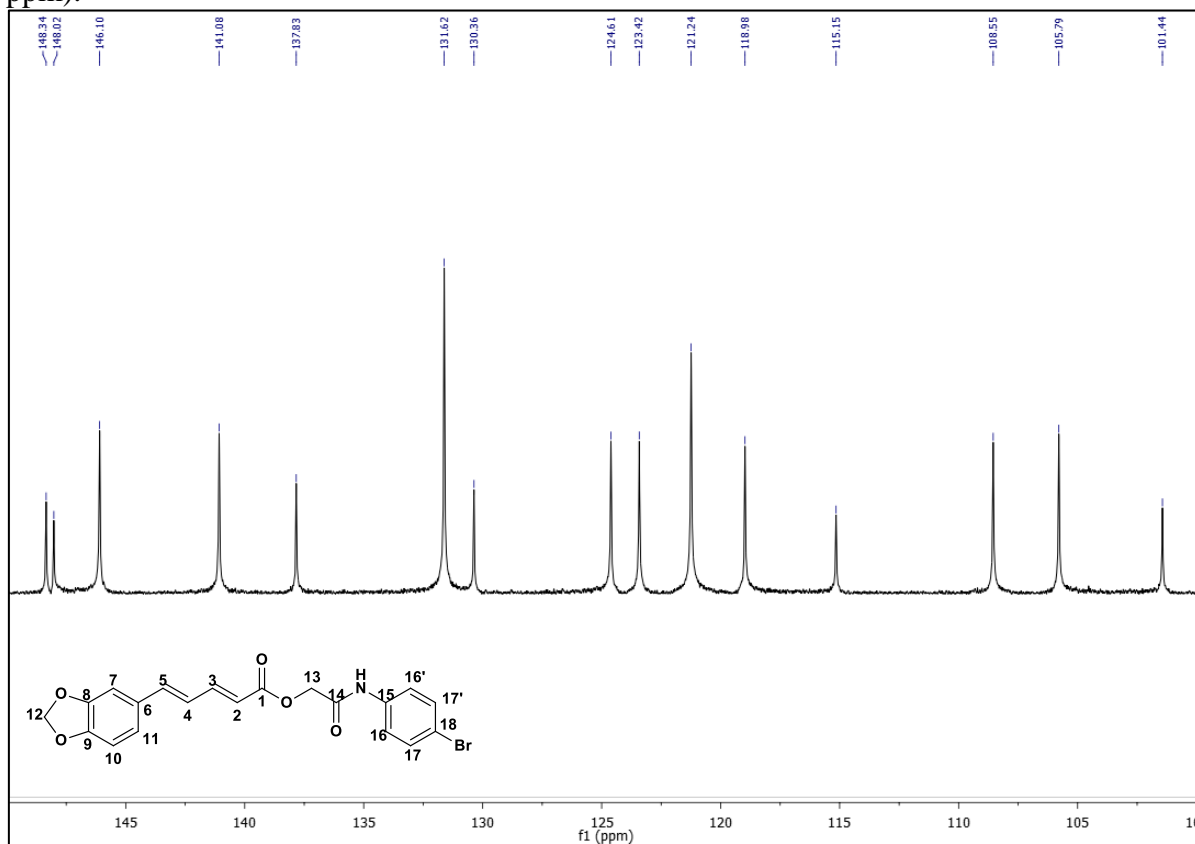
**Espectro 67.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05.



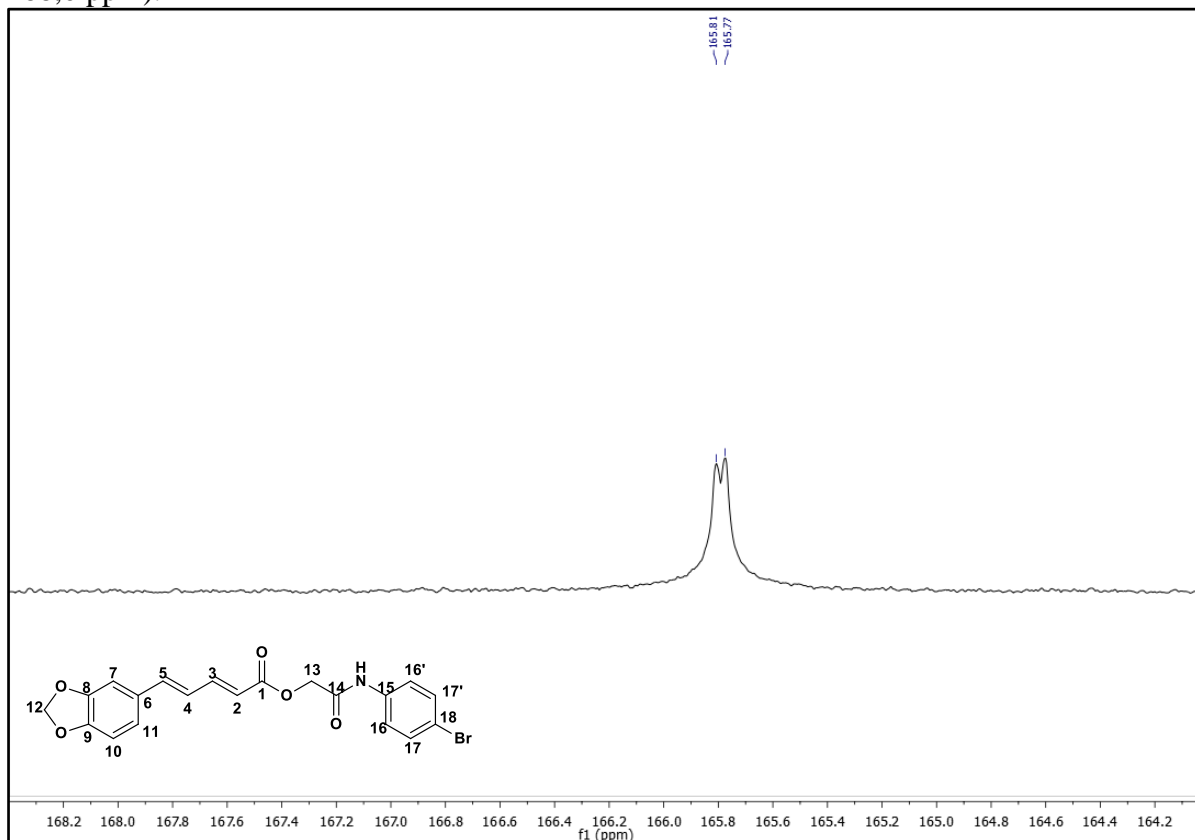
**Espectro 68.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (95 – 170 ppm).



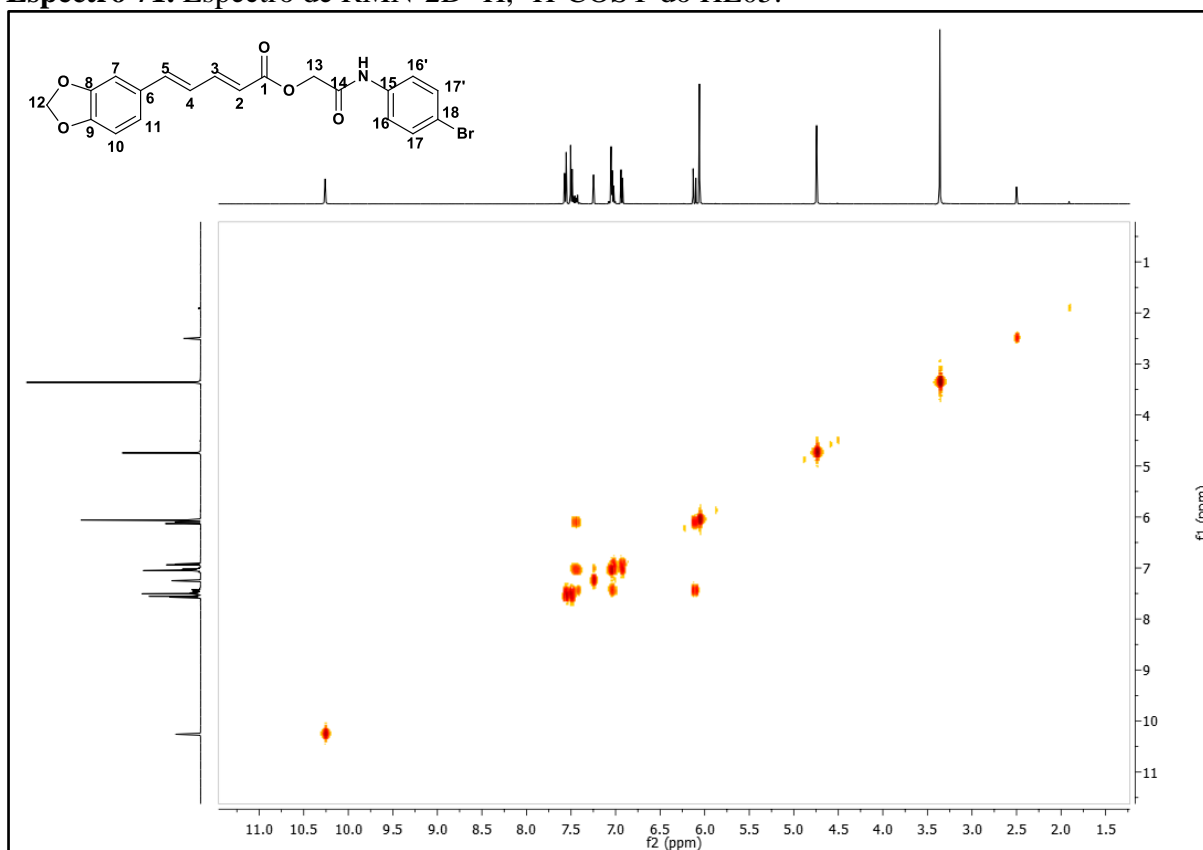
**Espectro 69.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (100 – 145 ppm).



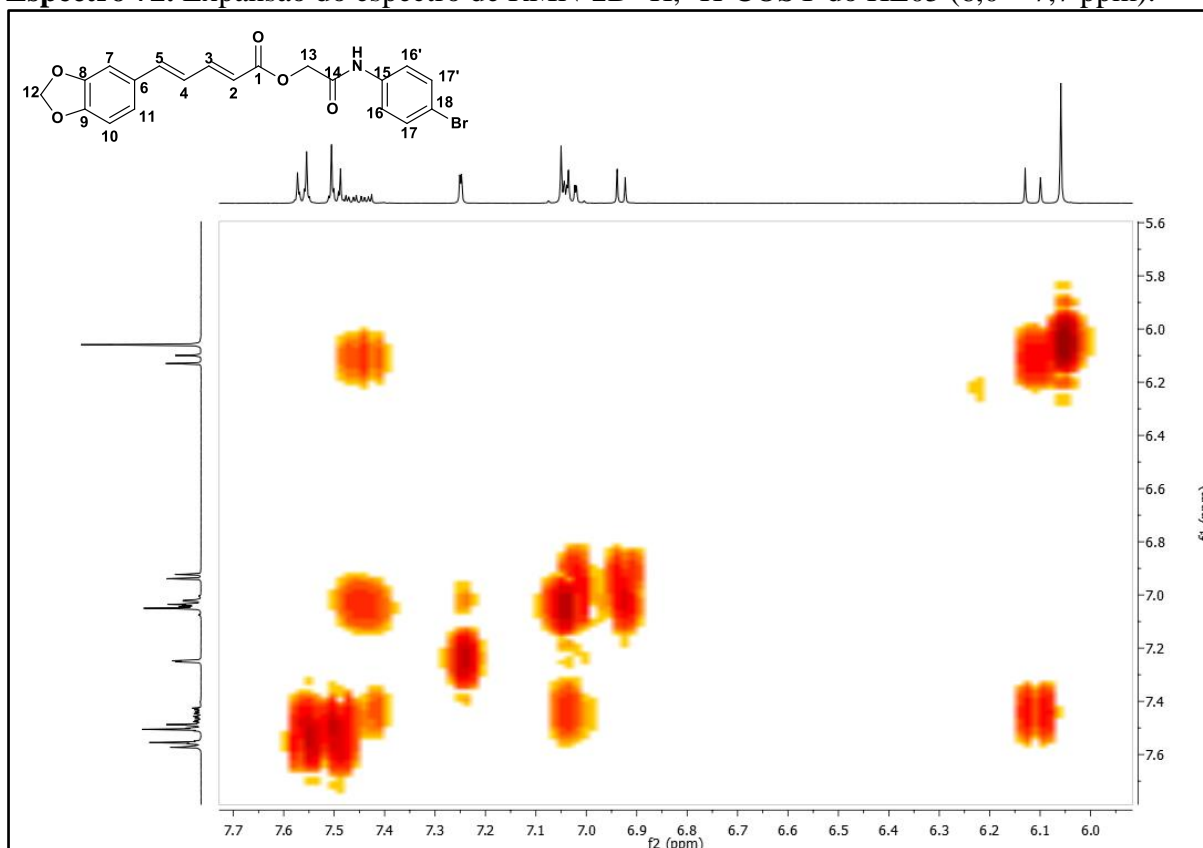
**Espectro 70.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE05 (164,2 – 168,0 ppm).



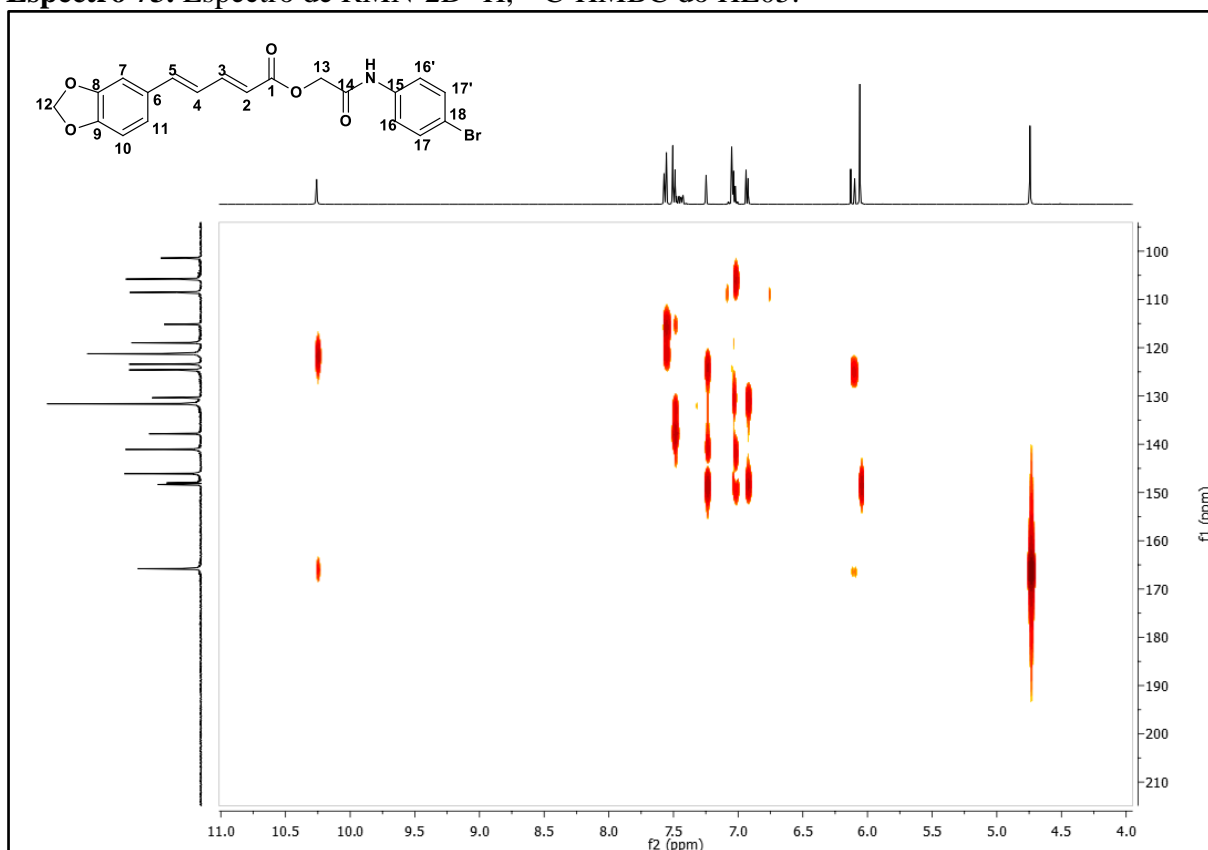
**Espectro 71.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE05.



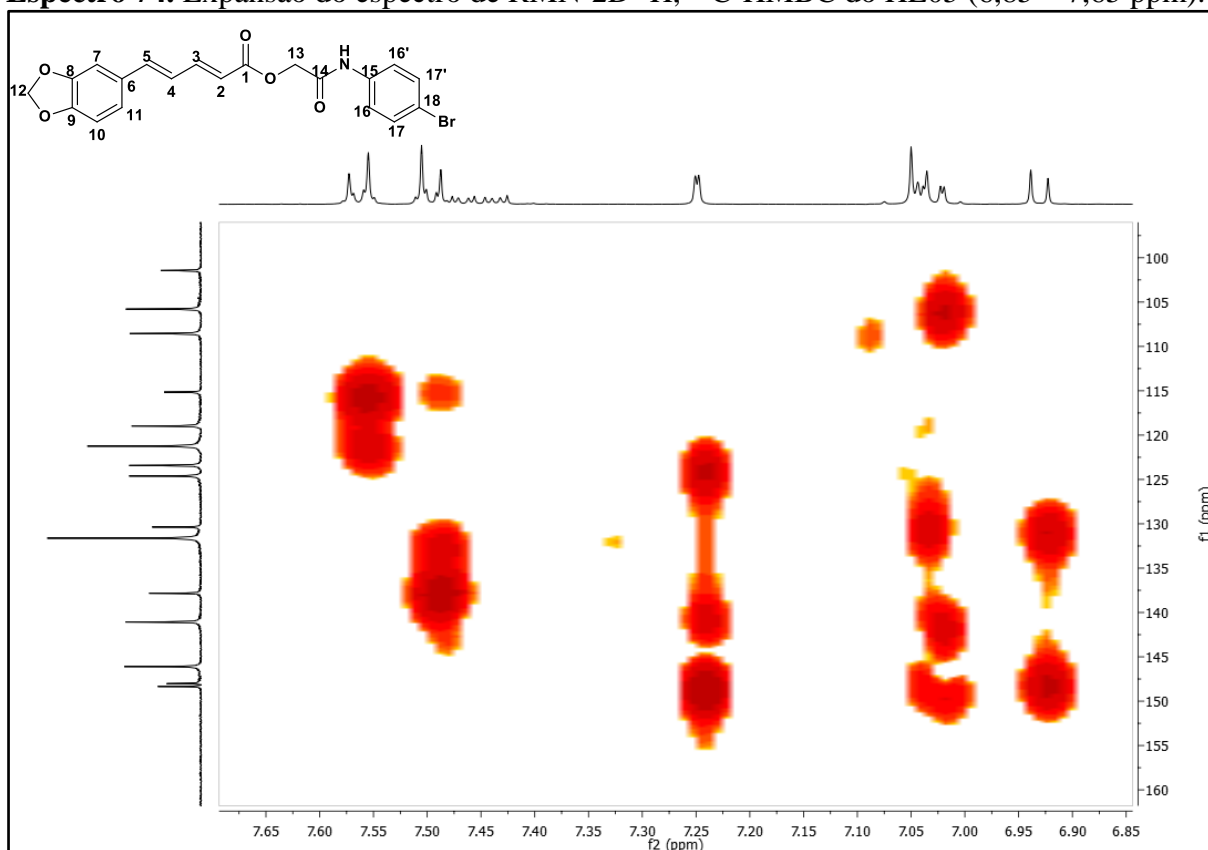
**Espectro 72.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^1\text{H}$ -COSY do HE05 (6,0 – 7,7 ppm).



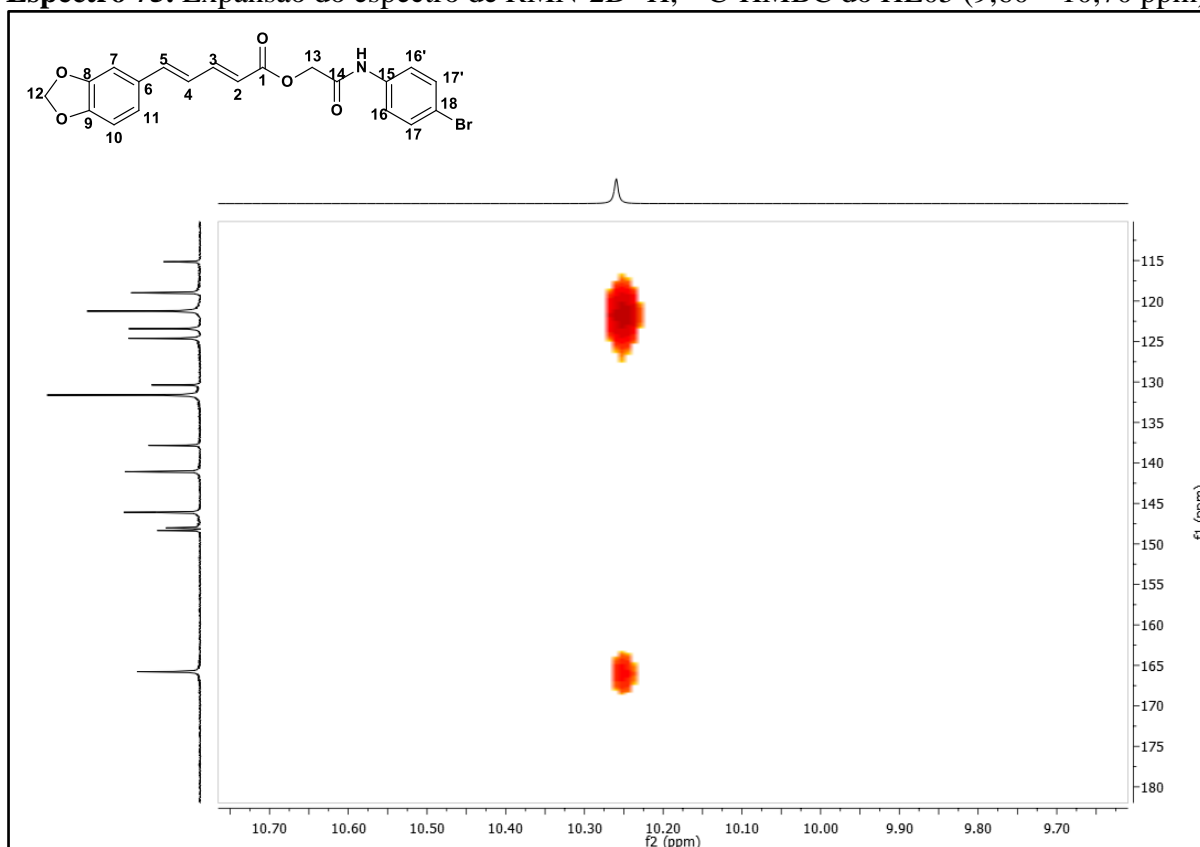
**Espectro 73.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05.



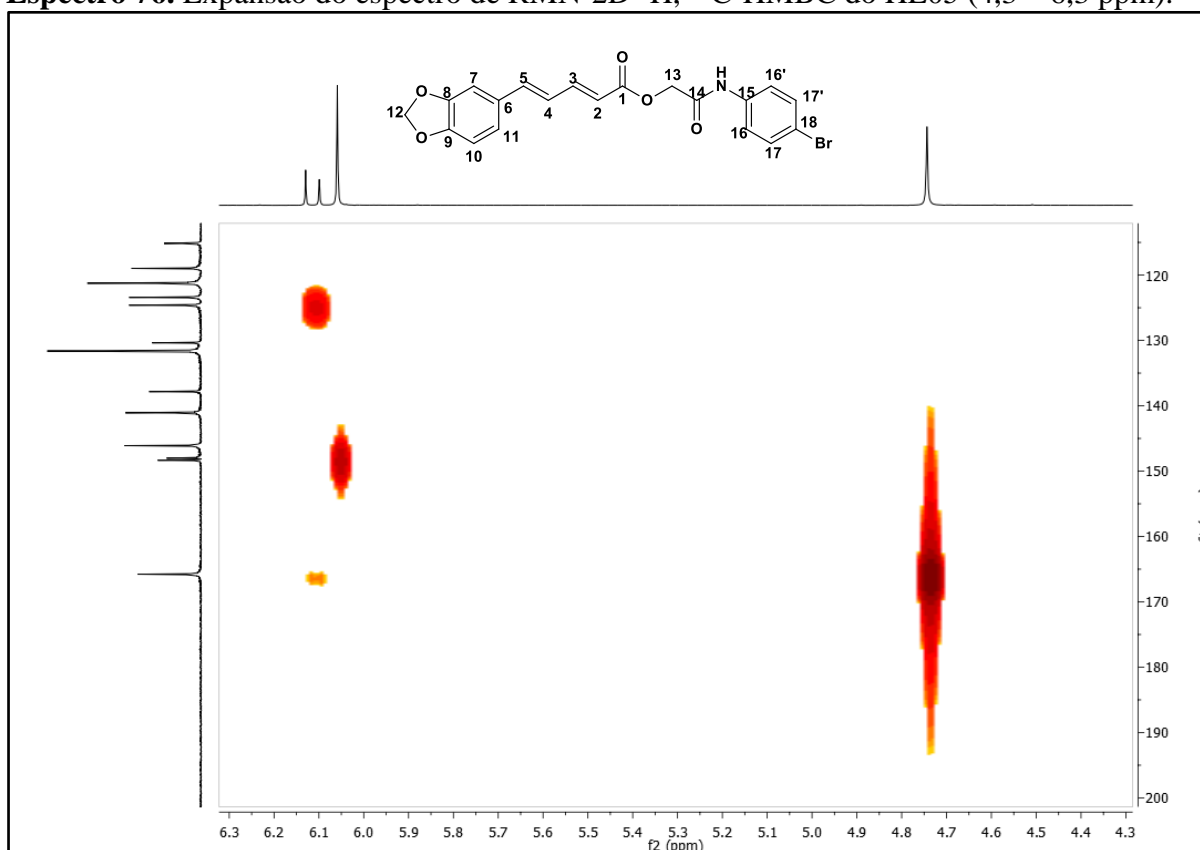
**Espectro 74.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (6,85 – 7,65 ppm).



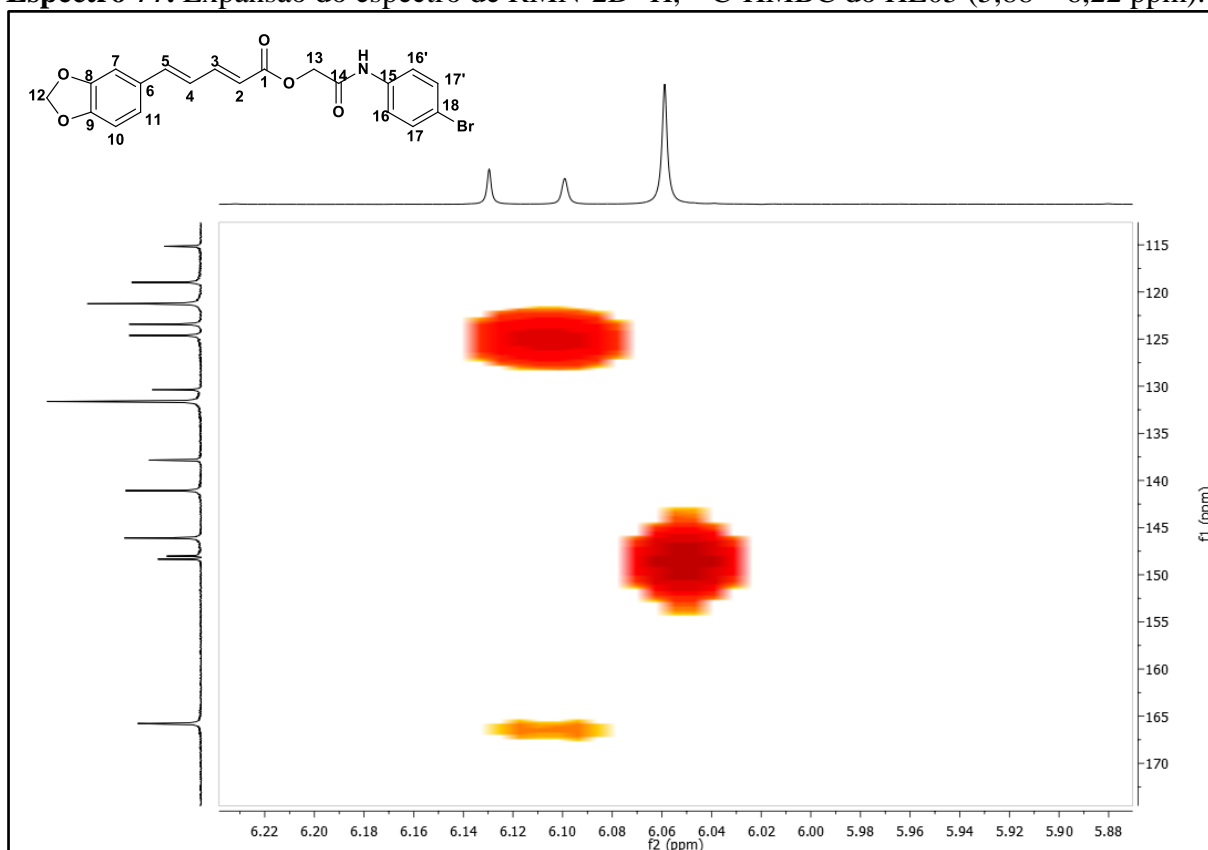
**Espectro 75.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (9,60 – 10,70 ppm).



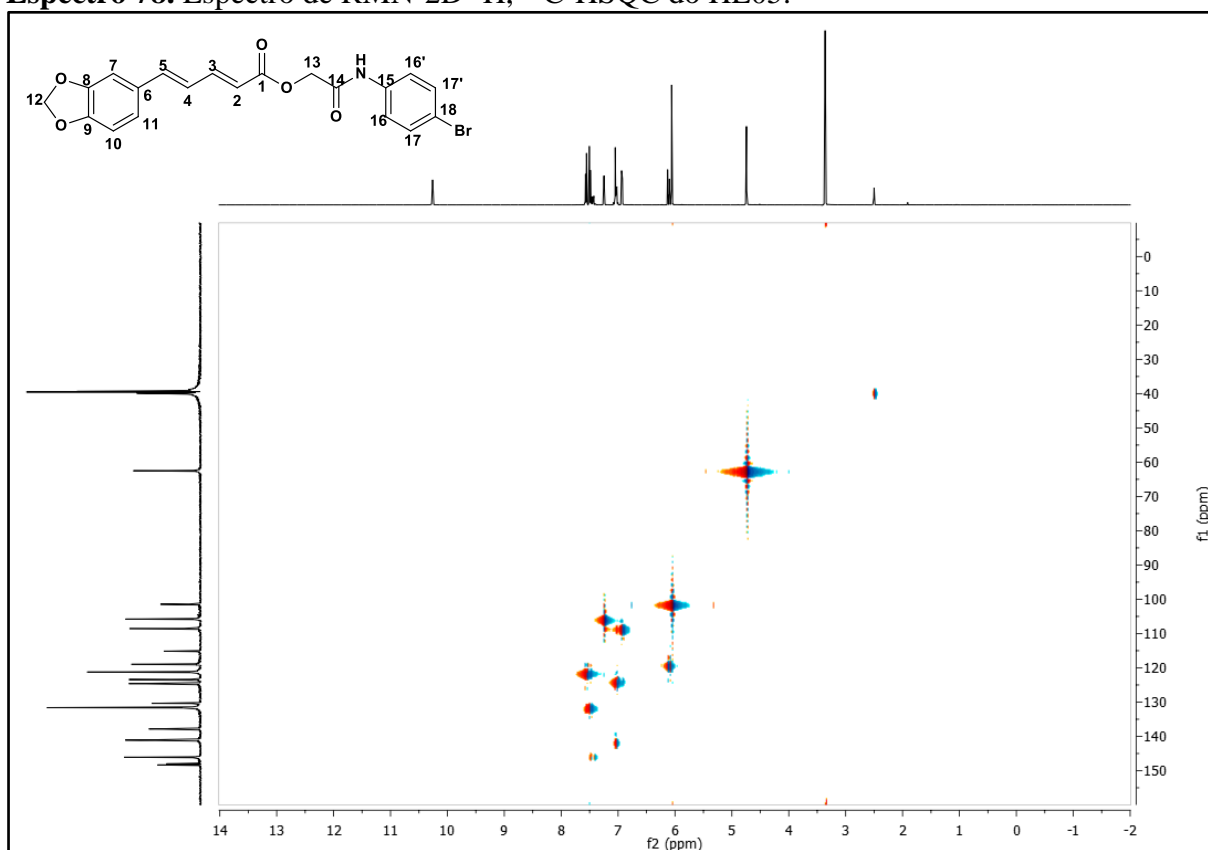
**Espectro 76.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (4,3 – 6,3 ppm).



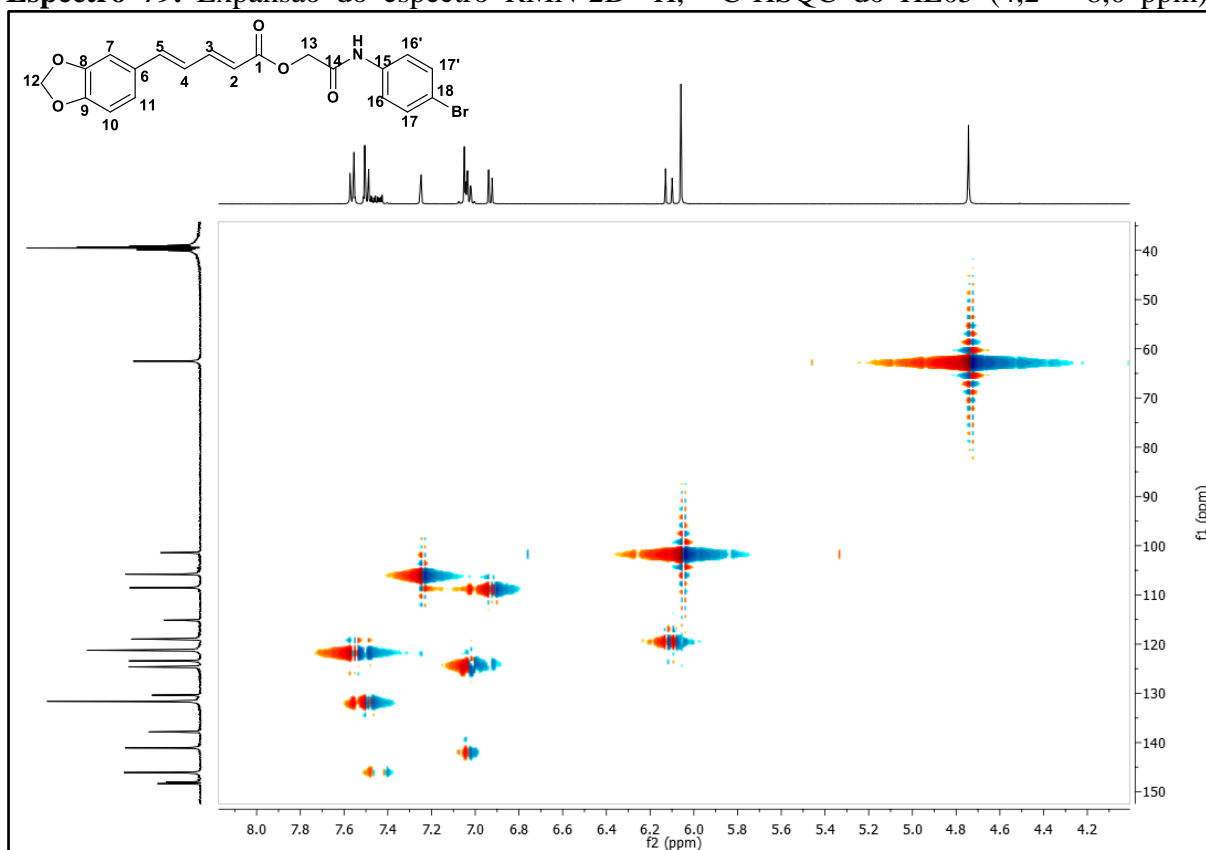
**Espectro 77.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HMBC do HE05 (5,88 – 6,22 ppm).



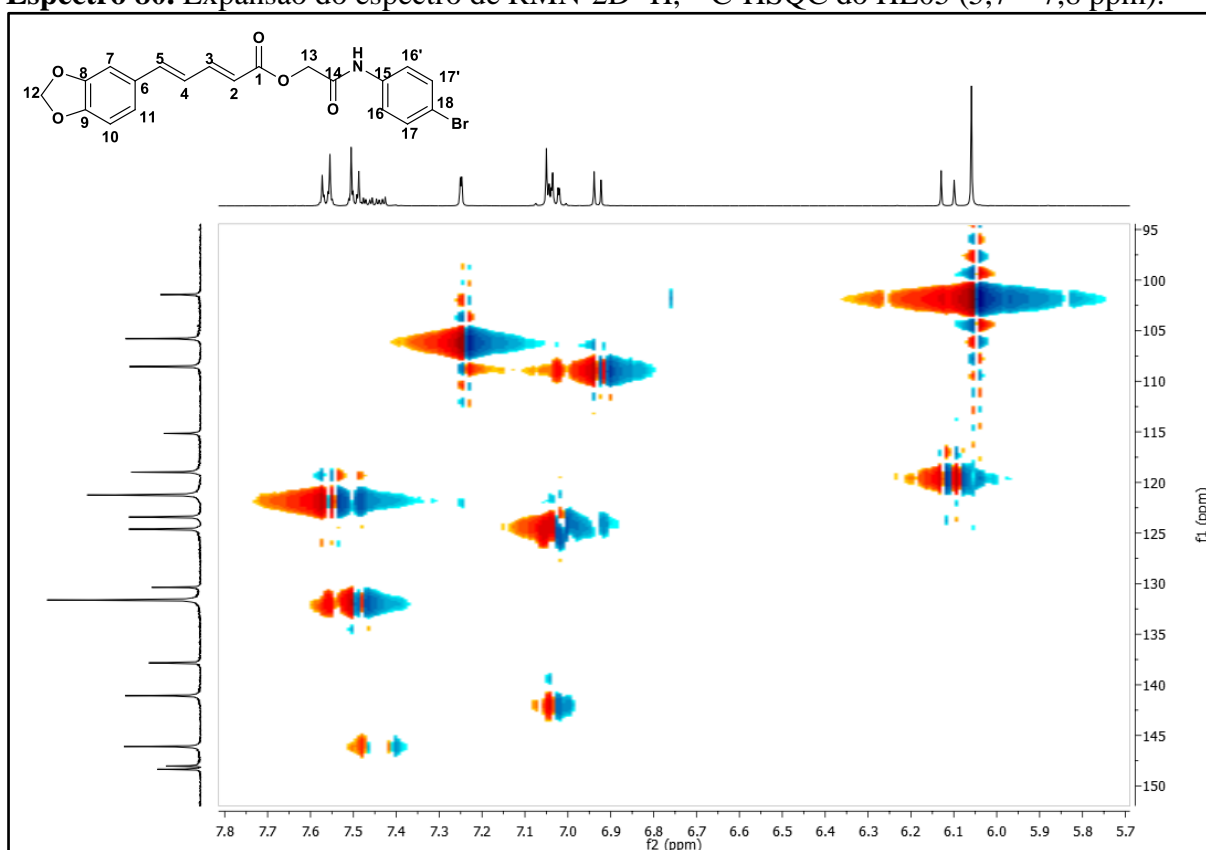
**Espectro 78.** Espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05.



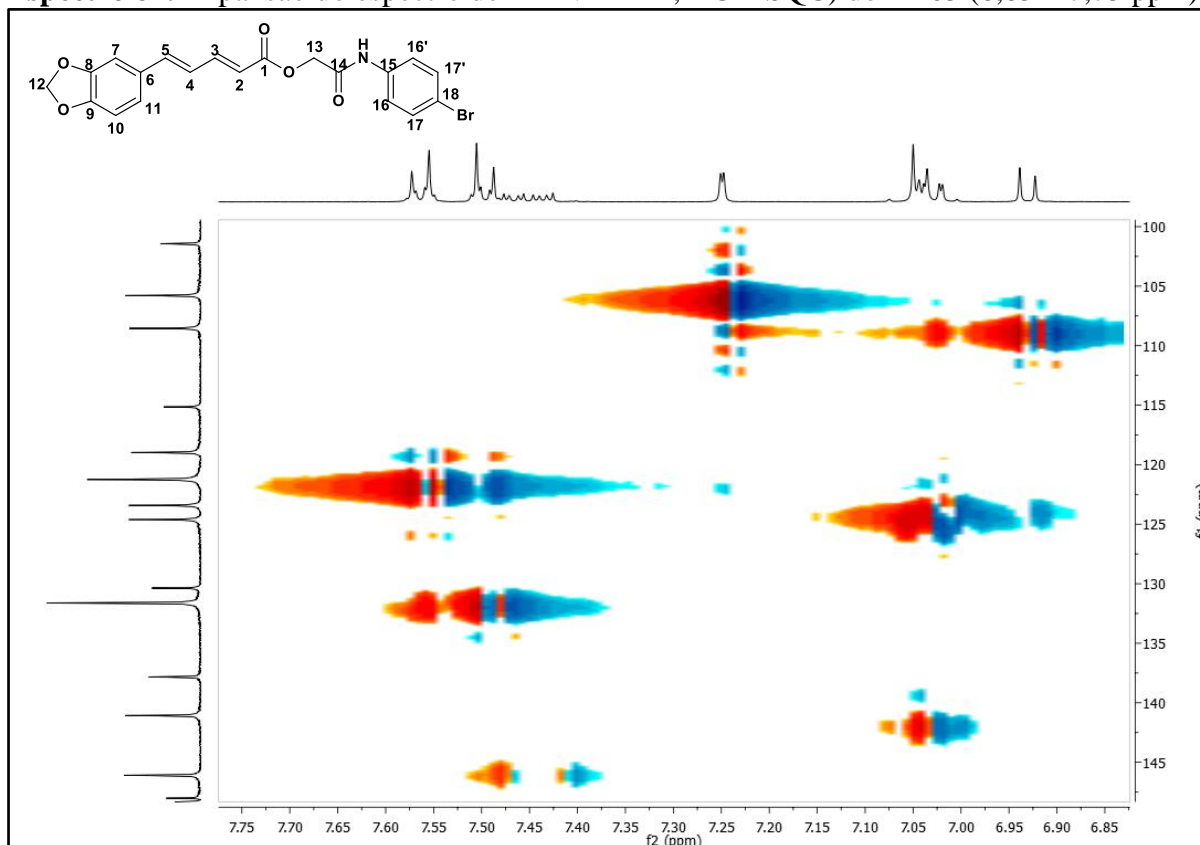
**Espectro 79.** Expansão do espectro RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05 (4,2 – 8,0 ppm).



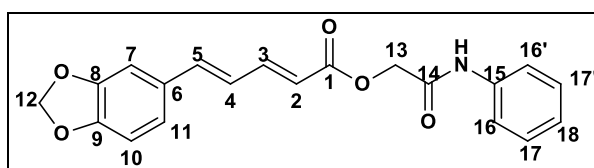
**Espectro 80.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC do HE05 (5,7 – 7,8 ppm).



**Espectro 81.** Expansão do espectro de RMN-2D  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ -HSQC) do HE05 (6,85 – 7,75 ppm).



### 5.2.5 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*)-2-oxo-2-(fenilamina) - piperidinoato de etila (HE01)

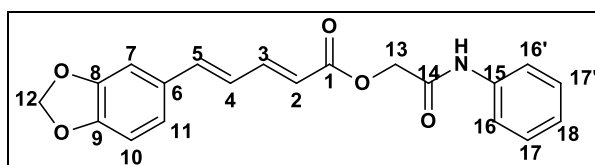


O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (pag 81-82) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,75 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm importante sinal indicando o  $\text{CH}_2$  do metilenodioxí proveniente da piperina. Na região  $\delta$  10,10 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,25 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H) e 7,59 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7 e H-16,16' respectivamente. Em 7,46 (ddd,  $J = 15,3$ ; 7,4; 2,9 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênios H-3. Na região de  $\delta$  7,09-7,02 (m, 4H) presença de



multiplete referente aos hidrogênios H-4; H-5; H-11 e H-18. Observa-se um multiplete em  $\delta$  7,34 – 7,29 (m, 2H) referente ao hidrogênio H-17,17' aromático da fenilamina (Tabela 7).

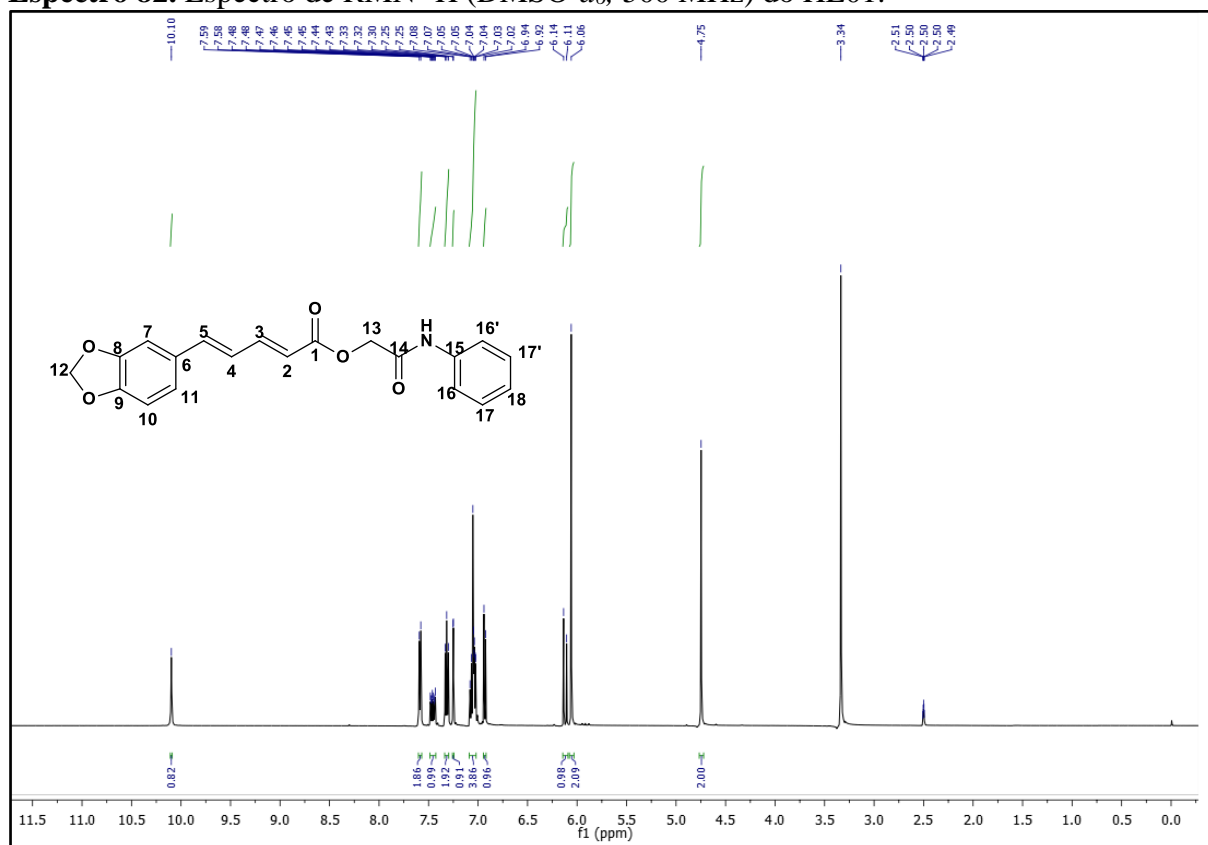
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 125 MHz (pag 83-84) do composto HE01 observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais seis foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,77 (C-7), 108,51 (C-10), 119,31 (C16,16'), 123,34 (C-11), 123,49 (C-18) e 128,73 (C-17,17') ppm, quatro sinais de alcenos em 119,05 (C-2), 124,60 (C-4), 140,97 (C-5) e 145,96 (C-3) ppm e dois sinais de carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,49 (C-13) e 101,39 (C-12 metilenodioxí) ppm. Os seis sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  130,35 (C-6), 138,44 (C-15), 147,99 (C-8), 148,30 (C-9) 165,31 (C-1 carbonila do éster), e 165,77 (C-1 carbonila da amida) ppm (Tabela 7).



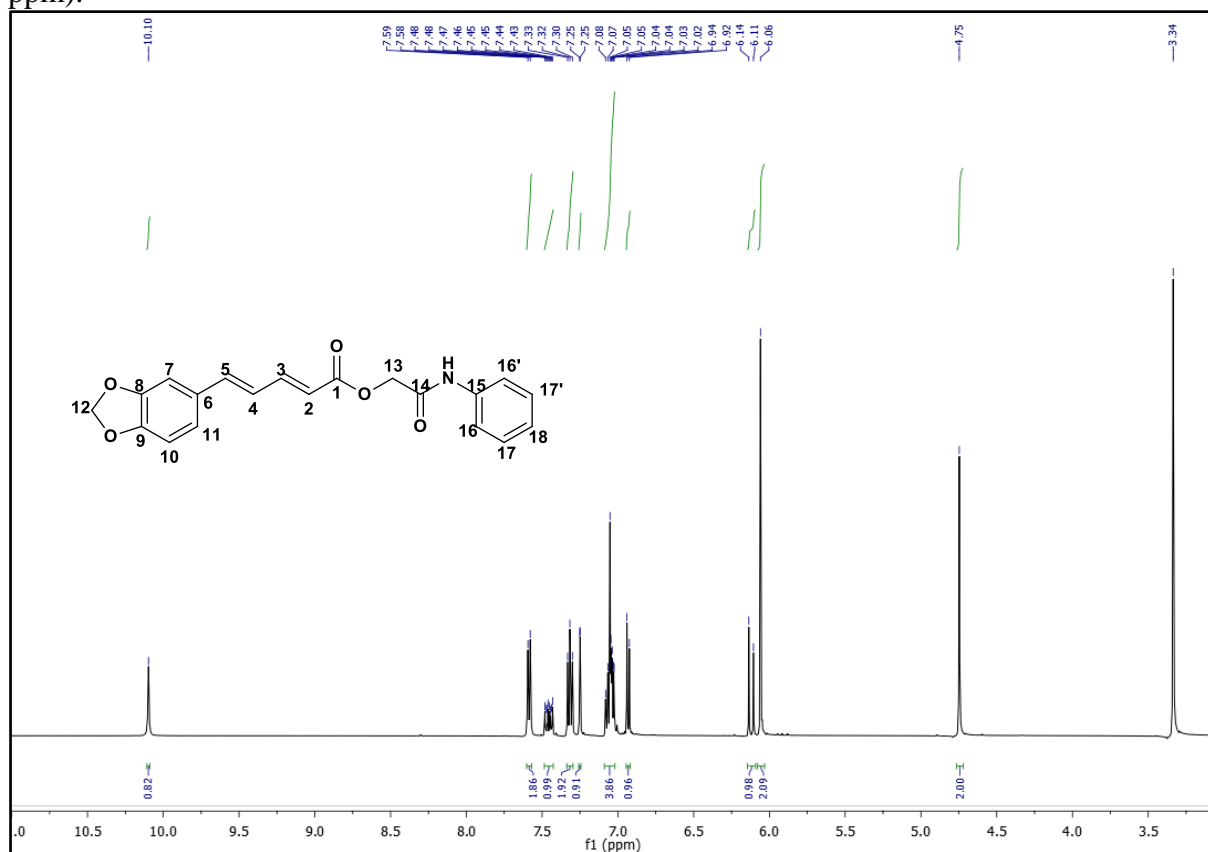
**Tabela 7.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do HE01. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	HE01	
$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,31
2	6,12 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H),	119,05
3	7,46 (ddd, $J = 15,3$ ; 7,4; 2,9 Hz, 1H),	145,96
4	7,09 – 7,02 (m, 4H)	124,60
5	7,09 – 7,02 (m, 4H)	140,97
6	-	130,35
7	7,25 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)	105,77
8	-	147,99
9	-	148,30
10	6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).	108,51
11	7,09 – 7,02 (m, 4H)	123,34
12	6,06 (s, 2H),	101,39
13	4,75 (s, 2H)	62,49
14	-	165,77
15	-	138,44
16	7,59 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H)	119,31
17	7,34 - 7,29 (m, 2H)	128,73
18	7,09 – 7,02 (m, 4H)	123,49
NH	10,10 (s, 1H)	-

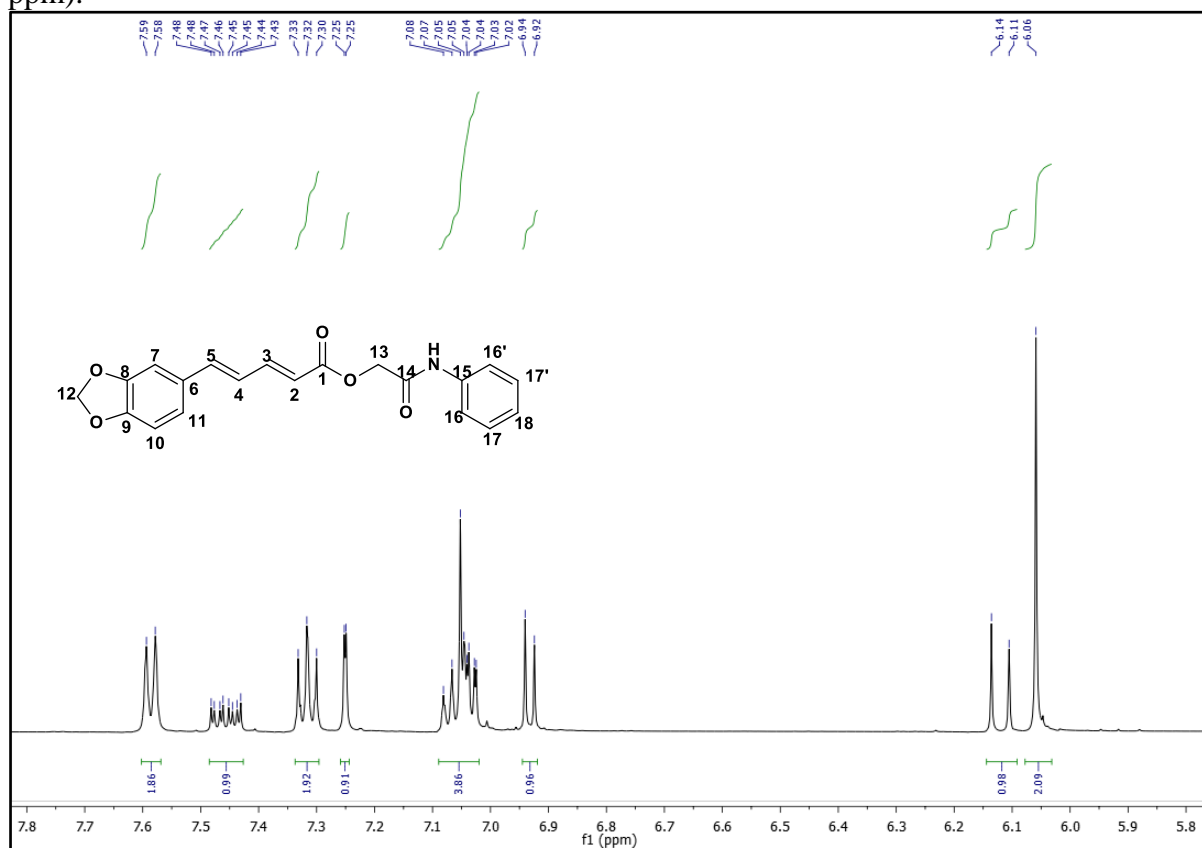
**Espectro 82.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE01.



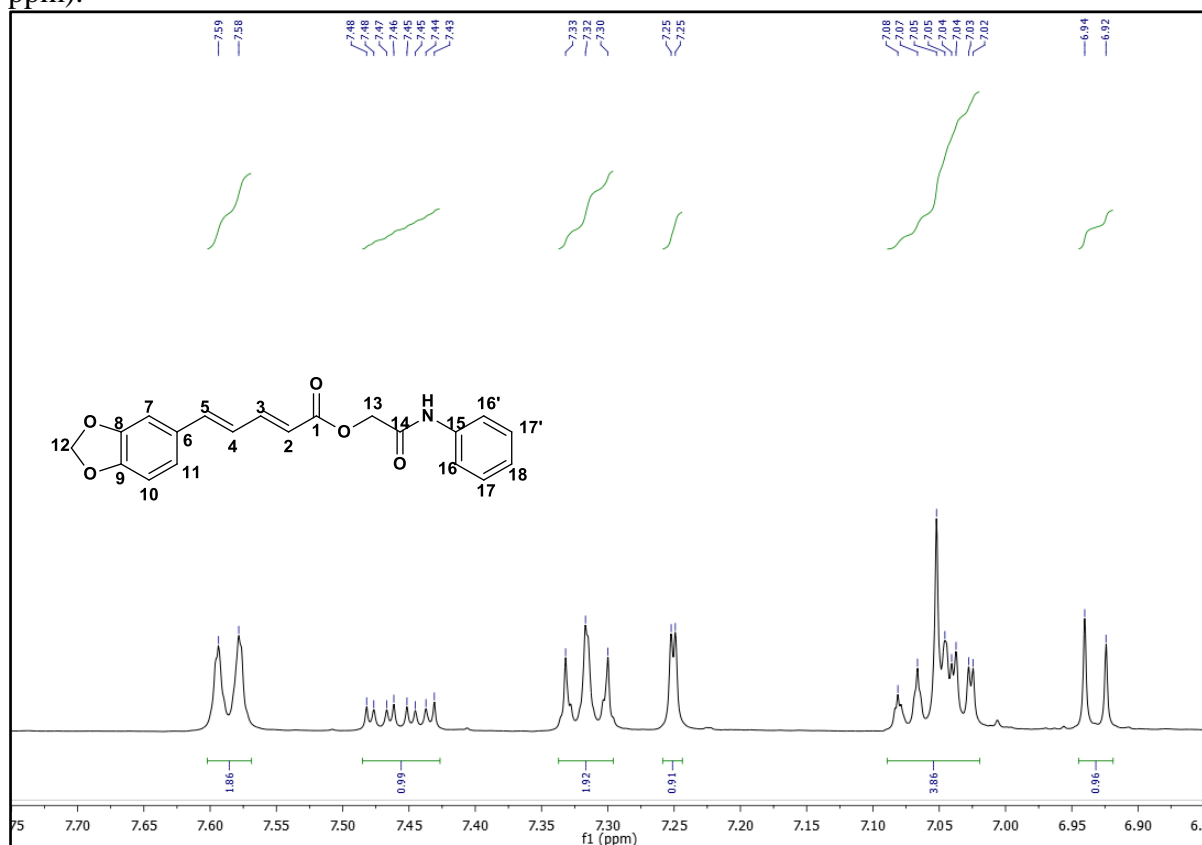
**Espectro 83.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO}-d_6$ , 500 MHz) do HE01 (3,5 – 10,5 ppm).



**Espectro 84.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01 (5,8 – 7,8 ppm).



**Espectro 85.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE01 (6,8 – 7,7 ppm).



Chemical structure of compound 10 is shown below the spectrum. The structure is a benzodioxole derivative with a side chain containing a trans-double bond, an ester group, and a benzamide group. The carbon atoms are numbered 1 through 18.

Chemical shift values (ppm) labeled above the spectrum:

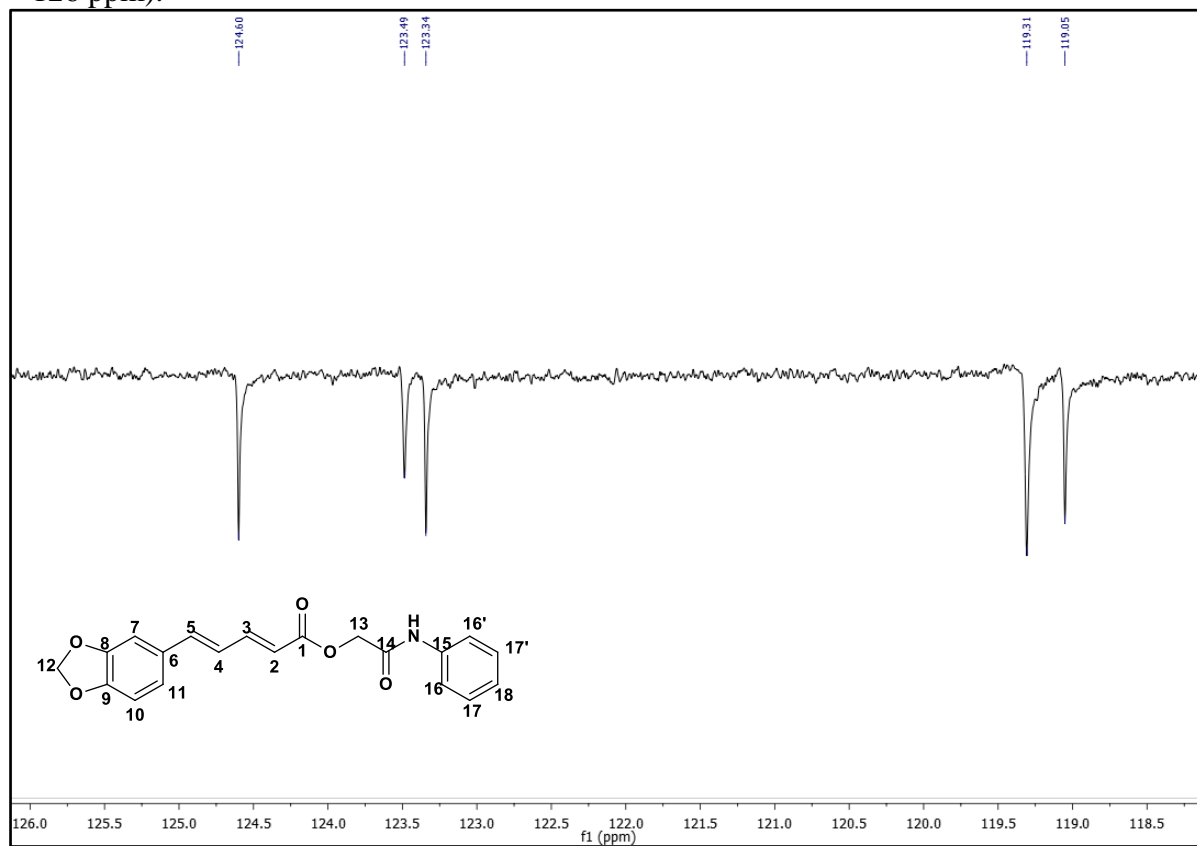
- 165.77, 165.51
- 148.30, 147.99, 145.96
- 140.97, 138.44
- 130.35, 128.72, 124.60, 123.49, 123.34, 119.31, 119.05
- 108.51, 105.77, 101.39
- 62.49
- 40.02, 39.86, 39.62, 39.35, 39.18, 39.02

13C NMR (CDCl<sub>3</sub>) spectrum of compound 10. The spectrum shows peaks corresponding to the chemical structure of 10, which is a substituted benzodioxole derivative. The peaks are labeled with their chemical shifts (ppm): 148.30, 147.99, 145.96, 140.97, 138.44, 130.35, 128.73, 124.60, 123.49, 123.34, 119.31, 119.05, 108.51, 105.77, and 101.39. The chemical structure of 10 is shown below the spectrum.

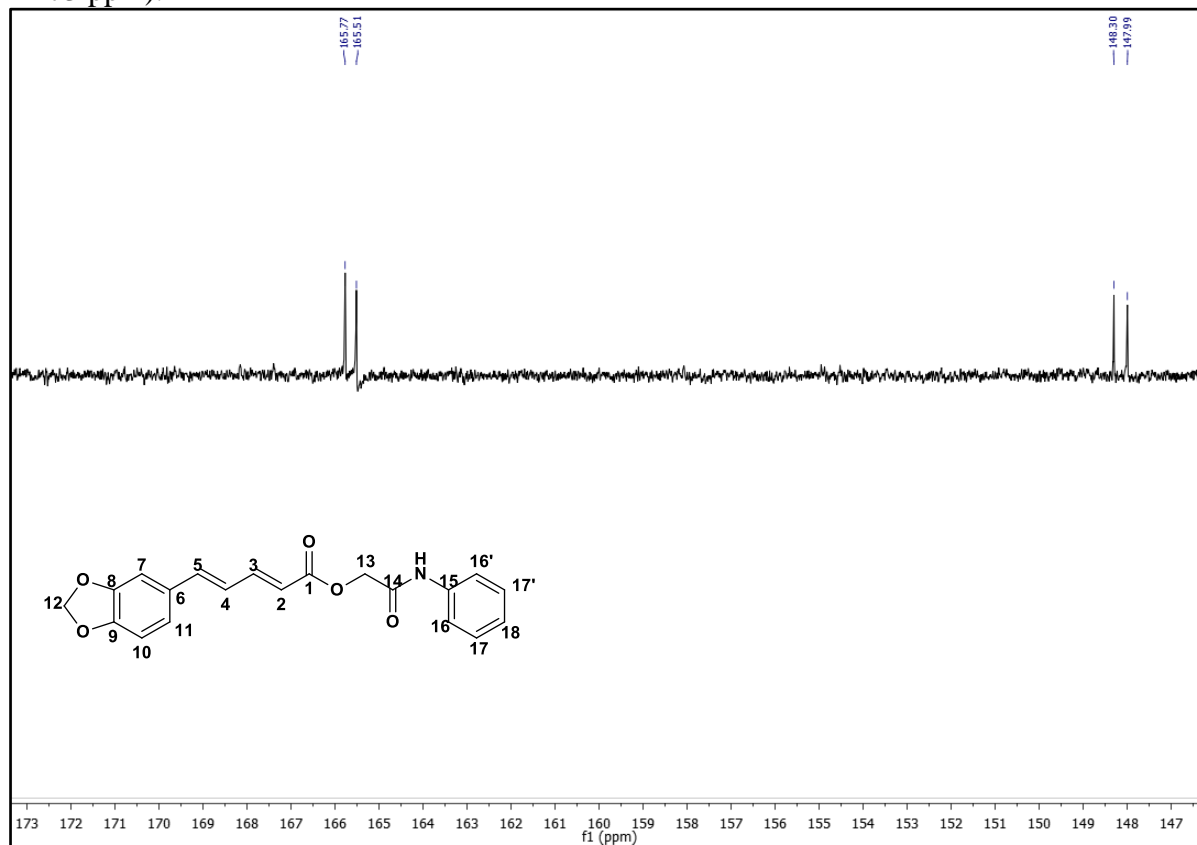
O=C1C(=C(C=C1)C2=CC=CC=C2)C(=O)OCC3=CC=CC=C3

Chemical structure of compound 10: A substituted benzodioxole derivative. The structure is shown with atom numbering (1-18) and chemical shifts (ppm) indicated above the corresponding peaks in the spectrum.

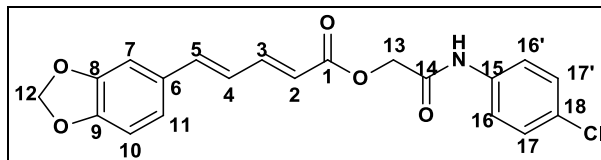
**Espectro 88.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01 (118 – 126 ppm).



**Espectro 89.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE01 (147 – 173 ppm).



### 5.2.6 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2*E*,4*E*)-2-oxo-2-(4-clorofenilamina) - piperidinoato de etila (HE06)



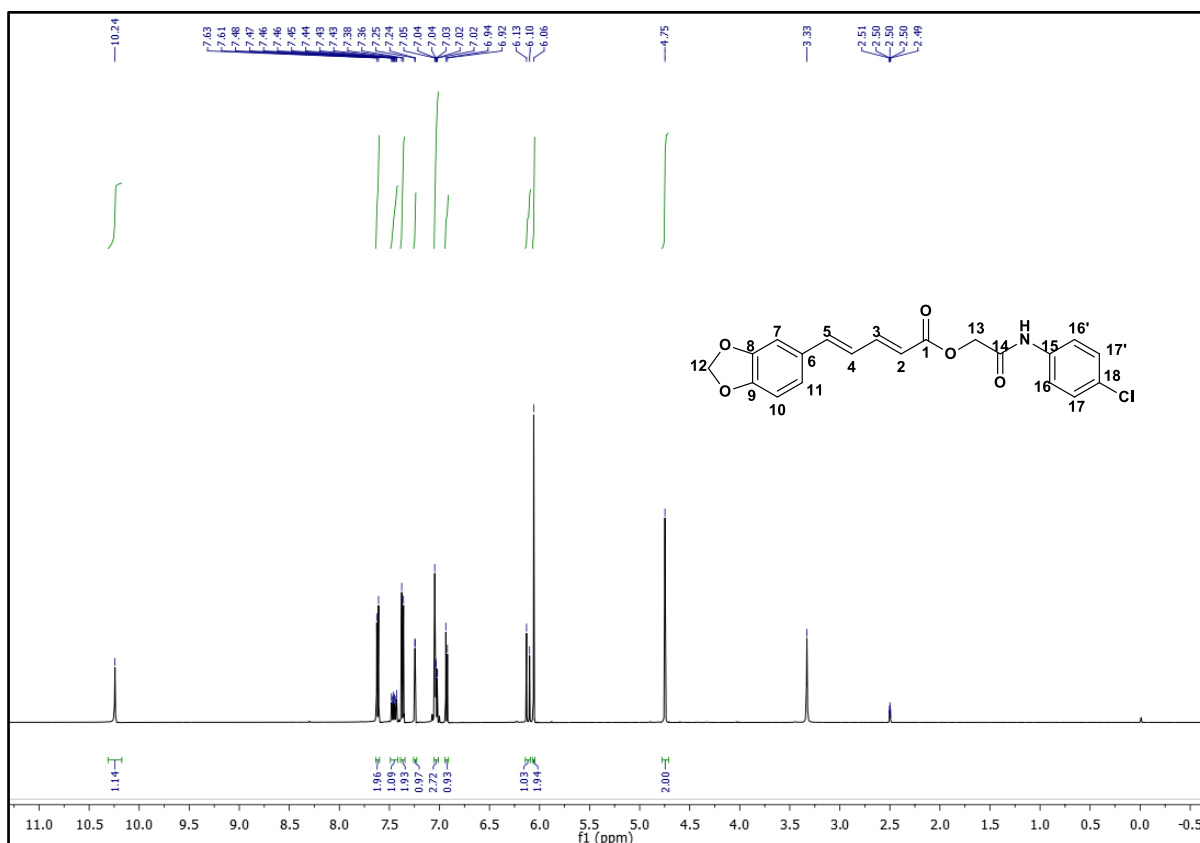
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (pag 86-88) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,75 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm. Na região  $\delta$  10,24 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,11 ( $J = 15,3$  Hz, 1H); 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,24 ( $J = 1,6$  Hz, 1H); 7,62 ( $J = 8,9$  Hz, 2H) e 7,37 ( $J = 8,9$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7 H-16,16'; H-17,17' respectivamente. Em  $\delta$  7,45 (ddd,  $J = 15,2$ ; 7,6 e 2,7 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,06-7,00 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11 (Tabela 8).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 125 MHz (88-90) do composto HE06 observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Onze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,76 (C-7), 108,49 (C-10), 120,85 (C16,16'), 123,34 (C-11), 128,65 (C-17,17') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 118,31 (C-2), 124,57 (C-4), 141,01 (C-5) e 146,02 (C-3) ppm e dois a carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,46 (C-13) e 101,39 (C-12 metilenodioxí) ppm de alifáticos. Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  127,10 (C-18 carbono aromático com o cloro substituído), 130,33 (C-6), 137,38 (C-15), 165,75 (C-14 carbonila da amida), 147,99 (C-9), 148,30 (C-8), 165,71 (C-1 carbonila de éster) ppm (Tabela 8).

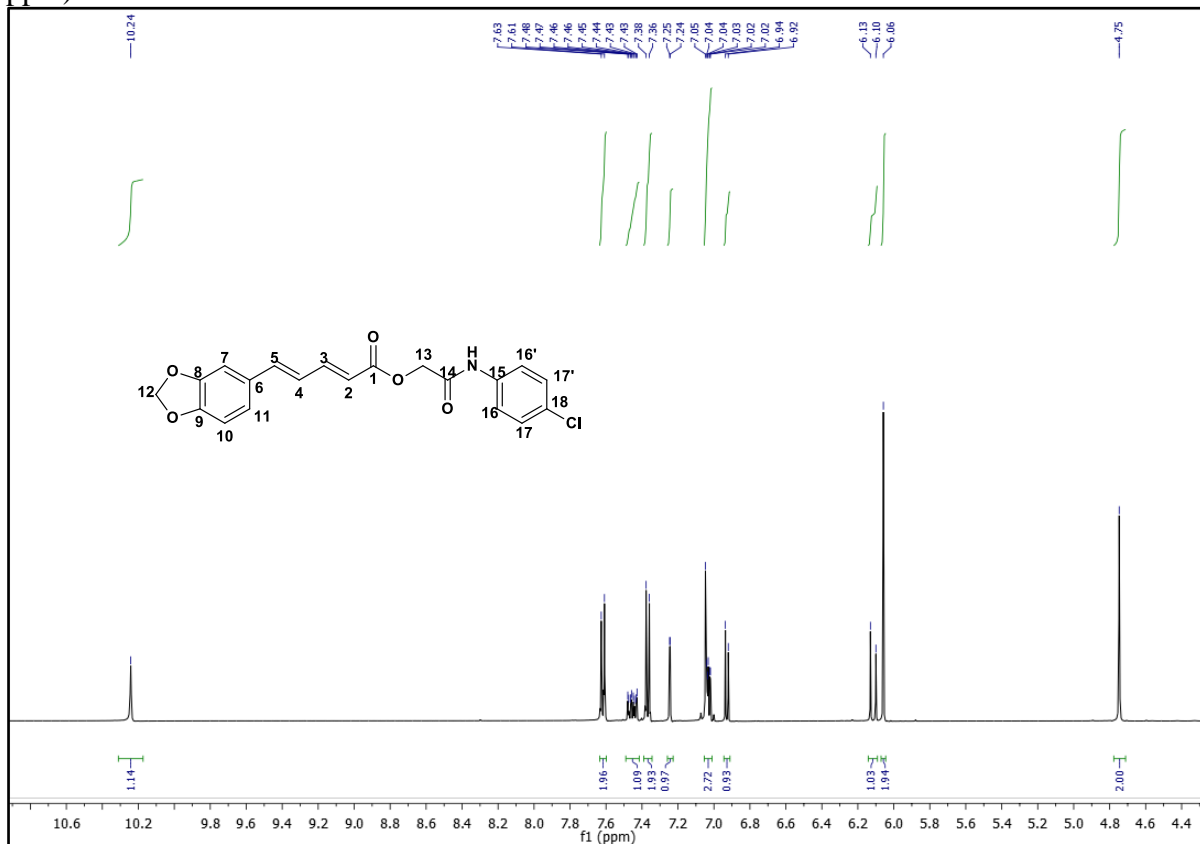
**Tabela 8.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE06. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	HE06	
$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,71
2	6,11 (d, $J = 15.3$ Hz, 1H),	118,96
3	7,45 (ddd, $J = 15,2$ ; 7,6; 2,7 Hz, 1H),	146,02
4	7,06 – 7,00 (m, 3H),	124,57
5	7,06 – 7,00 (m, 3H)	141,01
6	-	130,33
7	7,24 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H),	105,76
8	-	147,99
9	-	148,30
10	6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).	108,49
11	7,06 – 7,00 (m, 3H)	123,34
12	6,06 (s, 2H),	101,39
13	4,75 (s, 2H)	62,46
14	-	165,75
15	-	137,38
16	7,62 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H),	120,85
17	7,37 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H),	128,65
18	-	127,10
NH	10,24 (s, 1H)	-

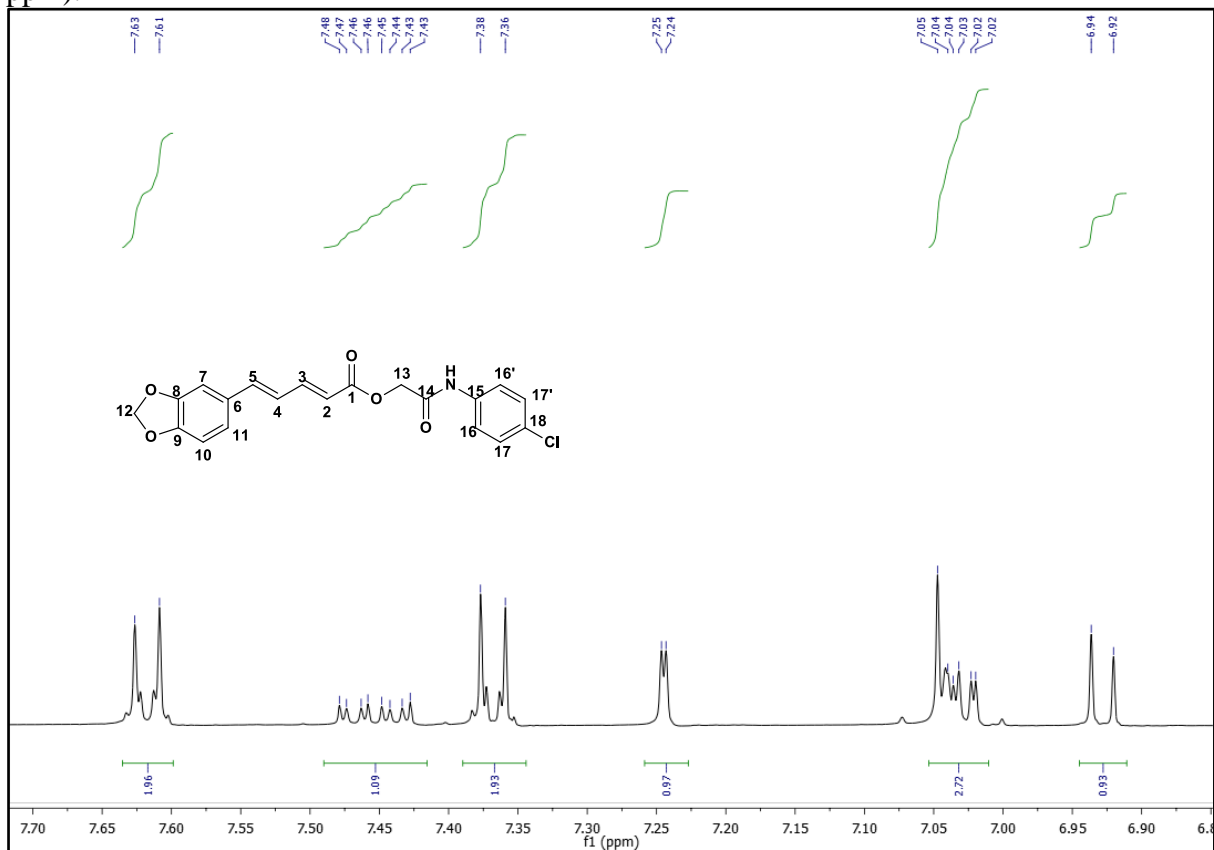
**Espectro 90.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 500 MHz) do HE06.



**Espectro 91.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (4,4 – 10,6 ppm).

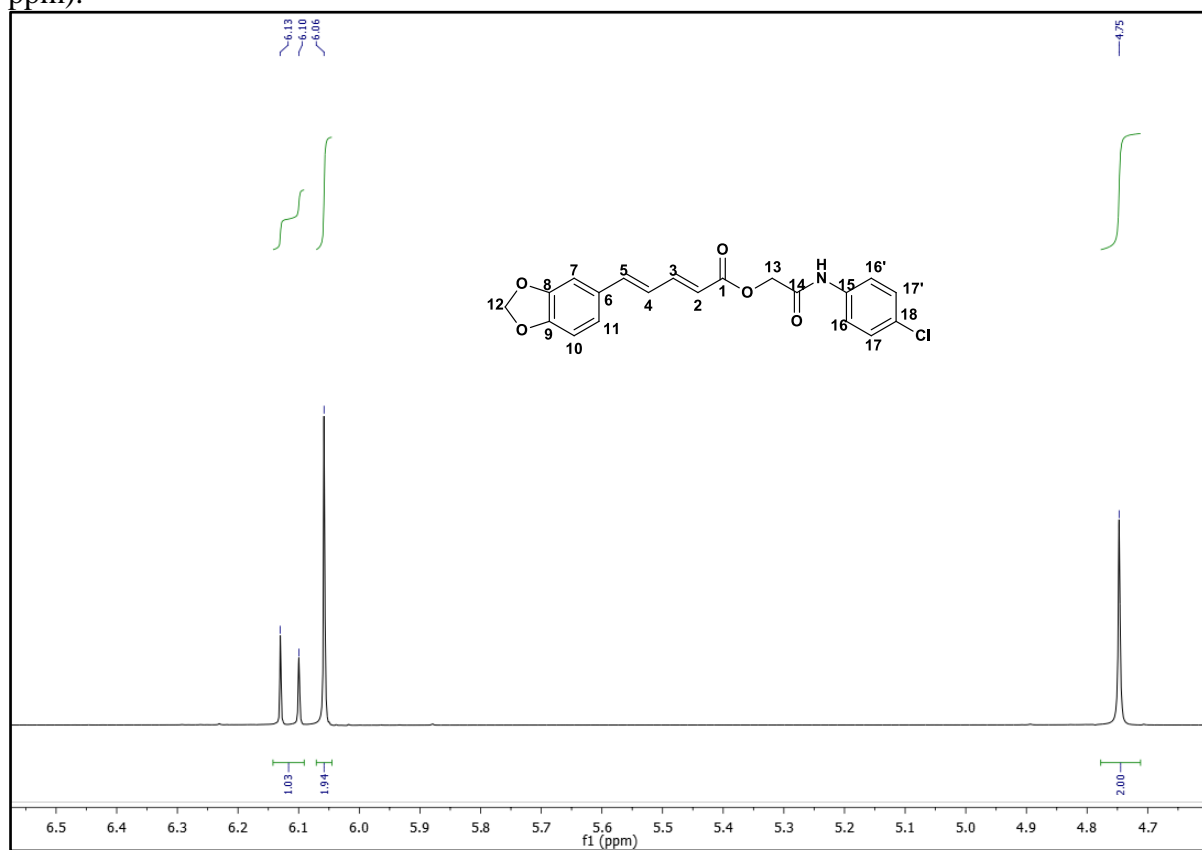


**Espectro 92.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (6,85 – 7,70 ppm).

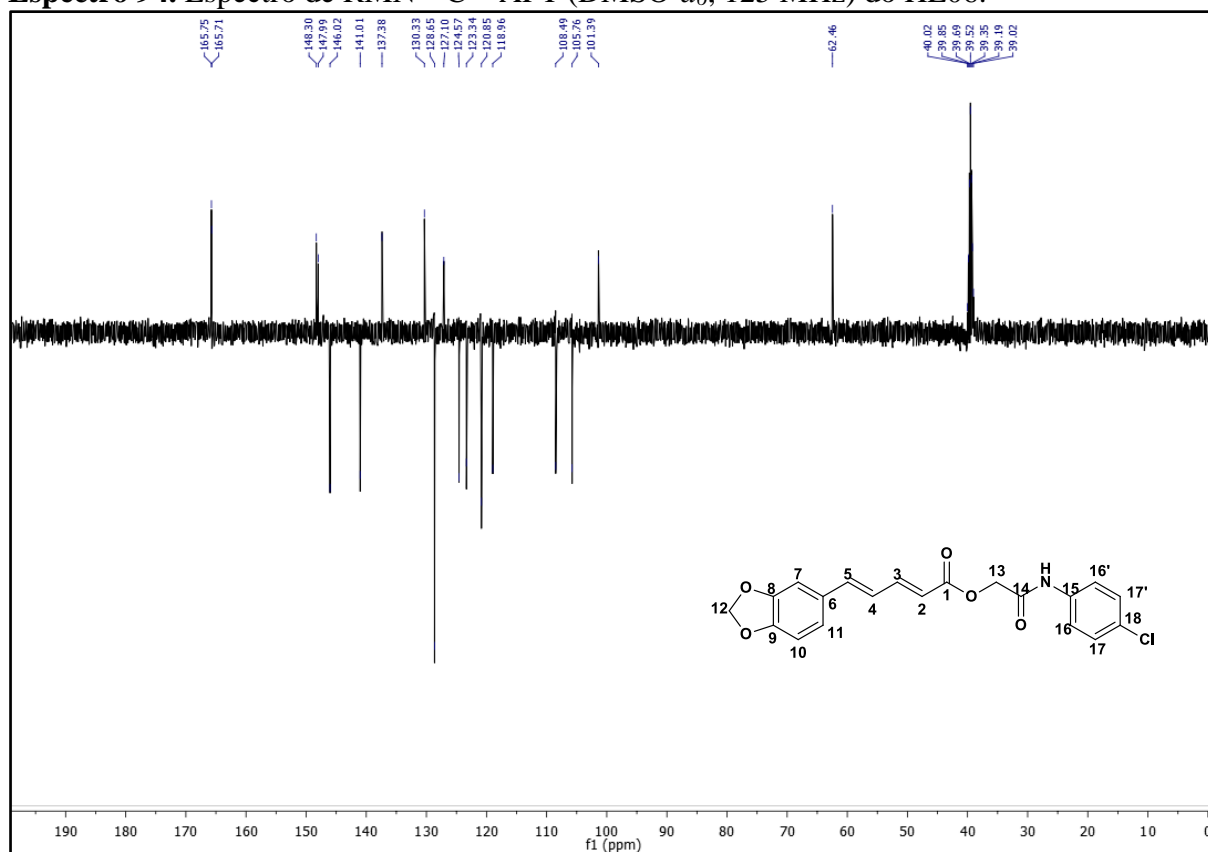




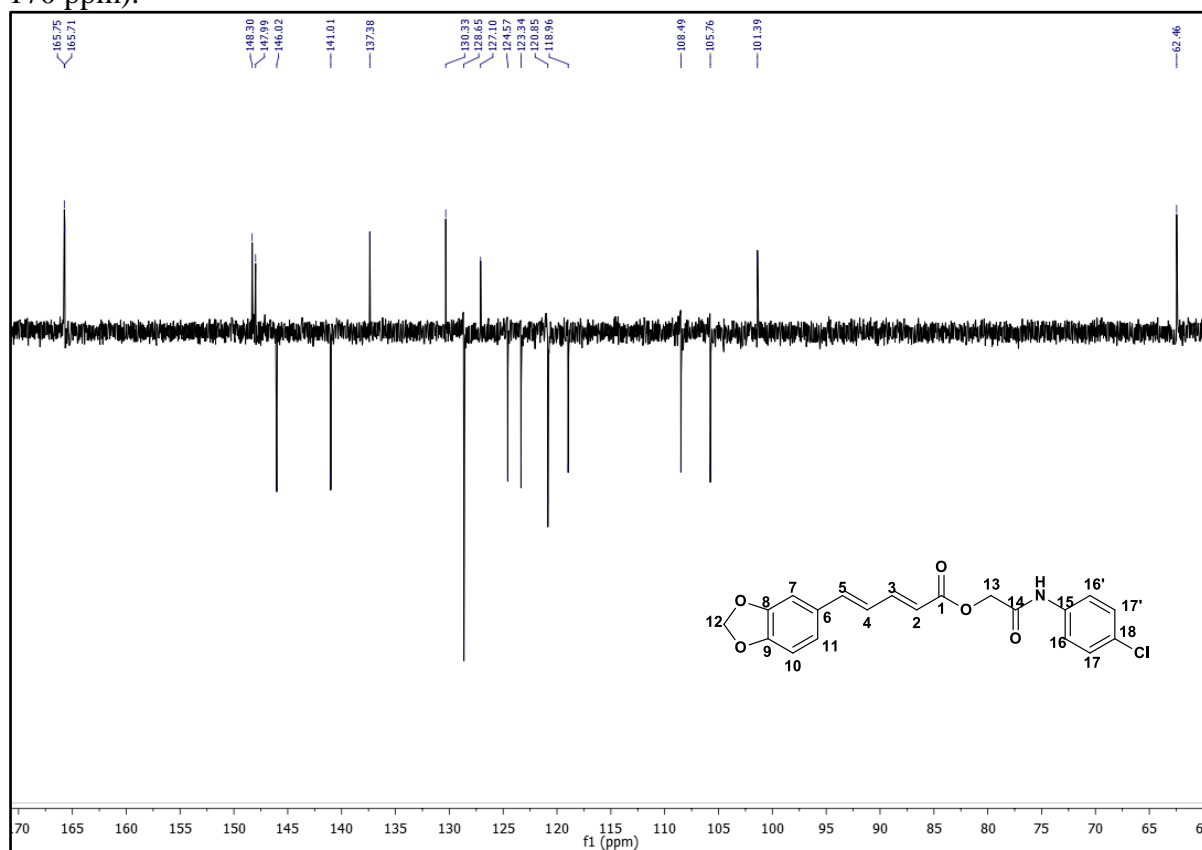
**Espectro 93.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 500 MHz) do HE06 (4,7 – 6,5 ppm).



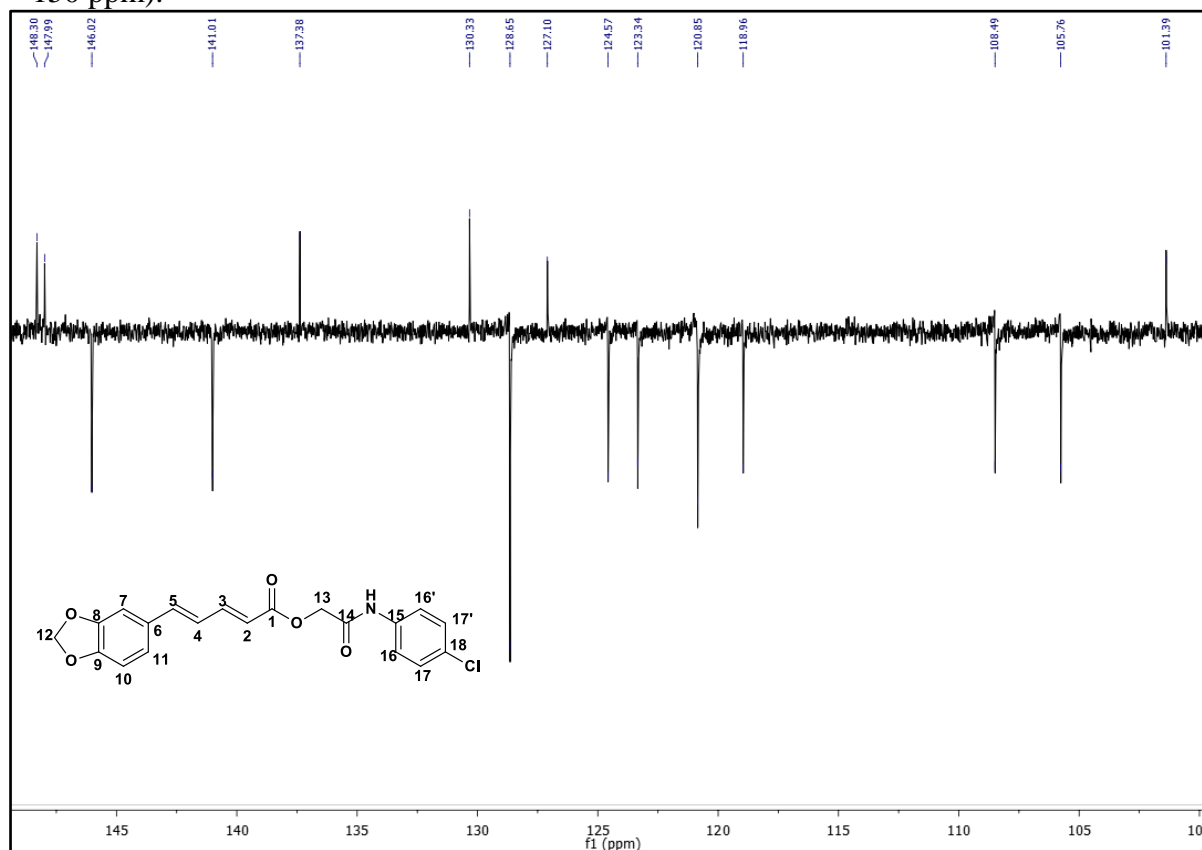
**Espectro 94.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06.



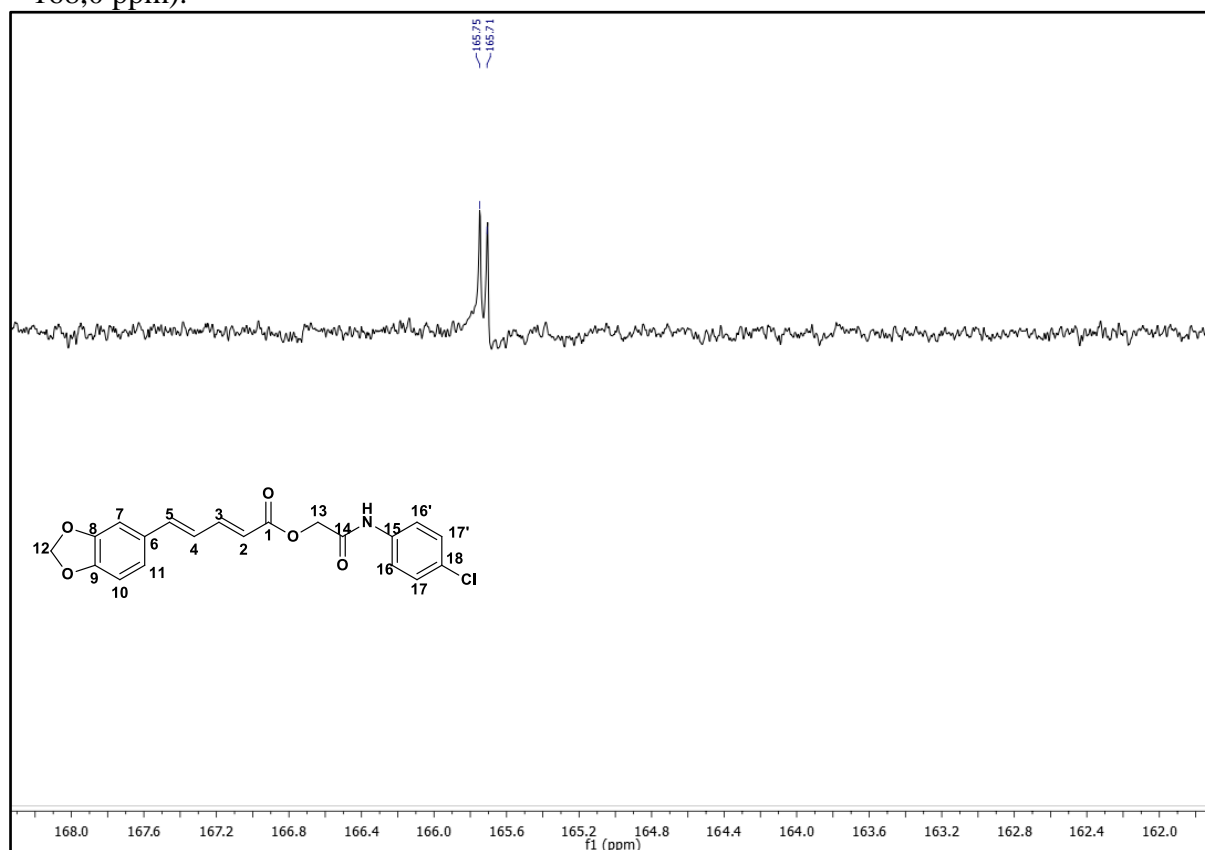
**Espectro 95.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (60 – 170 ppm).



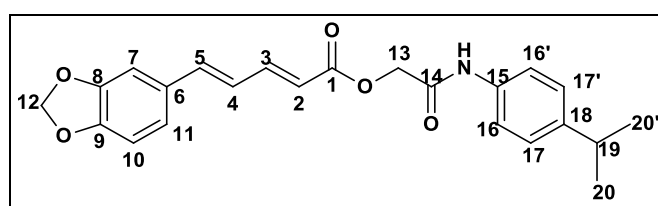
**Espectro 96.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (100 – 150 ppm).



**Espectro 97.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 125 MHz) do HE06 (162,0 – 168,0 ppm).



### 5.2.7 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-isopropilfenilamina) - piperidinoato de etila (HE07)



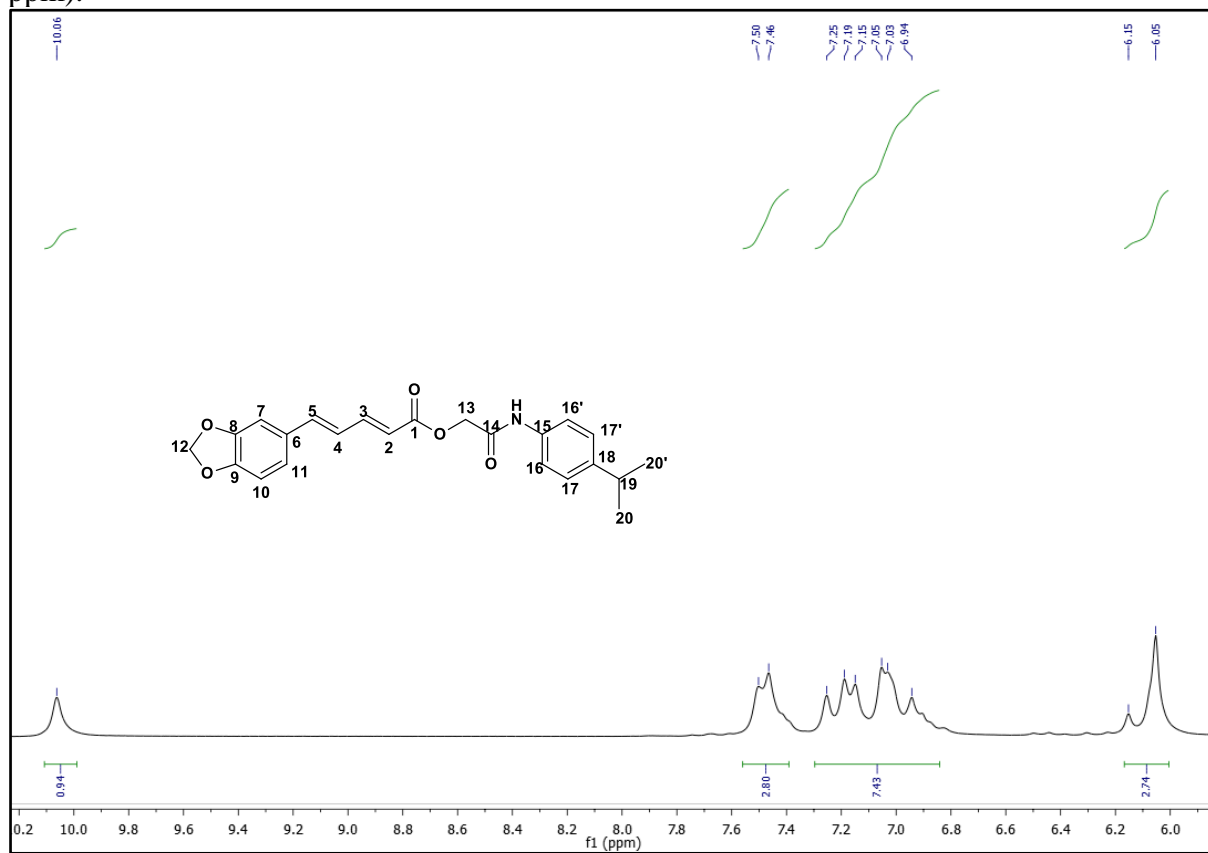
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 200 MHz (pag 92-93) revelou um singlete intenso com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,73 ppm, o sinal referente ao H-12 (metilenodioxí) característico dessas moléculas ficou misturado ao sinal do H-2 de alcenos formando um dubleto em  $\delta$  6,10 (d,  $j$  = 19,8 Hz, 3H) ppm com integral para três hidrogênios, fato acontecido pelo RMN de resolução menor dos demais compostos obtidos. Na região  $\delta$  10,06 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  1,16 ( $J$  = 6,6 Hz, 6H); 6,10 (d,  $j$  = 19,8 Hz, 3H) e 7,48 ( $J$  = 7,4 Hz, 3H) ppm referentes aos hidrogênios H-

20,20' (metilas da isopropila); H-12 e H-2; H-3 e H-16,16' respectivamente. Em  $\delta$  7,25-6,94 (m) presença de multipeto para os hidrogênios H-4, H-5, H-7, H-10 e H-17, 17'. Na região de  $\delta$  2.82 (m,  $j = 12,9$ ; 6,4 Hz, 1H) observa-se a presença de multipeto referente ao hidrogênio H-19 do CH da isopropila (Tabela 9).

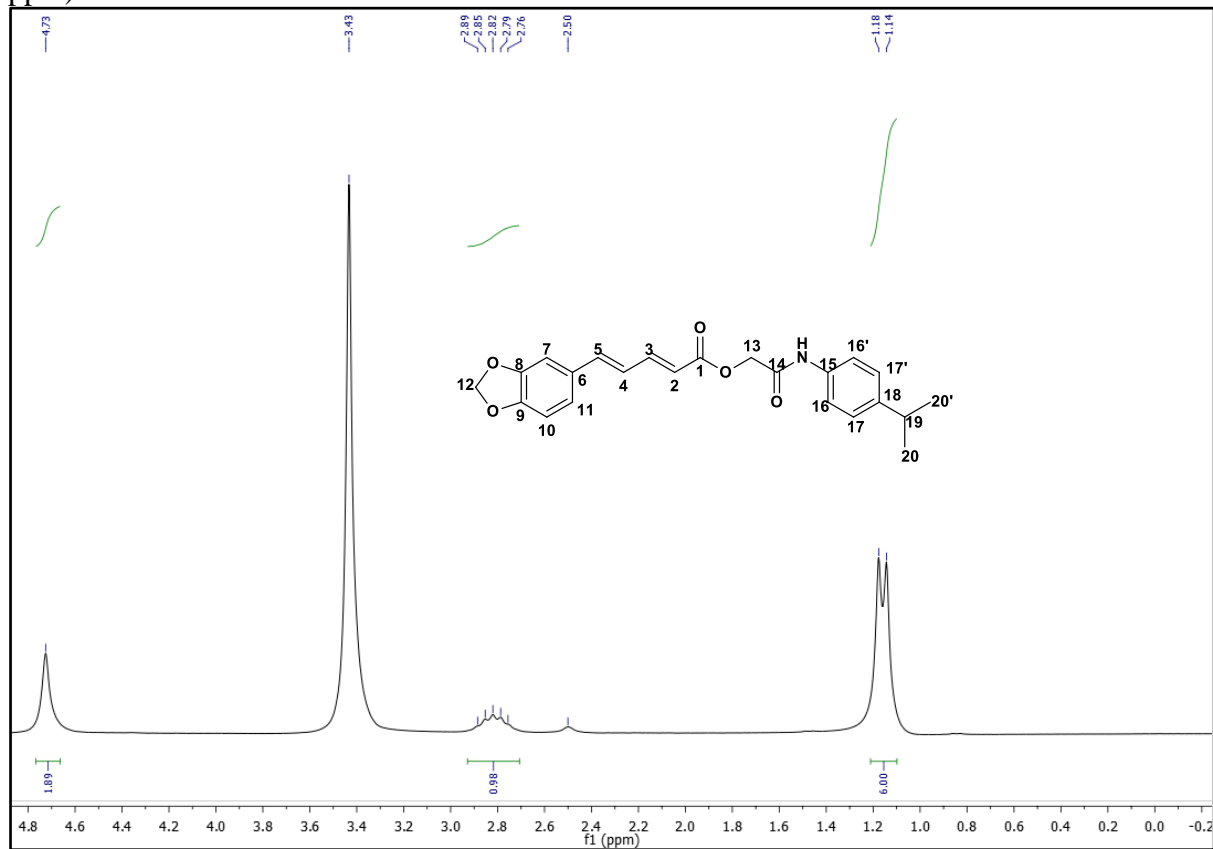
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 50 MHz (pag 94-95) do composto HE07 observou-se a presença de vinte sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Treze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais cinco foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,85 (C-7), 108,63 (C-10), 119,50 (C16,16'), 123,52 (C-11), 126,56 (C-17,17') ppm, quatro sinais de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 119,16 (C-2), 124,69 (C-4), 141,10 (C-5) e 146,10 (C-3) ppm, um sinal de carbono monohidrogenado alifático da isopropila em 32,95 (C-19) ppm, dois a carbonos bihidrogendos do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,46 (C-13) e 101,39 (C-12 metilenodioxí) ppm de alifáticos e um sinal referente a metilas do radical isopropila em 24,01 (C-20,20'). Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  143,69 (C-18 carbono aromático com o grupo isopropil), 130,44 (C-6), 136,27 (C-15), 165,42 (C-1 carbonila do éster), 148,09 (C-8), 148,40 (C-9), 165,91 (C-14 carbonila da amida) ppm (Tabela 9).



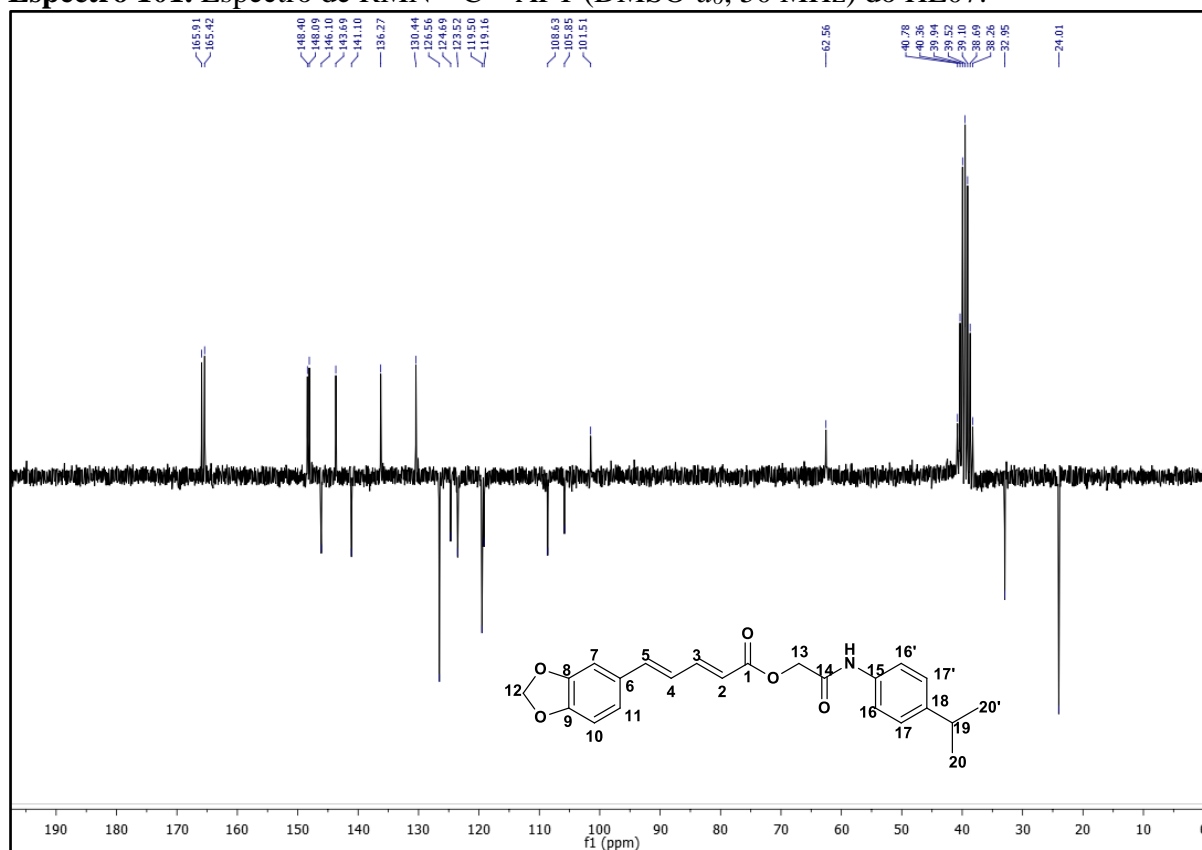
**Espectro 99.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE07 (6,0 – 10,20 ppm).



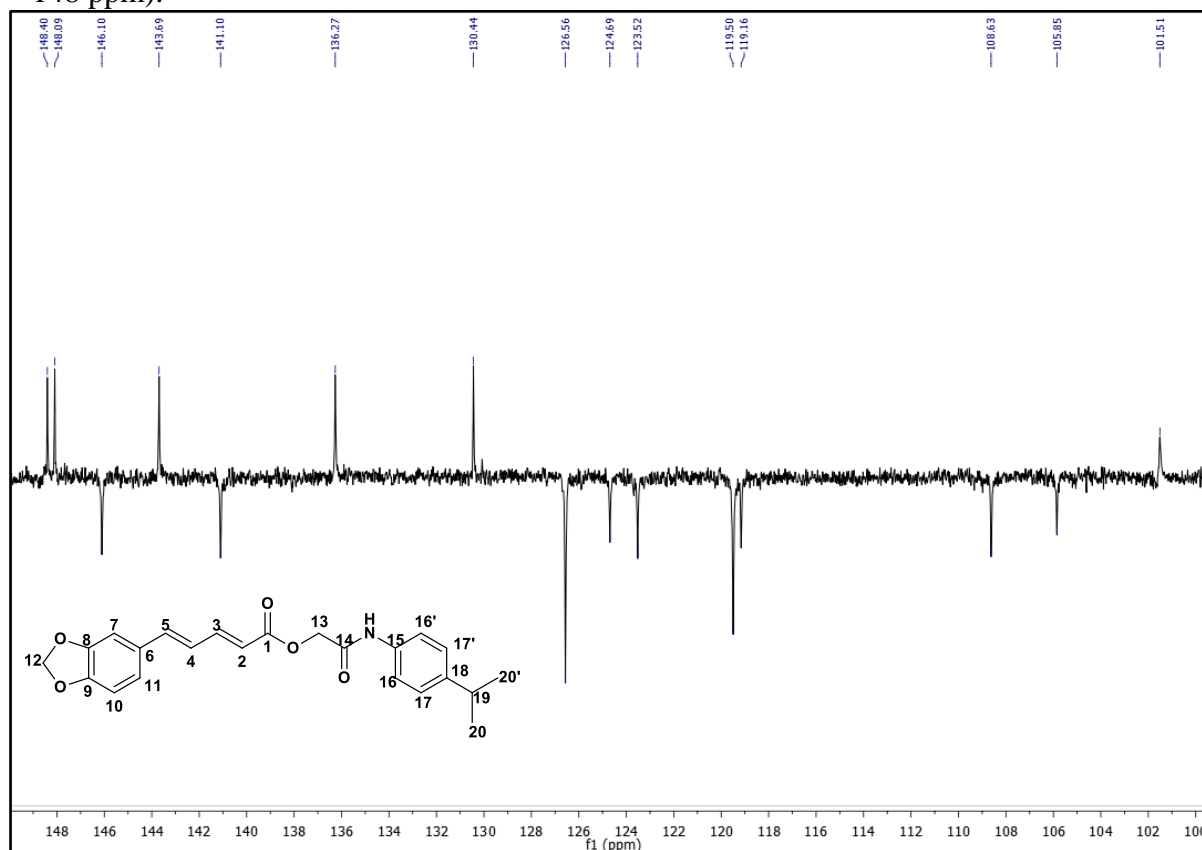
**Espectro 100.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE07 (0,0 – 4,8 ppm).



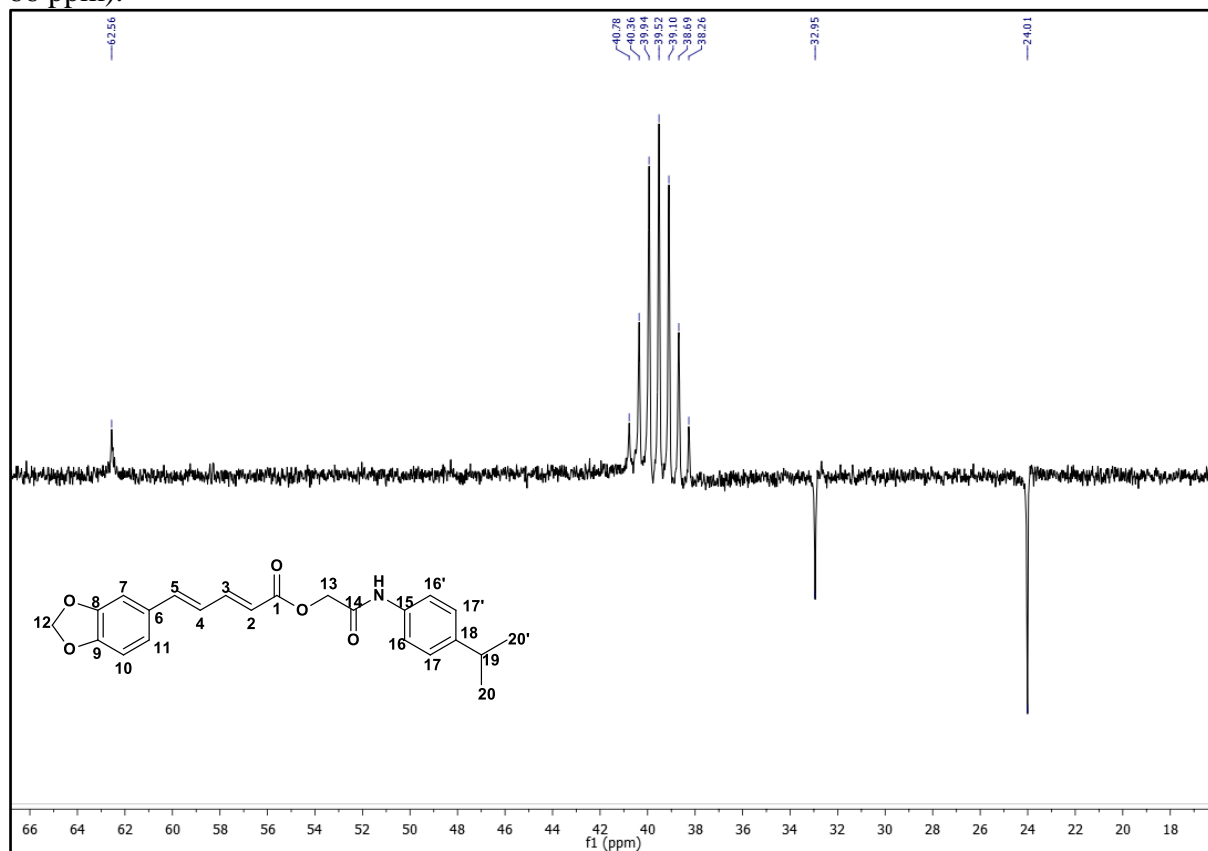
**Espectro 101.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07.



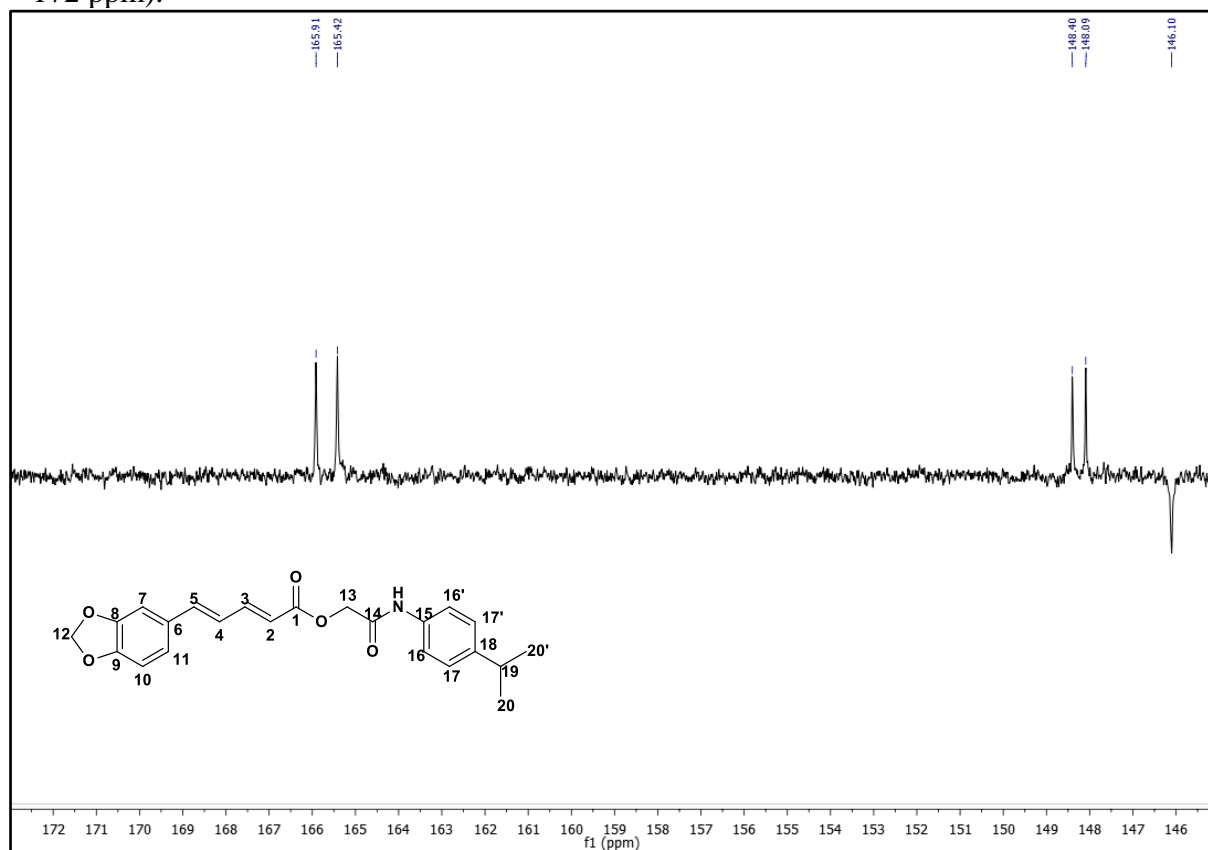
**Espectro 102.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (100 – 148 ppm).



**Espectro 103.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (17 – 66 ppm).

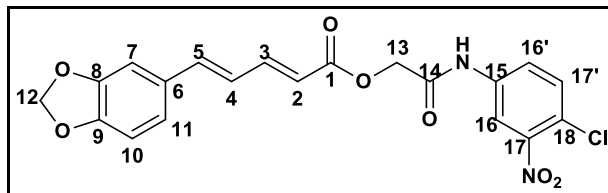


**Espectro 104.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE07 (146 – 172 ppm).





### 5.2.8 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(3-nitro-4-clorofenilamina) - piperidinoato de etila (HE09)



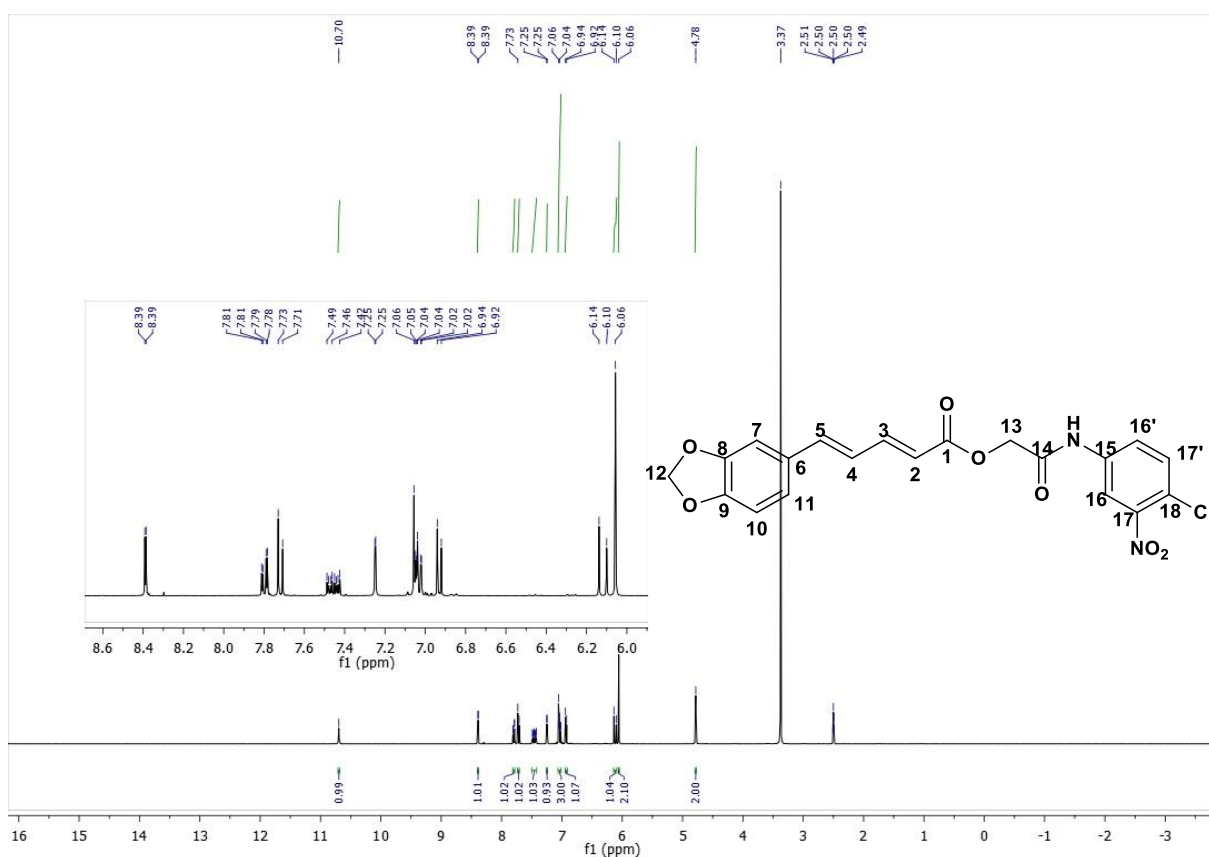
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz (pag 97-98) revelou dois singletos intenso, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,78 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm. Na região  $\delta$  10,70 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 ( $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H); 7,25 ( $J = 1,6$  Hz, 1H); 7,72 ( $J = 8,8$  Hz, 1H) e 8,39 ( $J = 2,5$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10; H-7; H-17' e H-16 respectivamente. Presença de duplo dubleto em  $\delta$  7,80 (dd,  $J = 8,9$ ; 2,5 Hz, 1H) referente ao H-16'. Em  $\delta$  7,46 (ddd,  $J = 15,2$ ; 7,1 e 3,3 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,07-7,01 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11 (Tabela 10).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 100 MHz (pag 98-99) do composto HE09 observou-se a presença de vinte sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais dez foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,82 (C-7), 108,59 (C-10), 115,71 (C-16), 123,50 (C-11), 124,23 (C-17'), 132,17 (C-16') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 118,83 (C-2), 124,62 (C-4), 141,24 (C-5) e 146,32 (C-3) ppm e dois a carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,47 (C-13) e 101,48 (C-12 metilenodioxí) ppm de alifáticos. Os oito sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  118,88 (C-18 carbono aromático com o cloro substituído), 130,38 (C-6), 138,34 (C-15), 148,41 (C-9), 147,29 (C-17), 148,06 (C-8), 165,83 (C-1 carbonila de éster), 166,61 (C-14 carbonila da amida), ppm (Tabela 10).

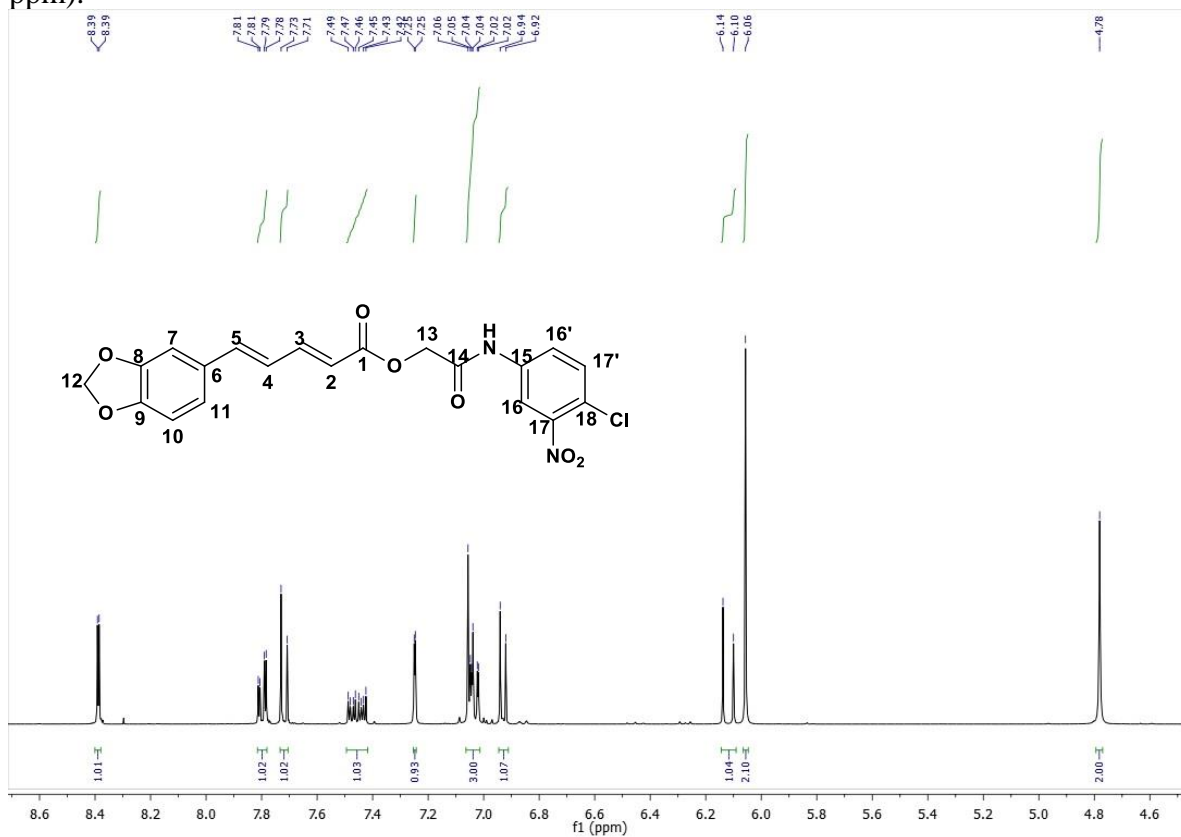
**Tabela 10.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE09. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	-	165,83
2	6,12 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H),		118,83
3	7,46 (ddd, $J = 15,2$ ; 7,1; 3,3 Hz, 1H)		146,32
4	7,07 – 7,01 (m, 3H)		124,62
5	7,07 – 7,01 (m, 3H)		141,24
6	-		130,38
7	7,25 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)		105,82
8	-		148,06
9	-		148,41
10	6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)		108,59
11	7,07 – 7,01 (m, 3H)		123,50
12	6,06 (s, 2H),		101,48
13	4,78 (s, 2H)		62,47
14	-		166,61
15	-		138,34
16	8,39 (d, $J = 2,5$ Hz, 1H)		115,71
16'	7,80 ( $J = 8,9$ ; 2,5 Hz, 1H)		132,17
17	-		147,29
17'	7,72 ( $J = 8,8$ Hz, 1H)		124,23
18	-		118,88
NH	10,70 (s, 1H)		-

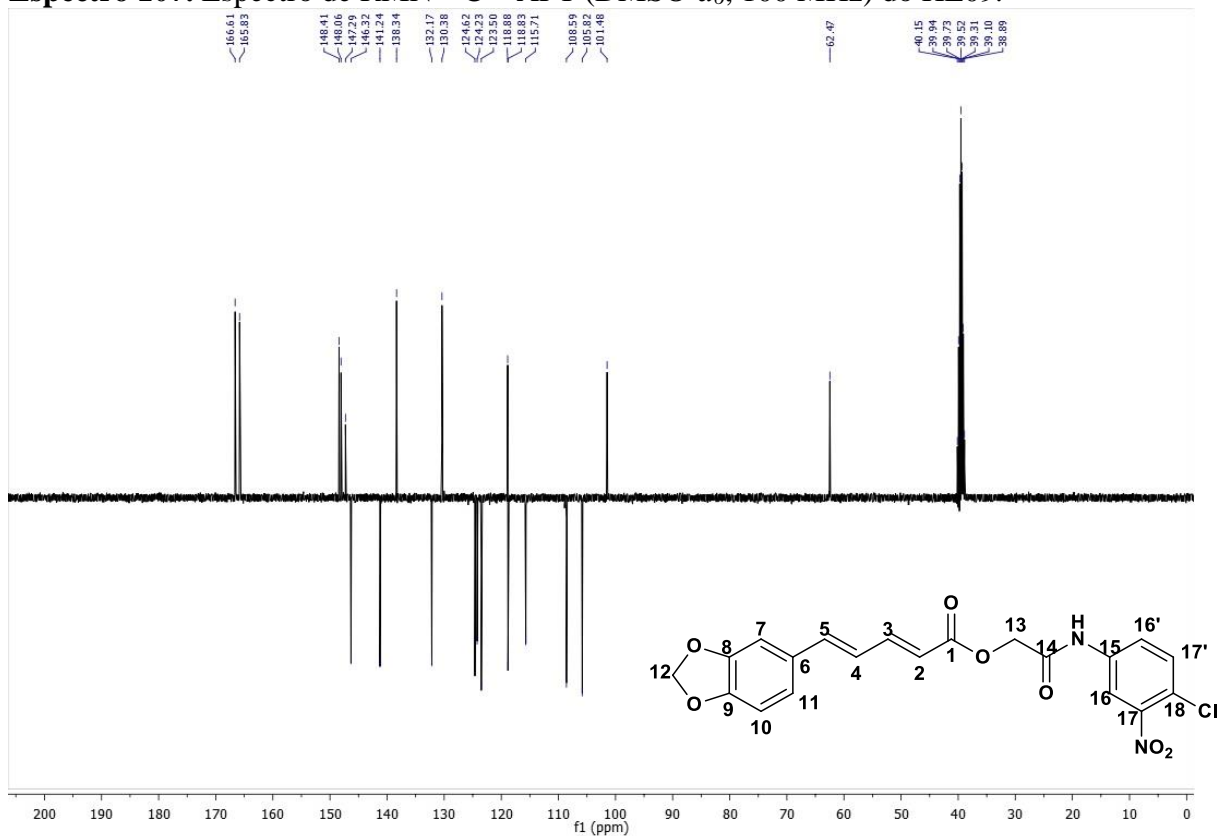
**Espectro 105.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) do HE09.



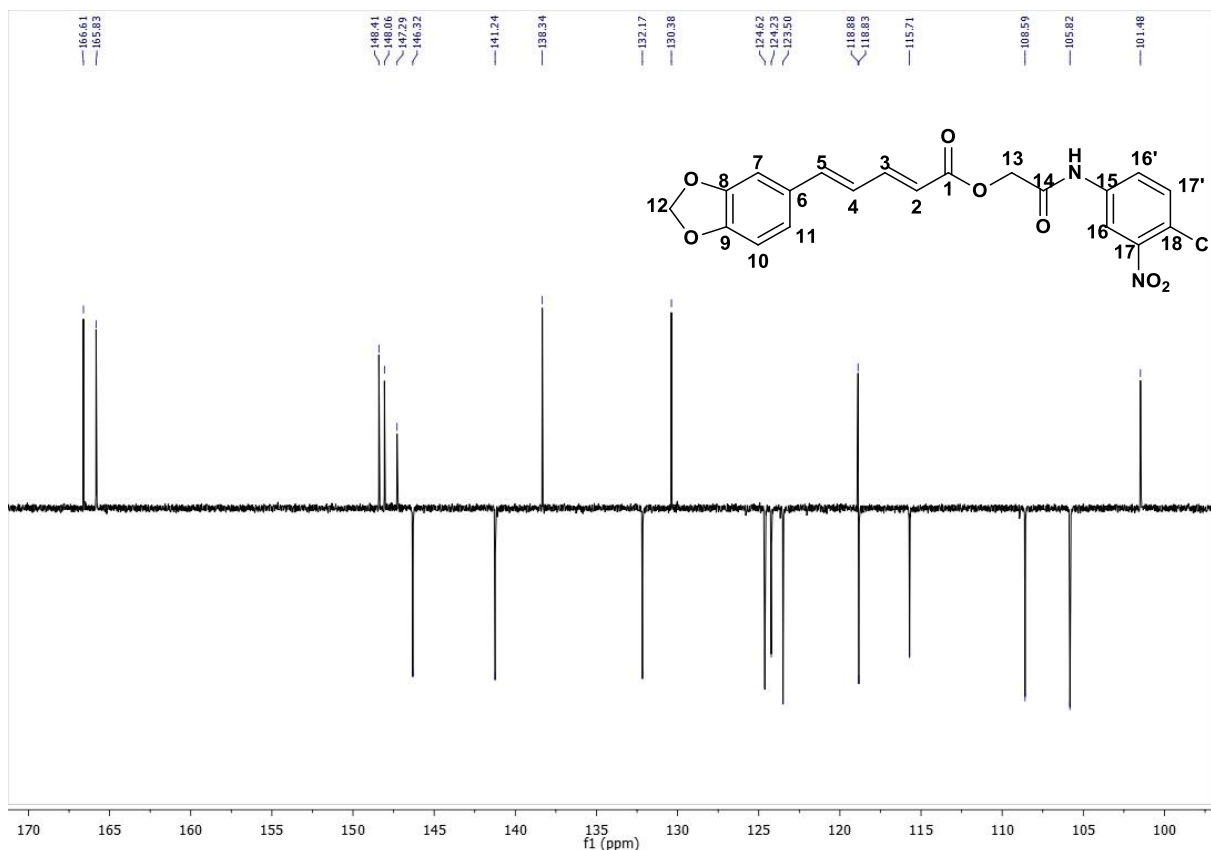
**Espectro 106.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400MHz) do HE09 (4,6 – 8,6 ppm).



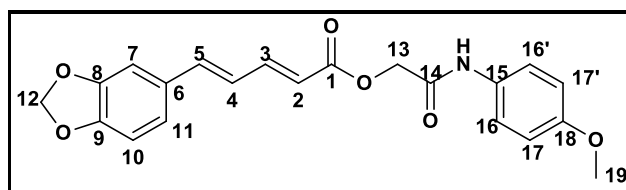
**Espectro 107.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE09.



**Espectro 108.** Expansão do Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE09, (100 – 170 ppm).



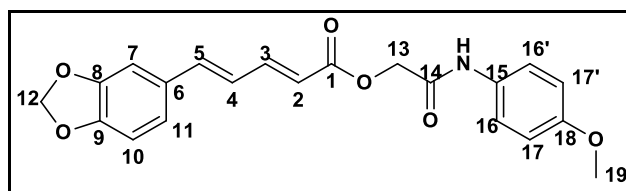
### 5.2.9 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-metoxifenilamina) - piperidinoato de etila (HE10)



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 200 MHz (pag 101-102) revelou um singlete com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,71 ppm, o sinal referente ao H-12 (metilenodioxí) característico dessas moléculas ficou misturado ao sinal do H-2 de alkenos formando um dublete em  $\delta$  6,10 (d,  $J = 19,2$  Hz, 3H) ppm com integral para três hidrogênios, fato acontecido pela resolução do RMN. Aparecimento de outros singletos em  $\delta$  3,71 (s, 3H) e 7,25 (s, 1H) referentes ao H-19 (metoxila) e H-7, e em 10,00 ppm um sinal referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,10 (d,  $J = 19,2$  Hz, 3H) e 7,04 ( $J = 4,7$  Hz, 3H) ppm referentes aos

hidrogênios H-12 e H-2; H-4, H-5 e H-11 respectivamente. Aparecimento de duplos dubletos em  $\delta$  7,44 (dd,  $J = 17,8; 7,0$  Hz, 3H) sinal referente aos hidrogênios H-3 e H-16,16'. Em  $\delta$  6,96-6,84 (m, 3H) presença de multipeto para os hidrogênios H-10 e H-17, 17' (Tabela 11).

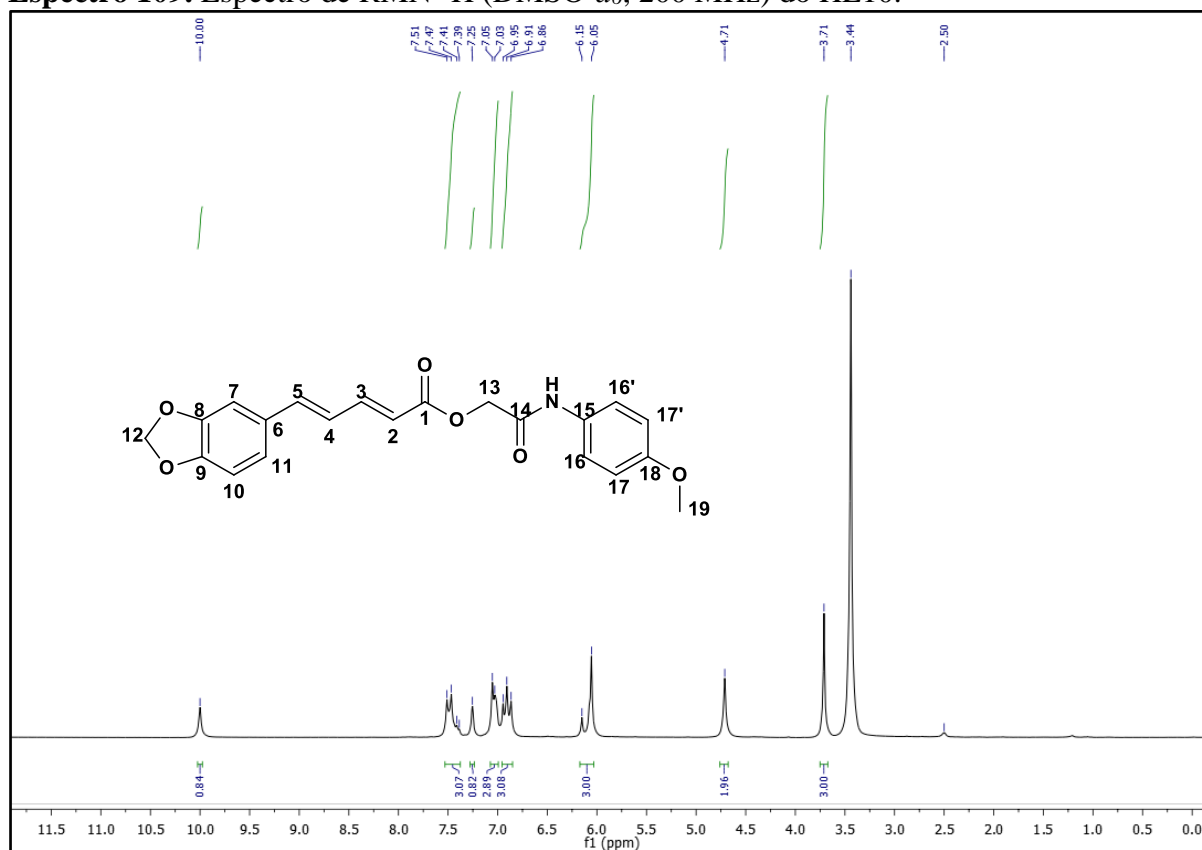
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 50 MHz (pag 102-104) do composto HE10 observou-se a presença de dezenove sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais cinco foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,86 (C-7), 108,64 (C-10), 113,97 (C-17,17'), 121,02 (C-16,16'), 123,53 (C-11) ppm, quatro sinais de alkenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 119,19 (C-2), 124,71 (C-4), 141,10 (C-5) e 146,10 (C-3) ppm, dois sinais para carbonos bihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,56 (C-13) e 101,52 (C-12 metilenodioxi) ppm de alifáticos e um sinal referente ao carbono trihidrogenado da metoxila em 55,22 (C-19). Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  130,45 (C-6), 131,61 (C-15), 148,10 (C-8), 148,41 (C-9),  $\delta$  155,48 (C-18 carbono aromático com o grupo metóxi), 165,19 (C-1), 165,93 (C-14) ppm (Tabela 11).



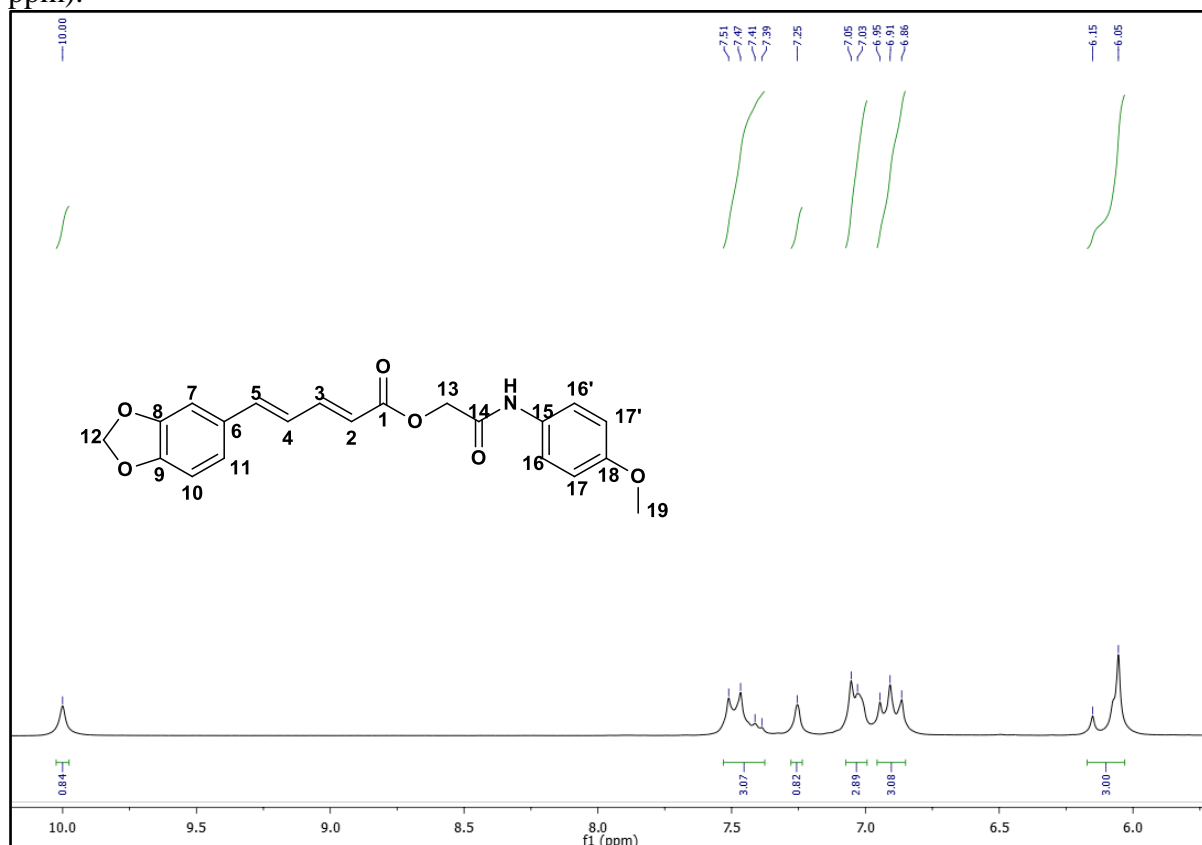
**Tabela 11.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do HE10. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo $\delta$ (ppm)	HE10 $\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,19
2	6,10 (d, $J = 19.2$ Hz, 3H)	119,19
3	7,44 (dd, $J = 17,8; 7,0$ Hz, 3H)	146,10
4	7,04 (d, $J = 4.7$ Hz, 3H)	124,71
5	7,04 (d, $J = 4.7$ Hz, 3H)	141,10
6	-	130,45
7	7,25 (s, 1H)	105,86
8	-	148,10
9	-	148,41
10	6,96 - 6,84 (m, 3H)	108,64
11	7,04 (d, $J = 4.7$ Hz, 3H)	123,53
12	6,10 (d, $J = 19.2$ Hz, 3H)	101,52
13	4,71 (s, 2H)	62,56
14	-	165,93
15	-	131,61
16	7,44 (dd, $J = 17,8; 7,0$ Hz, 3H)	121,02
17	6,96 - 6,84 (m, 3H)	113,97
18	-	155,48
19	3,71 (s, 3H)	55,22
NH	10,00 (s, 1H)	-

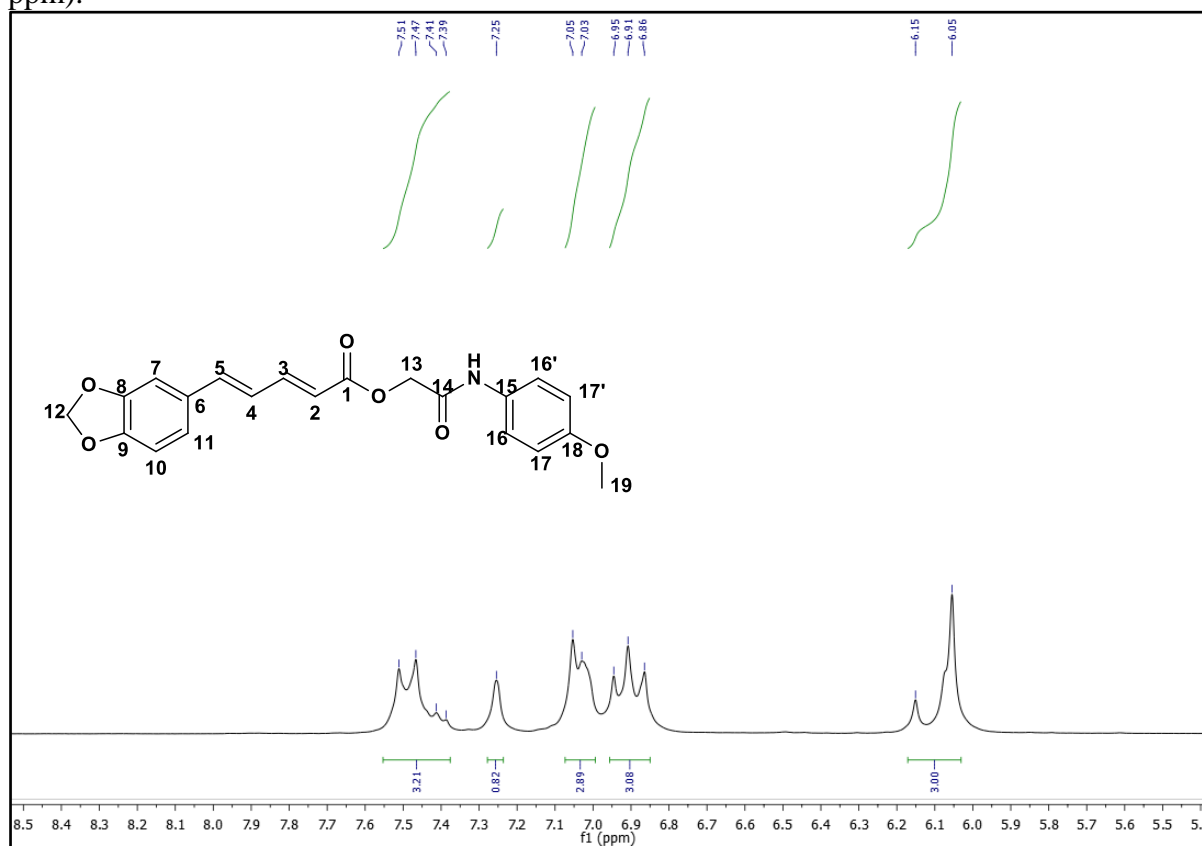
**Espectro 109.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10.



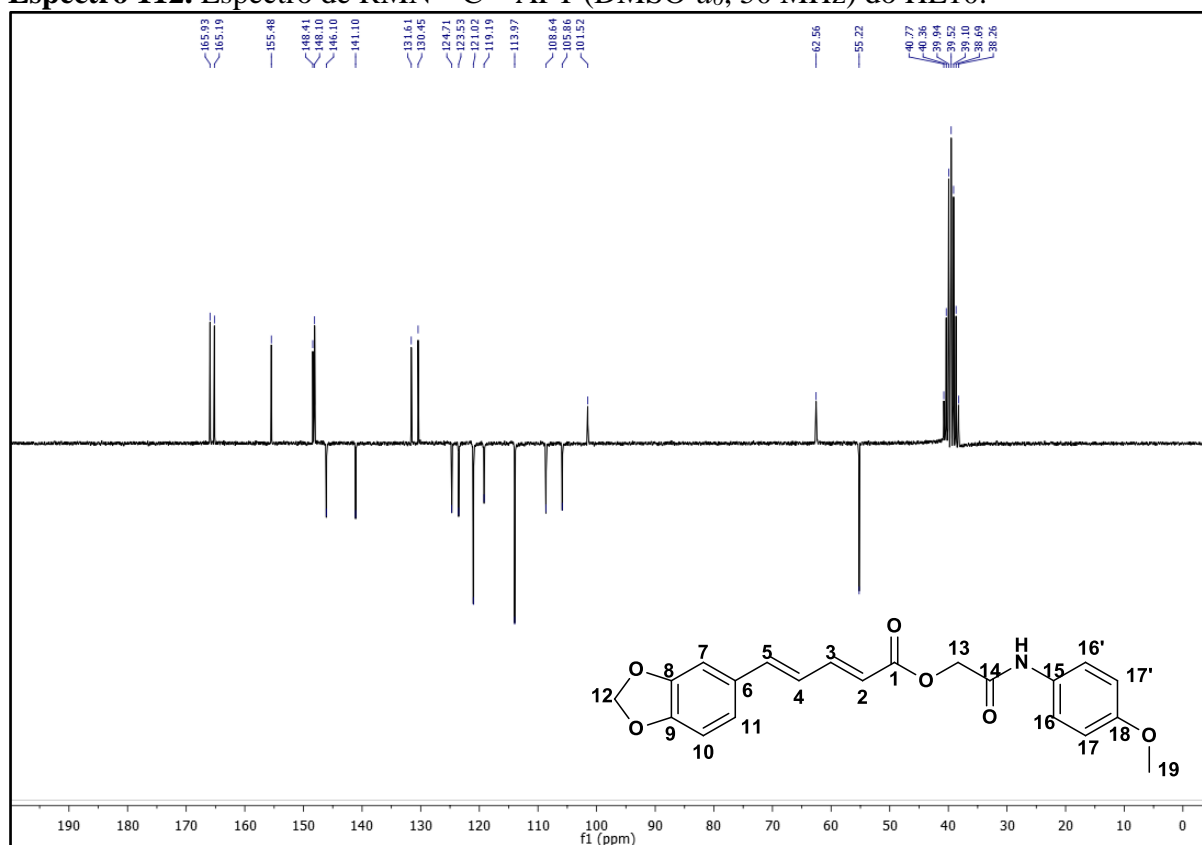
**Espectro 110.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10 (6,0 – 10,0 ppm).



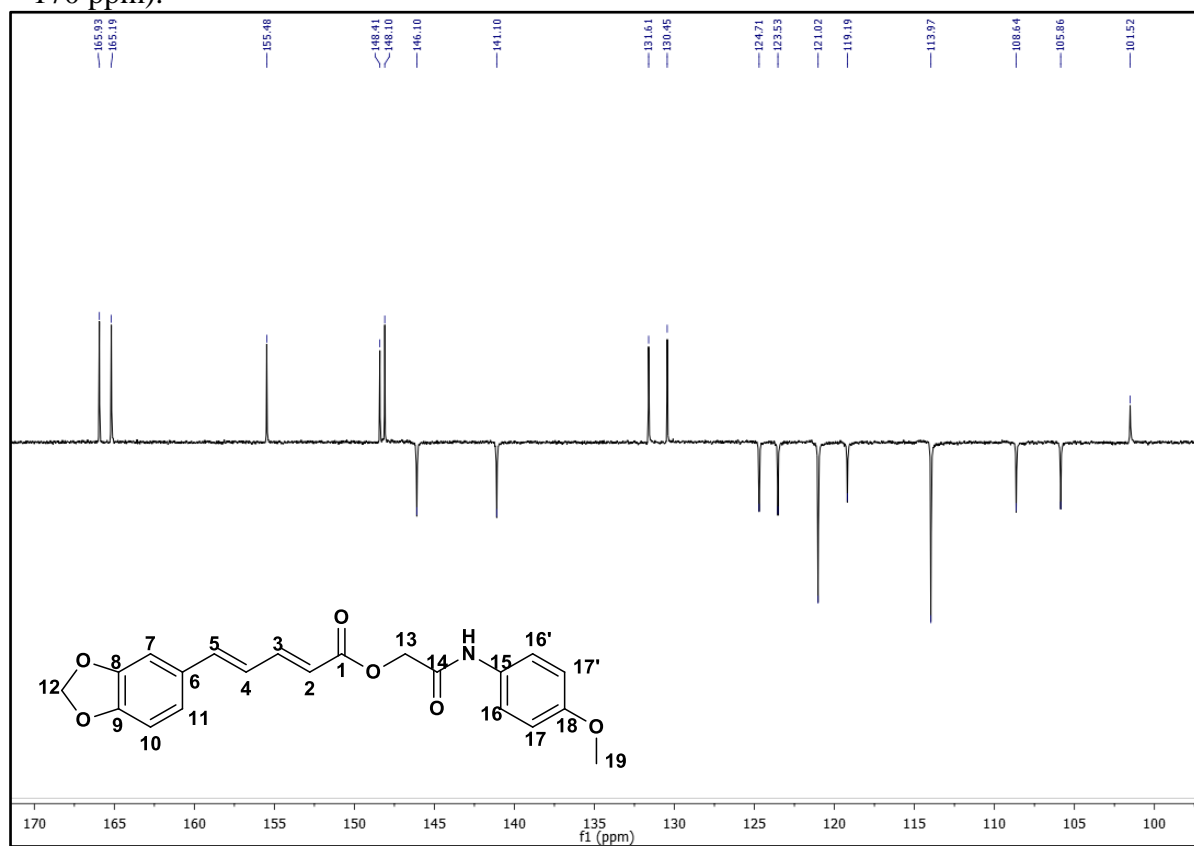
**Espectro 111.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) do HE10 (5,0 – 8,5 ppm).



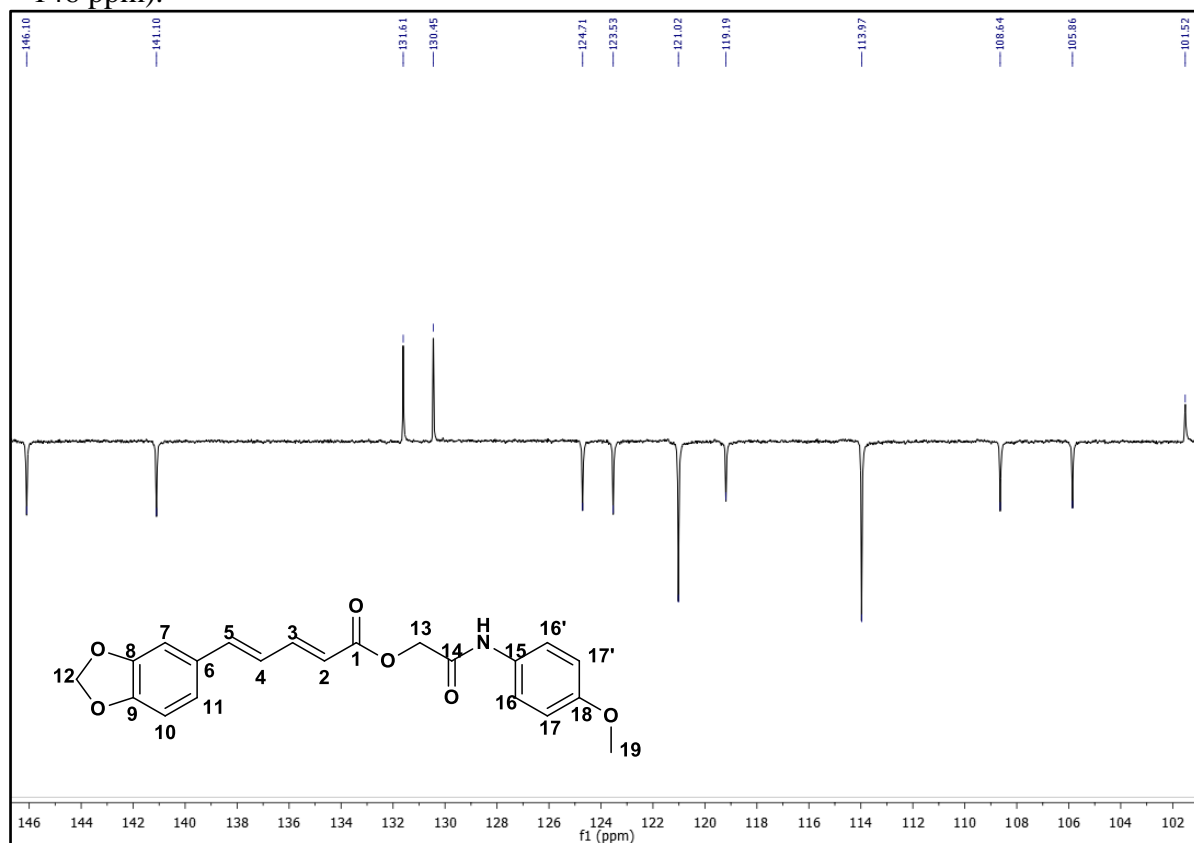
**Espectro 112.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10.



**Espectro 113.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (100 – 170 ppm).

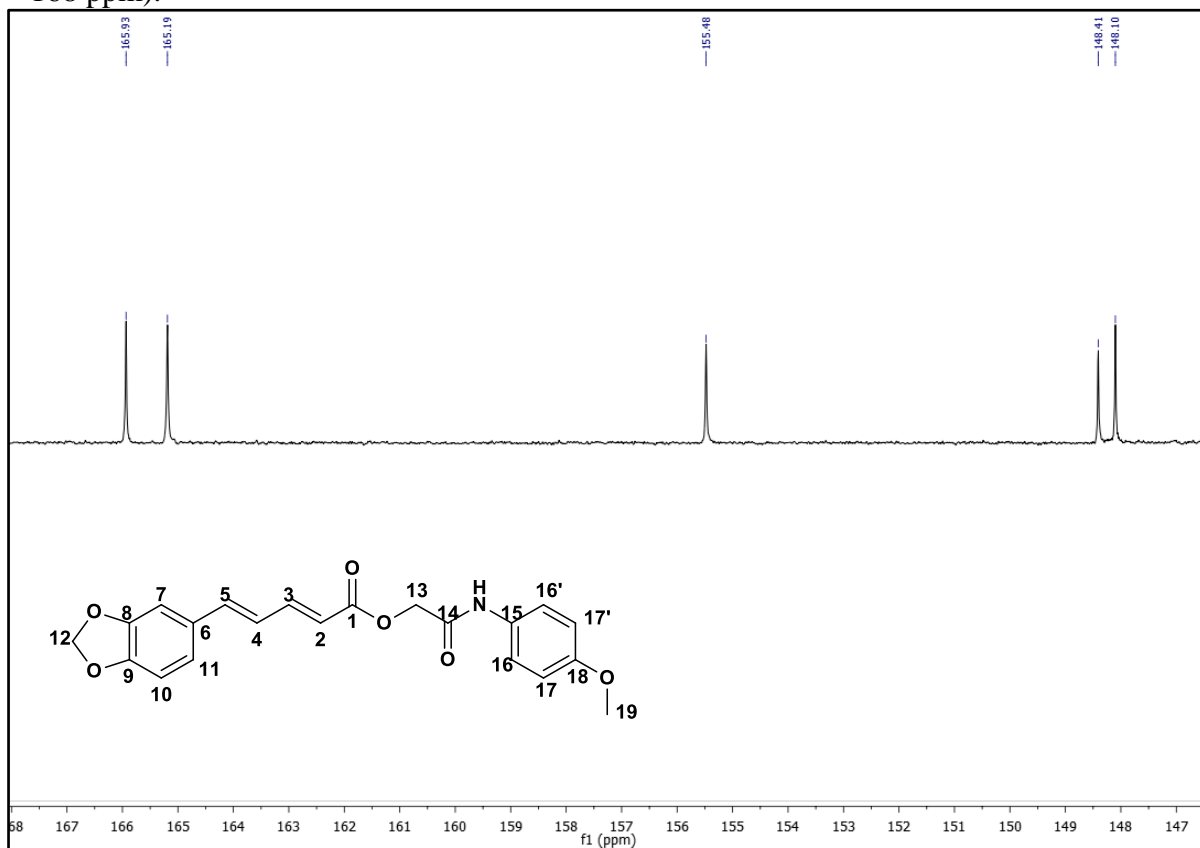


**Espectro 114.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (102 – 146 ppm).

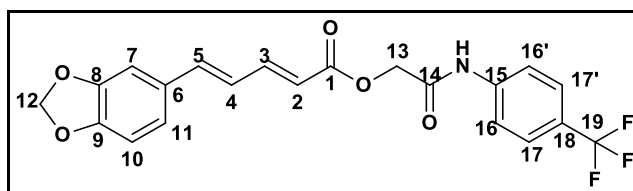




**Espectro 115.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) do HE10 (147 – 168 ppm).

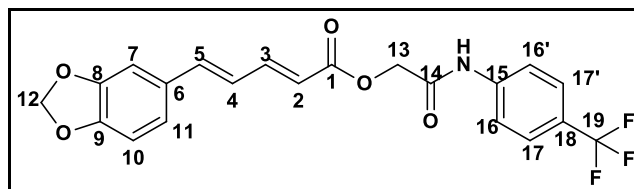


### 5.2.10 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-trifluormetilfenilamina) - piperidinoato de etila (HE11)



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz revelou três singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,79 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm, temos ainda em  $\delta$  10,49 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H, ambos singletos comuns a essas estruturas, Presença de dubletos em  $\delta$  6,13 ( $J = 15,2$  Hz, 1H), 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,24 ( $J = 1,1$  Hz, 1H), 7,68 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H) e 7,80 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios H-2, H-10, H-7, H-17,17' e H-16,16' respectivamente. Em  $\delta$  7,46 (ddd,  $J = 15,3$ ; 7,4 e 2,8 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto

para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,04 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11. (Tabela 12).

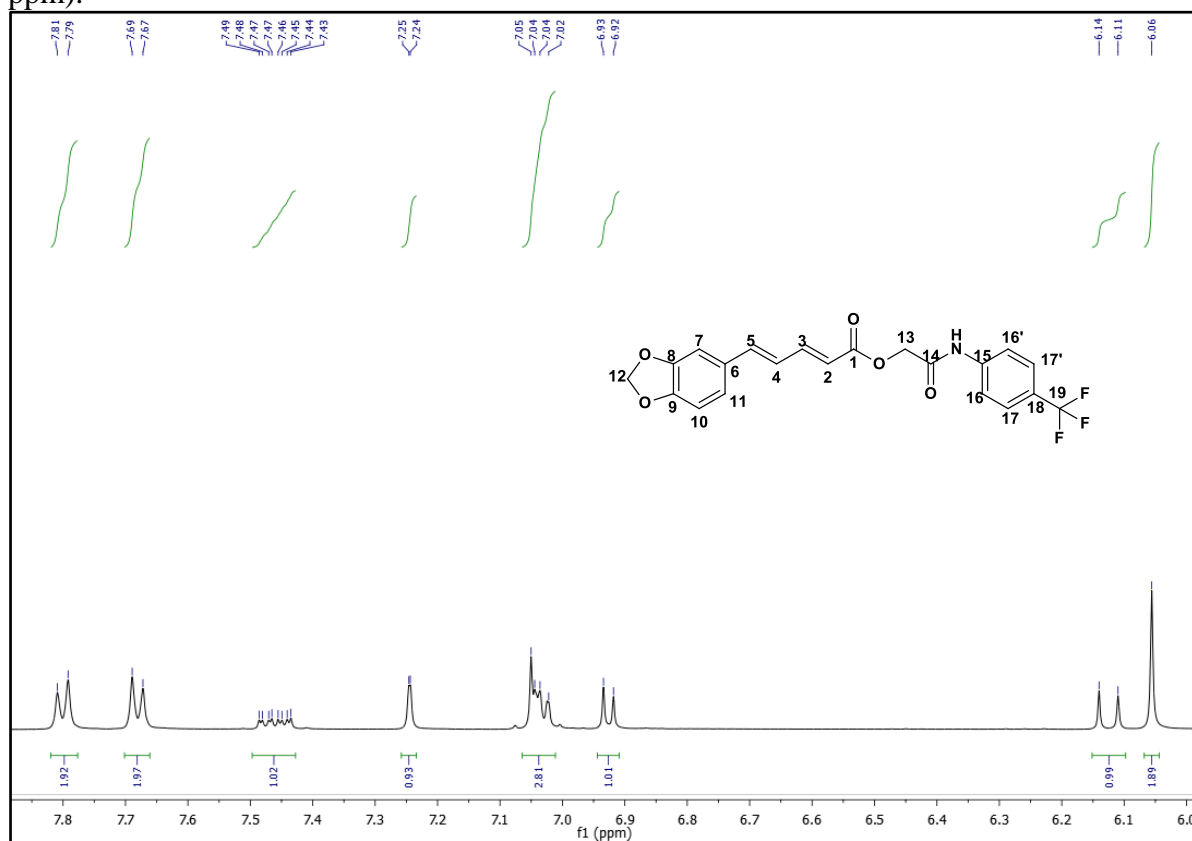


**Tabela 12.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE11. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

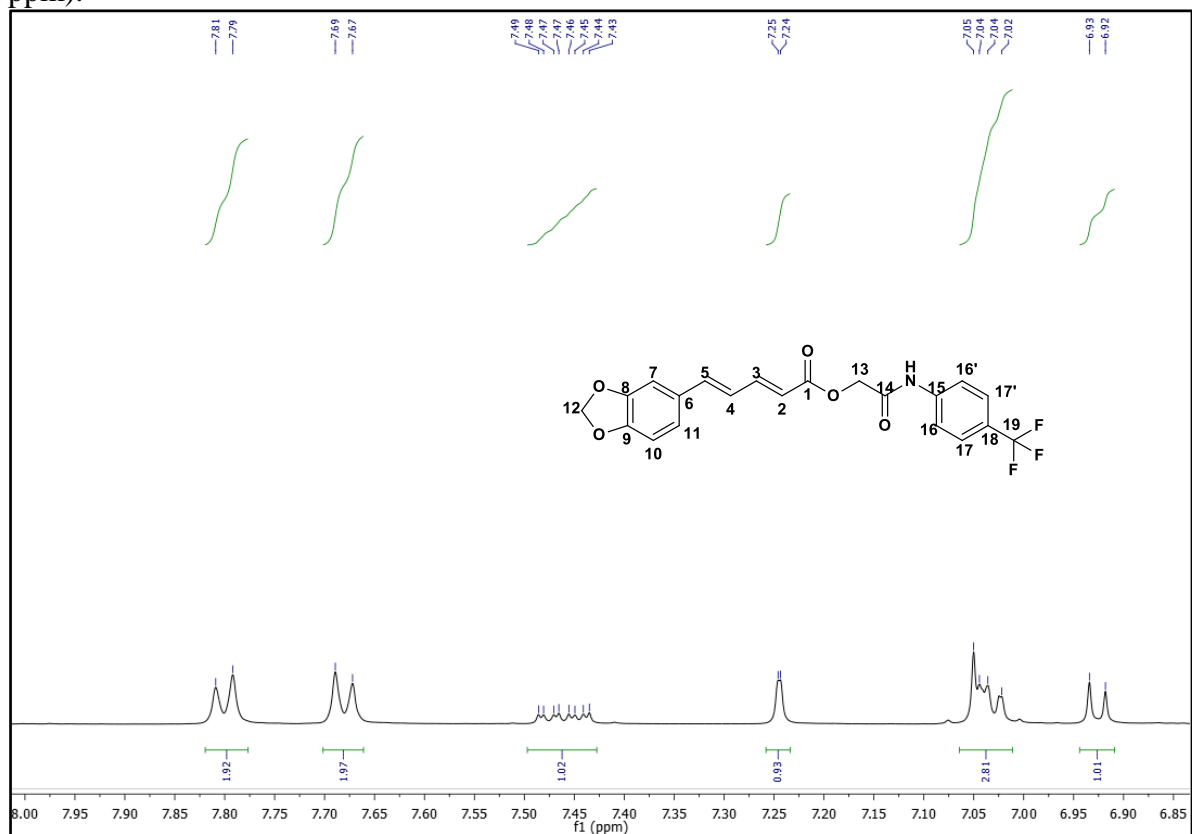
Átomo $\delta$ (ppm)	HE11 $\delta$ ( $^1\text{H}$ )
1	-
2	6,13 (d, $J = 19,2$ Hz, 1H)
3	7,46 (ddd, $J = 15,3; 7,4; 2,8$ Hz, 1H)
4	7,04 (m, 3H)
5	7,04 (m, 3H)
6	-
7	7,24 (d, $J = 1,1$ Hz, 1H)
8	-
9	-
10	6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)
11	7,04 (m, 3H)
12	6,06 (s, 2H)
13	4,79 (s, 2H)
14	-
15	-
16	7,80 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)
17	7,68 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)
18	-
NH	10,49(s, 1H)



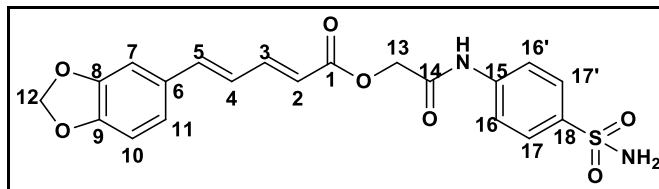
**Espectro 118.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11 (6,6 – 7,8 ppm).



**Espectro 119.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE11 (6,85 – 8,00 ppm).



### 5.2.11 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(4-sulfonilfenilamina) - piperidinoato de etila (HE12)



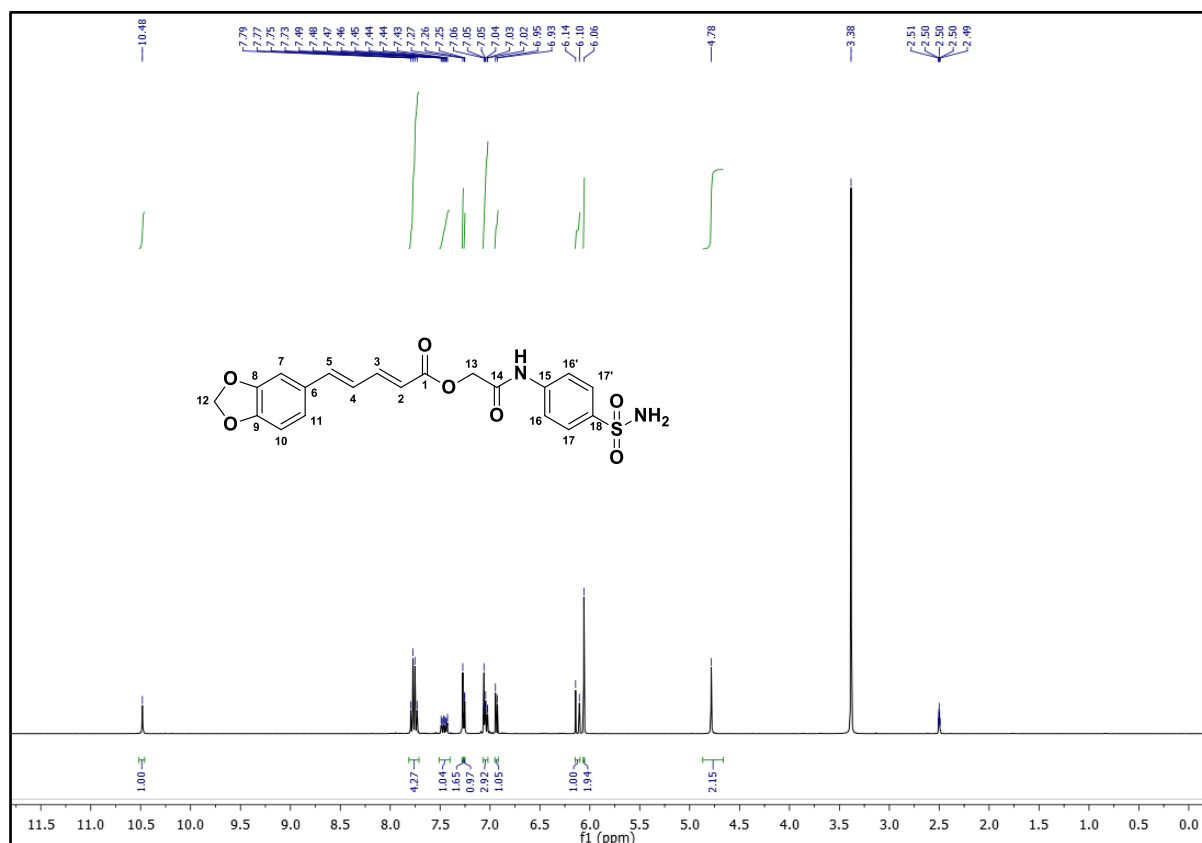
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz (pag 109-110) revelou quatro singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,78 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,06 ppm, dois singletos comuns nesses derivados, temos ainda em  $\delta$  10,48 ppm um singleto referente ao hidrogênio do N-H, e em  $\delta$  7,27 temos um sinal para os dois hidrogênios do  $\text{NH}_2$  do sulfonil. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 ( $J = 15,2$  Hz, 1H); 6,94 ( $J = 8,0$  Hz, 1H) e 7,26 ( $J = 1,6$  Hz, 1H) ppm referentes aos hidrogênios H-2; H-10 e H-7 respectivamente. Em  $\delta$  7,46 (ddd,  $J = 15,3$ ; 7,0 e 3,4 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,07-7,02 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11. Para os hidrogênios H-16,16' e H-17,17' temos um quarteto para 4 hidrogênios em 7,76 (q,  $J = 9,1$ Hz) (Tabela 13).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 100 MHz do composto HE12 (pag 111-112) observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Onze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,81 (C-7), 108,58 (C-10), 118,89 (C16,16'), 123,47 (C-11), 126,79 (C-17,17') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 118,94 (C-2), 124,63 (C-4), 141,15 (C-5) e 146,20 (C-3) ppm e dois a carbonos dihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,52 (C-13) e 101,46 (C-12, metilenodioxí) ppm de alifáticos. Os setes sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  130,38 (C-6), 138,67 (C-18 carbono aromático com o sulfonil substituído), 141,39 (C-15), 148,05 (C-8), 148,38 (C-9), 165,81 (C-1, carbonila de éster) e 166,22 (C-14 carbonila da amida) ppm (Tabela 13).

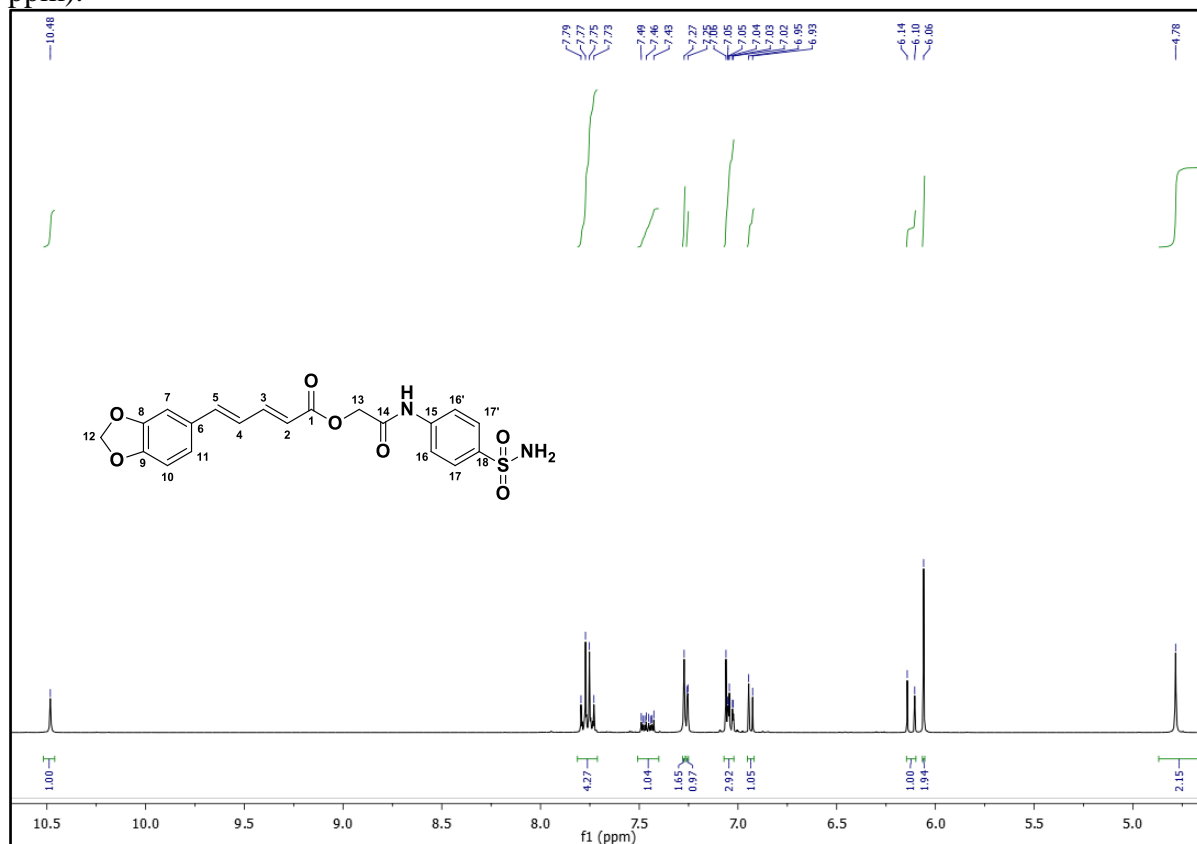
**Tabela 13.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE12. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	-	165,85
2	6,12 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H)		118,94
3	7,46 (ddd, $J = 15,3; 7,0; 3,4$ Hz, 1H)		146,20
4	7,07 – 7,02 (m, 3H)		124,63
5	7,07 – 7,02 (m, 3H)		141,15
6	-		130,38
7	7,26 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)		105,81
8	-		148,05
9	-		148,38
10	6,94 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)		108,58
11	7,07 – 7,02 (m, 3H)		123,47
12	6,06 (s, 2H)		101,46
13	4,78 (s, 2H)		62,52
14	-		166,22
15	-		141,39
16	7,76 (q, $J = 9,1$ Hz)		118,89
17	7,76 (q, $J = 9,1$ Hz)		126,79
18	-		138,67
NH	10,48 (s, 1H)		-
NH <sub>2</sub>	7,27 (s, 2H)		-

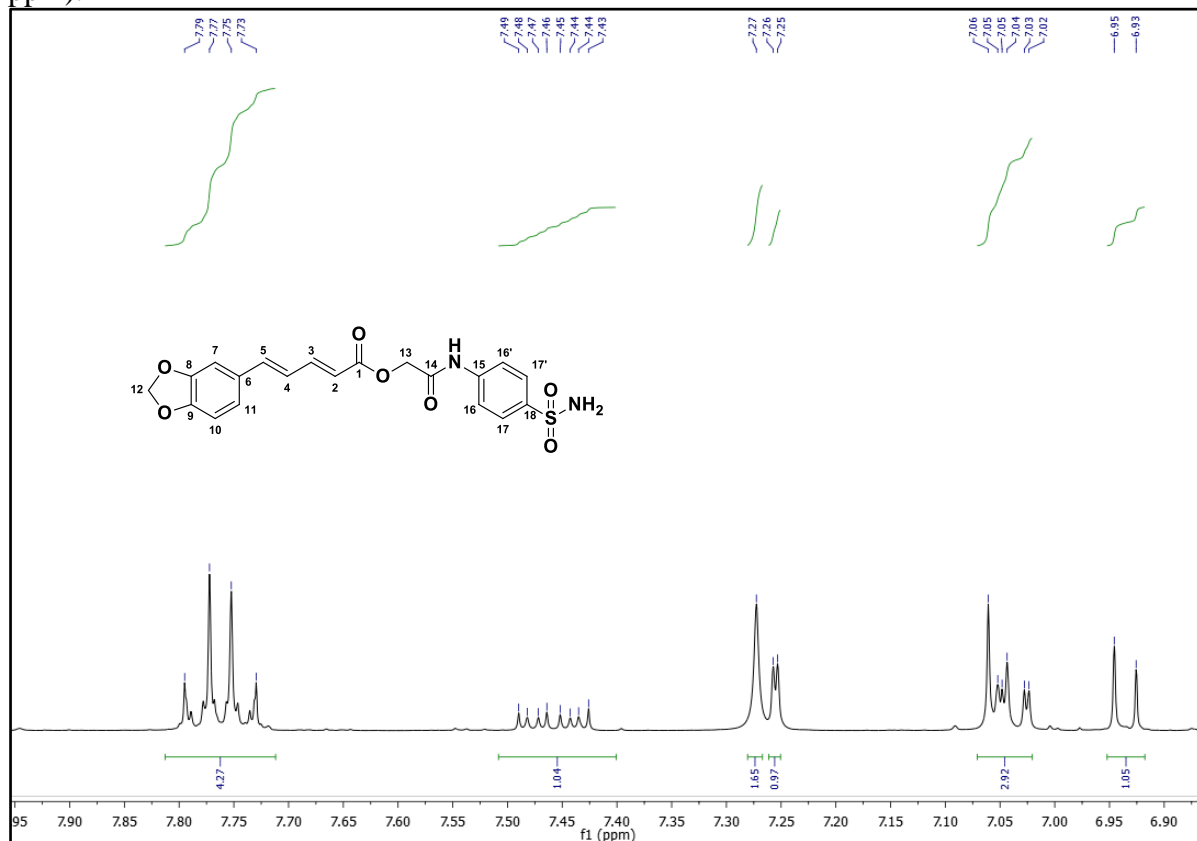
**Espectro 120.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) do HE12.



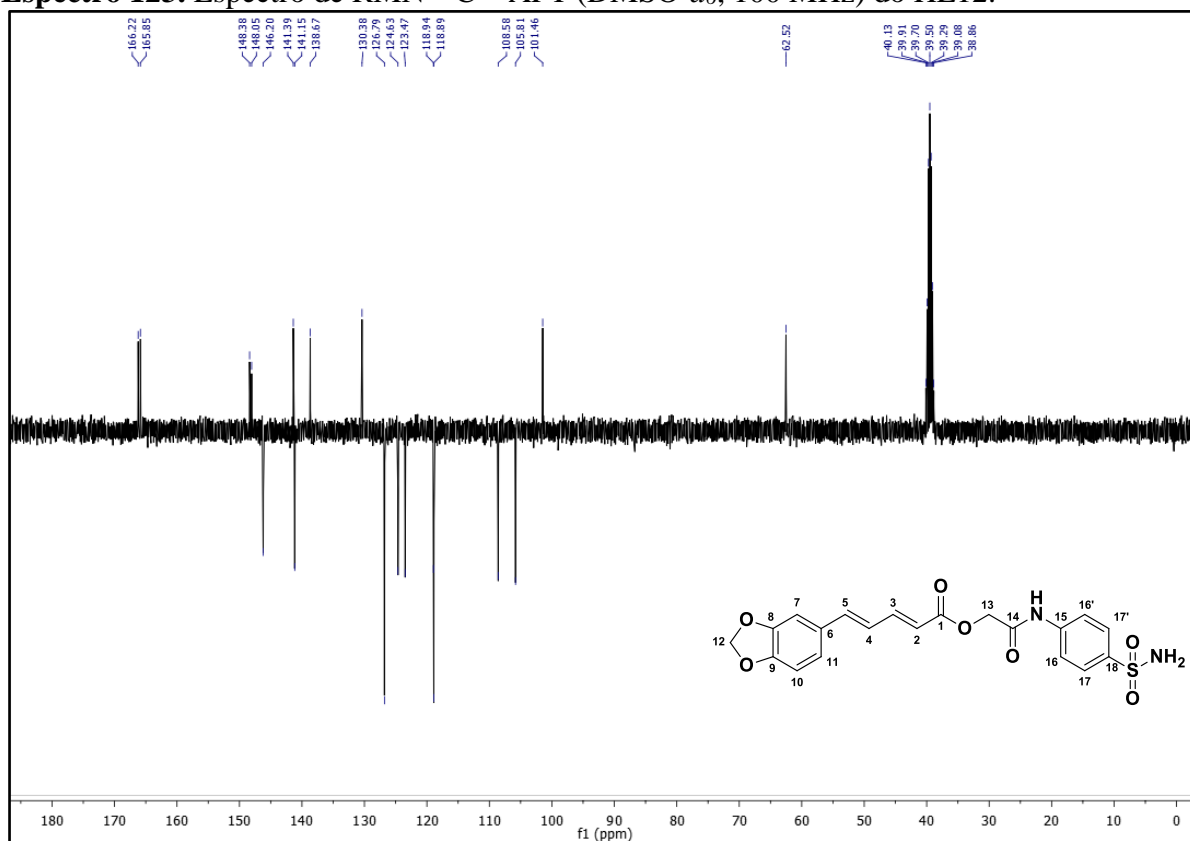
**Espectro 121.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE12 (5,0 – 10,5 ppm).



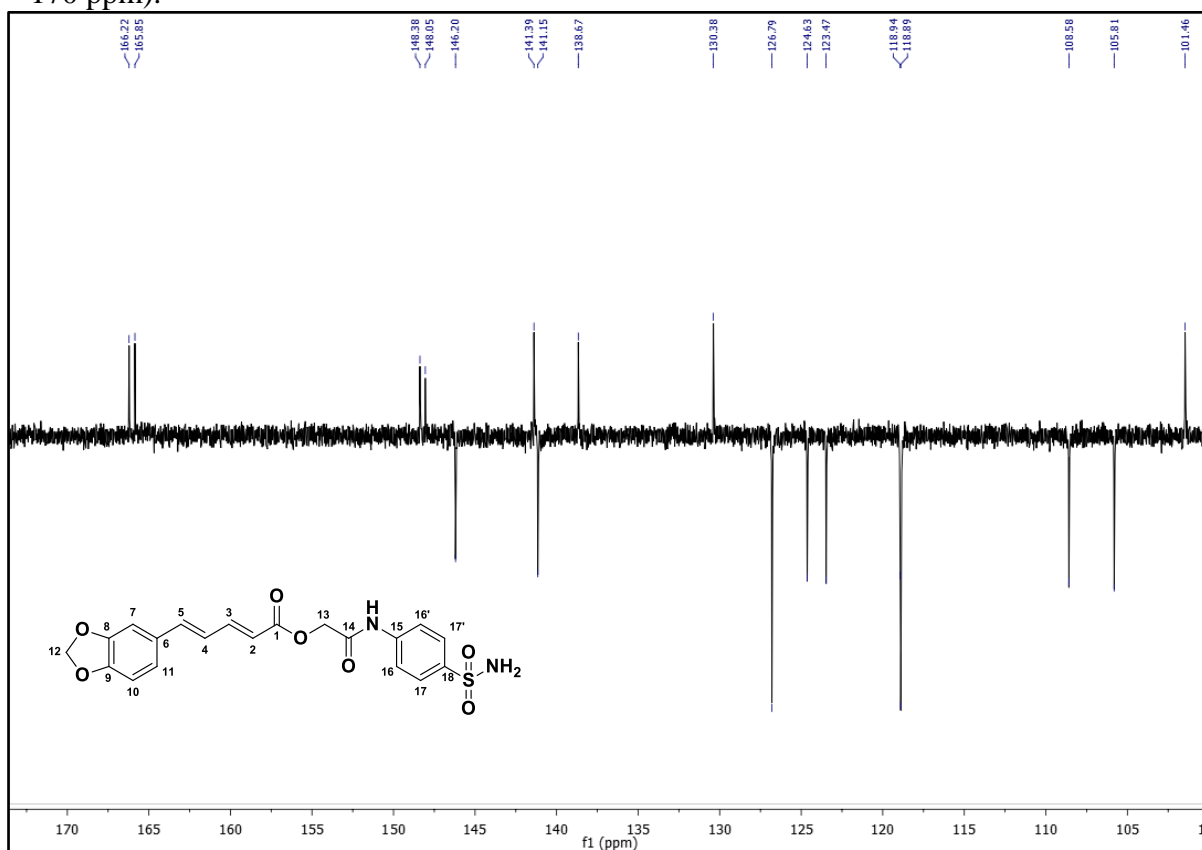
**Espectro 122.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE12 (6,90 – 7,95 ppm).



**Espectro 123.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12.

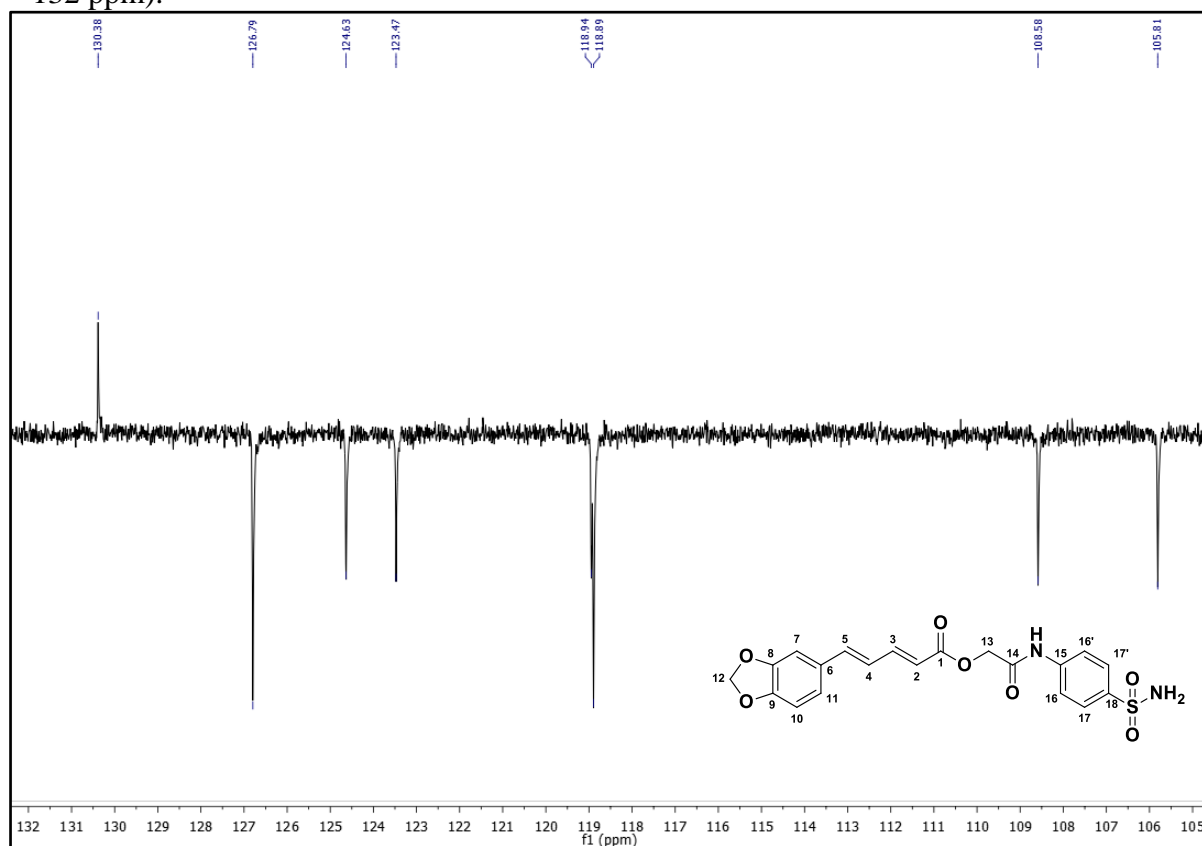


**Espectro 124.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12 (100 – 170 ppm).

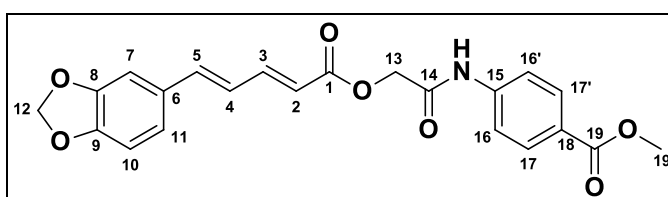




**Espectro 125.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE12 (105 – 132 ppm).



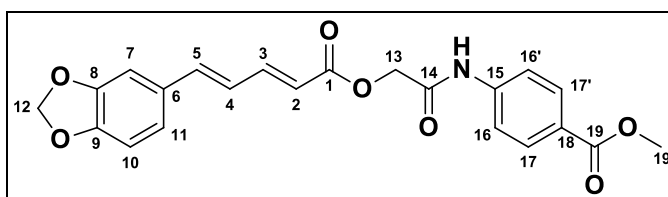
### 5.2.12 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de metila) -fenilamina] - piperidinoato de etila (HE13)



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz (pag 114-115) revelou cinco singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,78 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,05 ppm, dois singletos comuns nesses derivados, em  $\delta$  3,82 ppm singlete para três hidrogênios referente ao H-20 e em  $\delta$  7,24 ppm singlete para um hidrogênio assinalado para o H-7, temos ainda em  $\delta$  10,47 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 ( $J = 15,2$  Hz, 1H), 6,92 ( $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,5$  Hz, 2H) e 7,93 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios: H-2, H-10, H-16,16' e H-17,17' respectivamente. Em  $\delta$  7,45 (dd,  $J = 14,5$ ; 6,5 Hz, 1H) presença de duplo

dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,05-7,01 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11 (Tabela 14).

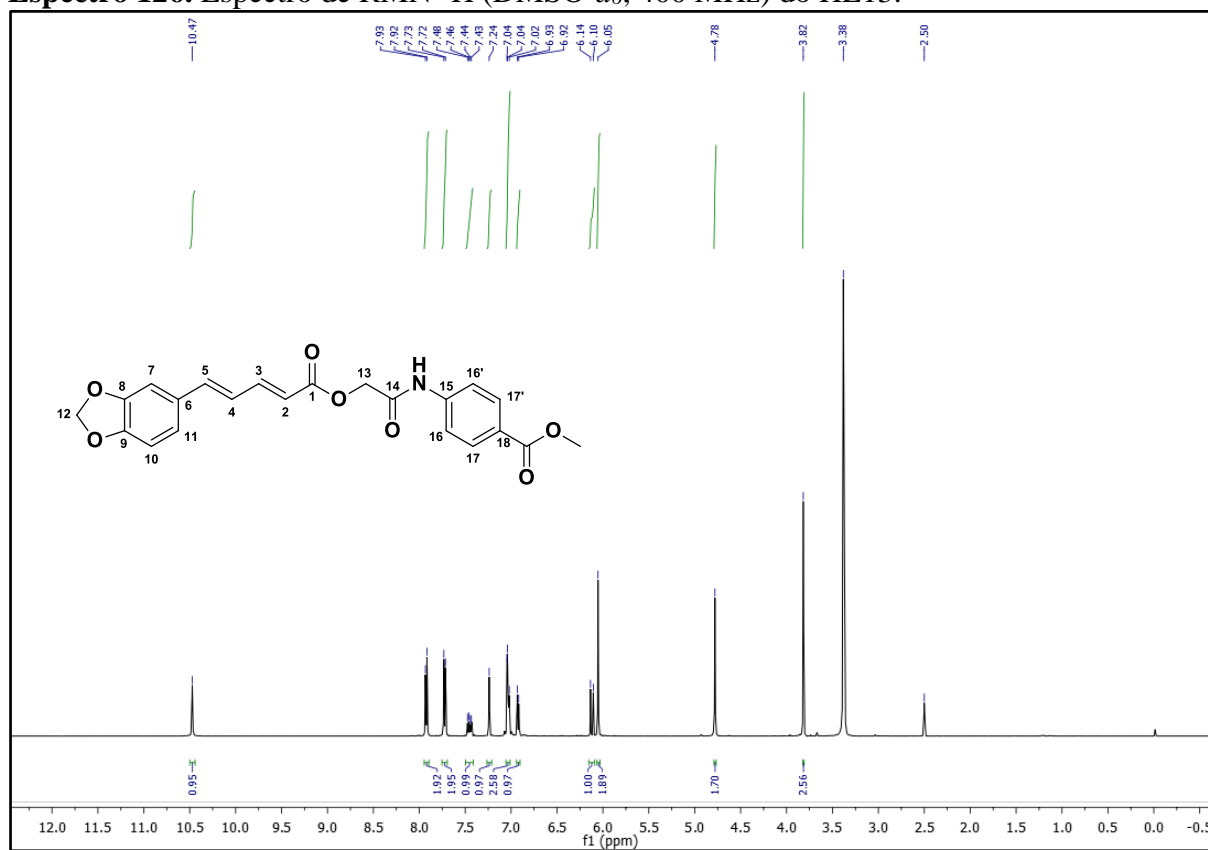
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 100 MHz do composto HE13 (pag 115-116) observou-se a presença de vinte sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,82 (C-7), 108,55 (C-10), 118,70 (C16,16'), 123,41 (C-11), 130,34 (C-17,17') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 118,95 (C-2), 124,61 (C-4), 141,10 (C-5) e 146,14 (C-3) ppm e dois a carbonos bihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  62,56 (C-13) e 101,44 (C-12, metilenodioxi) ppm de alifáticos. Um sinal para carbono trihidrogenado em  $\delta$  51,88 (C-20) ppm. Os oito sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  130,37 (C-6), 124,29 (C-18), 142,85 (C-15), 148,03 (C-8), 148,35 (C-9), 165,79 (C-19, Carbonila do benzoato de etila), 165,83 (C-1) e 166,21 (C-14) ppm.



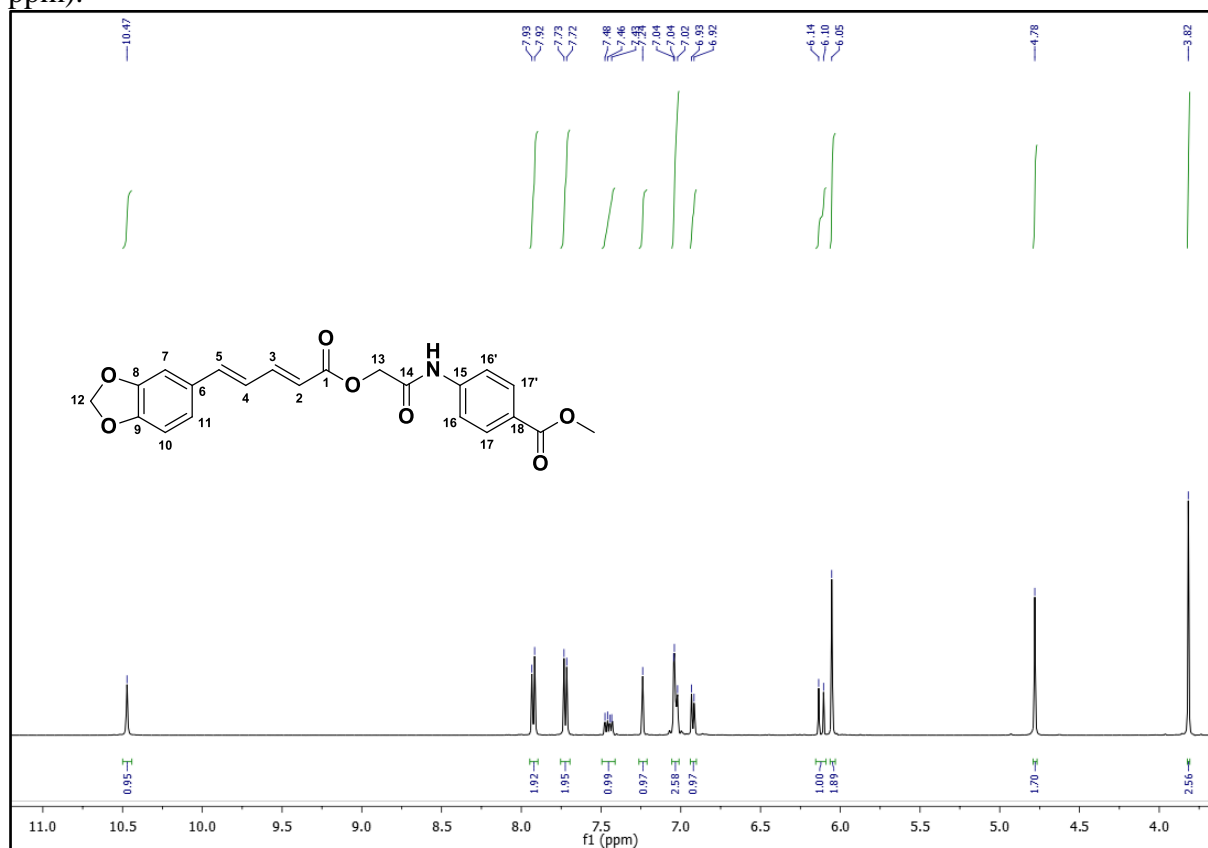
**Tabela 14.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do HE13. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo $\delta$ (ppm)	HE13 $\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,83
2	6,12 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H)	118,95
3	7,45 (dd, $J = 14,5$ ; 6,5 Hz, 1H)	146,14
4	7,05 – 7,01 (m, 3H)	124,61
5	7,05 – 7,01 (m, 3H)	141,10
6	-	130,37
7	7,24 (s, 1H)	105,82
8	-	148,03
9	-	148,35
10	6,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)	108,55
11	7,05 – 7,01 (m, 3H)	123,41
12	6,05 (s, 2H)	101,44
13	4,78 (s, 2H)	62,56
14	-	166,21
15	-	142,85
16	7,72 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H)	118,70
17	7,92 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	130,34
18	-	124,29
19	-	165,79
20	3,82 (s, 3H)	51,88
NH	10,47 (s, 1H)	-

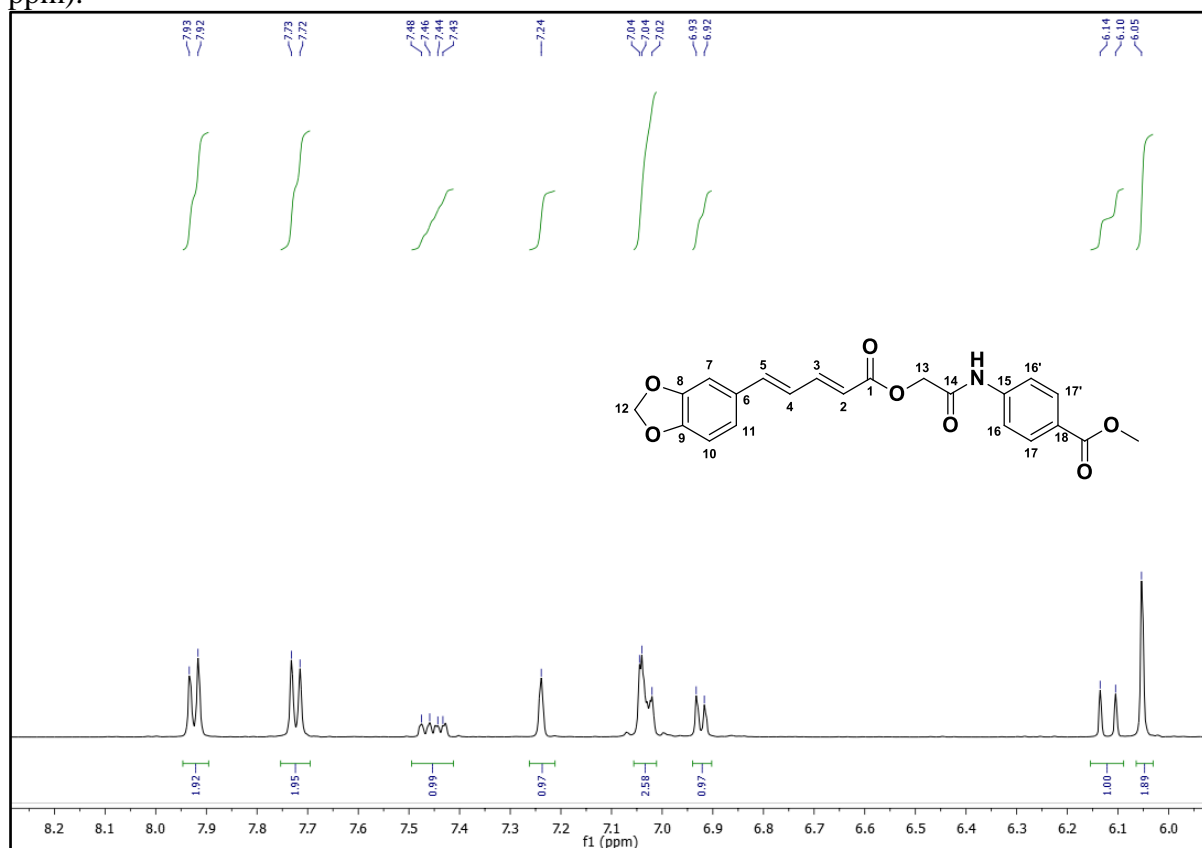
**Espectro 126.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13.



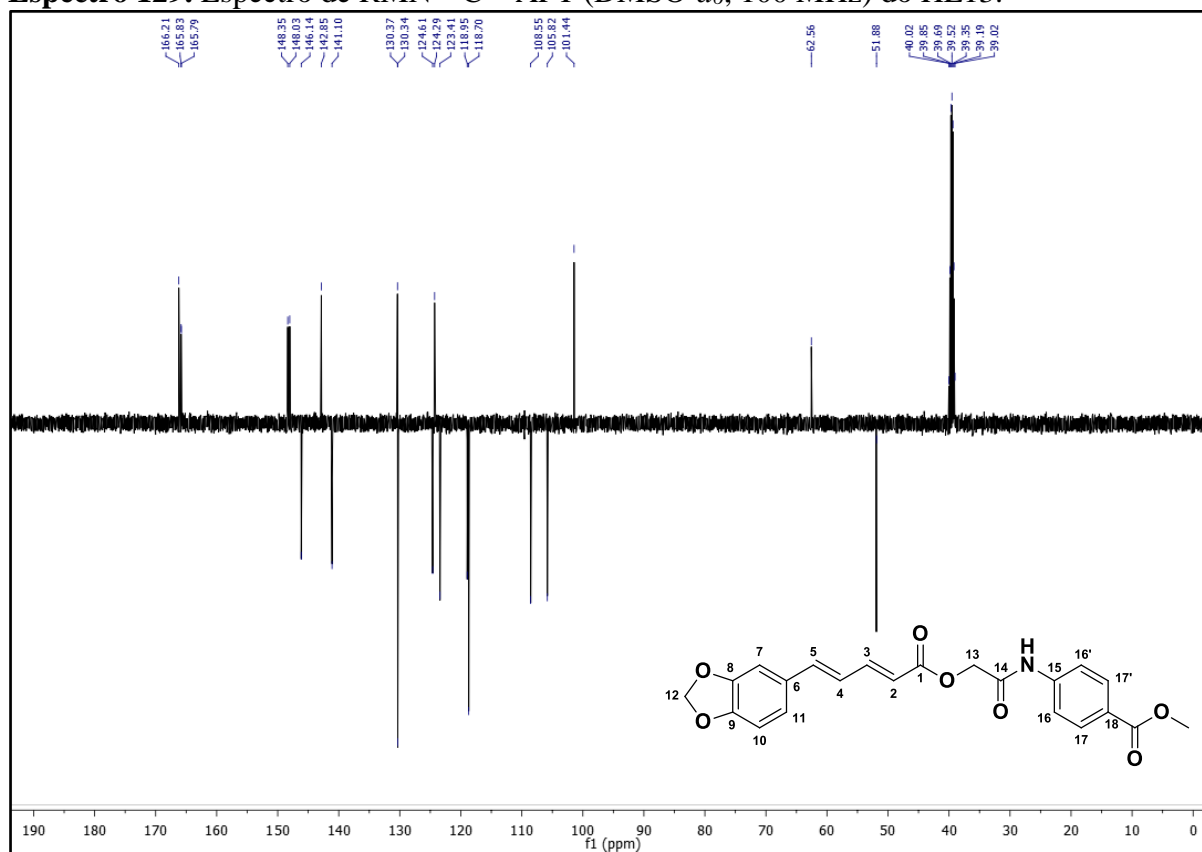
**Espectro 127.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13 (3,5 – 11,0 ppm).



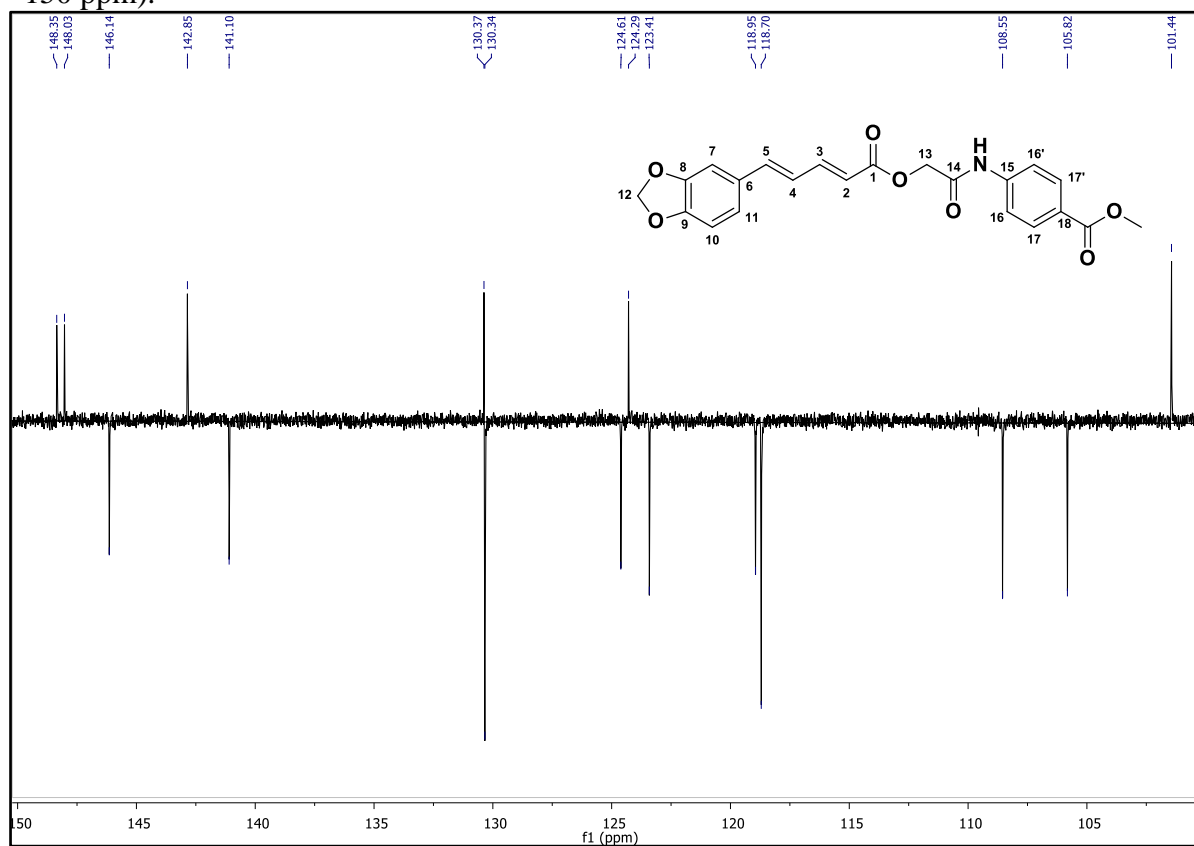
**Espectro 128.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE13 (5,5 – 8,2 ppm).



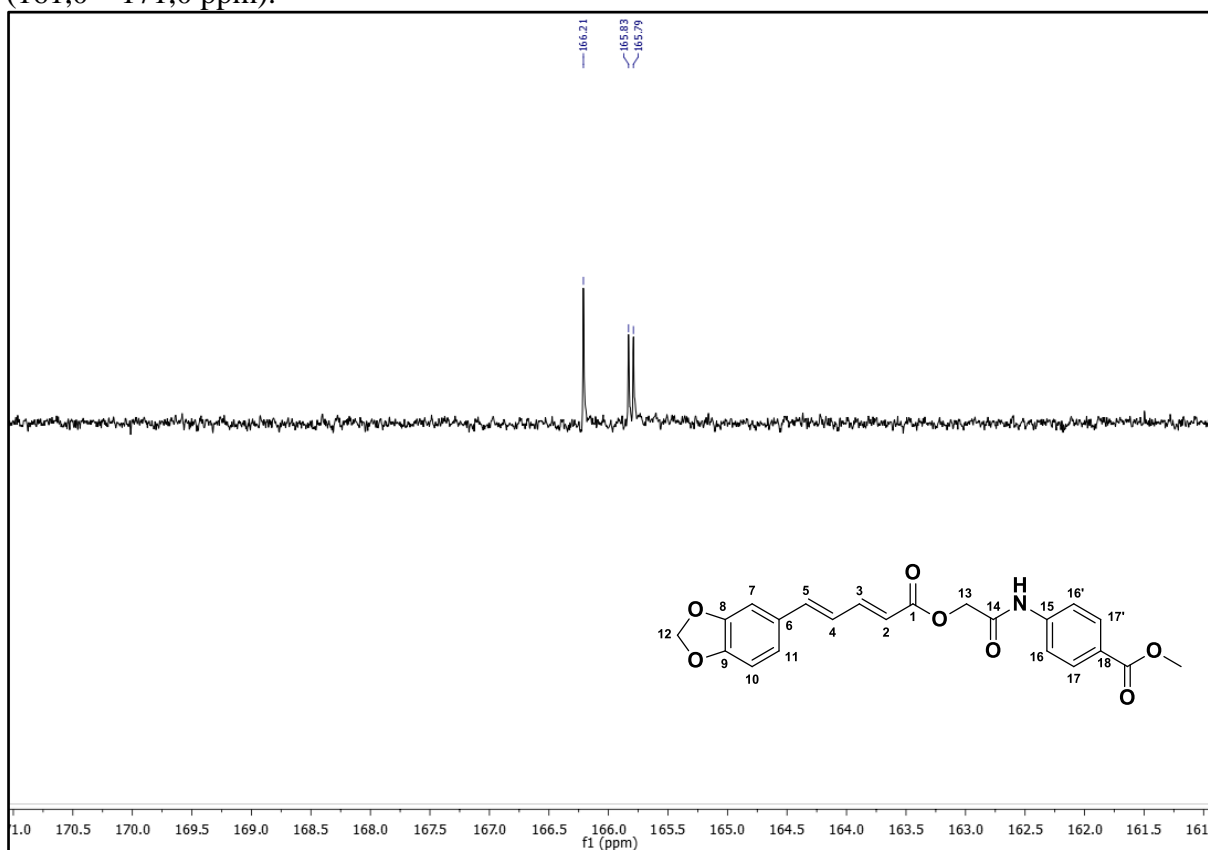
**Espectro 129.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13.



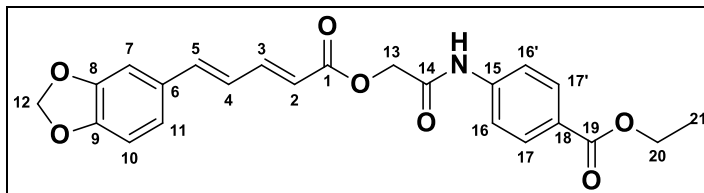
**Espectro 130.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13 (100 – 150 ppm).



**Espectro 131.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE13 (161,0 – 171,0 ppm).



### 5.2.13 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de etila) -fenilamina] - piperidinoato de etila (HE14)



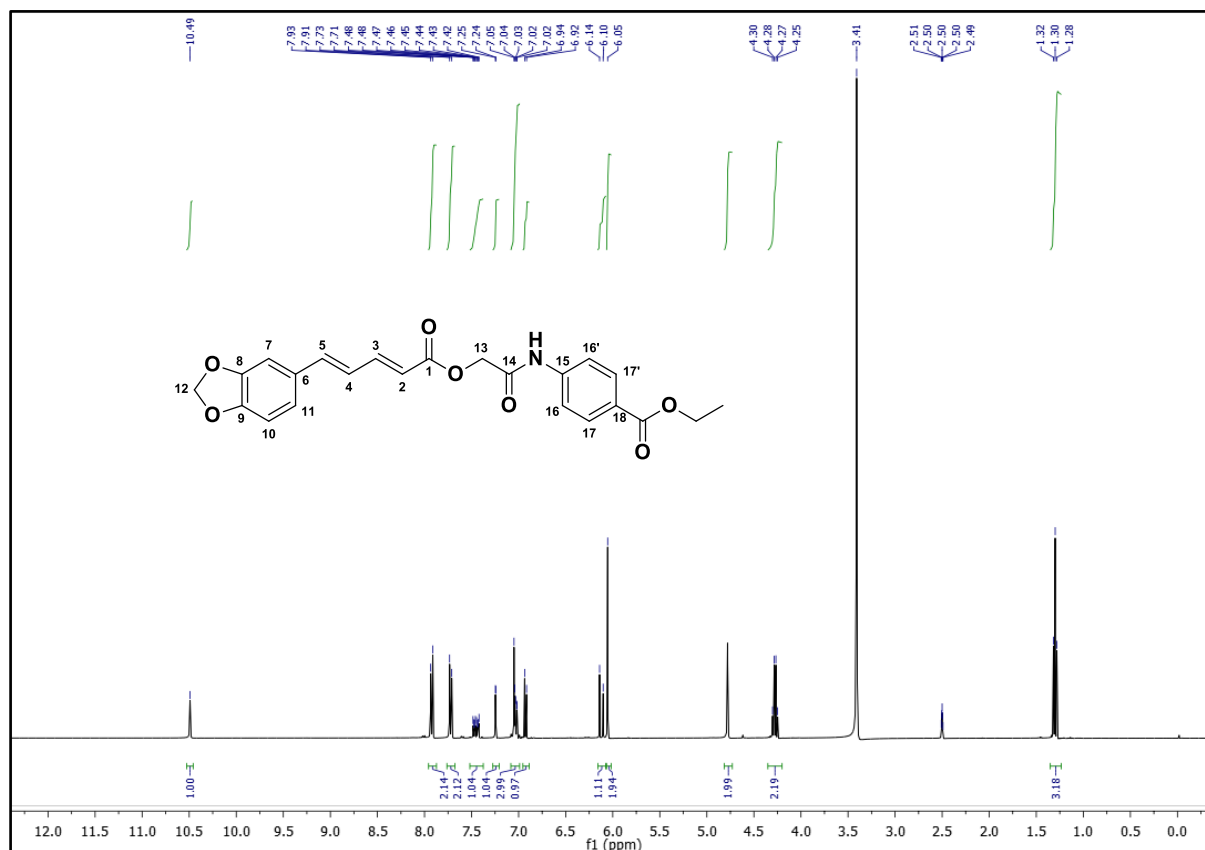
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz (pag 118-120) revelou três singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,78 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,05 ppm, dois singletos comuns nesses derivados, temos ainda em  $\delta$  10,49 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H. Presença de dubletos em  $\delta$  6,12 ( $J = 15,2$  Hz, 1H), 6,93 ( $J = 8,0$  Hz, 1H), 7,24 ( $J = 1,6$  Hz, 1H), 7,72 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H) e 7,92 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios: H-2, H-10, H-7, H-16,16' e H-17,17' respectivamente. Em  $\delta$  7,45 (ddd,  $J = 15,3$ ; 6,9 e 3,5 Hz, 1H) presença de duplo duplo dubleto para o hidrogênio H-3. Na região de  $\delta$  7,06-7,01 (m, 3H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5 e H-11. Em  $\delta$  1,30 ppm temos um triplete para 3 hidrogênios referente ao H-21. E para os hidrogênios H-20 temos um quarteto para 2 hidrogênios em 4,28 (q, 2H) (Tabela 15).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 100 MHz do composto HE14 (pag 120-121) observou-se a presença de vinte e um sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Treze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,83 (C-7), 108,59 (C-10), 118,70 (C16,16'), 123,48 (C-11), 130,33 (C-17,17') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 118,97 (C-2), 124,60 (C-4), 141,15 (C-5) e 146,20 (C-3) ppm e três a carbonos bihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  60,52 (C-20), 62,57 (C-13) e 101,46 (C-12, metilenodioxí) ppm de alifáticos. Um sinal para carbono trihidrogenado em  $\delta$  14, 23 ppm. Os oito sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  130,40 (C-6), 124,58 (C-18), 142,84 (C-15), 148,06 (C-8), 148,39 (C-9), 165,33 (C-19, Carbonila do benzoato de etila), 165,80 (C-1, carbonila de éster) e 166,24 (C-14 carbonila da amida) ppm.

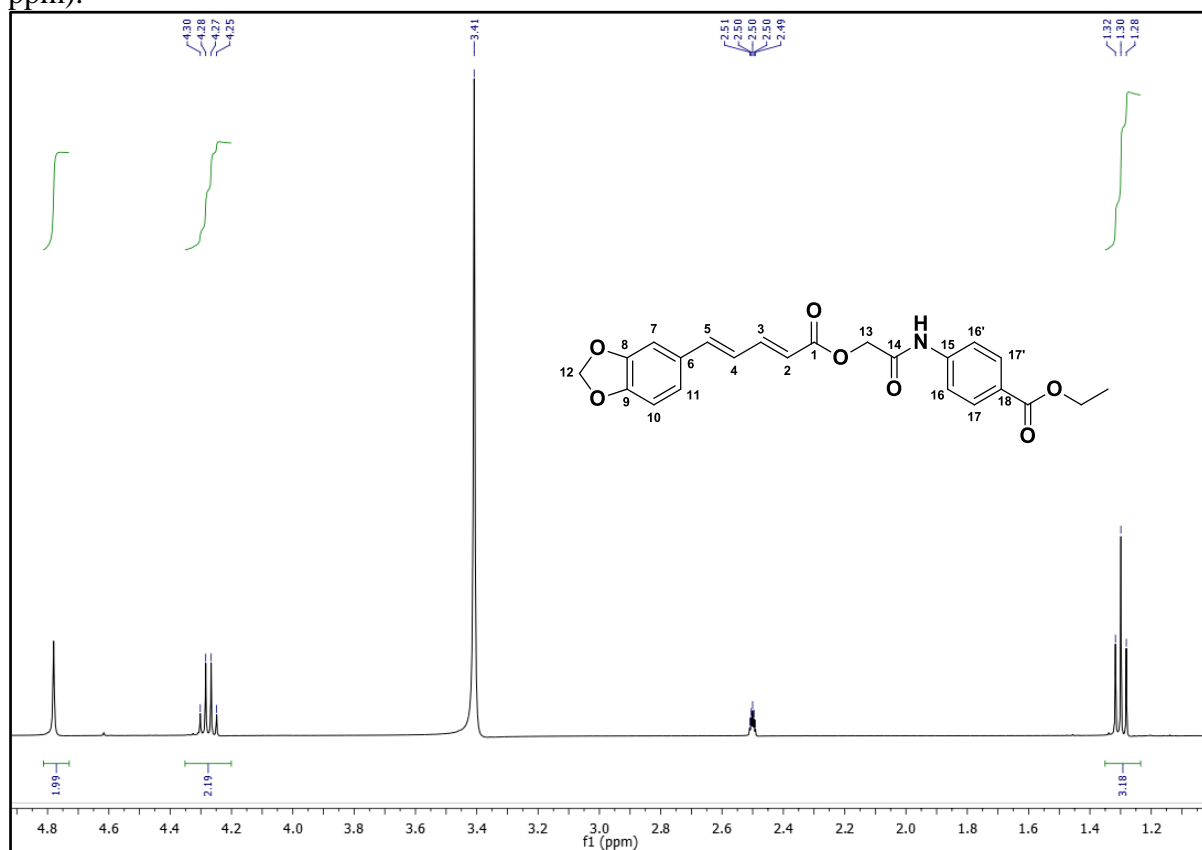
**Tabela 15.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE14. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1		-	165,89
2		6,12 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H)	118,97
3		7,45 (ddd, $J = 15,3$ ; 3,4 Hz, 1H)	146,20
4		7,06 – 7,01 (m, 3H)	124,60
5		7,06 – 7,01 (m, 3H)	141,15
6		-	130,40
7		7,24 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H)	105,83
8		-	148,06
9		-	148,39
10		6,93 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H)	108,59
11		7,06 – 7,01 (m, 3H)	123,48
12		6,05 (s, 2H)	101,48
13		4,78 (s, 2H)	62,57
14		-	166,24
15		-	142,84
16		7,72 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	118,70
17		7,92 (d, $J = 8,9$ Hz, 2H)	130,33
18		-	124,58
19		-	165,33
20		4,28 (q, 2H)	60,52
21		1,30 (t, 3H)	14,23
NH		10,00 (s, 1H)	-

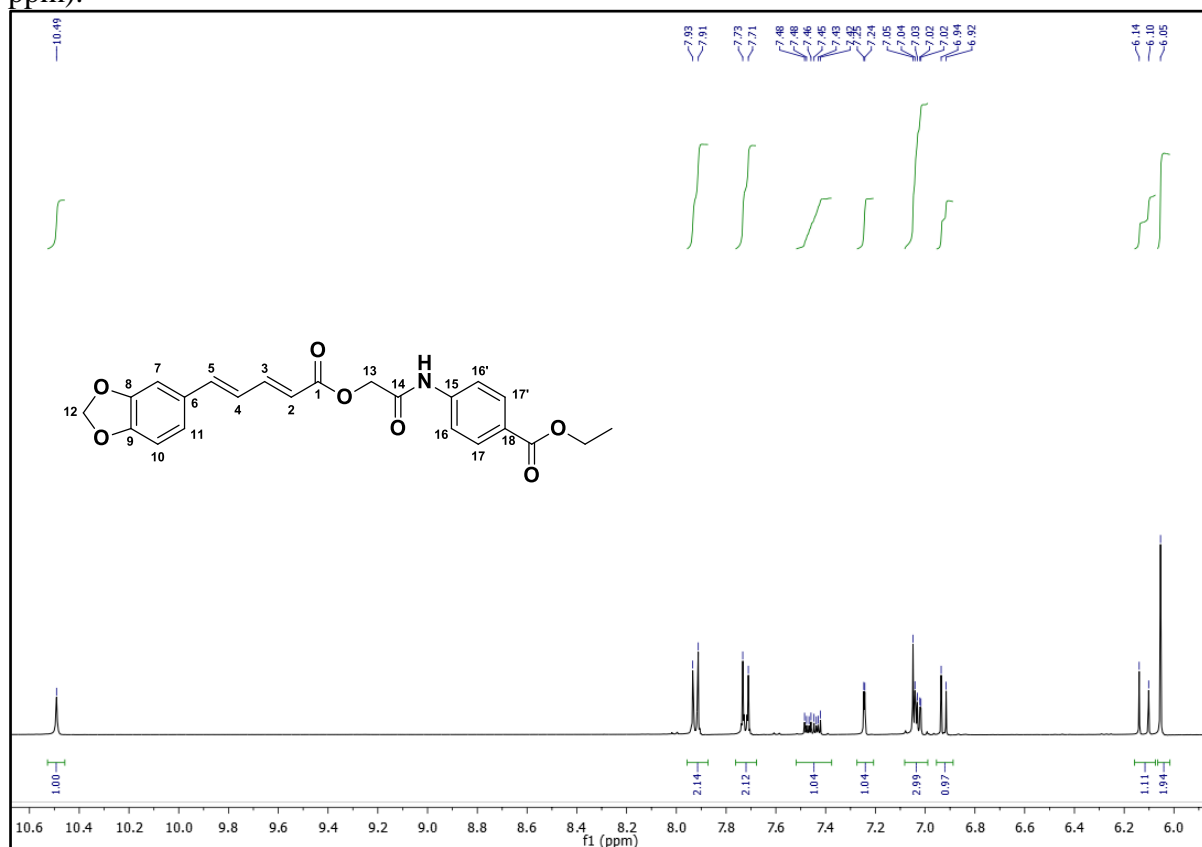
**Espectro 132.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ , 400 MHz) do HE14.



**Espectro 133.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (1,2 – 4,8 ppm).

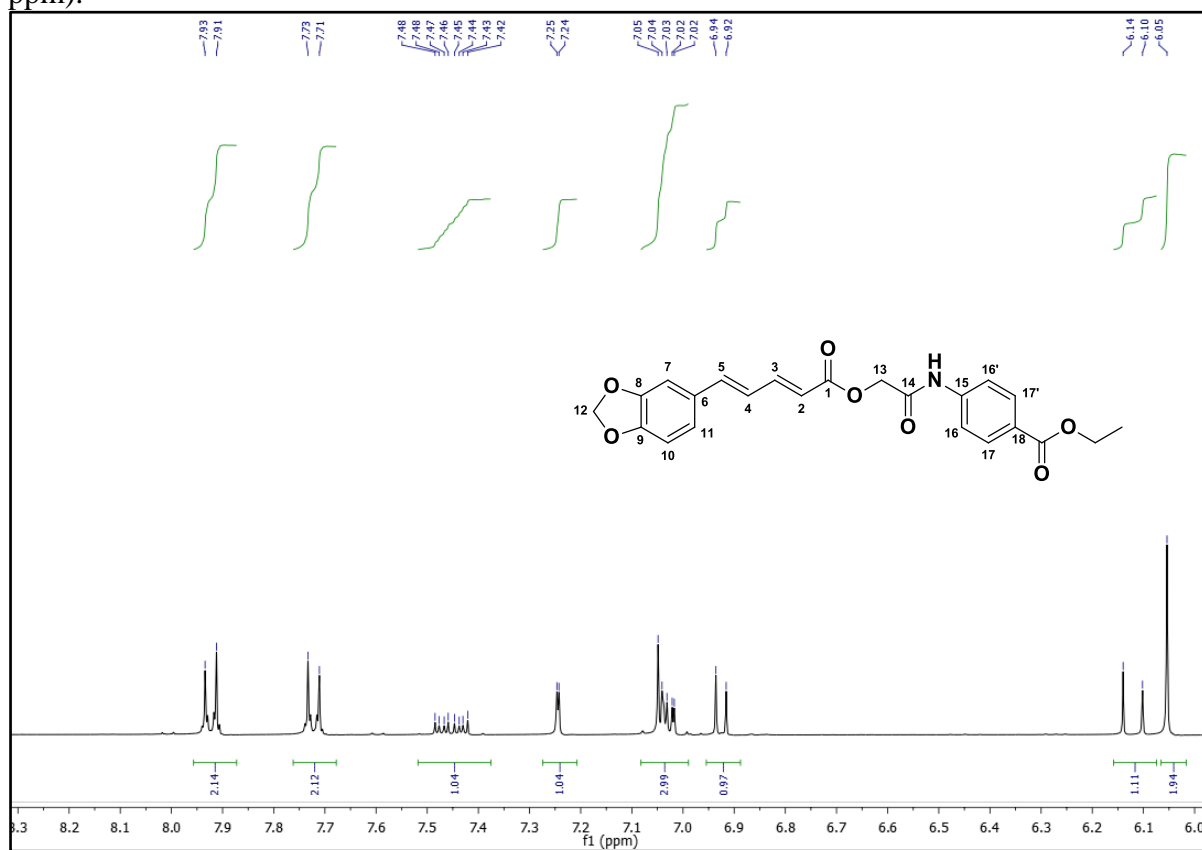


**Espectro 134.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (6,0 – 10,6 ppm).

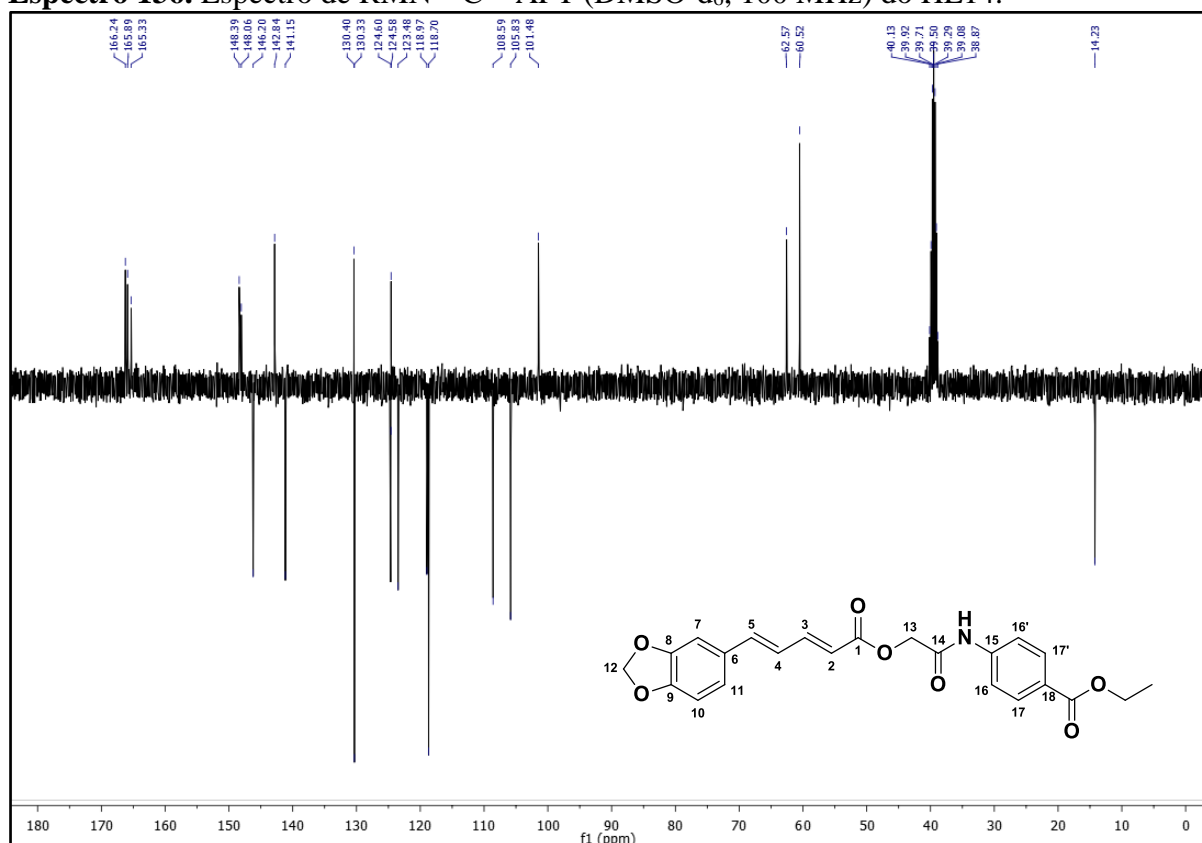




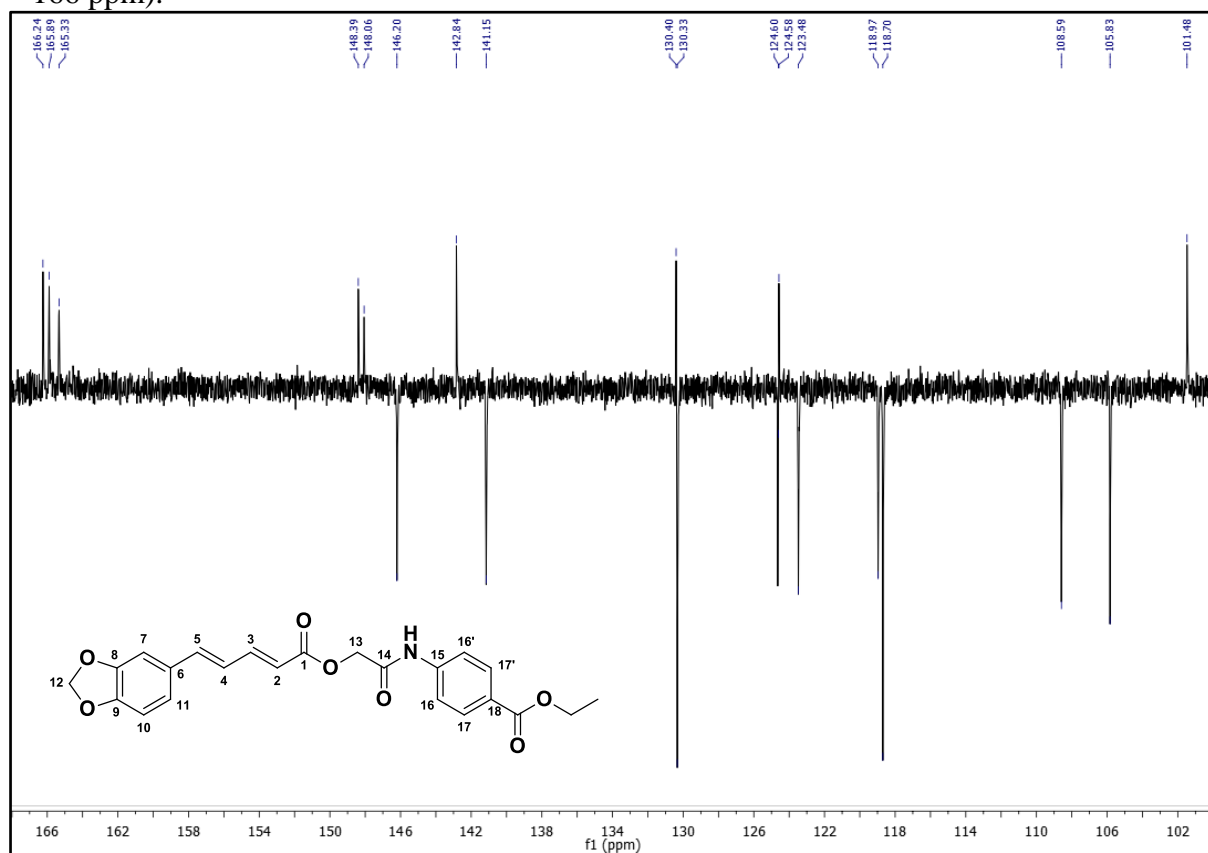
**Espectro 135.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 400 MHz) do HE14 (6,0 – 8,3 ppm).



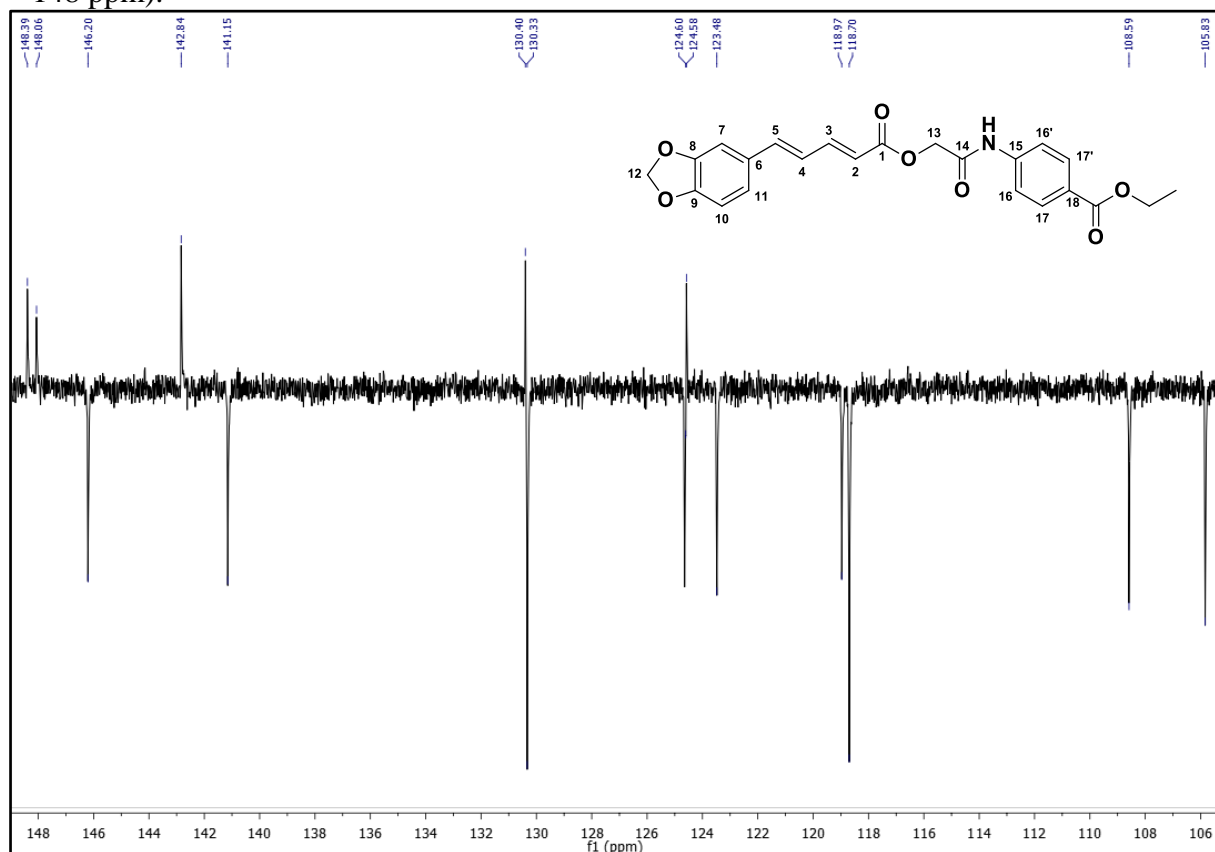
**Espectro 136.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14.



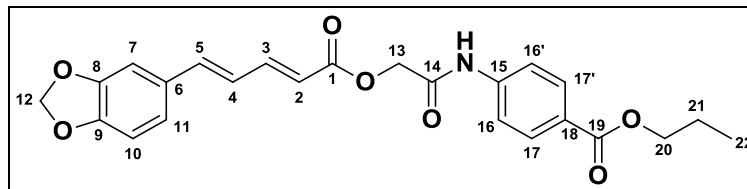
**Espectro 137.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14 (102 – 166 ppm).



**Espectro 138.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 100 MHz) do HE14 (106 – 148 ppm).



#### 5.2.14 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-[(4-benzoato de n-propila) - fenilamina] - piperidinoato de etila (HE15)



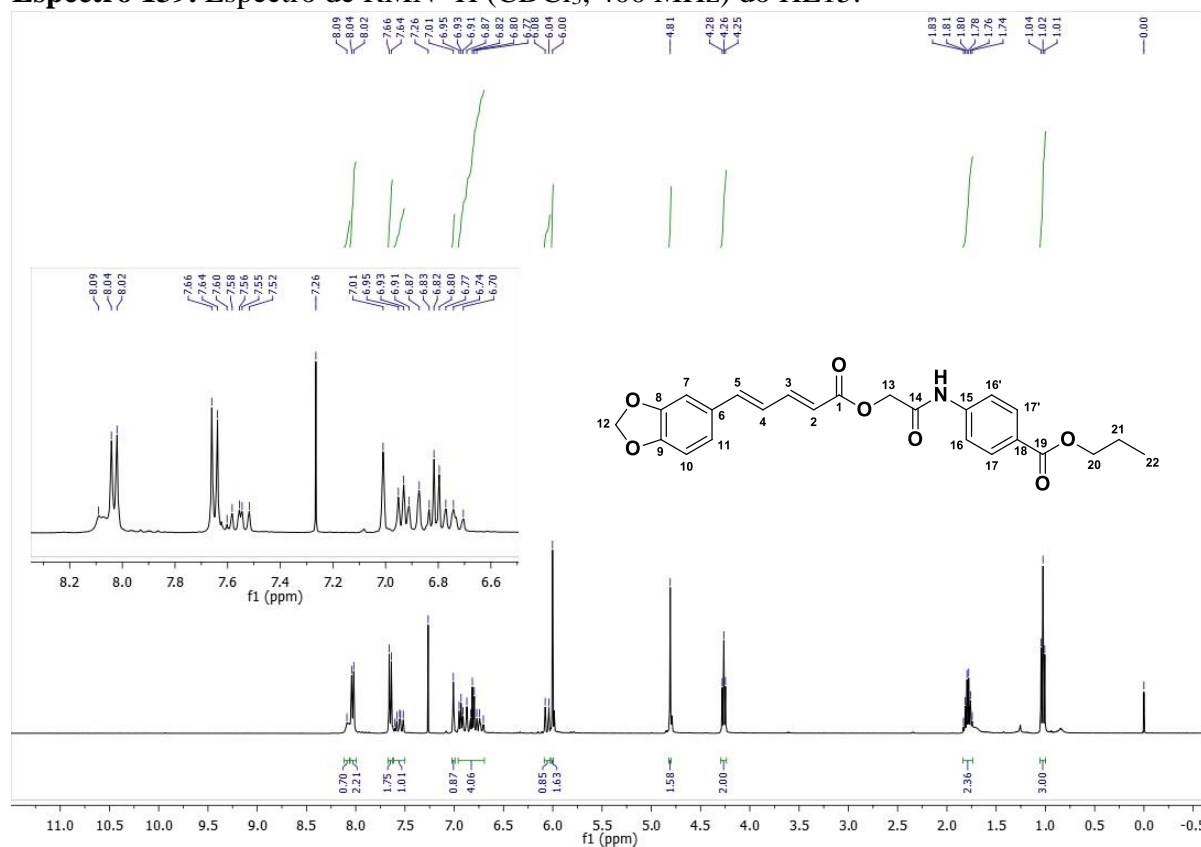
O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 400 MHz do composto HE15 (pag 123-124) revelou três singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,81 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  6,00 ppm, dois singletos comuns nesses derivados, temos ainda em  $\delta$  8,09 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H e um singlete em 7,01 ppm referente ao H-7. Presença de dubletos em  $\delta$  6,02 ( $J = 15,2$  Hz, 1H), 7,65 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H) e 8,03 (d,  $J = 8,6$  Hz, 2H) ppm referentes aos hidrogênios: H-2, H-16,16' e H-17,17' respectivamente. Na região de  $\delta$  6,96 - 6,70 (m, 4H) observa-se a presença de multipletos referente aos hidrogênios H-4; H-5; H-10 e H-11. Em 7,61 – 7,51(m, 1H) referente ao H-3 e um multiplete em 1,84 - 1,74 (m, 2H) assinalando o H-21. Em  $\delta$  1,02 (t, 2H) e 4,26 (t, 2H) ppm temos dois tripletos referente ao H-22 e H-20 respectivamente (Tabela 16).

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 100 MHz (pag 124-125) observou-se a presença de vinte e dois sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Quatorze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais nove foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 106,07 (C-7), 108,76 (C-10), 117,91 (C16,16'), 123,63 (C-11), 130,94 (C-17,17') ppm, e de alcenos do tipo  $\text{sp}^2$  em 119,36 (C-2), 124,00 (C-4), 142,28 (C-5) e 147,58 (C-3) ppm e quatro a carbonos bihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  22,24 (C-21), 66,67 (C-20), 63,30 (C-13) e 101,65 (C-12, metilenodioxo) ppm de alifáticos. Um sinal para carbono trihidrogenado em  $\delta$  10,64 ppm. Os oito sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  em  $\delta$  130,29 (C-6), 126,78 (C-18), 140,92 (C-15), 148,52 (C-8), 149,15 (C-9), 165,73 (C-19, Carbonila do benzoato de n-propila), 165,77 (C-1, carbonila de éster) e 166,19 (C-14 carbonila da amida) ppm (Tabela 16).

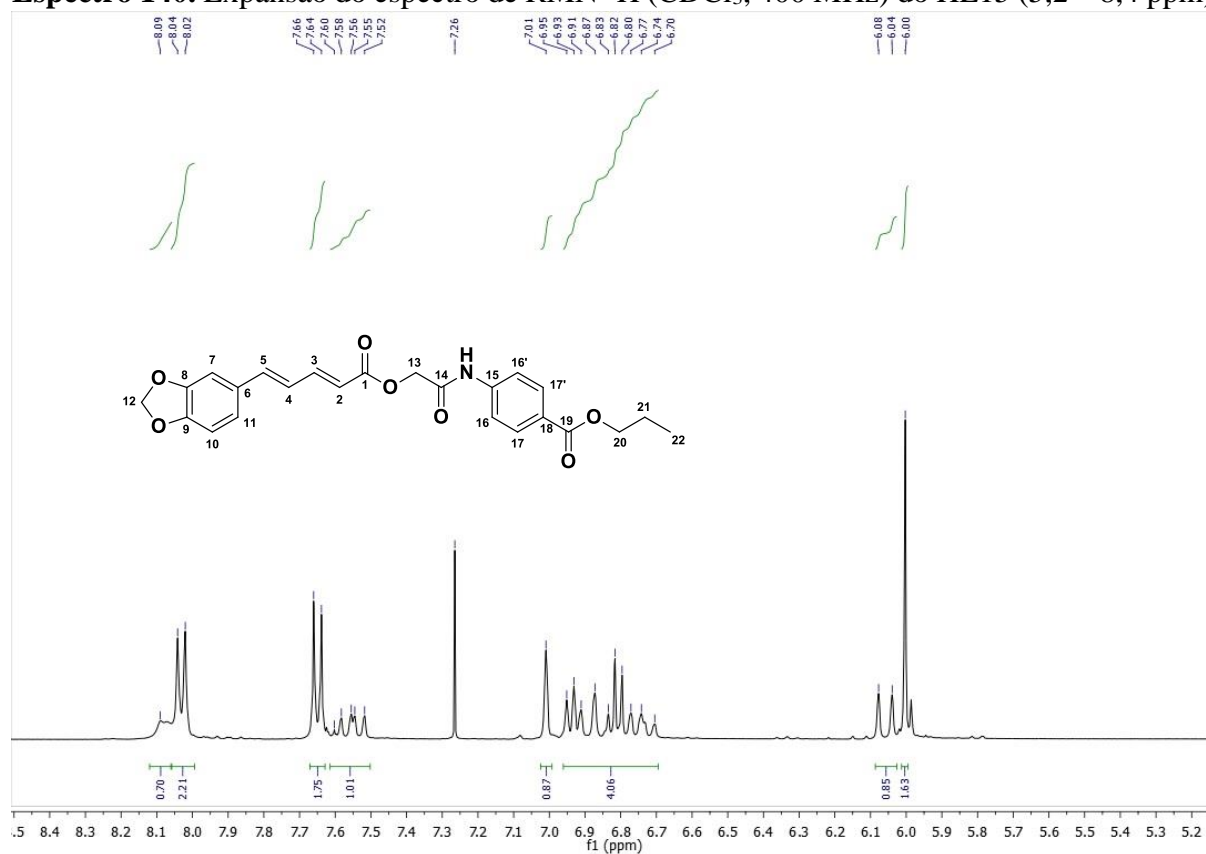
**Tabela 16.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) em  $\text{DMSO-}d_6$  do HE15. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	HE15	
$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,77
2	6,06 (d, $J = 15.2$ Hz, 1H)	119,36
3	7,61 – 7,51 (m, 1H)	147,58
4	6,96 – 6,70 (m, 4H)	124,00
5	6,96 – 6,70 (m, 4H)	142,28
6	-	130,29
7	7,01 (s, 1H)	106,07
8	-	148,52
9	-	149,15
10	6,96 – 6,70 (m, 4H)	108,76
11	6,96 – 6,70 (m, 4H)	123,63
12	6,00 (s, 2H)	101,65
13	4,81 (s, 2H)	63,30
14	-	166,19
15	-	140,92
16	7,65 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H)	117,91
17	8,03 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H)	130,94
18	-	126,78
19	-	165,73
20	4,26 (t, 2H)	66,67
21	1,84 – 1,74 (m, 2H)	22,24
22	1,02 (t, 2H)	10,64
NH	8,09 (s, 1H)	-

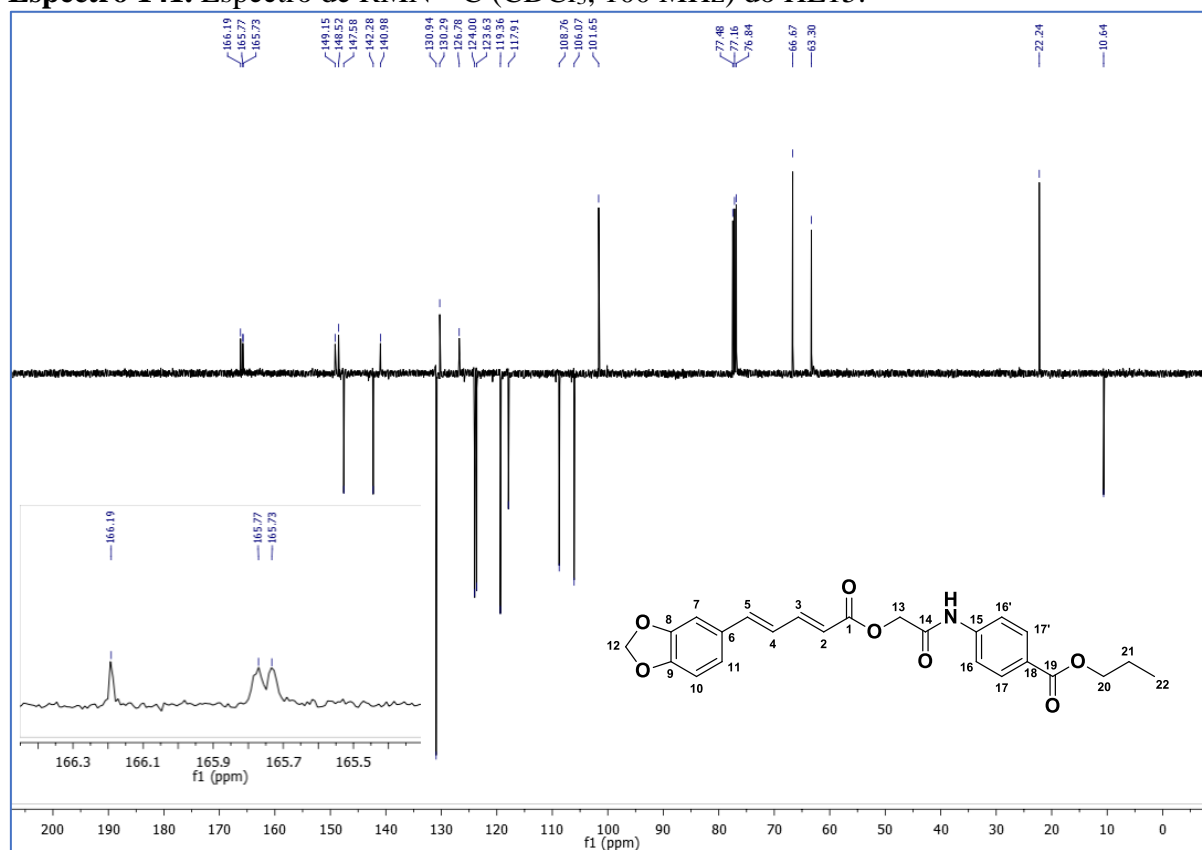
**Espectro 139.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do HE15.



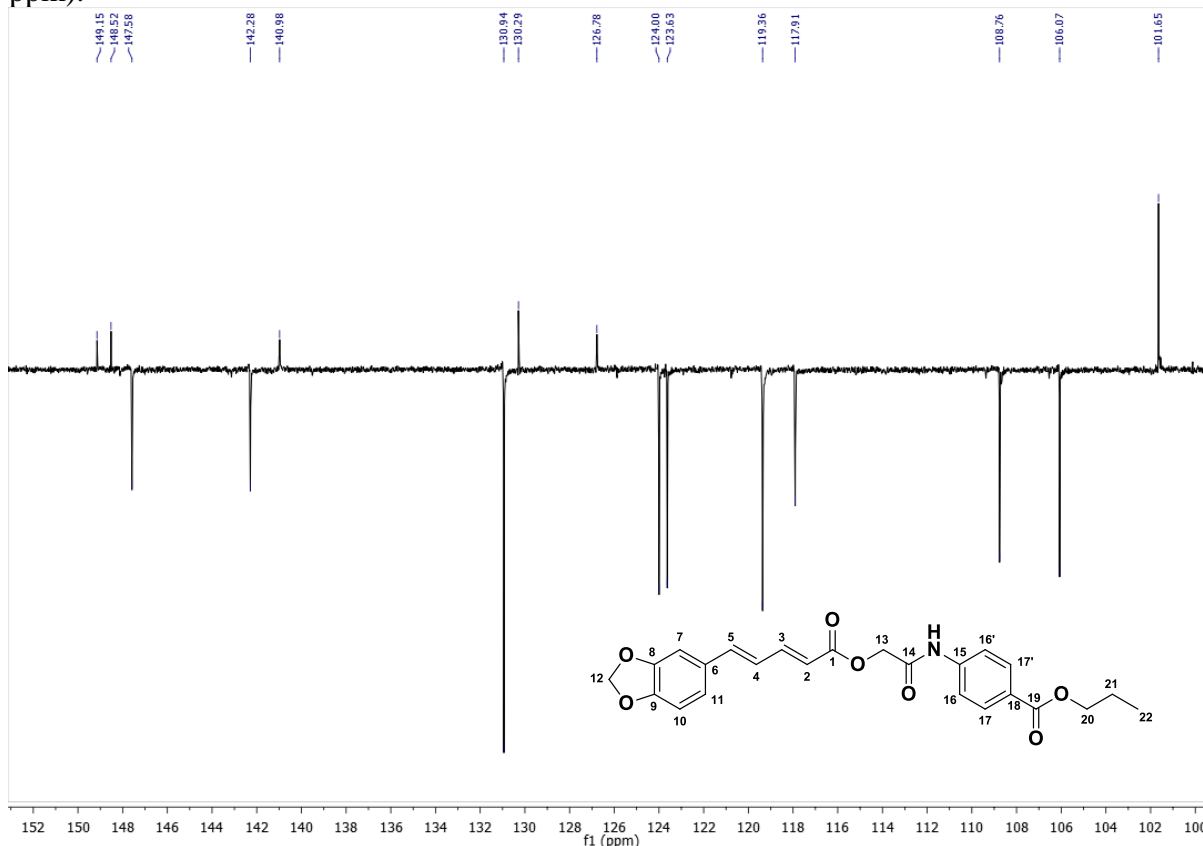
**Espectro 140.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) do HE15 (5,2 – 8,4 ppm).



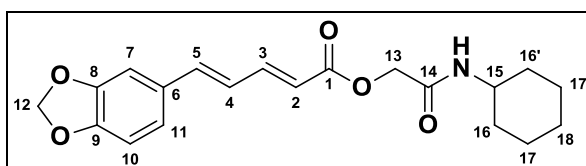
**Espectro 141.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do HE15.



**Espectro 142.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 100 MHz) do HE15 (100 – 152 ppm).



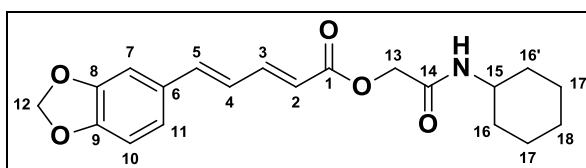
### 5.2.15 Interpretação dos espectros de RMN $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ (2E,4E)-2-oxo-2-(cicloexilamina) - piperidinoato de etila (HE16)



O espectro de RMN  $^1\text{H}$  a 500 MHz (pag 127-128) revelou cinco singletos, um com uma integral de dois hidrogênios referente à H-13 em  $\delta$  4,62 ppm e outro com uma integral para dois hidrogênios referente à H-12 em  $\delta$  5,98 ppm importante sinal indicando o  $\text{CH}_2$  do metilenodioxo proveniente da piperina. Na região  $\delta$  2,14 ppm um singlete referente ao hidrogênio do N-H, ainda temos em  $\delta$  6,98 e 6,01 ppm presença de singletos referentes aos hidrogênios H-7 e H-2 respectivamente. Presença de dubletos em  $\delta$  6,78 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H), 6,85 (d,  $J = 15,5$  Hz, 1H) e 6,91 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H) ppm referentes aos hidrogênios H-10, H-5 e H-11 respectivamente. Em  $\delta$  6,71 (dd,  $J = 15,4; 11,0$  Hz, 1H) 7 e 7,48 (dd,  $J = 15,2; 10,9$  Hz, 1H) e presenças de duplo dubleto para os hidrogênios H-4 e H-3 respectivamente. Nas regiões de  $\delta$  1,23 – 1.11 (m,4H) e

1,75-1,66 (m, 4H) presença de multipeto referente aos hidrogênios H-17,17' e H-16,16' respectivamente. Observa-se um quarteto de dubleto em  $\delta$  3,83 (qd,  $J = 11,1$  Hz, 1H) referente ao hidrogênio H-15 (Tabela 17).

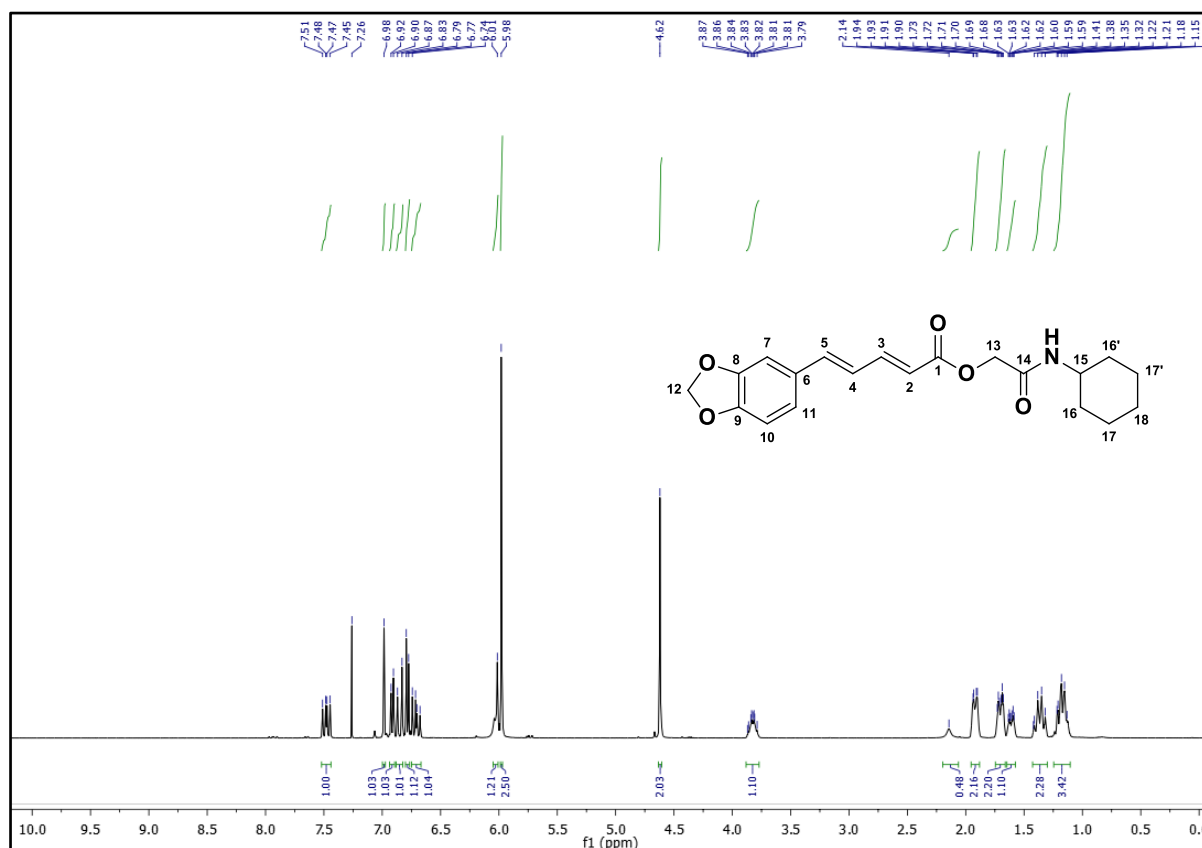
No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT a 125 MHz do composto HE16 (pag 128-129) observou-se a presença de dezoito sinais e permitiu reconhecer o padrão de hidrogenação correspondente a cada átomo de carbono. Doze sinais foram associados a carbonos hidrogenados, dos quais três foram atribuídos a carbonos monohidrogenados de aromáticos em 105,98 (C-7), 108,69 (C-10) e 123,43 (C-11) ppm, quatro sinais de alcenos em 118,45 (C-2), 124,10 (C-4), 141,70 (C-5) e 146,82 (C-3) ppm, um sinal para carbono monohidrogenado alifático em  $\delta$  48,07 ppm, cinco sinais de carbonos bihidrogenados do tipo  $\text{sp}^3$  em  $\delta$  24,88 (C-18), 25,54 (C-17,17'), 33,08 (C-16,16'), 63,03 (C-13) e 101,57 (C-12 metilenodioxí) ppm. Os cinco sinais restantes corresponderam a carbonos não hidrogenados do tipo  $\text{sp}^2$  130,34 (C-6), 148,45 (C-8), 148,98 (C-9), 165,69 (C-1 carbonila do éster), e 166,41 (C-1 carbonila da amida) ppm (Tabela 17).



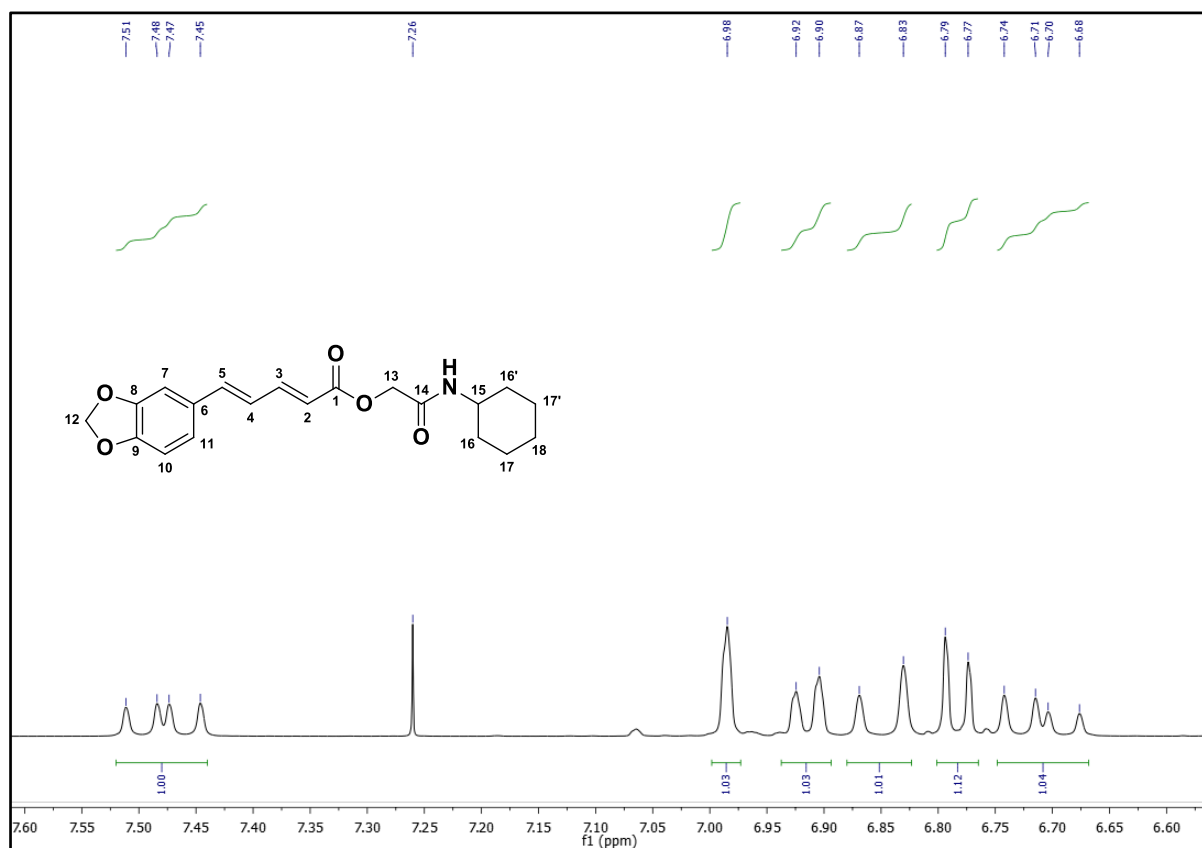
**Tabela 17.** Dados dos espectros de RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (125 MHz) em  $\text{DMSO}-d_6$  do HE16. Os deslocamentos químicos estão em (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hz.

Átomo	HE16	
$\delta$ (ppm)	$\delta$ ( $^1\text{H}$ )	$\delta$ ( $^{13}\text{C}$ )
1	-	165,69
2	6,01 (s, 1H)	118,45
3	7,48 (dd, $J = 15,2; 10,9$ Hz, 1H)	146,82
4	6,71 (dd, $J = 15,4; 11,0$ Hz, 1H)	124,10
5	6,85 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H)	141,70
6	-	130,34
7	6,98 (s, 1H)	105,98
8	-	148,45
9	-	148,98
10	6,78 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H).	108,69
11	6,91 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H)	123,43
12	5,98 (s, 2H),	101,57
13	4,62 (s, 2H)	63,03
14	-	166,41
15	3,83 (qd, $J = 11,1; 6,0$ Hz, 1H)	48,07
16	1,75 – 1,66 (m, 4H)	33,08
17	1,23 – 1,11 (m, 4H)	25,54
18	Não observado	24,88
NH	2,14 (s, 1H)	-

**Espectro 143.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16.

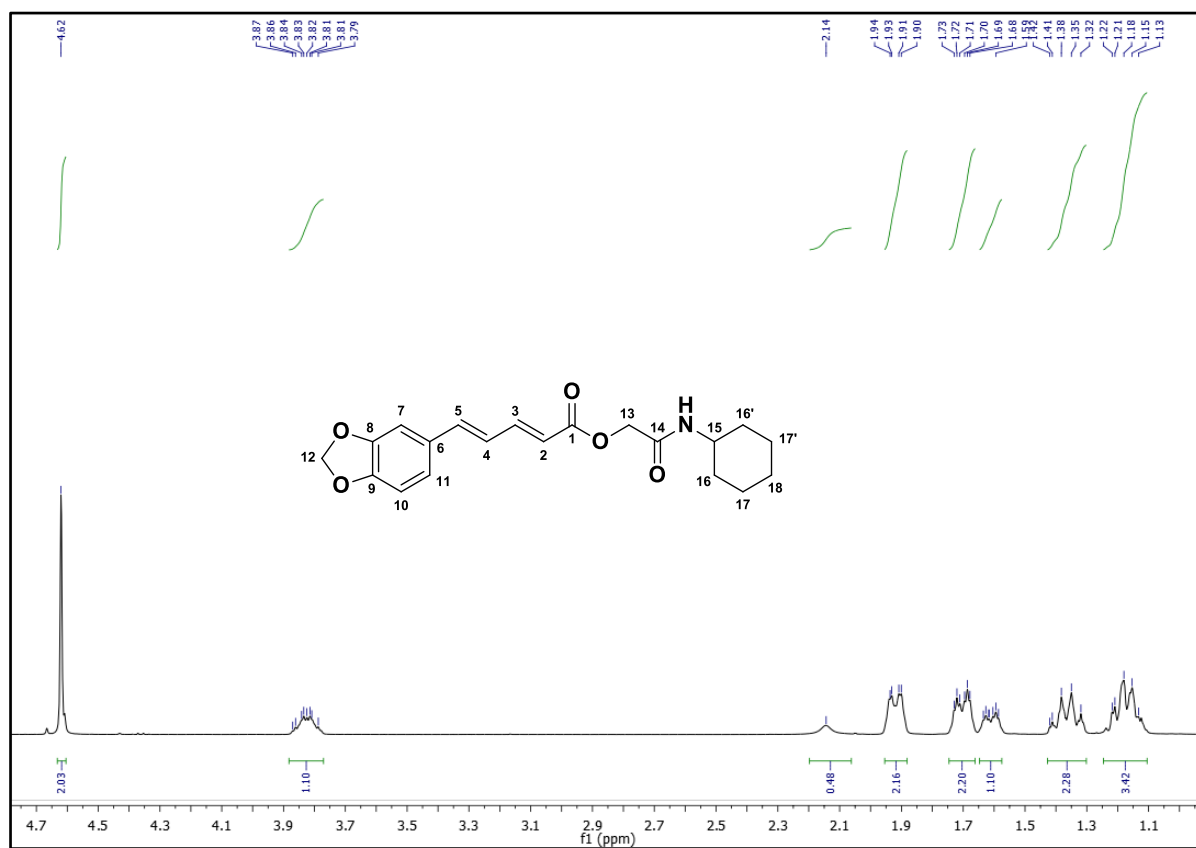


**Espectro 144.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16 (6,6 – 7,6 ppm).

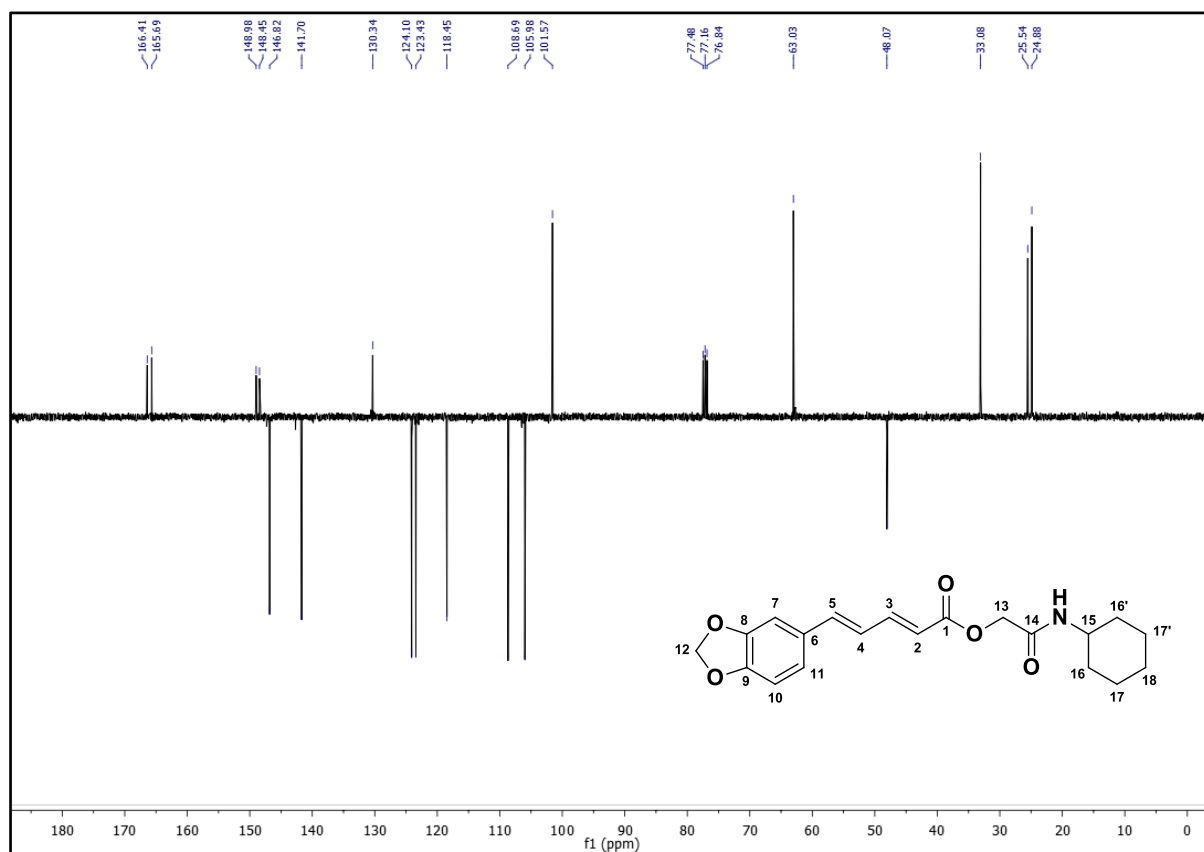




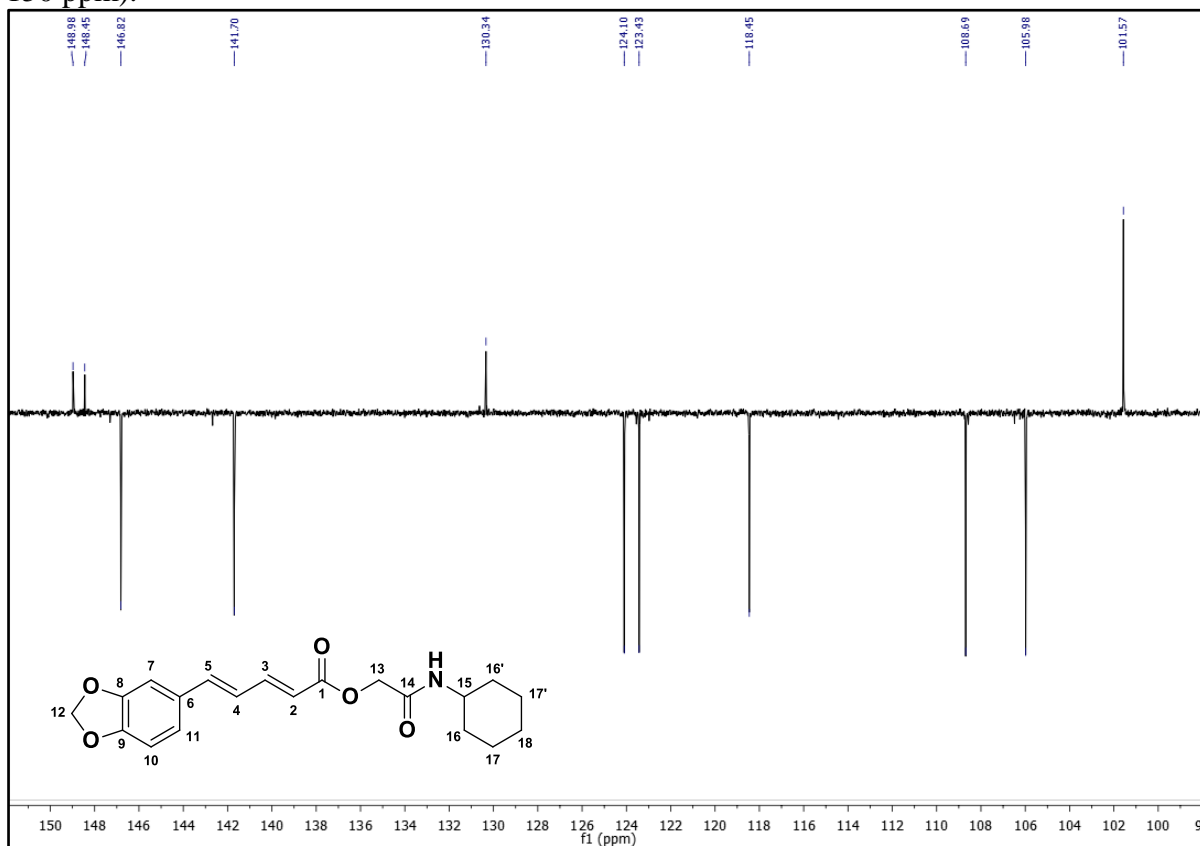
**Espectro 145.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) do HE16 (1,1 – 4,7 ppm).



**Espectro 146.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) do HE16.



**Espectro 147.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) do HE16 (100 – 150 ppm).



### 5.3 Análise dos espectros de infravermelhos dos derivados HE01-16

A ausência de bandas largas de OH em torno de  $3200\text{ cm}^{-1}$  é um grande indicativo que as reações aconteceram. O espectro de infravermelho dos derivados amido ésteres (pag) mostram a presença do grupo NH que é indicado por várias bandas na região entre  $3500$  e  $3180\text{ cm}^{-1}$  as quais resultam de vibrações de deformações axiais e ainda deformação angular fora do plano em torno de  $800$  e  $700\text{ cm}^{-1}$ . A presença dos grupos aromáticos e alifáticos foi indicada através da deformação axial das ligações C – H entre  $3170$  e  $3003\text{ cm}^{-1}$  juntamente com a deformação angular fora do plano destas mesmas ligações em torno de  $1090$  e  $820\text{ cm}^{-1}$  para os grupos aromáticos e pela deformação axial em torno de  $2999$  e  $2850\text{ cm}^{-1}$  para os grupos alifáticos. Observa-se ainda nos espectros as deformações axiais das ligações C = C e C = N dos anéis aromáticos e heterocíclico entre  $1612$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$ . A absorção característica de C = O apareceu entre de  $1750$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$  o valor próximo a  $1750\text{ cm}^{-1}$  característica de carbonila de éster e as em torno de  $1650\text{ cm}^{-1}$  são de carbonilas amídicas conjugadas. A maioria dos

derivados apresentaram os dois valores de carbonilas com exceção do derivado HE13 do PABA que apresentou 3 carbonilas, devido possuir uma carbonila de éster adicional. Em torno de 1250  $\text{cm}^{-1}$  temos uma banda referente ao (O-CH<sub>2</sub>-O) do metilenodioxí importante sinal para identificar compostos com essa estrutura, portanto derivados da piperina. Nas tabelas 18 e 19 temos as principais bandas de infravermelhos para essas moléculas.

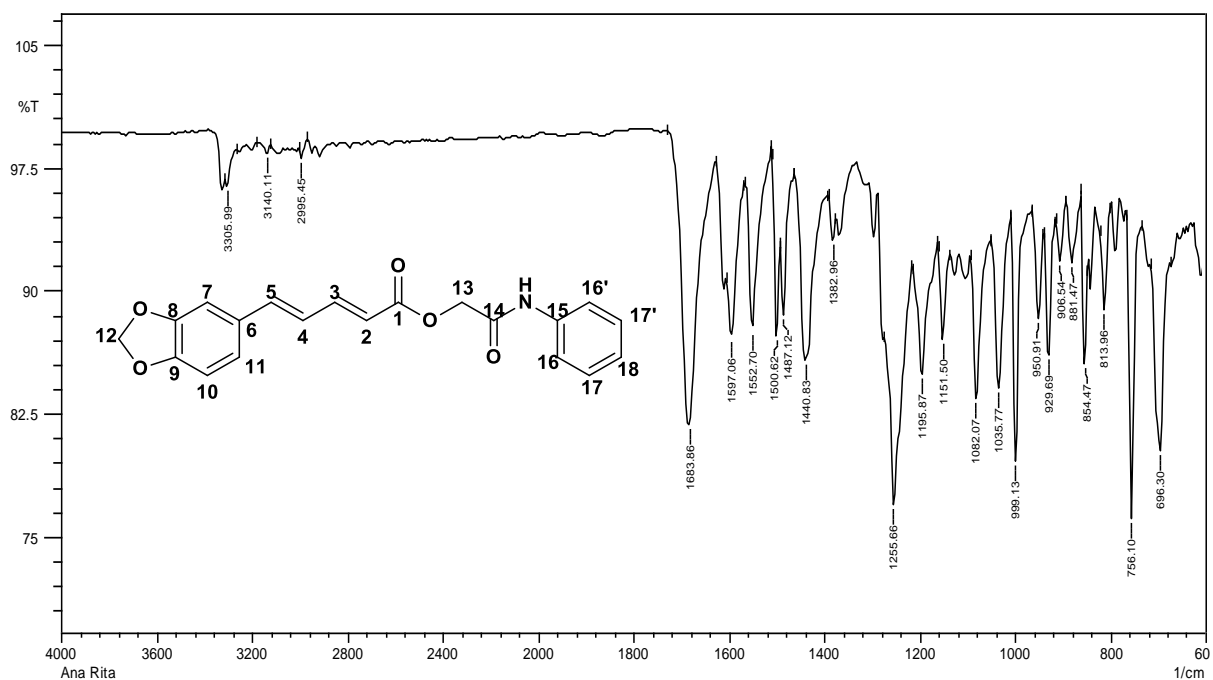
**Tabela 18.** Principais bandas de absorções dos derivados (HE01-09).

Composto v ( $\text{cm}^{-1}$ )	HE01	HE02	HE03	HE04	HE05	HE06	HE07
$\nu$ (N – H)	3305	3296	3275	3259	3251	3325	3261
$\nu$ (C – H)Ar	3140	3093	3080	3032	3039	3113	3035
$\nu$ (C–H)Alif.	2955	-	2956	2954	2897	2997	2956
$\nu$ (C = O)	1683	1678	1716 1672	1703 1658	1726 1674	1681	1726 1672
$\nu$ (C = C)Ar	1597 1440	1595 1500	1500 1444	1598 1498	1535 1489	1595 1487	1535 1440
$\nu$ (C – O - C)	1255	1246	1253	1246	1253	1249	1251
$\nu$ (C – O)	1195	1174 1091	1136 1036	1155 1033	1138 1037	1193 1031	1128 1035

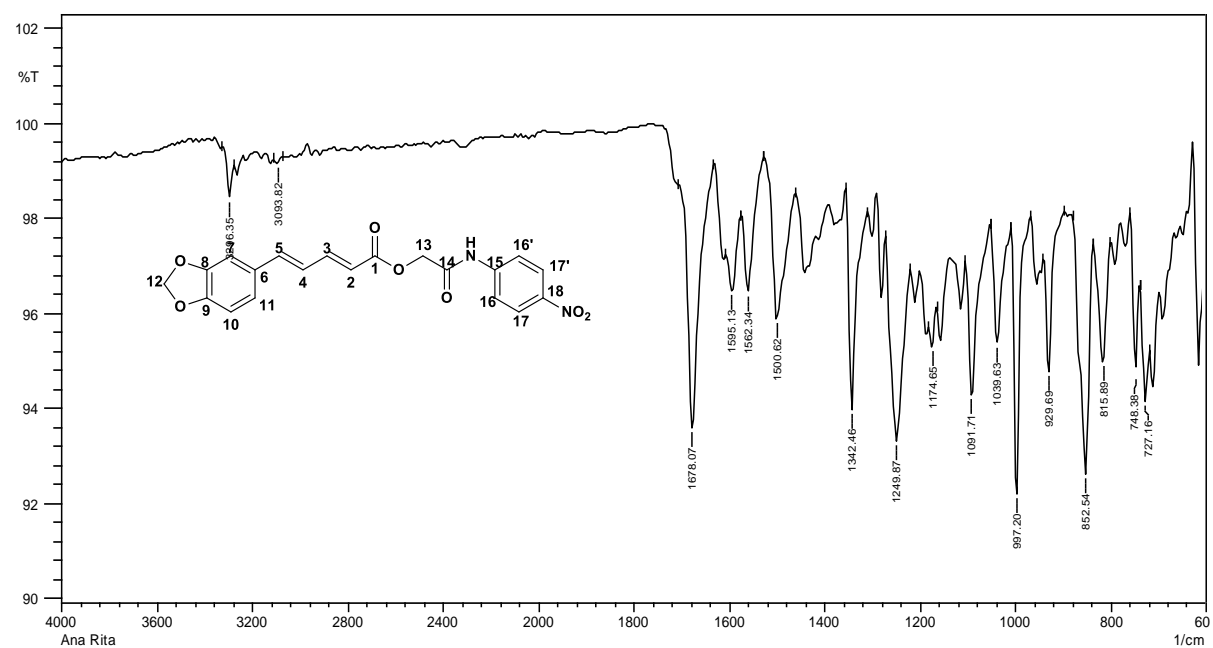
**Tabela 19.** Principais bandas de absorções dos derivados (HE10-16).

Composto v ( $\text{cm}^{-1}$ )	HE09	HE10	HE11	HE12	HE13	HE14	HE15	HE16
$\nu$ (N – H)	3275	3290	3321	3327	3302	3340	3352	3282
$\nu$ (C – H)Ar	3020	3078	3059	-	3062	-	-	3078
$\nu$ (C–H)Alif.	2926	-	2902	2939	2949	2983	2970	2852
$\nu$ (C = O)	1716 1674	1720 1670	1718 1687	1716 1689	1722 1707 1697	1705 1687	1697	1726 1660
$\nu$ (C = C)Ar	1529 1444	1500 1400	1544 1413	1597 1436	1541 1413	1543 1446	1537 1498	1556 1442
$\nu$ (C – O - C)	1253	1251	1253	-	1253	1251	1247	1251
$\nu$ (C – O).	1234 1138	1130 1035	1145 1068	1234 1090	1280 1146	1280 1146	1234 1090	1226 1132

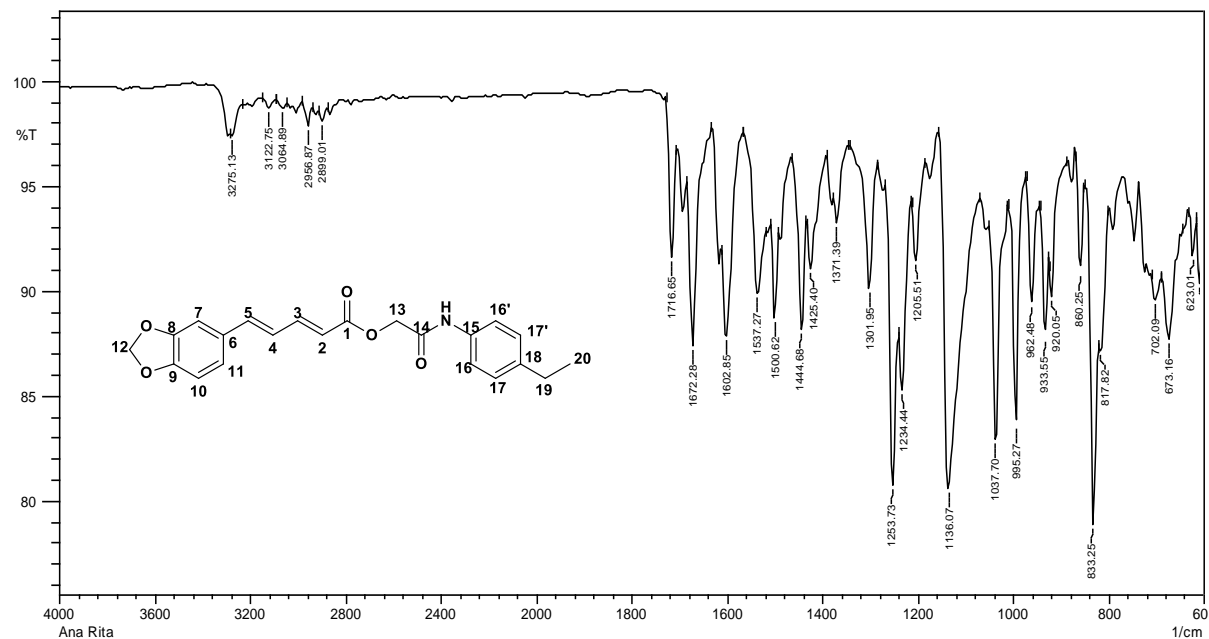
**Espectro 148.** Espectro de IV (KBr) do HE01.



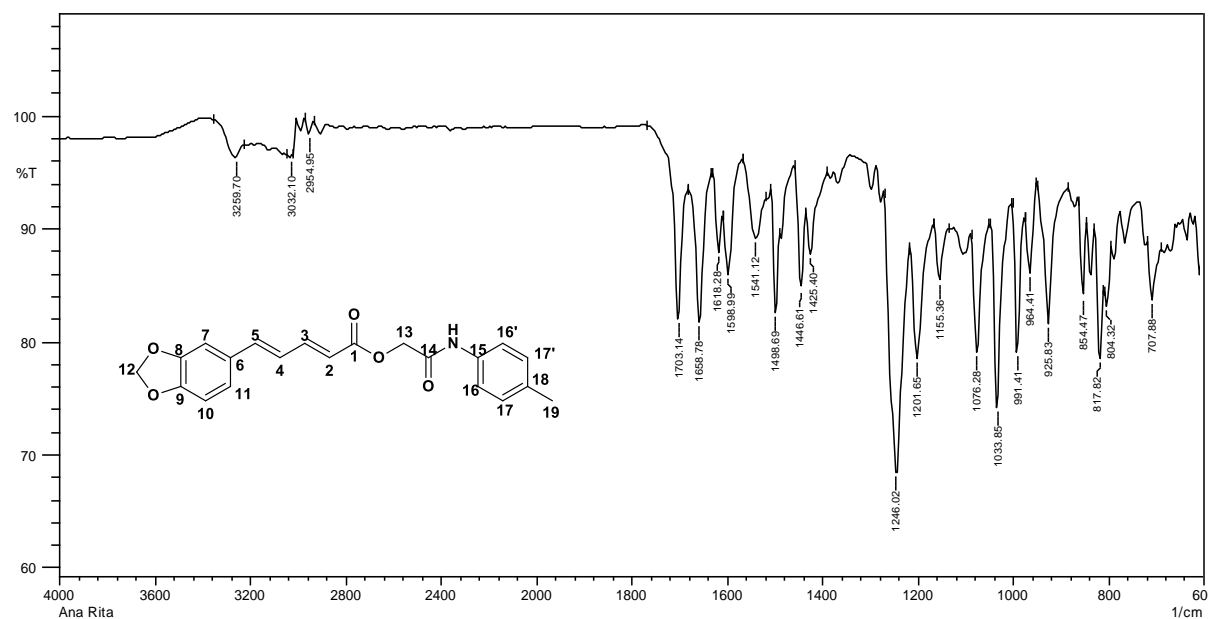
**Espectro 149.** Espectro de IV (KBr) do HE02.



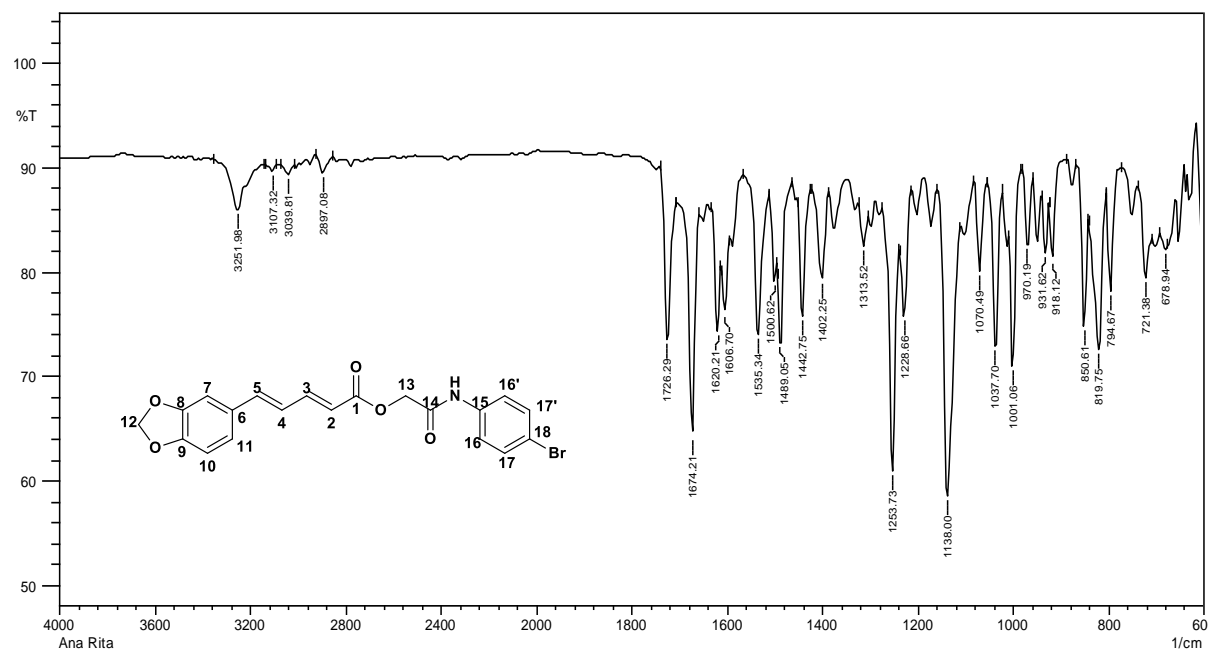
**Espectro 150.** Espectro de IV (KBr) do HE03.



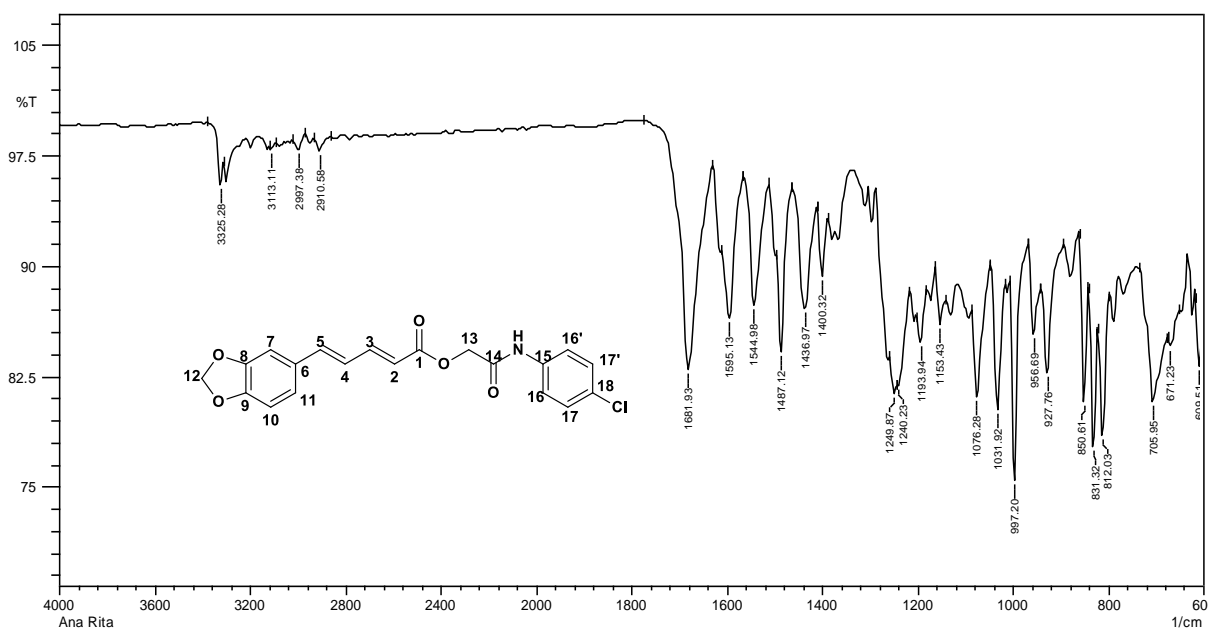
**Espectro 151.** Espectro de IV (KBr) do HE04.



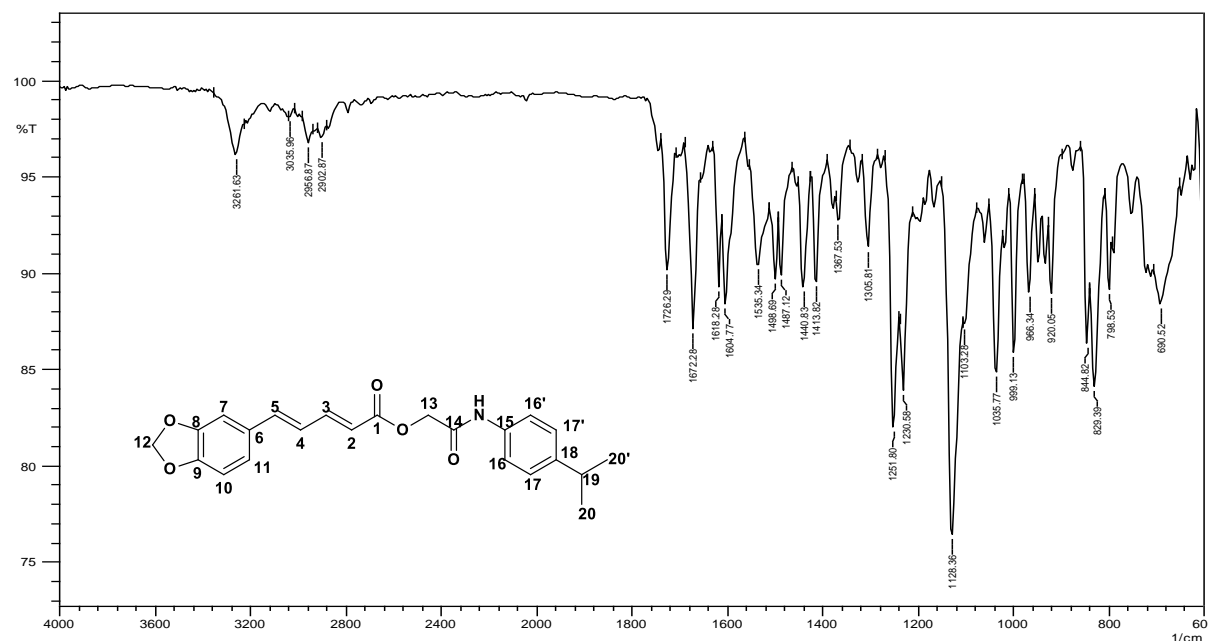
**Espectro 152.** Espectro de IV (KBr) do HE05.



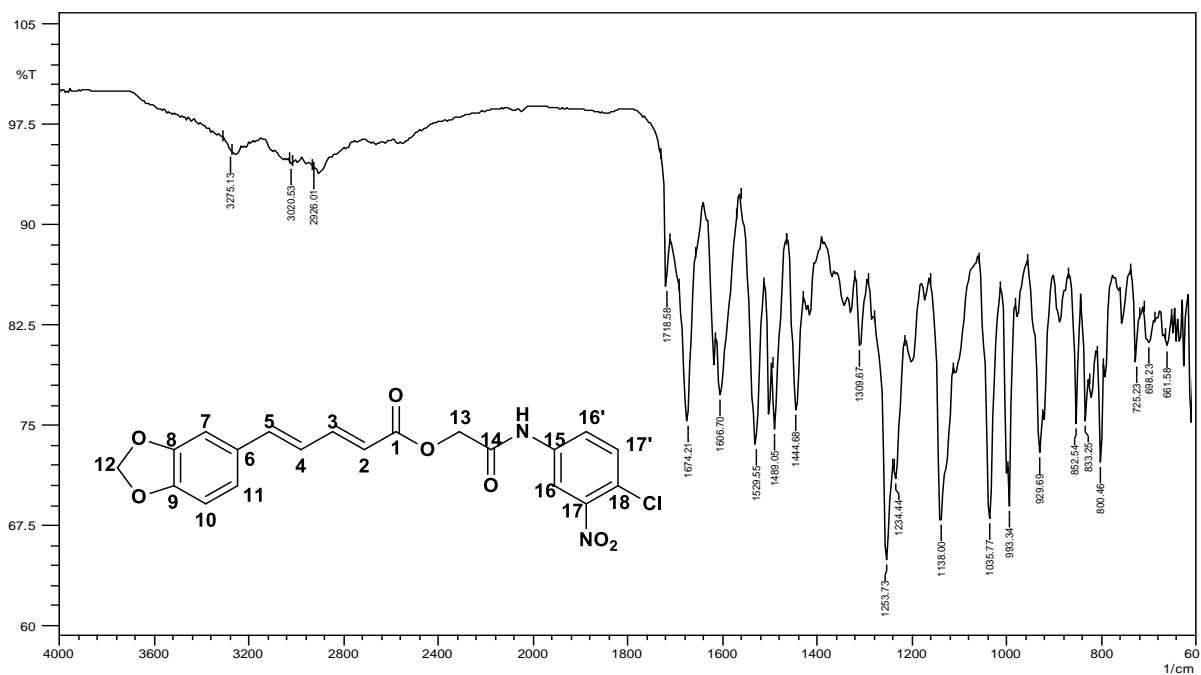
**Espectro 153.** Espectro de IV (KBr) do HE06.



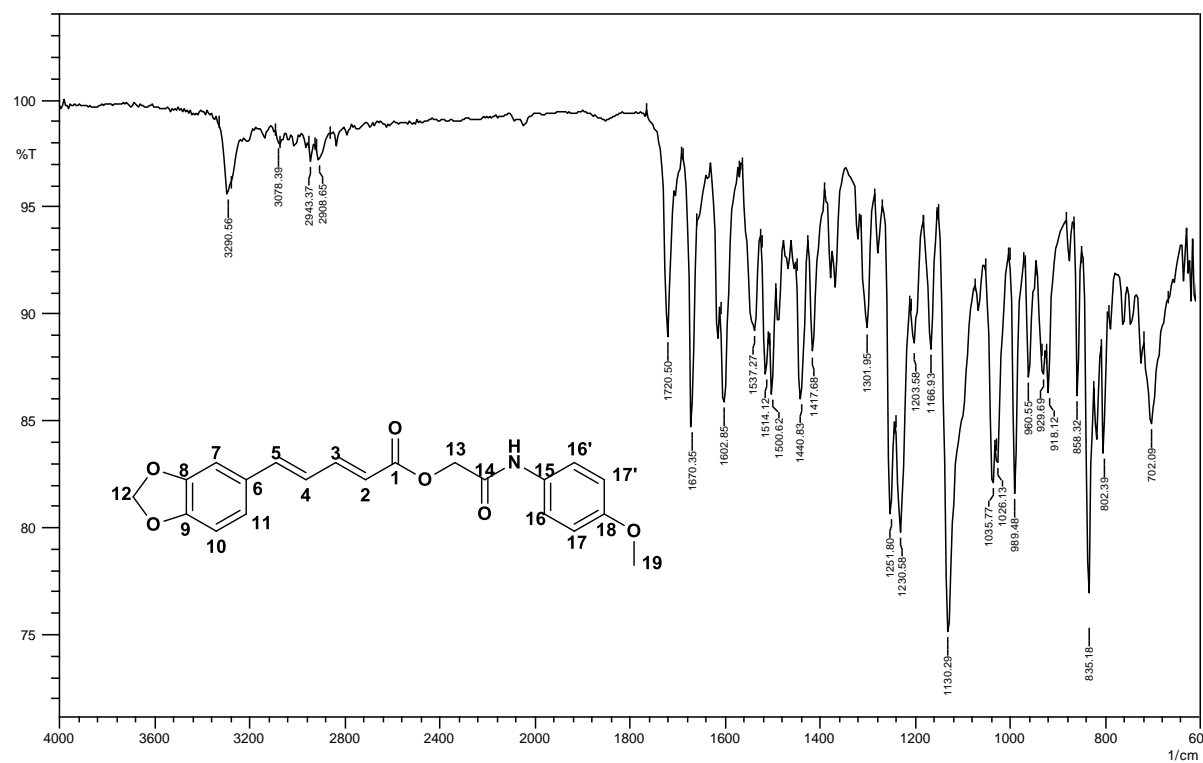
**Espectro 154.** Espectro de IV (KBr) do HE07.



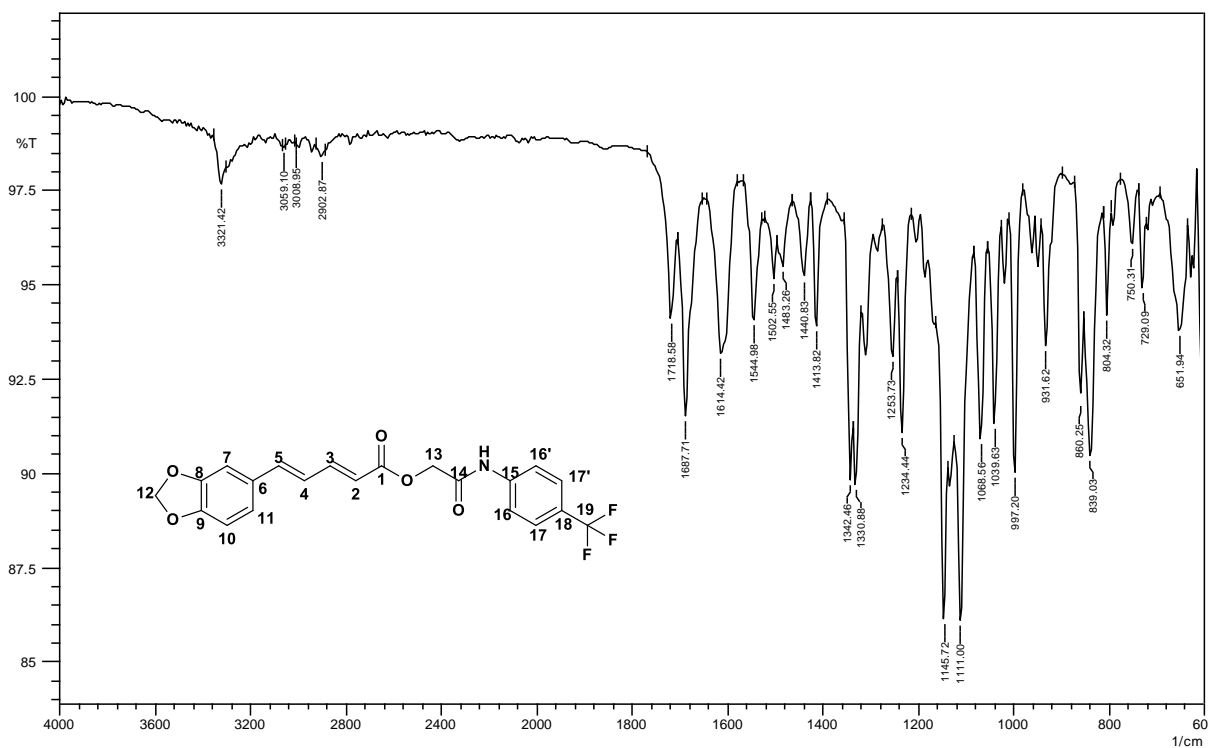
**Espectro 155.** Espectro de IV (KBr) do HE09.



**Espectro 156.** Espectro de IV (KBr) do HE10.

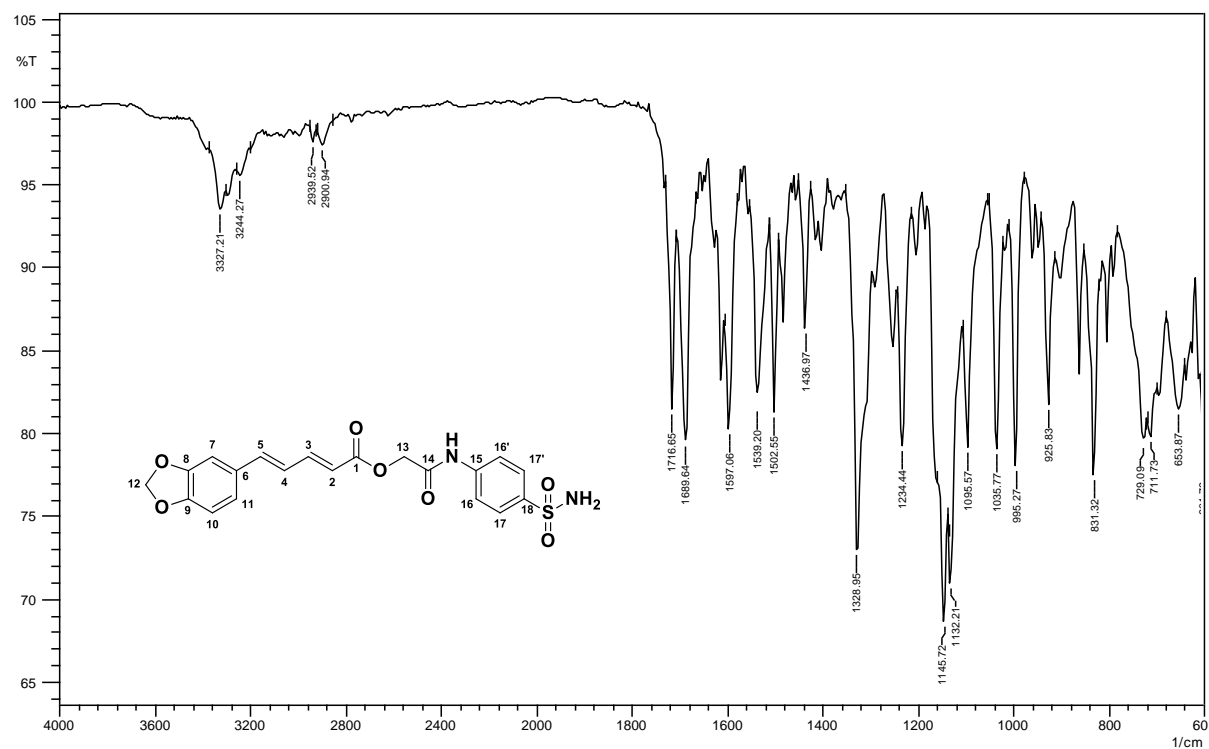


**Espectro 157.** Espectro de IV (KBr) do HE11.

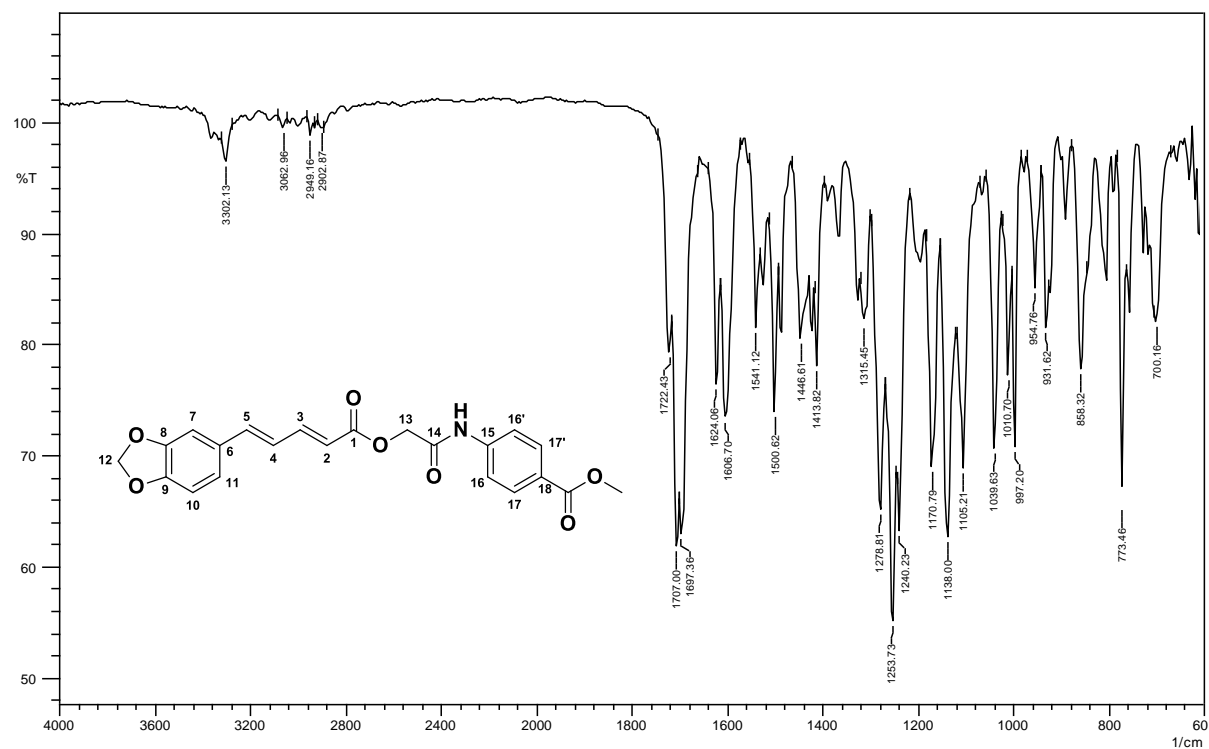




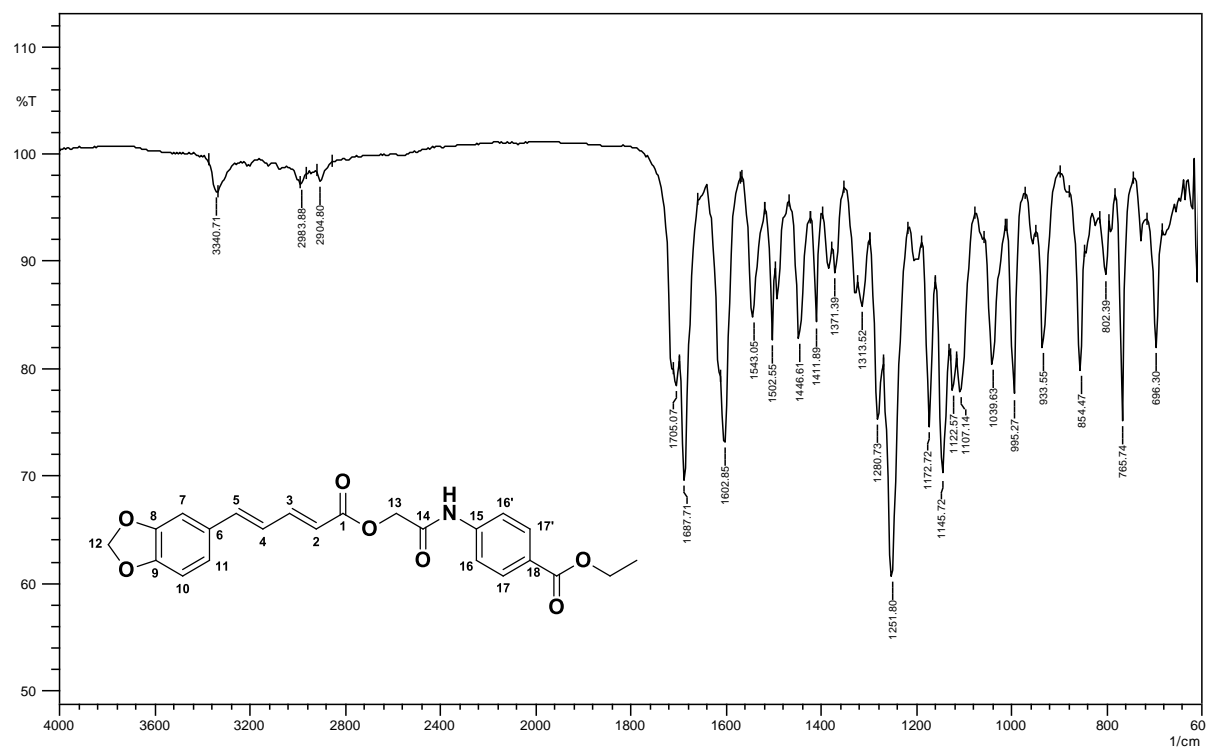
**Espectro 158.** Espectro de IV (KBr) do HE12.



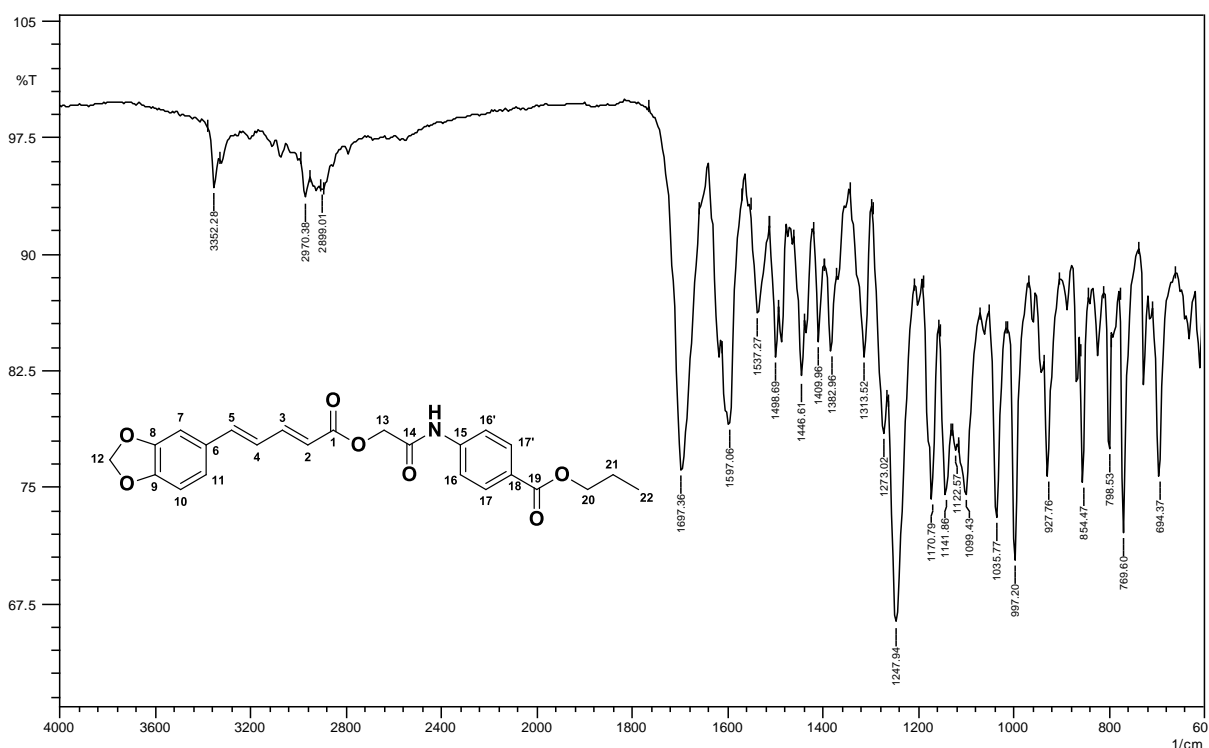
**Espectro 159.** Espectro de IV (KBr) do HE13.



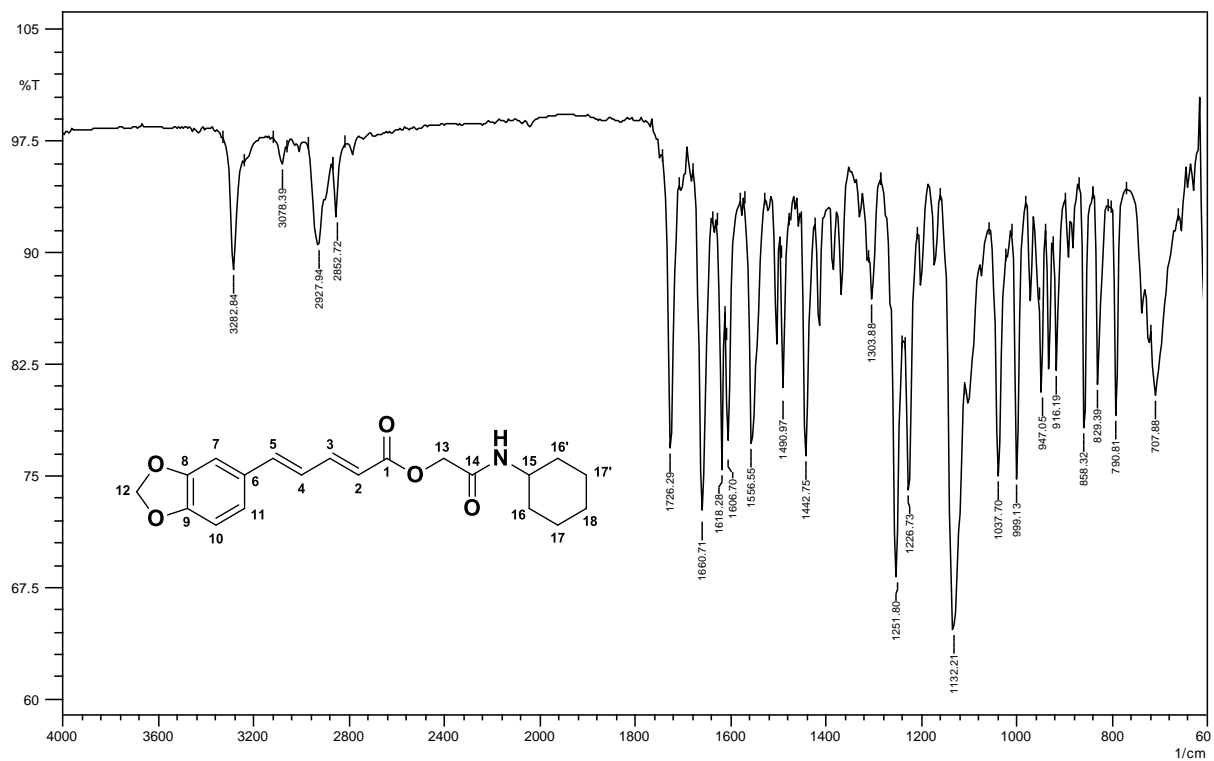
**Espectro 160.** Espectro de IV (KBr) do HE14.



**Espectro 161.** Espectro de IV (KBr) do HE15.



**Espectro 162.** Espectro de IV (KBr) do HE16.



## 5.4 Discussão das avaliações biológicas

### 5.4.1 Estudos *in silico*

#### 5.4.1.1 Estudo *in silico* das propriedades físico-químicas dos derivados da piperina

As propriedades físico-químicas determinadas teoricamente dos novos derivados HE1-16 estão apresentadas na Tabela 20 e indicam que todos os derivados devem possuir uma boa permeabilidade da membrana plasmática.

**Tabela 20** - Propriedades físico – químicas dos amidos ésteres HE01-16.

Derivados da piperina	ALH	DLH	MM	cLogP	TPSA (Å <sup>2</sup> )
HE01	5	1	351,35	3,46	73,86
HE02	7	1	396,35	2,54	119,68
HE03	5	1	379,41	4,22	73,86
HE04	5	1	365,38	3,81	73,86
HE05	5	1	430,25	4,19	73,86
HE06	5	1	385,80	4,07	73,86
HE07	5	1	393,43	4,65	73,86
HE09	7	1	430,80	3,15	119,68
HE10	6	1	381,38	3,39	83,09
HE11	8	1	419,35	4,31	73,86
HE12	8	2	430,43	2,23	142,40
HE13	7	1	409,39	3,38	100,16
HE14	7	1	423,42	3,78	100,16
HE15	7	1	437,44	4,24	100,16
HE16	5	1	357,40	3,31	73,86

**ALH:** aceptores de ligações de hidrogênio; **DLH:** doadores de ligações de hidrogênio; **MM:** massa molecular em g mol<sup>-1</sup>; **c LogP:** lipofilicidade; **TPSA:** área de superfície polar.

Os números de aceptores de hidrogênio variam entre 5 e 8 e o número de doadores de ligações de hidrogênio variam entre 1 e 2, portanto obedecem a regra de Lipinski, onde o número de aceptores de ligação de hidrogênio  $\leq 10$  e o número de doadores de ligação de hidrogênio  $\leq 5$ . Outro aspecto observado é que as massas molares dos derivados analisados está abaixo de 500 g/mol e o cLogP (lipofilicidade) está abaixo de 5 em todos os derivados, ambas características respeitam a regra dos cinco. Com exceção do derivado HE12, todos os compostos apresentaram TPSA inferior a 140 Å<sup>2</sup>, o qual indica uma boa permeabilidade da molécula na membrana plasmática celular (VEBER et al., 2002).

Na Tabela 21 estão apresentados os resultados para a solubilidade, número de rotações rotativas, porcentagem de absorção e drug-likeness dos amido ésteres sintetizados. A

solubilidade em água é uma característica importante para a absorção e distribuição de fármacos no organismo. Os valores de Log S representam a solubilidade de acordo com a escala: insolúvel < -10 < pouco solúvel < -6 < moderado < -4 < solúvel < -2 < muito solúvel < 0 < altamente solúvel (ALI et al., 2012). Foi observado que os valores de LogS das 16 moléculas analisadas apresentaram valores entre -4,32 e -5,62, que indica solubilidade moderada nos líquidos biológicos.

**Tabela 21.** Solubilidade, NLR, porcentagem de absorção e *drug-likeness* dos derivados HE (01-16).

Derivados da piperina	LogS	NLR	% ABS	Drug-likeness
HE01	-4,42	8	83,52	-0,62
HE02	-4,88	9	72,50	-0,79
HE03	-4,93	9	83,52	-0,43
HE04	-4,77	8	83,52	-0,56
HE05	-5,26	8	83,52	-0,43
HE06	-5,16	9	83,52	-0,12
HE07	-5,30	9	83,52	0,17
HE09	-5,62	9	72,50	-0,90
HE10	-4,44	9	80,33	-0,29
HE11	-5,20	9	83,52	-0,62
HE12	-4,32	9	59,87	-0,54
HE13	-4,57	10	74,44	-0,06
HE14	-4,87	11	74,44	0,01
HE15	-5,14	12	74,44	0,28
HE16	-4,49	8	83,52	0,24

**LogS** – coeficiente de solubilidade determinado pelo método Ali (ALI et al., 2012); **NLR** – número de ligações rotativas; **%ABS** – porcentagem de absorção oral, valor teórico obtido com o auxílio da equação  $\%ABS = 109 - (0.345 \times TPSA)$ ; **Drug-likeness** em valor quantitativo foi calculado no Molsoft (<http://www.molsoft.com>).

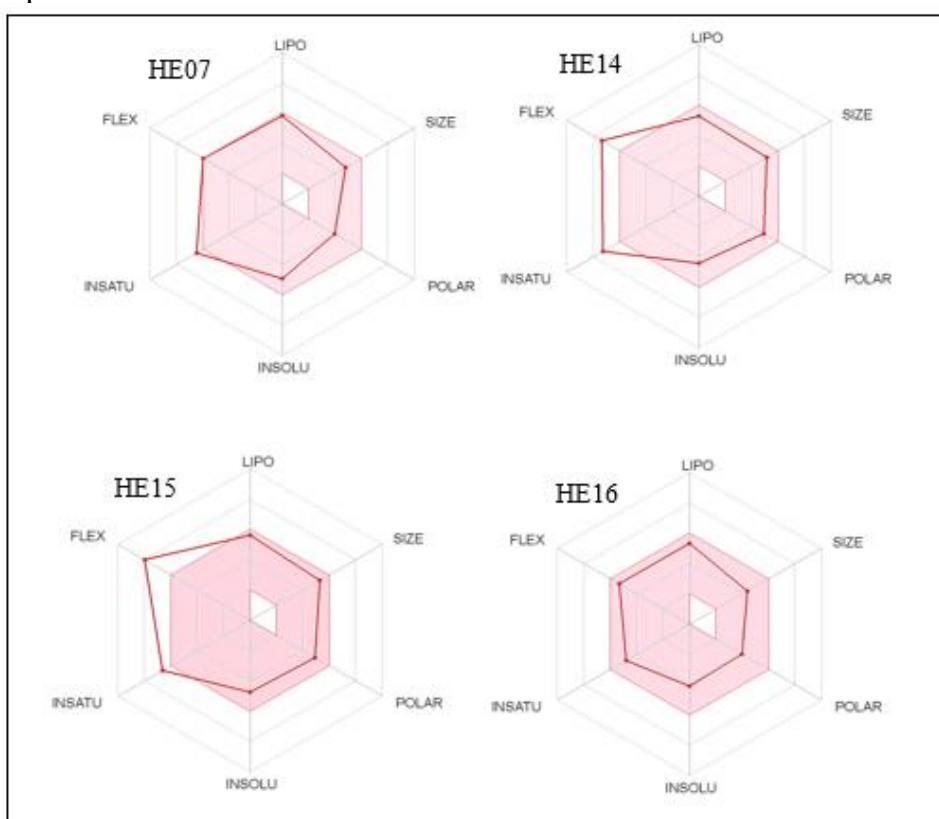
Os resultados indicam que todos os derivados apresentam uma absorção de moderada a alta (62 a 84 %), exceto o derivado HE12 que apresentou absorção de 59,87. A determinação da %ABS depende da área de superfície polar molecular topológica (TPSA), que é um parâmetro relacionado com o transporte molecular passivo através das membranas e permite a predição teórica da absorção gastrointestinal humana e da passagem pela barreira hematoencefálica (SHITYAKOV et al. 2013). O número de ligações rotativas, não é tão considerada para os parâmetros de *Linpiski* (Regra dos 5) mais para Muegge e colaboradores (2001) o NLR é um parâmetro para avaliar o *drug-likeness*. Os NLR ficaram entre 8 e 15. Para esse autor, os valores de NLR tem que ser menor ou igual a 15 ( $NLR \leq 15$ ), portanto, nenhum composto violou a regra (MUEGGE et al, 2001).

O *drug-likeness*, é um importante índice que indicam se um determinado composto tem similaridade com fármacos disponíveis comercialmente, e consequentemente se um composto

será um bom candidato a fármaco. Na tabela 21 observa-se que só os compostos HE07; HE14; HE15 e HE16, apresentaram valores positivos para o “drug-likeness”, indicando assim que os derivados investigados possuem fragmentos e/ou propriedades físicas com a maioria dos fármacos comerciais.

As moléculas com valores de *drug-likeness* positivos foram analisadas utilizando o gráfico de correlação *Bioavailability Radar* plotado no programa Swiss ADME (Figura 15). Apenas a Molécula HE16 não ultrapassou os limites da área plotada, podendo afirmar que é a molécula que apresenta as melhores condições para biodisponibilidade se administrada por via oral.

**Figura 15.** Gráfico do radar de biodisponibilidade dos compostos HE07, HE14, HE15 e HE16 – apresenta a correlação entre tamanho da molécula, flexibilidade, solubilidade, lipofilicidade, saturação e polaridade.



Legenda: Limites da área rósea: **LIPO** (lipofilicidade)  $-0,7 < XLogP3 < +5,0$ ; **SIZE** (Tamanho da molécula)  $150 \text{ g/mol} < MM < 500 \text{ g/mol}$ ; **POLAR** (polaridade)  $20 \text{ \AA}^2 < TPSA < 130 \text{ \AA}^2$ ; **INSOLU** (Insolubilidade)  $0 < \text{Log } S < 6$ ; **INSATU** (insaturações)  $0 < \text{Fração } Csp^2 \text{ ou } Csp < 0,25$  **FLEX** (flexibilidade)  $0 < NLR < 9$

#### 5.4.1.2 Estudo *in silico* de toxicidade dos derivados da piperina

Os estudos *in silico* com o objetivo de prever possíveis propriedades toxicológicas tem ganho destaque, complementando os estudos *in vitro* e *in vivo*. As análises *in silico* tem a vantagem de avaliações mais rápidas, baixo custo e até mesmo a redução de ensaios toxicológicos em animais. A Tabela 22 apresenta os resultados de testes *in silico* de toxicidade dos derivados sintetizados da piperina. Os riscos considerados foram: mutagênico, tumorigênico, irritante e reprodutivo.

**Tabela 22.** Análise de toxicidade dos derivados da piperina.

Compostos	Toxicidade			
	Mutagênico	Tumorigênico	Irritante	Reprodutivo
Piperina	-	-	-	+++
HE01	-	-	-	+++
HE02	-	-	-	+++
HE03	-	-	++	+++
HE04	-	-	-	+++
HE05	-	+++	-	+++
HE06	-	-	-	+++
HE07	-	-	-	+++
HE09	-	-	-	+++
HE10	-	-	-	+++
HE11	-	-	-	+++
HE12	-	-	-	+++
HE13	-	-	-	+++
HE14	-	-	-	+++
HE15	-	-	-	+++
HE16	-	-	-	+++

Legenda: (-) – não    (+++) – Alta    (+) – baixa    (++) – média

Em todos os candidatos observamos um efeito reprodutivo de alto risco proveniente das insaturações entre o anel aromático e a carbonila da piperina, efeito que se repete nos seus derivados. O composto HE03 apresenta um possível risco irritante médio. O composto HE05 apresenta um risco alto para o efeito tumorigênico. Com exceção das moléculas HE03 e HE05 as demais apresentam o efeito reprodutivo proveniente da amida natural piperina.

### 5.4.1.3 Estudo *in silico* das interações da piperina e seus derivados com proteínas e enzimas

Além dos parâmetros físico-químicos também foi realizado a análise quanto a interação destas novas moléculas com as proteínas e com as enzimas hepáticas (Tabela 23), principalmente as isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase, denominadas comumente como CYP, as quais são responsáveis pela metabolização de xenobióticos (HOLLENBERG, 2002).

Essa família de enzimas, quando inibida por quaisquer moléculas alteram as condições de biotransformação, podendo acarretar interações medicamentosas por combinação de fragmentos de fármacos diversos (HOLLEMBERG, 2002). Essas interações poderão ocasionar tanto uma inativação como uma potencialização de um determinado fármaco, levando a mesmo um aumento de sua toxicidade (HUANG et al., 2008).

**Tabela 23.** Comportamento farmacocinético dos protótipos mediante padrões de absorção, interação com p-GP e inibição das isoformas da enzima citocromo P-450 oxidase.

Composto	AGI	BHE	p-GP	CYP1A2	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4
HE01	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE02	Alta	N	N	S	S	S	N	S
HE03	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE04	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE05	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE06	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE07	Alta	S	N	S	S	S	N	S
HE09	Alta	N	N	S	S	S	N	S
HE10	Alta	N	N	S	S	S	N	S
HE11	Alta	N	N	S	S	S	N	S
HE12	Baixa	N	N	S	N	S	N	S
HE13	Alta	N	N	S	S	S	N	S
HE14	Alta	N	N	S	S	S	S	S
HE15	Alta	N	N	S	S	S	S	S
HE16	Alta	S	N	S	S	S	N	S

LEGENDA: S- sim N – não

AGI – Absorção pelo gastrointestinal (alta – quando a absorção ocorre passivamente)

BHE – permeia a barreira hematoencefálica (Sim – molécula capaz de atravessar a barreira)

p-GP – associação com a p-glicoproteína (Sim – a molécula associa-se a proteína como um substrato)

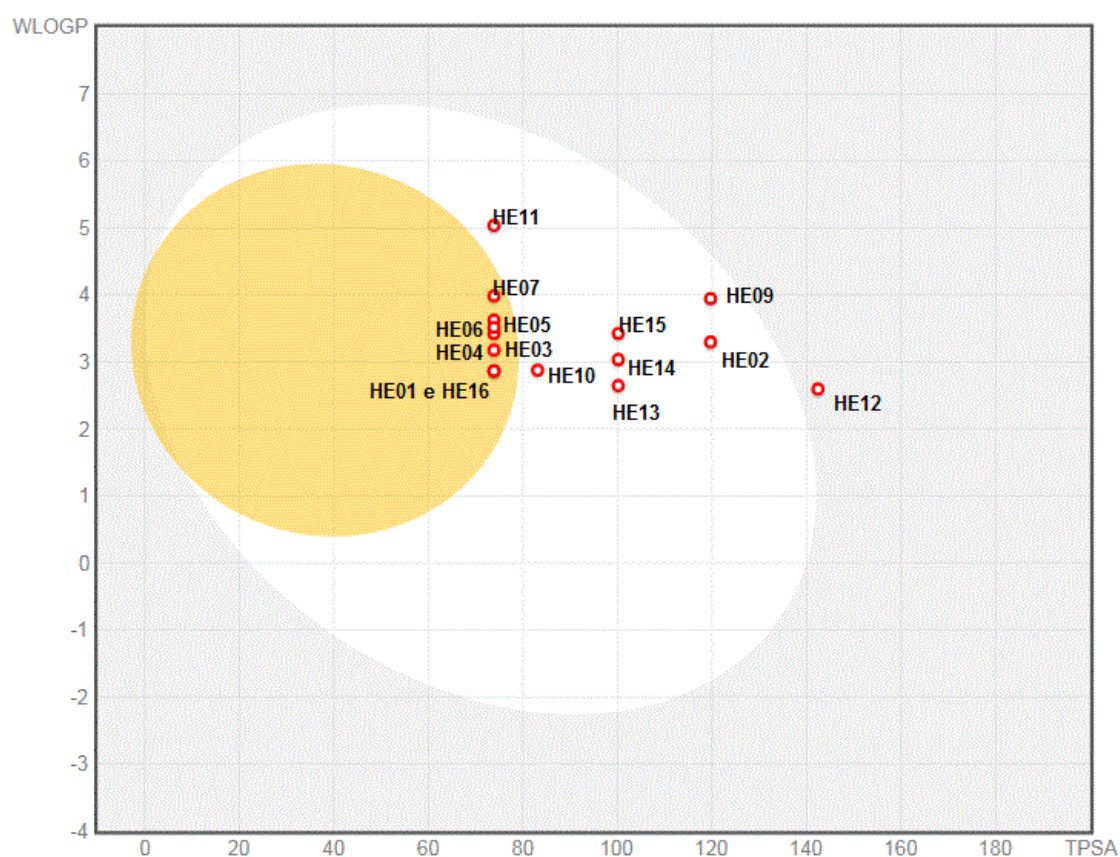
CYP...- isoformas da enzima cromossomo P-450 oxidase (Sim: inibidor da enzima /Não: não inibe a enzima).

A absorção gastrointestinal foi alta em todos os derivados, com exceção do derivado HE12, o qual foi demonstrado pelo estudo físico-químico onde seu TPSA foi de 142,40, com uma absorção teórica de 59,87%. Outro parâmetro exposto na Tabela 23 é a interação com a p-glicoproteína, que segundo Azevedo e colaboradores (2009), trata-se de um produto do gene multirresistente a fármacos (MDR1), agindo como uma bomba de efluxo dependente de ATP a



qual transporta fármacos e demais xenobióticos para fora das células hepáticas, renais, gastrointestinais, das células das barreiras hemato-teciduals, cerebrais e tumorais. Portanto está envolvida de forma intrínseca com todos os parâmetros ADME dos diversos fármacos. A associação da molécula do fármaco com a p – glicoproteína como substrato poderá acarretar na sua atuação homeostásica, deixando assim a proteína indisponível para outros processos biológicos, diminuindo a sua biodisponibilidade. Porém a relação de fármacos de difícil excreção com essa proteína é de extrema importância para evitar a bioacumulação e consequentemente efeitos adversos. Na Figura 16 observa-se o BOILED-Egg plotado no programa SwissADME, no qual relaciona a área superficial topológica polar (TPSA) com o LogP (lipofilicidade).

**Figura 16.** Gráfico da Correlação entre WLogP e TPSA, na forma de BOILED-Egg, para os derivados da piperina.



Legenda:  BHE  AGI ● p-GP+ ● p-GP-

Nota: BHE – moléculas na área amarela do gráfico são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica

AGI – Moléculas absorvidas passivamente pelo trato gastrointestinal

p-GP+ - Moléculas que se associam a p-glicoproteína

p-GP- - Moléculas que não se associam a p-glicoproteína

Todas as moléculas analisadas apresentaram na forma de p-GP-, que é de interesse da indústria farmacêutica, devido a ligação de fármacos as proteínas plasmáticas limitarem a concentração dos mesmos nos tecidos e nos alvos farmacológicos.

Outra análise importante é a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), a qual foi avaliada e exposta na tabela 23 e na Figura 16. A capacidade de um composto ultrapassar a barreira hematoencefálica só é importante quando o alvo farmacológico é alguma função cerebral, como exemplo os psicofármacos. Se não for para essa função, poderá surgir efeitos colaterais tais como sonolência, cefaleia, vertigem, perda parcial da visão, entre outros. As moléculas na área amarela do gráfico apresentam essa capacidade de ultrapassar tanto a BHE (as moléculas: HE01, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07 e HE16) como o trato gastrointestinal.

A absorção pelo trato gastrointestinal é de grande importância, pois está característica está ligada diretamente com a possibilidade de o fármaco ser administrado por via oral. A área branca do gráfico da Figura 16 é a área onde que quase exclusivamente engloba todos os derivados com exceção do HE12, o qual se encontra na área cinza. Moléculas plotadas na área cinza apresentam dificuldades de absorção. Para Daina e colaboradores (2016), as moléculas que ficam plotadas fora do gráfico de correlação são consideradas como fora dos padrões para um possível candidato a fármaco.

#### **5.4.2 Resultado dos ensaios de toxicidade pré-clínica aguda e de atividade antitumoral *in vivo* do HE02 e HE03**

##### **5.4.2.1 Resultados da toxicidade pré-clínica aguda**

O Quadro 1 mostra que o composto HE02 não induziu nenhum efeito tóxico em nenhuma das doses testadas, exceto nas últimas 4h, os animais que receberam a dose de 2000 mg/kg apresentaram diarreia. O Quadro 2 mostra que o composto HE03 induziu, nos primeiros 30 minutos, alguns efeitos como contorções abdominais, abdução das patas do trem posterior e força para agarrar diminuída, nas duas doses testadas. Na dose de 300 mg/kg, foi observado ainda efeitos do tipo escalar. E na maior dose (2000 mg/kg) também foram observados efeitos depressores do SNC como resposta ao toque diminuído. Após 30 minutos não foi observado nenhum efeito em ambas as doses. Ainda, o tratamento com as doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg de HE02 provocou mortes em apenas 2 animais experimentais do grupo de 2000 mg/kg.

Assim, com base no Guia n. 423 da OECD 2001, a  $DL_{50}$  foi estimada em torno de 1000mg/kg e a amostra é considerada é classificada na categoria 4 da “Globally Harmonized Classification System” (GHS). O tratamento com HE03 nas doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg não provocou mortes nos animais experimentais nas doses testadas. Assim, com base no Guia n. 423 da OECD, a  $DL_{50}$  foi estimada em torno de 5000 mg/kg e a amostra é considerada não classificável ou classificada na categoria 5 da “Globally Harmonized Classification System” (GHS).

**Quadro 1.** Efeitos da administração i.p. de doses únicas de HE02 em camundongos.

Grupo		M/T	Efeitos
Controle		0/3	Nenhum
300 mg/kg		0/3	Nenhum
2000 mg/kg	Experimento 1	0/3	Nenhum
	Experimento 2	2/3	Diarréia

**M/T** – Número de animais mortos/número de animais tratados

**Quadro 2.** Efeitos da administração i.p. de doses únicas de HE03 em camundongos.

Grupo		M/T	Efeitos comportamentais
Controle		0/3	Nenhum
HE03 (300 mg/kg)	Experimento 1	0/3	Força para agarrar diminuída, contorções abdominais, escalar
	Experimento 2	0/3	Contorções abdominais, abdução das patas do trem posterior
HE03 (2000 mg/kg)	Experimento 1	0/3	Contorções abdominais, resposta ao toque diminuído, abdução das patas do trem posterior, força para agarrar diminuída
	Experimento 2	0/3	Contorções abdominais, resposta ao toque diminuído, força para agarrar diminuída

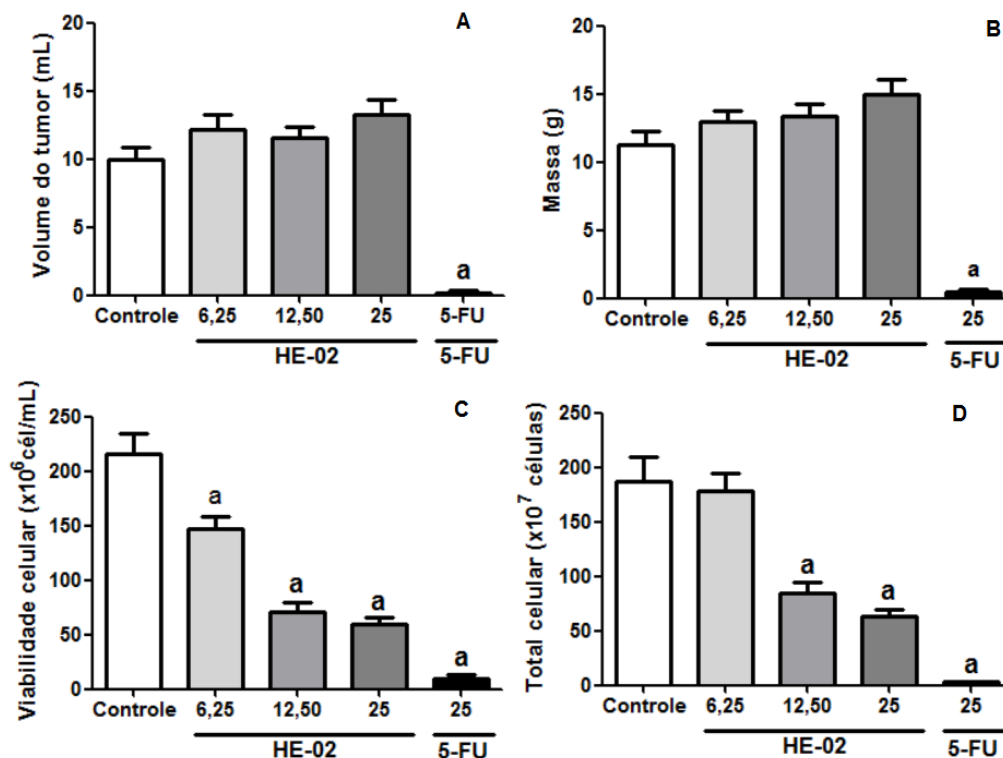
**M/T** – Número de animais mortos/número de animais tratados

#### 5.4.2.2 Atividade antitumoral *in vivo* em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE)

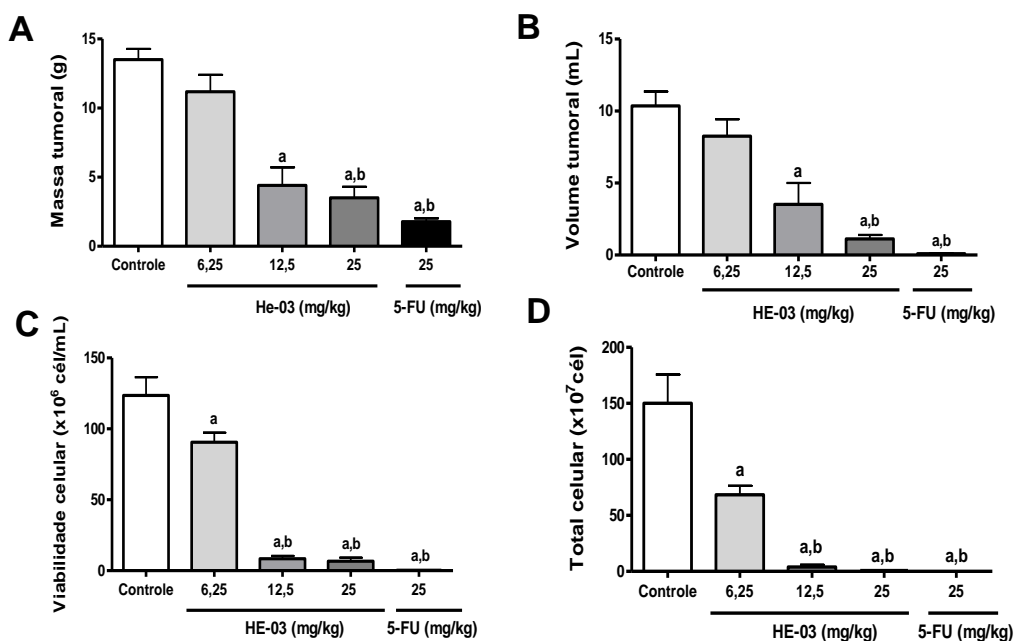
Os resultados obtidos nos estudos *in vivo* foram expressos em média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m.) e analisados empregando-se o teste *t-Student* não pareado, para análise de duas populações distintas, e teste de análise de variância (ANOVA) *one-way*, para a comparação de mais de duas amostras, seguido do teste de Tukey (para variáveis paramétricas). Os resultados foram considerados significativos quando  $p < 0,05$ .

Em relação aos parâmetros volume e massa tumoral, não foram observados diminuição significativa nos animais tratados com HE02. Com relação ao HE03 foi observado uma diminuição significativa nos animais tratados nas doses de 12,5 e 25 mg/kg. Em relação aos parâmetros viabilidade e total celular, foi observado uma diminuição significativa nos animais tratados com HE02 e HE03 em todas as doses experimentais. Não houve diferença significativa entre as doses de 12,5 e 25 mg/kg de HE02 e HE03, apresentando, potente atividade antitumoral *in vivo* frente CAE. Além disso, o HE03, nessa linhagem tumoral e nas concentrações de 6,25 e 12,5 mg/kg, reduziu os parâmetros avaliados semelhante ao 5-FU, utilizado como controle positivo nesse ensaio. Já o HE02 não conseguiu obter parâmetros semelhantes ao 5-FU. Os resultados estão apresentados na Figura 17 e 18.

**Figura 17.** Efeito do tratamento com HE02 e 5-FU em camundongos transplantados com CAE. A: massa tumoral. B: volume tumoral. C: viabilidade celular. D: total celular. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisados por ANOVA seguido de Tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle.



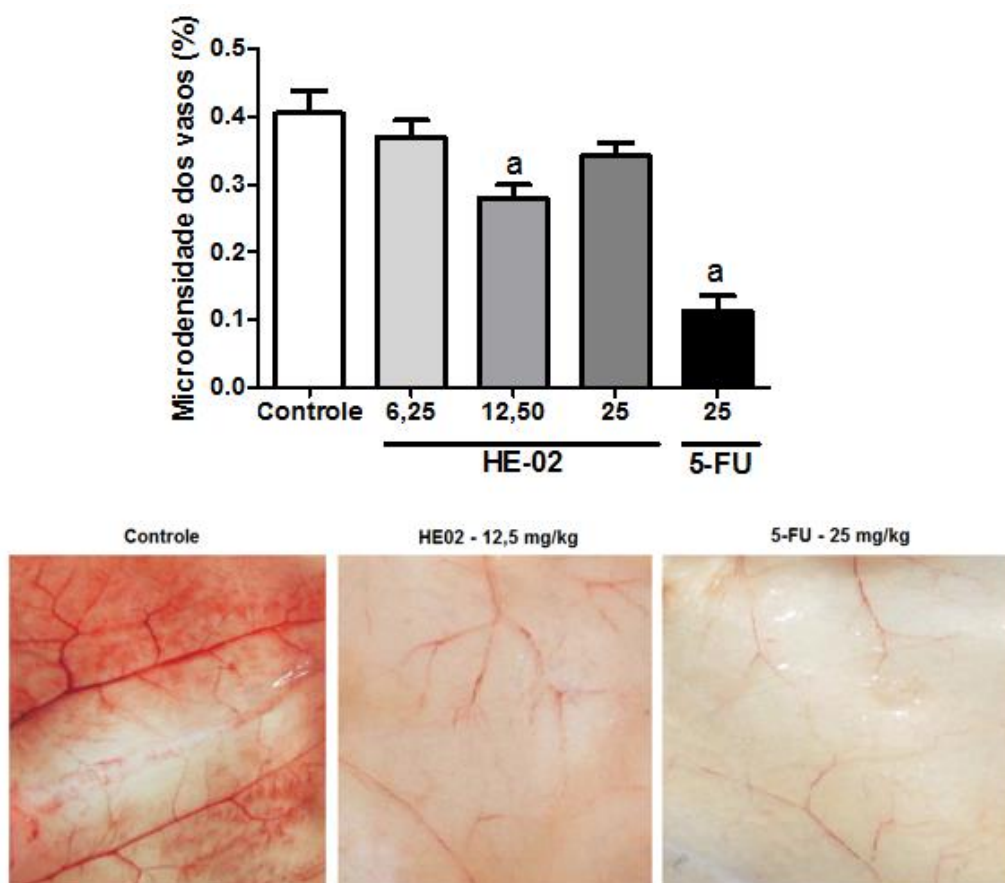
**Figura 18.** Efeito do tratamento com HE03 e 5-FU em camundongos transplantados com CAE. A: massa tumoral. B: volume tumoral. C: viabilidade celular. D: total celular. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisados por ANOVA seguido de Tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle. <sup>b</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo HE03 (6,25 mg/kg).



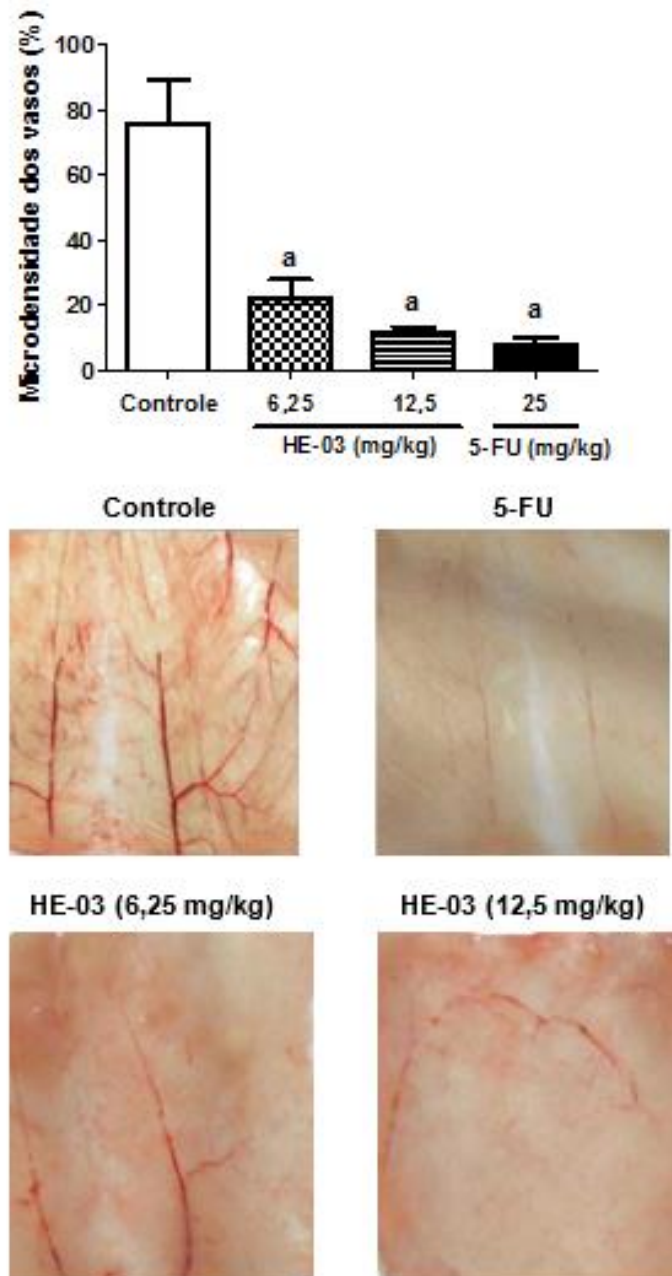
### 5.4.2.3 Atividades antiangiogênicas do HE02 e HE03

Ocorreu uma redução significativa na microdensidade dos vasos apenas no grupo tratado com 12,5 mg/kg de HE02. Uma redução significativa na microdensidade dos vasos foi observada nos grupos tratados com HE03 em ambas as doses. Os resultados apresentados na Figura 19 e 20 mostram que o HE02 e HE03, respectivamente, apresentam ação antiangiogênica.

**Figura 19.** Efeito do tratamento com HE02 e 5-FU na microdensidade dos vasos peritoneais de camundongos transplantados com CAE. A: Microdensidade dos vasos. Determinado pela área ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada. B: Imagem representativa da membrana peritoneal dos camundongos submetidos aos diferentes tratamentos. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisado por ANOVA seguido de Tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle.



**Figura 20.** Efeito do tratamento com HE03 e 5-FU na microdensidade dos vasos peritoneais de camundongos transplantados com CAE. A: Microdensidade dos vasos. Determinado pela área ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada. B: Imagem representativa da membrana peritoneal dos camundongos submetidos aos diferentes tratamentos. Dados apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de seis animais analisado por ANOVA seguido de Tukey. <sup>a</sup> $p < 0,05$  comparado ao grupo controle.





### 5.4.3 Resultados da atividade antibacteriana e antifúngica da piperina e seus derivados (HE01-16)

Na tabela 24 estão mostrados os resultados da avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos produtos, na concentração de 1024 a 16 µg/mL, onde foi observado que todas as cepas testadas não apresentaram sensibilidade aos produtos usados nos ensaios biológicos.

**Tabela 24.** Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM (µg/mL) dos compostos contra cepas bacterianas e fúngicas.

Produto	<i>S. aureus</i> ATCC-13150	<i>S. epidermidis</i> ATCC-12228	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-76645	<i>C. albicans</i> LM-108	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-18	<i>A. flavus</i> LM-714
HE01	+	+	+	+	+	+	+	+
HE02	+	+	+	+	+	+	+	+
HE03	+	+	+	+	+	+	+	+
HE04	+	+	+	+	+	+	+	+
HE05	+	+	+	+	+	+	+	+
HE06	+	+	+	+	+	+	+	+
HE07	+	+	+	+	+	+	+	+
HE09	+	+	+	+	+	+	+	+
HE10	+	+	+	+	+	+	+	+
HE11	+	+	+	+	+	+	+	+
HE12	+	+	+	+	+	+	+	+
HE13	+	+	+	+	+	+	+	+
HE14	+	+	+	+	+	+	+	+
HE15	+	+	+	+	+	+	+	+
HE16	+	+	+	+	+	+	+	+
Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+
Cloranfenicol 100 µg/mL	-	-	-	-----	-----	-----	-----	-----
Nistatina 100UI/mL	-----	-----	-----	-	-	-	-	-----
Fluconazol 50 µg/mL	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-

(-): Não houve crescimento do microorganismo; (+): Crescimento do micro-organismo; (-----): controle não usado nos ensaios.

Os resultados mostram que os compostos não apresentaram atividade sobre o crescimento dos microrganismos utilizados nos ensaios de atividade antimicrobiana, no caso, são considerados de fraca atividade ou inativos, conforme os critérios de Holetz et al., 2002; Sartoratto et al., 2004; Houghton et al., 2007.



# Seção Experimental

## 6. SEÇÃO EXPERIMENTAL

### 6.1 MATERIAIS

Todos os solventes e reagentes utilizados foram obtidos de fontes comerciais continham grau P.A ou espectroscópico. Os que não apresentavam a qualidade adequada foram purificados e secos quando necessários.

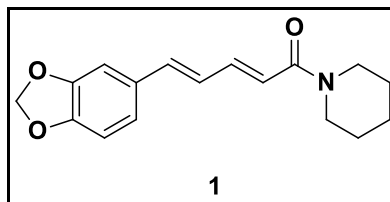
- ✓ **Solventes:** acetato de etila, diclorometano, tetrahidrofurano (THF), etanol, éter etílico, metanol, n-propanol, dimetilformamida (DMF), trietilamina, ácido acético.
- ✓ **Reagentes:** anilinas substituídas, ácido sulfúrico concentrado, ácido para-aminobenzóico, ciclohexalamina, bicarbonato de sódio, hidróxido de potássio, cloreto de cloroacetila.

### 6.2 EQUIPAMENTOS

Para os espectros de infravermelhos (IV) foram obtidos nos espectrômetros FTIR modelo IRPrestige-21, e foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM – UFPB). As determinações dos pontos de fusão foram feitas em placa de aquecimento MQAPF-3 e não sofreram correções (LPBS-DQ/UFPB). Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  (200, 400 e 500 MHz) e  $^{13}\text{C}$  (50, 100 e 125 MHz) unidimensional e bidimensional foram realizadas no LMCA (Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises da UFPB) utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna e os solventes: dimetilsulfóxido ( $\text{DMSO}-d_6$ ) e clorofórmio ( $\text{CDCl}_3$ ) na solubilização das amostras. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram medidos em unidade de parte por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento ( $J$ ) em Hertz (Hz). Já as análises elementares CHNS (Carbono, Hidrogênio, Nitrogênio e Enxofre), foram realizadas no instrumento Carlo Erba, modelo E-1110 (Central Analítica do Departamento de Química Fundamental da UFPE).

## 6.3 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS

### 6.3.1 Isolamento da amida piperidinil do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E)-4(E)-pentadienóico (piperina) (1) (Ikan, 1991)

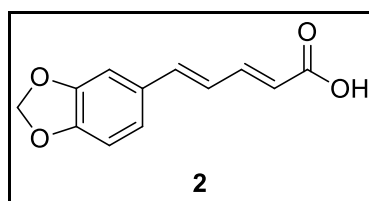


Numa aparelhagem de Soxhlet foram colocados 10 g de pimenta-do-reino e 150 mL de etanol a 95%. O sistema foi mantido em refluxo por aproximadamente 2 horas. Após concentrar o extrato em evaporador rotatório, foi então adicionado ao mesmo 10 mL de uma solução alcoólica de KOH 10% e depois filtrou o material precipitado. A solução alcoólica foi adicionada uma pequena quantidade de água, suficiente para que o meio se tornasse turvo. Após um período de 72 horas em repouso, formou-se um precipitado amarelo que foi filtrado sob pressão reduzida. O sólido obtido foi lavado com uma pequena quantidade de água gelada, seguido de éter etílico gelado. Foram obtidos 0,3 g.

Caracterização:

Ponto de fusão: 126-128°C (Lit.: 125-127°C). IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 2939 (C –  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 1631 (C = O); 1581-1442 (C =  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ); 1249 (O –  $\text{CH}_2$  – O); 930 (C –  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ).

### 6.3.2 Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (ácido pipérico) (2)



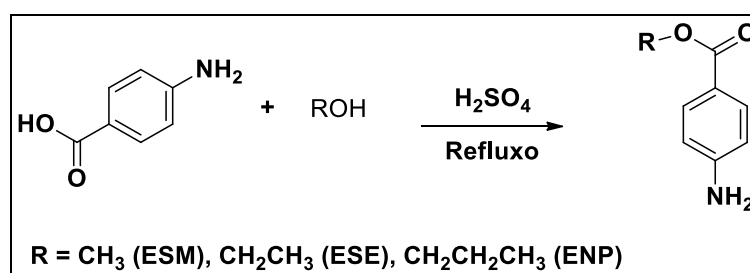
Num balão de 50 mL de capacidade foi feita uma suspensão de 2,20 g (7,72 mmol) de piperina em 22 mL de solução alcoólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob

refluxo e agitação por 20 horas. Após o termino da reação, a mistura foi filtrada, lavada com etanol e seca. O precipitado formado foi solubilizado em água e acidificado com HCl 10% até o pH 3. O precipitado formado com a uma coloração amarelada foi filtrado a pressão reduzida, lavada com água, seco e recristalizada em etanol. Foram obtidos 1,64 (92,43%).

Caracterização:

Ponto de fusão: 217-218 °C (216-217 °C). IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3448 (O-H), 2922 (C – H<sub>alif</sub>); 1678 (C = O); 1604-1419 (C = C<sub>Ar.</sub>); 1257 (O – CH<sub>2</sub> – O); 929 (C – H<sub>Ar</sub>).

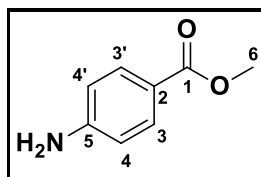
### 6.3.3 Preparação dos precursores das acetamidas A13. A14 e 15 através de esterificação do ácido paraminobenzóico (PABA)



### Procedimento Geral

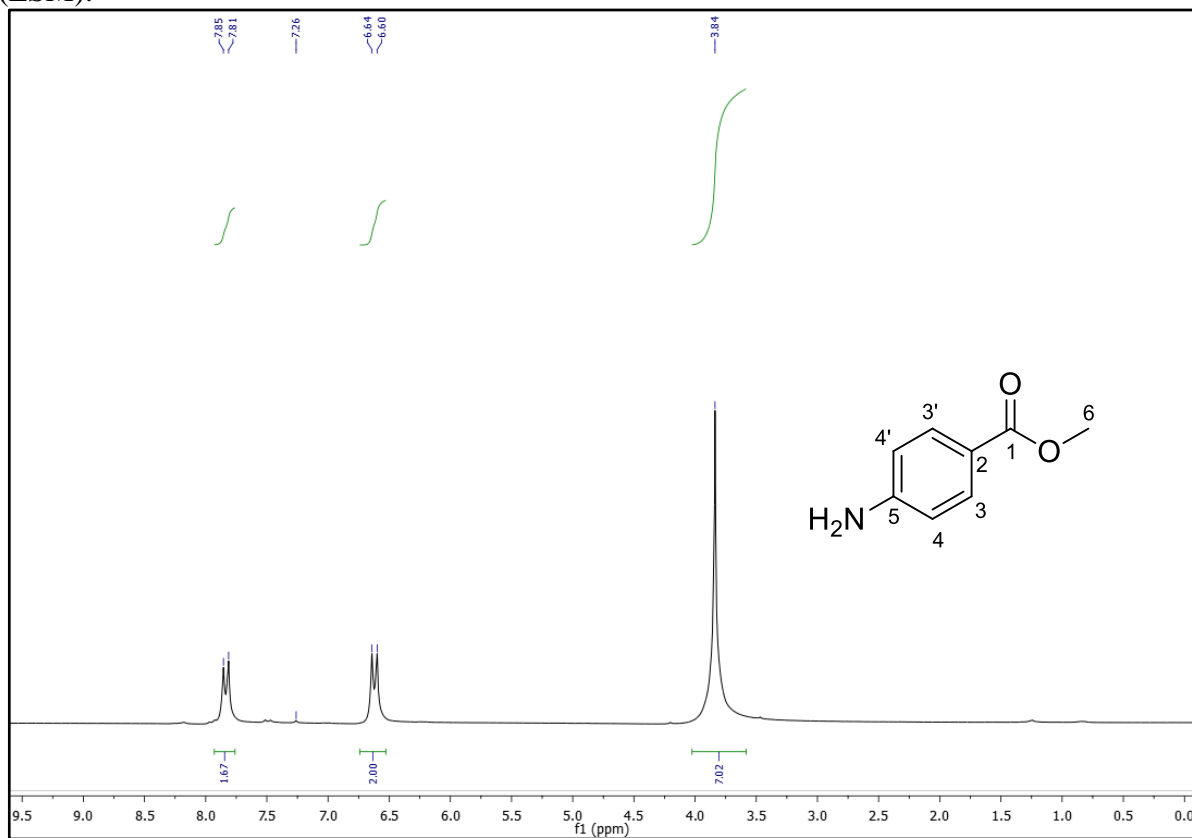
Em um balão de 250 mL adicionou 1,2 g de ácido p-aminobenzóico, 15 mL do respectivo álcool (etanol, metanol ou n-propanol), a mistura reacional foi agitada até que a maioria do sólido se dissolvesse (nem todo o sólido se solubiliza), adicionou-se lentamente 0,5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, conectou o balão a um condensador e levou ao aquecimento até o refluxo, deixando-o por um período de 1-2h refluxando. Após esse período deixou a mistura esfriar e a alcalinizou com cuidado com uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> até o pH 8-9, o sólido formado foi filtrado e lavado com água. Rendimentos obtidos entre 55-68 %

#### 4 - aminobenzoato de metila (ESM) (precursor A13)

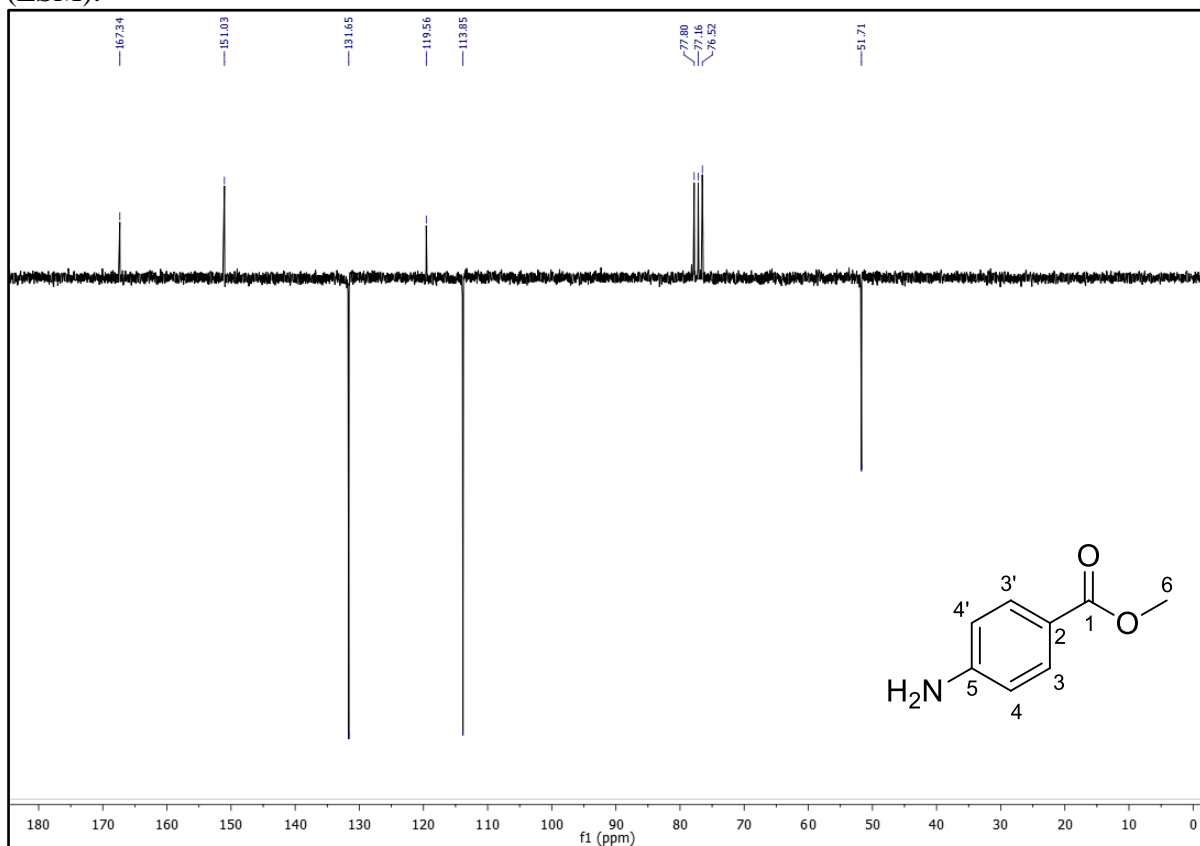


RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ): 7,83 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, H-3,3'); 6,62 (d,  $J = 8.5$  Hz, 2H, H-4,4'); 3,84 (s, H-6); 3,84 (s, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 167,34 (C-1); 119,56 (C-2), 131,65 (C-3,3'); 113,85 (C-4,4'); 151,03 (C-5); 51.71 (C-6).

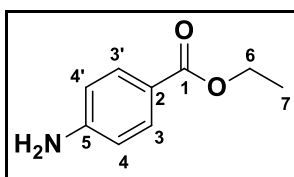
**Espectro 163.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de metila (ESM).



**Espectro 164.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de metila (ESM).

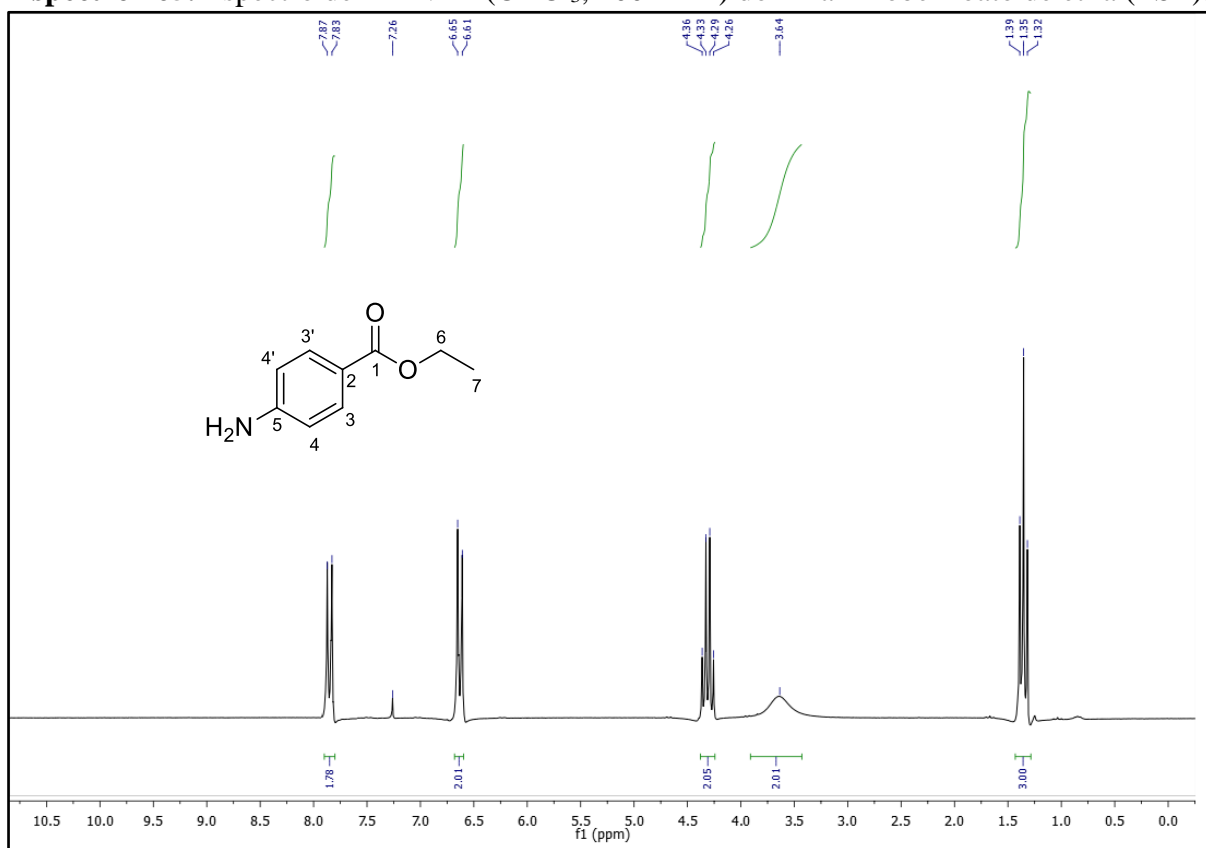


**4 - aminobenzoato de etila (ESE) (precursor A14)**

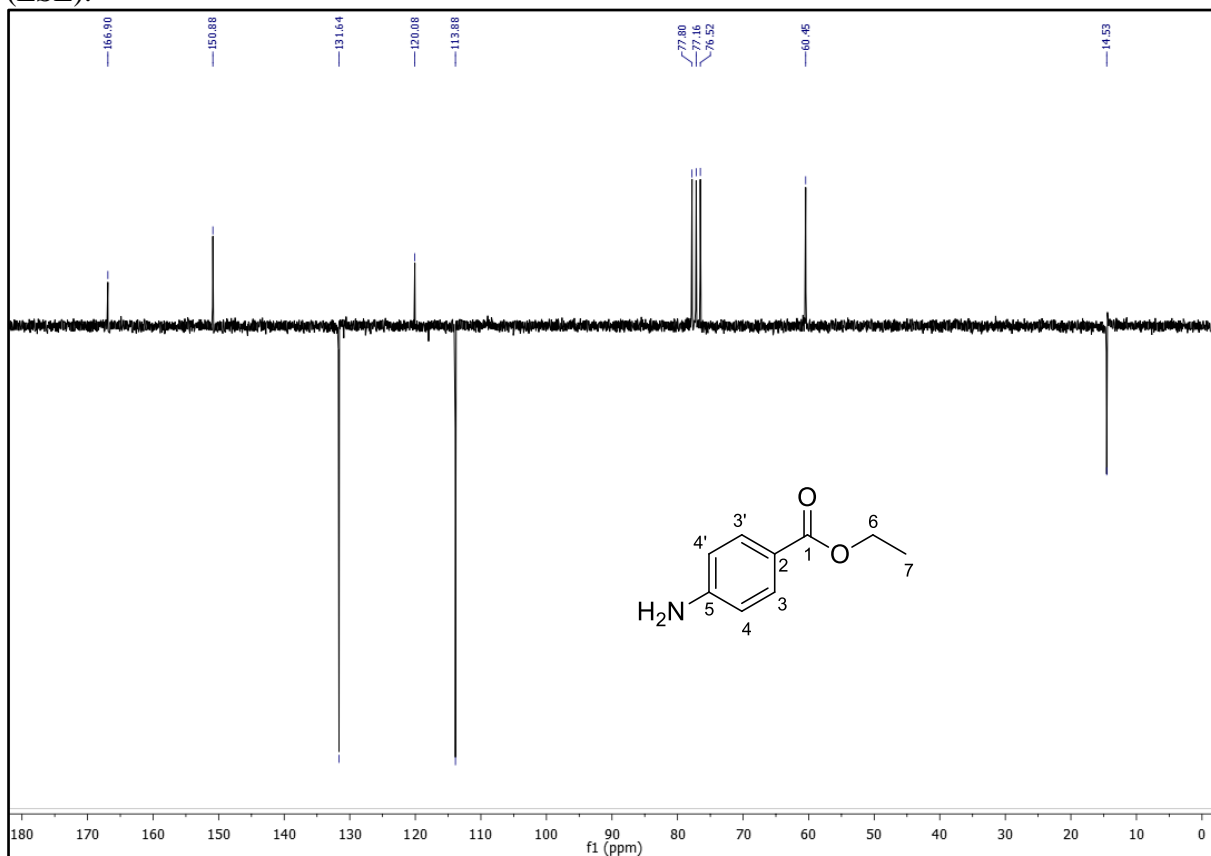


RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ): 7,85 (d,  $J = 8.7$  Hz, 2H, H-3,3'); 6,63 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-4,4'); 4,31 (q, 2H, H-6); 1,35 (t, 3H, H-7); 3.64 (s, 2H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 166,90 (C-1); 120,08 (C-2), 131.64 (C-3,3'); 113,88 (C-4,4'); 150,88 (C-5); 60.45 (C-6); 14,53 (C-7).

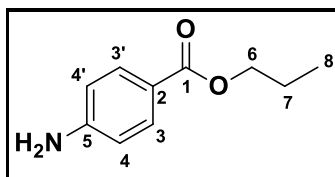
**Espectro 165.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de etila (ESE).



**Espectro 166.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de etila (ESE).

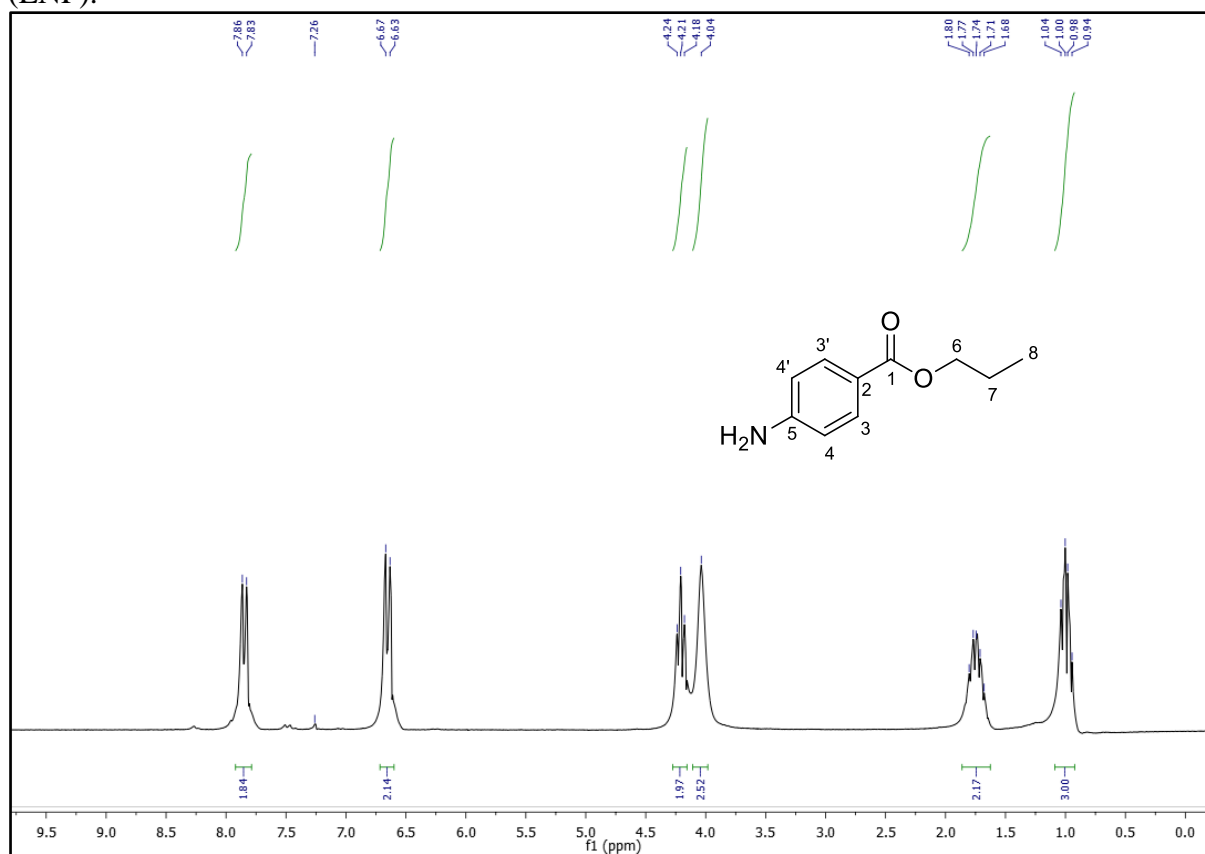


#### 4 - aminobenzoato de n-propila (ENP) (precursor A15)



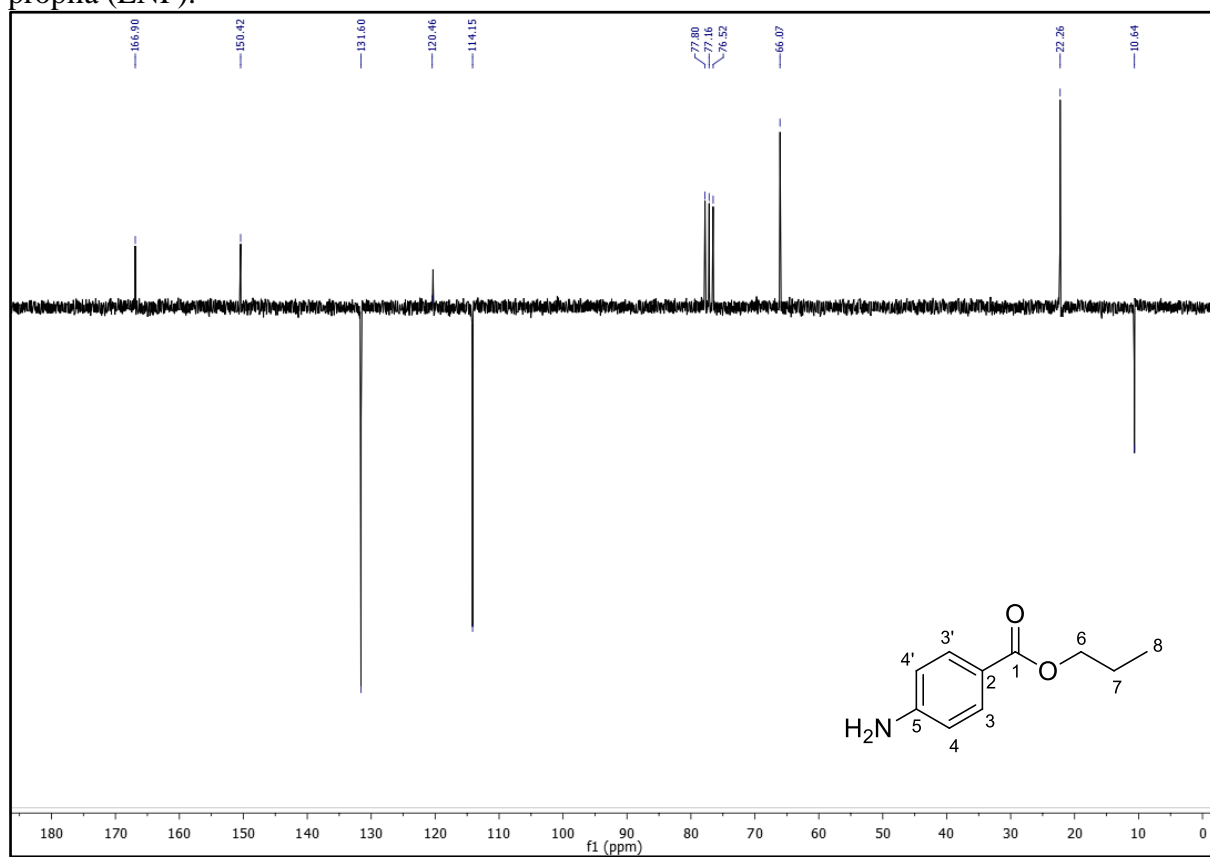
RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ): 7,85 (d,  $J = 7.1$  Hz, 2H, H-3,3'); 6,65 (d,  $J = 7.2$  Hz, 2H, H-4,4'); 4,21 (t, 2H, H-6); 1,74(m, 2H, H-7); 0,99 (t, 3H, H-8); 4.04 (s, 2H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 166,90 (C-1); 120,46 (C-2), 131,60 (C-3,3'); 114,15 (C-4,4'); 150,42 (C-5); 66,07 (C-6); 22,26 (C-7); 10,64 (C-8).

**Espectro 167.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) do 4 - aminobenzoato de n-propila (ENP).

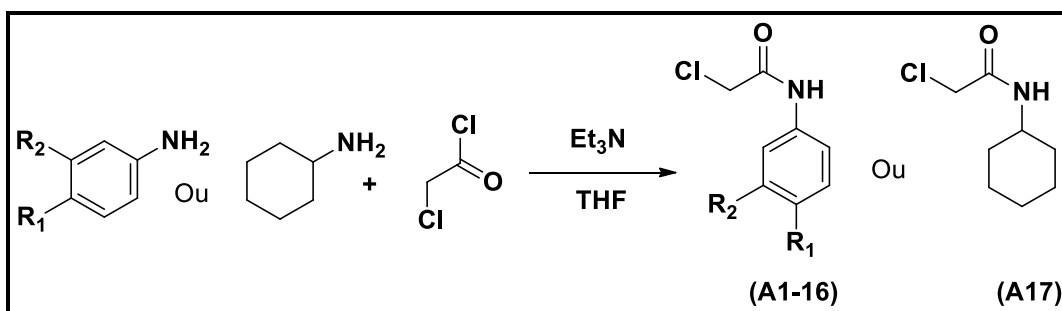




**Espectro 168.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) do 4 - aminobenzoato de n-propila (ENP).



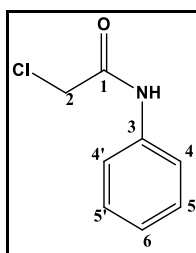
### 6.3.4 Preparação das 2-cloro-*N*- (aril ou alil) acetamida (A1-16)



#### Procedimento geral

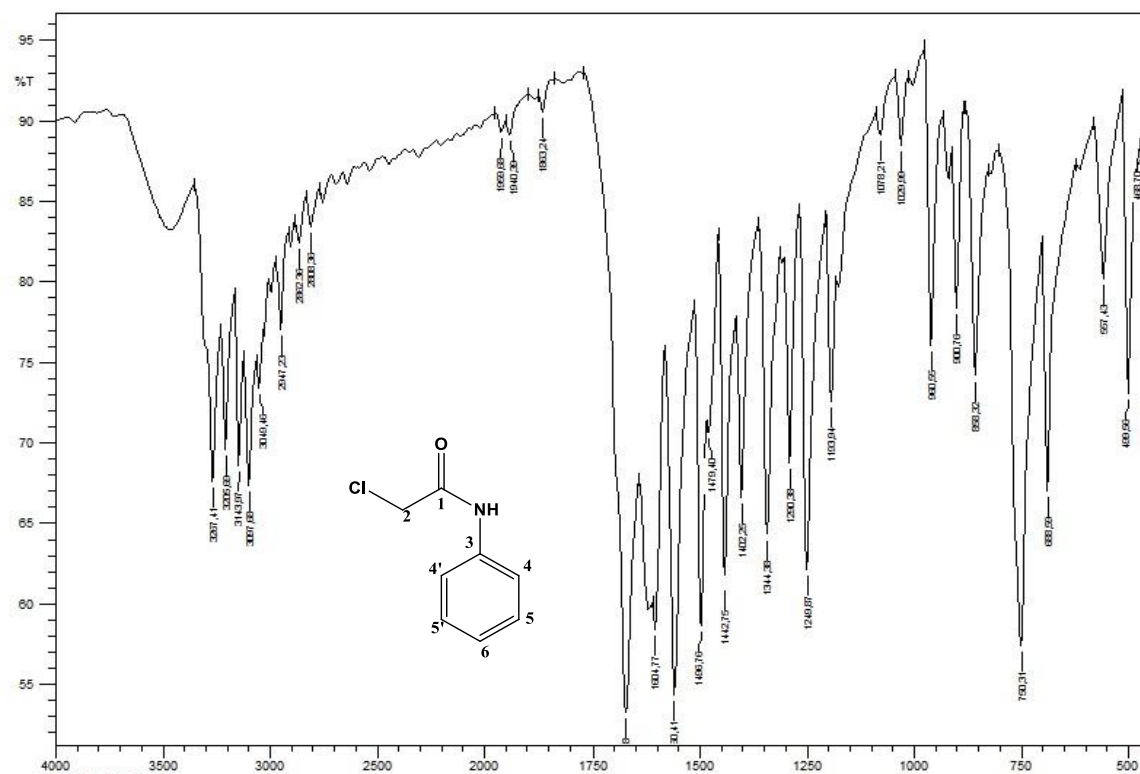
A amina aromática (ou alifática) substituída (0,02 mol) foi solubilizada, juntamente com a trietilamina (0,024 mol), em tetraidrofurano a 0°C. Em seguida adicionou-se lentamente cloreto de cloroacetila (0,024 mol) e a mistura reacional foi deixada em agitação vigorosa por vinte horas a temperatura ambiente. Após este tempo concentrou-se a mistura a pressão reduzida e o resíduo foi lavado com água destilada gelada. O precipitado formado foi filtrado e em seguida recristalizado com metanol. O rendimento destas reações varia entre 73 a 95%.

#### 2-cloro-*N*-acetamida (A1):

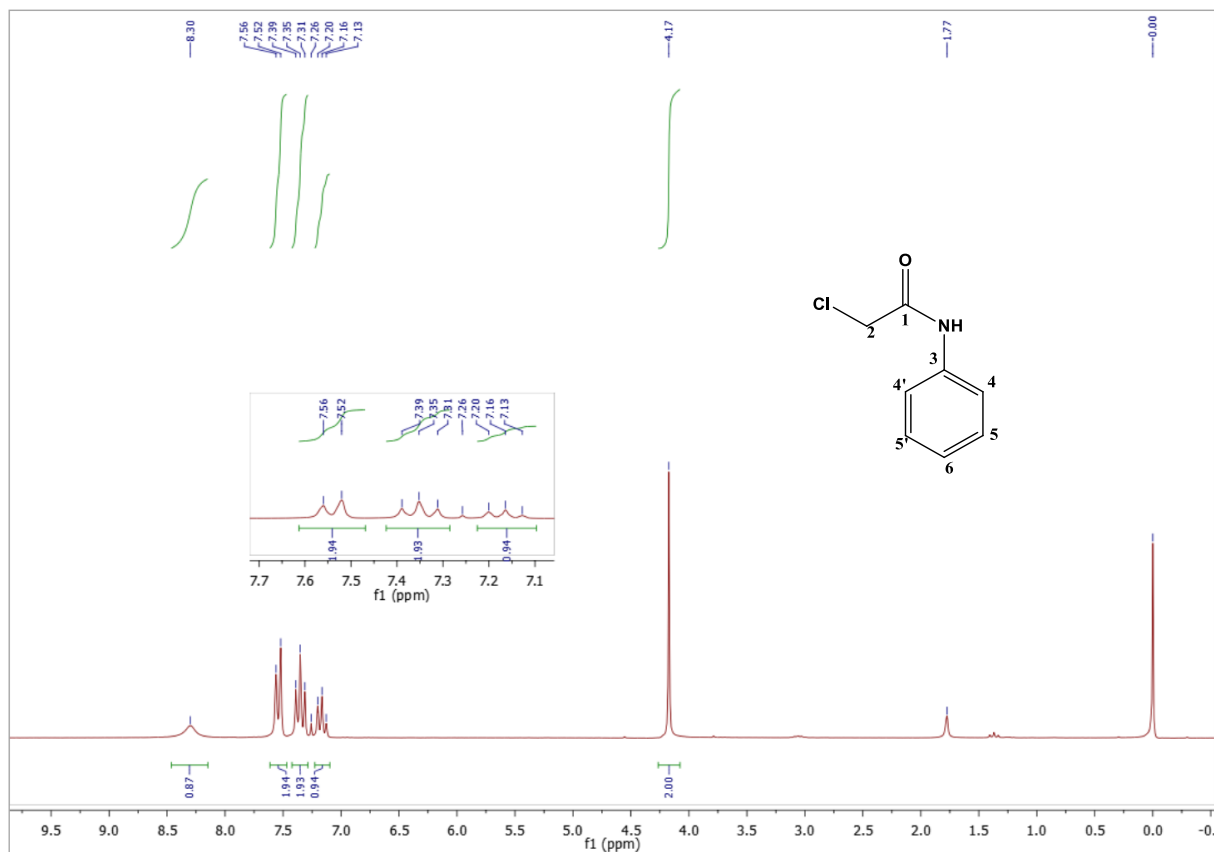


Rendimento: 93 %, p.f. 133 – 135 °C, IV (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3267, 3205, 3143 (N-H), 3098, 3049 (C-H<sub>Ar.</sub>), 2947, 2862 (C-H), 1672 (C = O), 1604, 1496 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1290, 1250 (C – Cl), 1078, 858 (CH<sub>Ar.</sub>), 750 (NH), 557, 499 (C – C<sub>Ar.</sub>). RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 4,16 (s, 2H, H-2), 7,15 (t, *J* = 7.3 Hz, 1H, H-6), 7,33 (t, *J* = 7,8 Hz, 2H, H-5-5'), 7,52 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-4,4') 8,28 (s, 1H, NH). RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 164,01 (C-1), 136,77 (C-3), 129,22 (C-5,5'), 125,35 (C-6), 120,27 (C-4,4'), 43,00 (C-2).

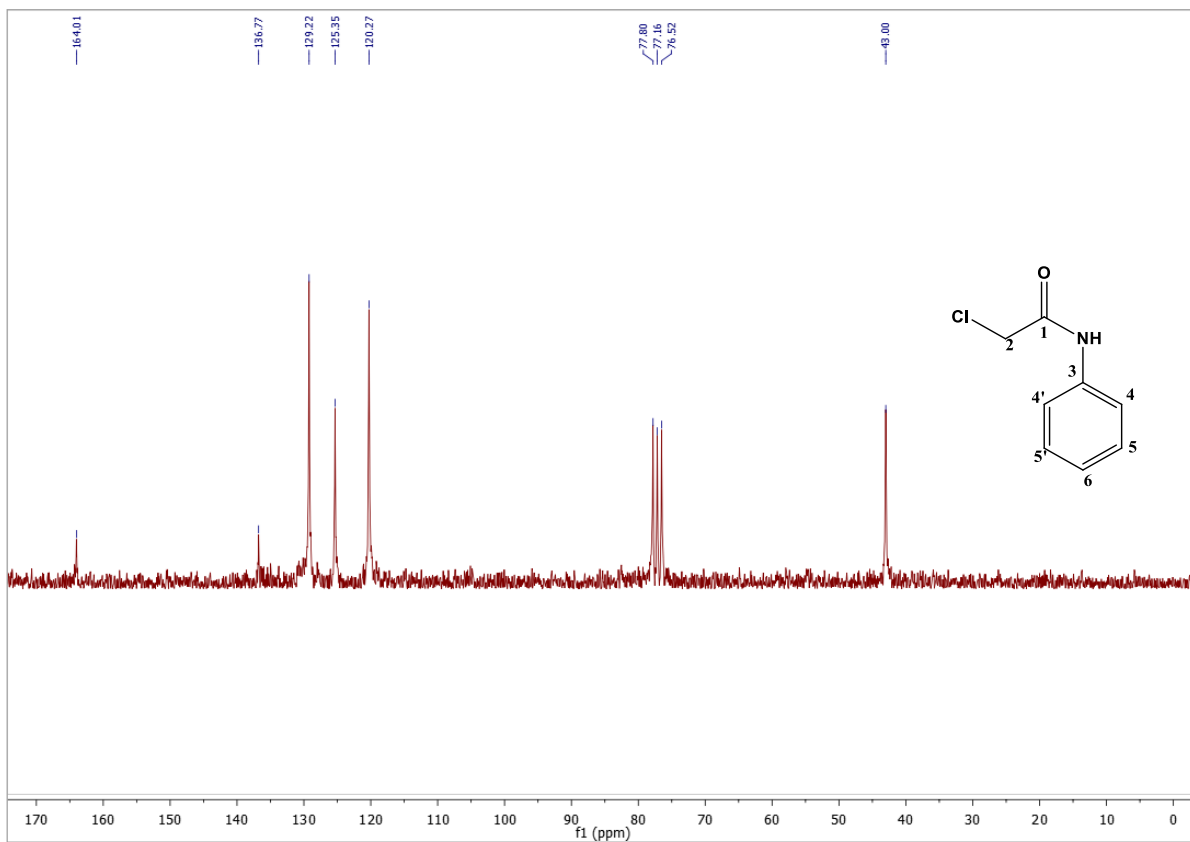
**Espectro 169.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A1.



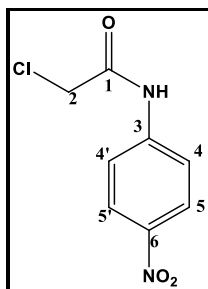
**Espectro 170.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A1.



**Espectro 171.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A1.

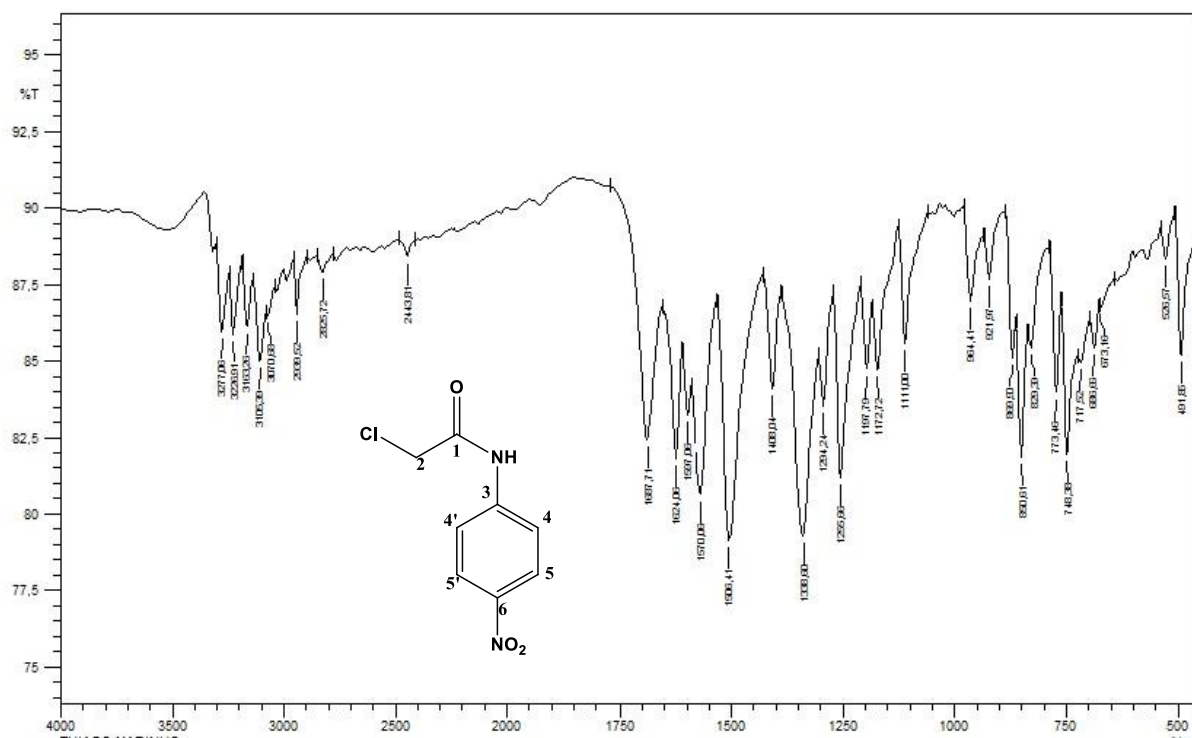


**2-cloro-*N*-(*p*-nitrofenil)acetamida (A2):**

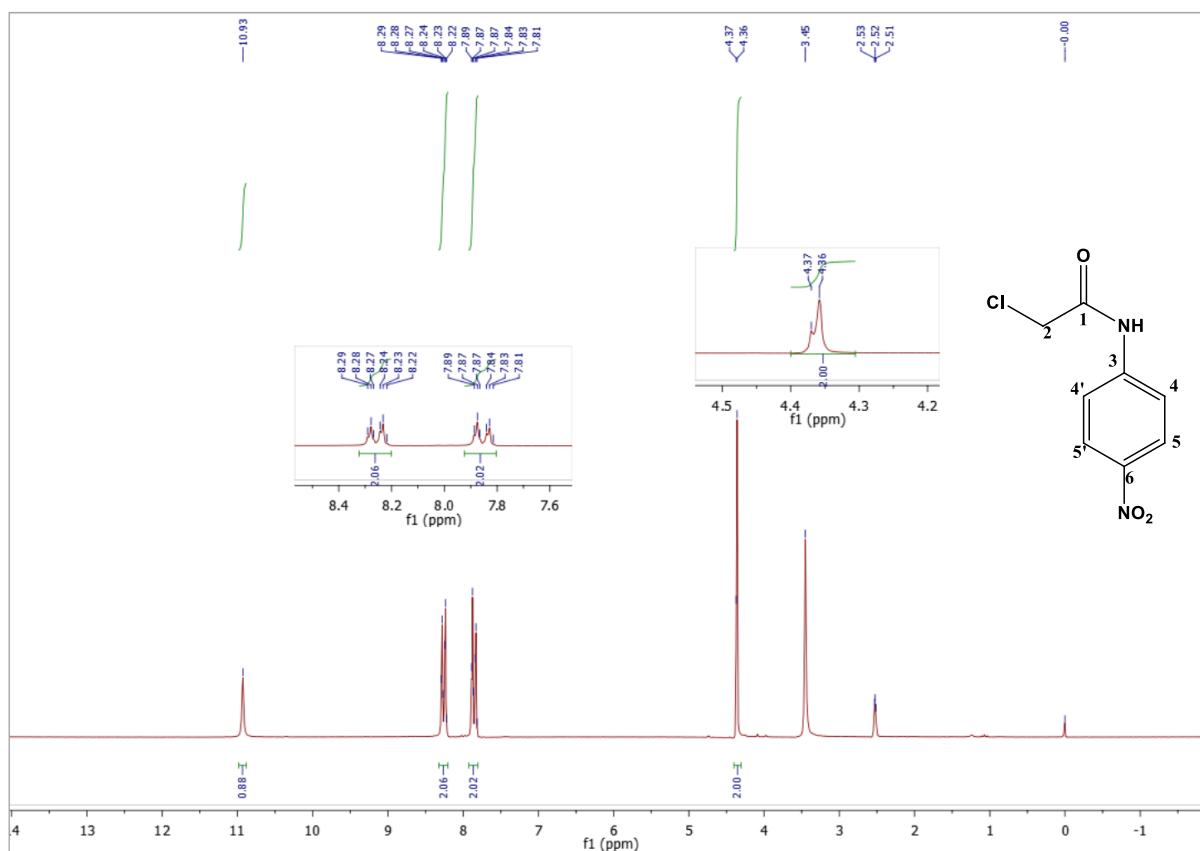


Rendimento: 80 %, p.f. 188 – 190 °C, IV ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3277, 3227, 3163 (N-H), 3109, 3070 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 2939, 2825 ( $\text{C-H}$ ), 1688 ( $\text{C=O}$ ), 1624, 1506 ( $\text{C=C}_{\text{Ar}}$ ), 1597, 1570, 1338 ( $\text{NO}_2$ ), 1294, 1255 ( $\text{C-Cl}$ ), 1172, 869, 850 ( $\text{C-N de ArNO}_2$ ), 1111, 829 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 748 (NH), 526 ( $\text{C-C}_{\text{Ar}}$ ).  
 RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  4,36 (d,  $J = 2.3$  Hz, 2H, H-2), 7.85 (dt,  $J = 10,2$  e  $2,7$  Hz, 2H, H-4,4') 8,26 (dt, 2H, H-5,5') 10,92 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ):  $\delta$  165,62 (C-1), 144,61 (C-3), 142,62 (C-6), 125,07 (C-5,5'), 119,10 (C-4,4'), 43,62 (C-2).

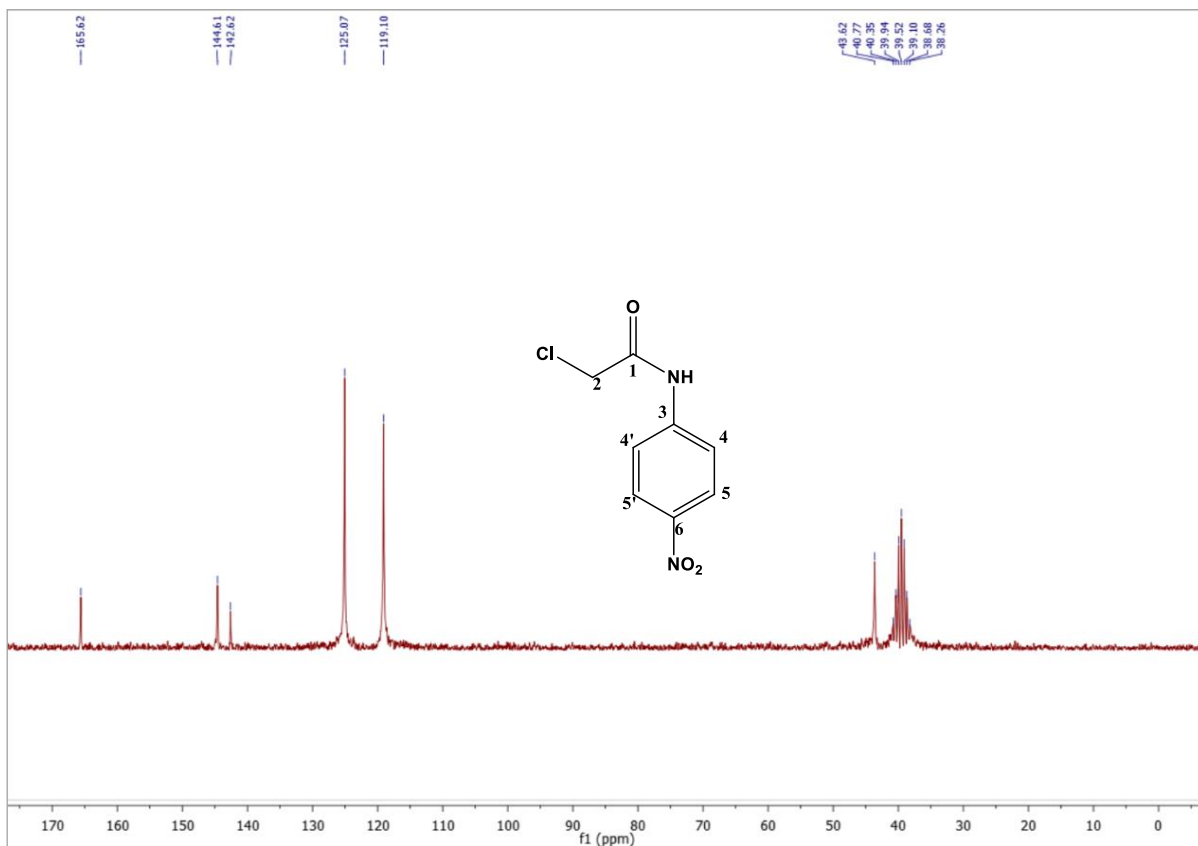
**Espectro 172.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A2.



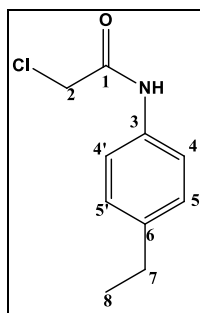
**Espectro 173.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz) da acetamida A2.



**Espectro 174.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A2.

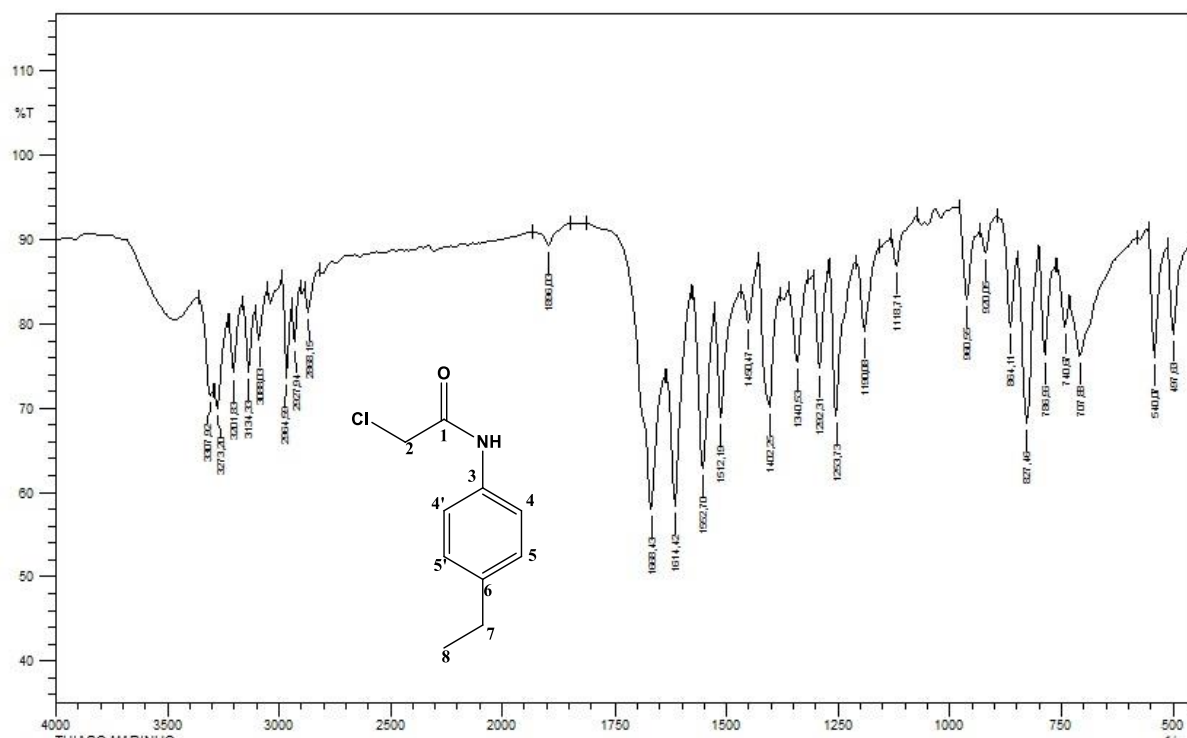


**2-cloro-*N*-(*p*-etilfenil)acetamida (A3):**

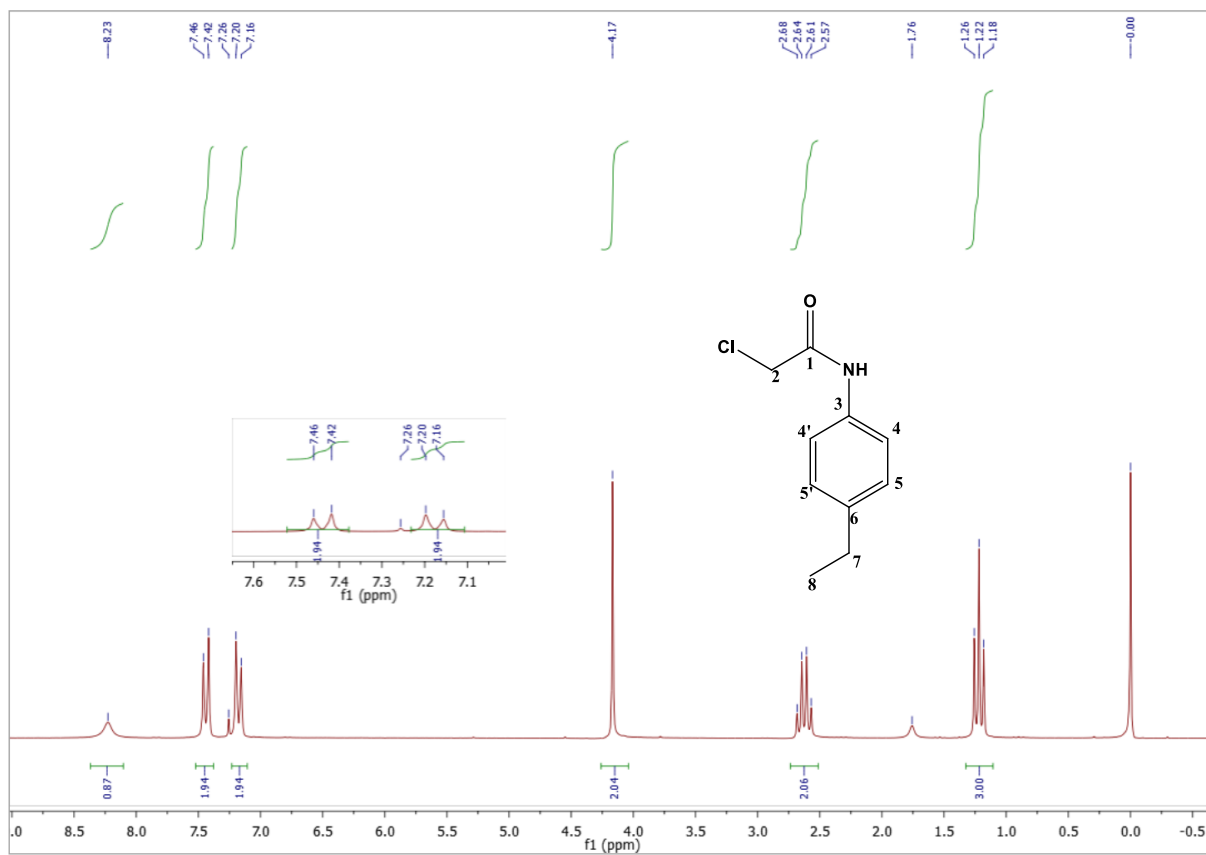


Rendimento: 95 %, p.f. 140 – 142 °C, IV ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3308, 3273, 3201 (N-H), 3088, 2965 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar.}}$ ), 2964, 2868 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1668 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1614, 1512 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1292, 1254 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 1118, 864 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar.}}$ ), 740 (N-H), 540, 487 ( $\text{C}-\text{C}_{\text{Ar.}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,22 (t,  $J=7,6\text{Hz}$  3H, H-8), 2,63 (m, 2H, H-7), 4,17 (s, 2H, H-2), 7,18 (d, 2H, H-5,5'), 7,44 (d,  $J=8,4\text{ Hz}$ , 2H, H-4,4'), 8,23 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  163,89 (C-1), 141,57 (C-6), 134,37 (C-3), 128,56 (C-5,5'), 120,45 (C-4,4'), 43,00 (C-2), 28,45 (C-7), 15,72 (C-8).

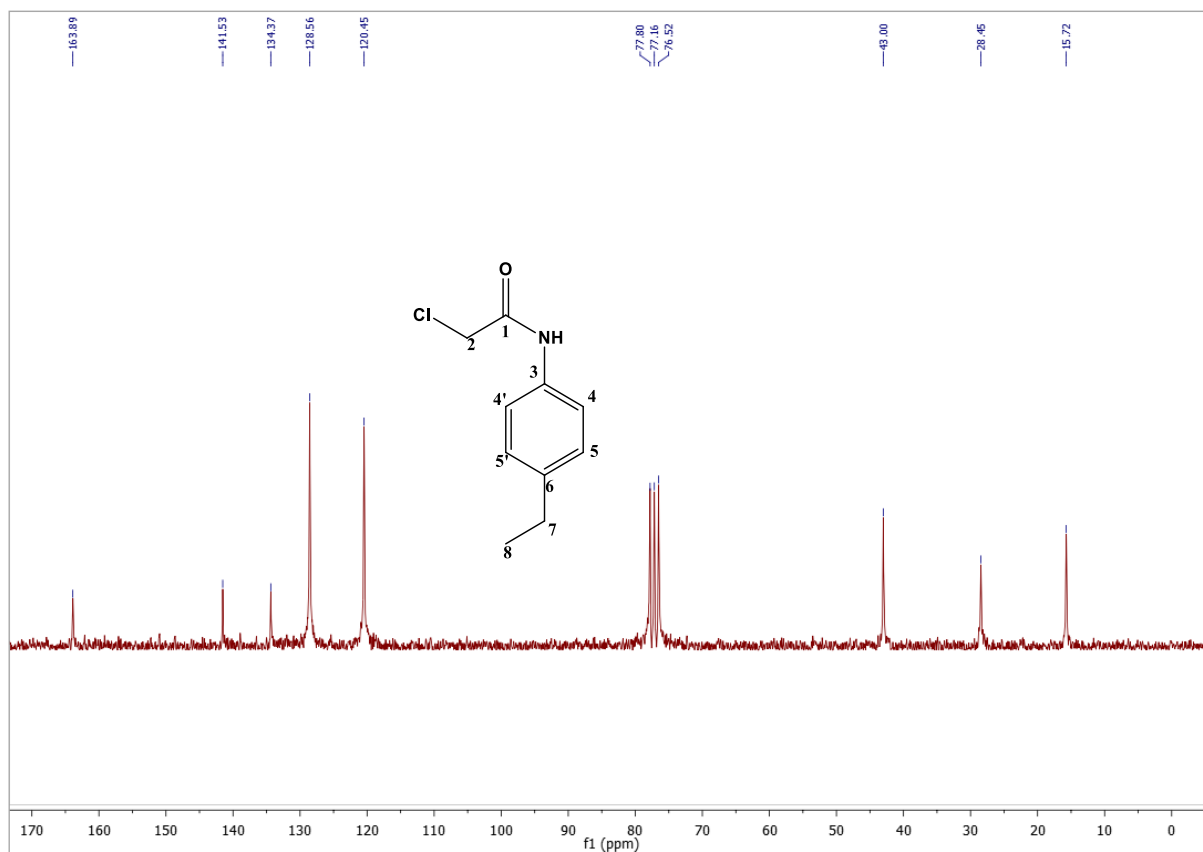
**Espectro 175.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A3.



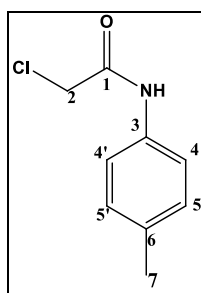
**Espectro 176.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 200 MHz) da acetamida A3.



**Espectro 177.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A3.



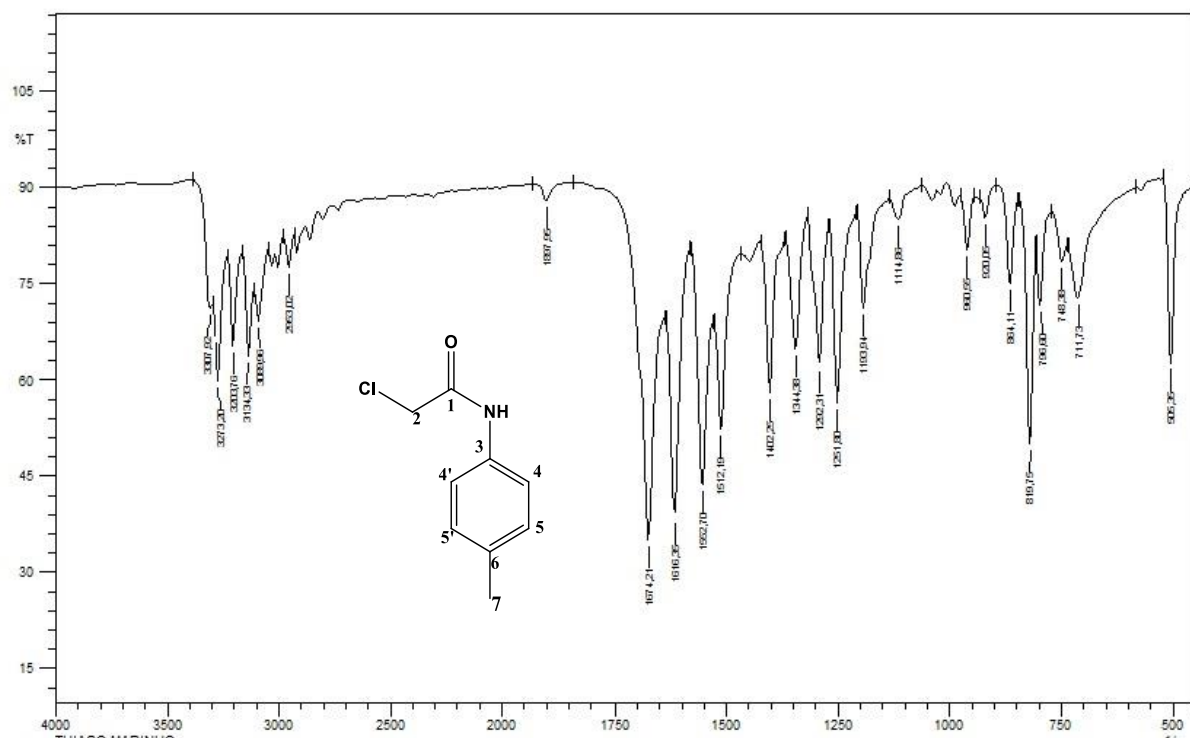
**2-cloro-*N*- (*p*-metilfenil) acetamida (A4):**



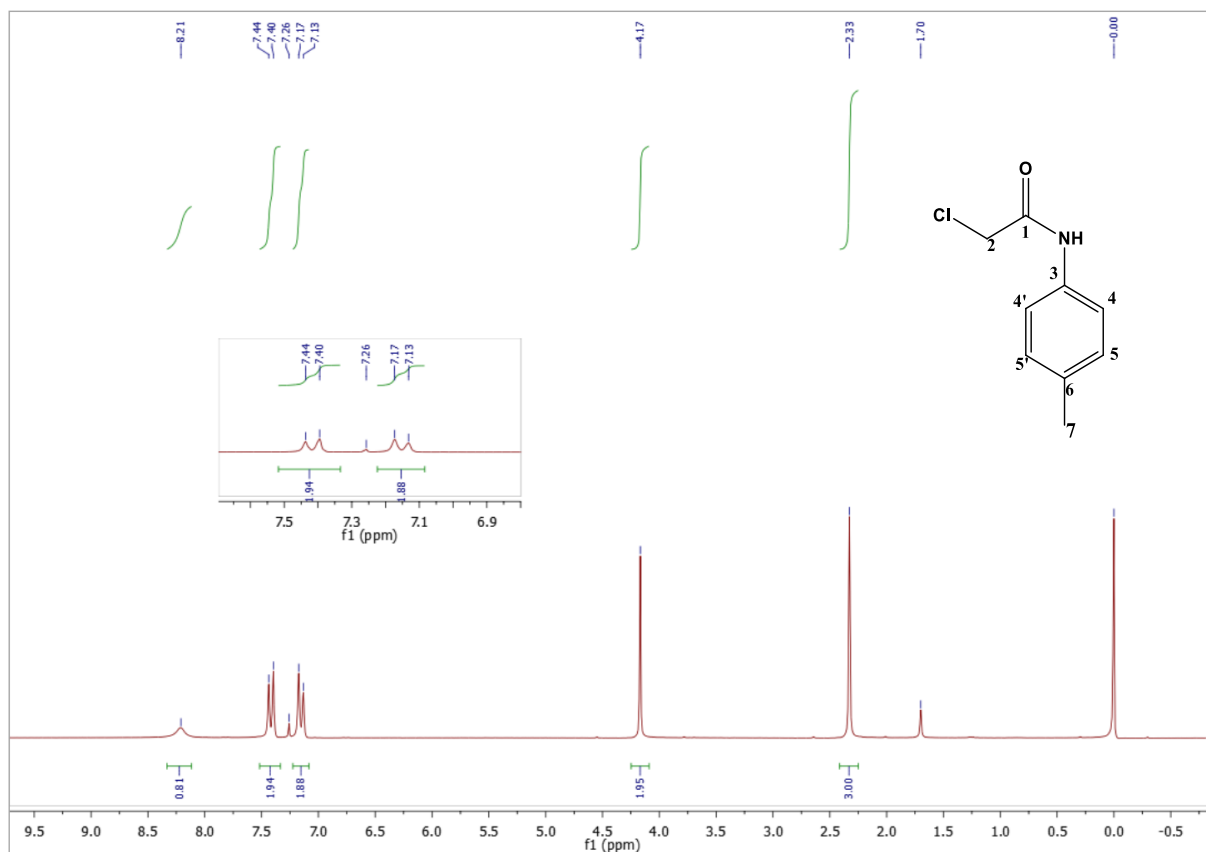
Rendimento: 95 %, p.f. 182 – 184 °C, IV ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3307, 3273, 3203 (N-H), 3134, 3089 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 2953 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1674 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1616, 1552 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1292, 1252 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 114, 864 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$ ), 748 (N-H), 505 ( $\text{C}-\text{C}_{\text{Ar}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  2,33 (s, 3H, H-7), 4,17 (s, 2H, H-2), 7,15 (d,  $J = 8,2$ , 2H, H-5,5'), 7,42 (d,  $J = 8,3$  Hz, 2H, H-4,4'), 8,21 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  163,86 (C-1), 135,11(C-3), 134,21(C-6), 129,73 (C-5,5'), 120,35 (C-4,4'), 42,66 (C-2), 21,02 (C-7).



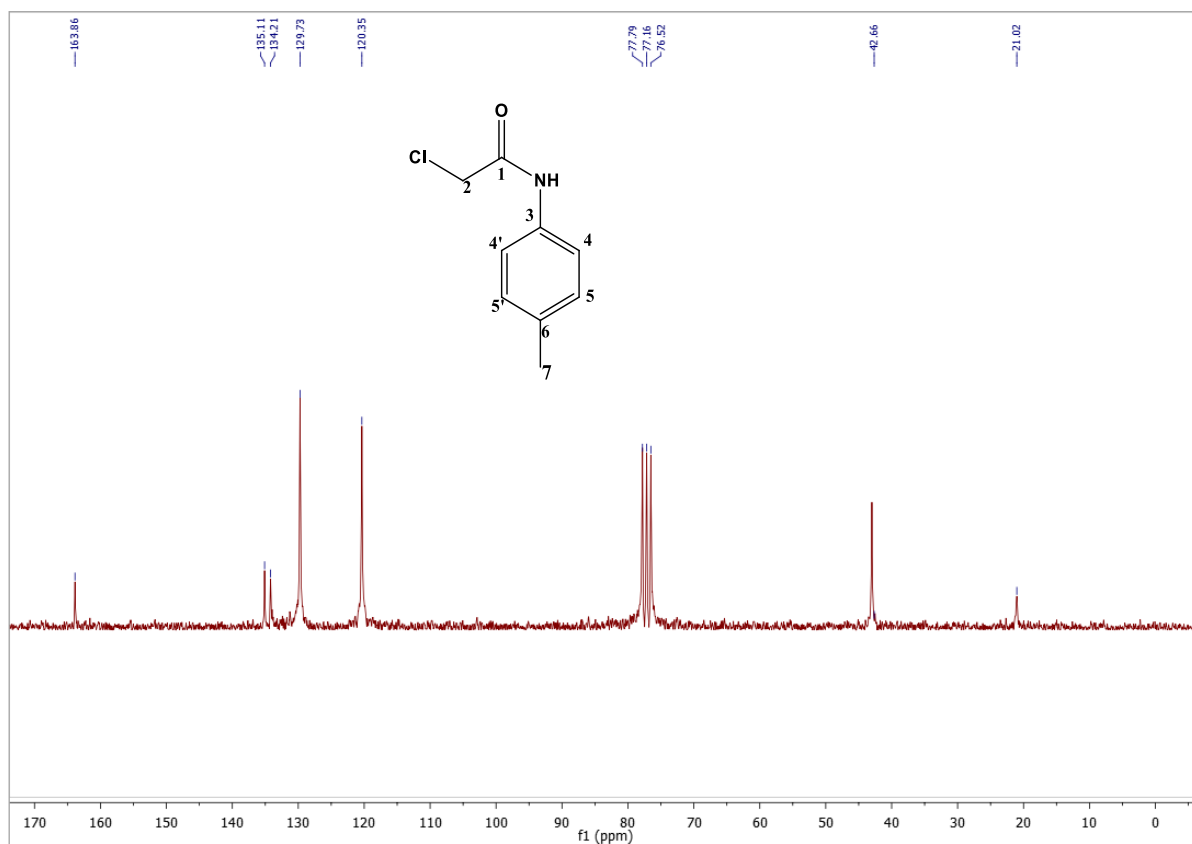
**Espectro 178.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A4.



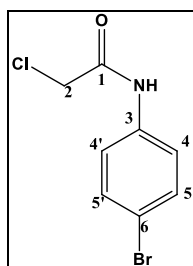
**Espectro 179.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A4.



**Espectro 180.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A4.

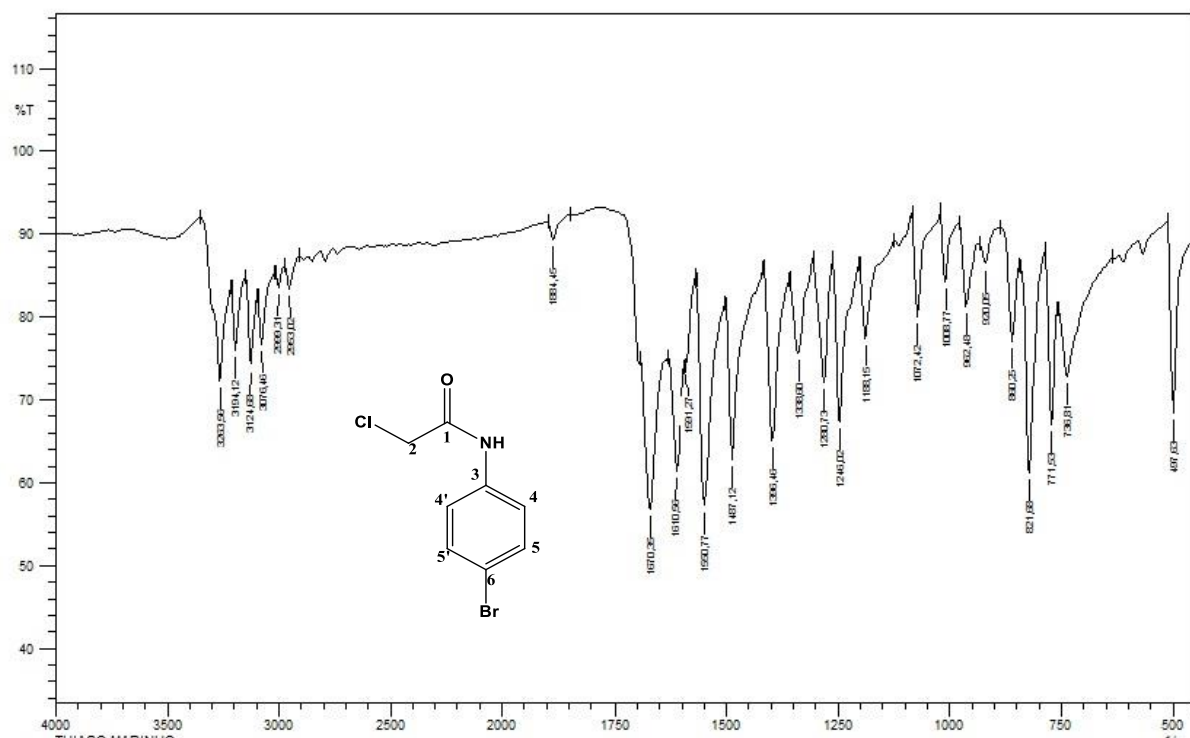


**2-cloro-*N*-(*p*-bromofenil)acetamida (A5):**

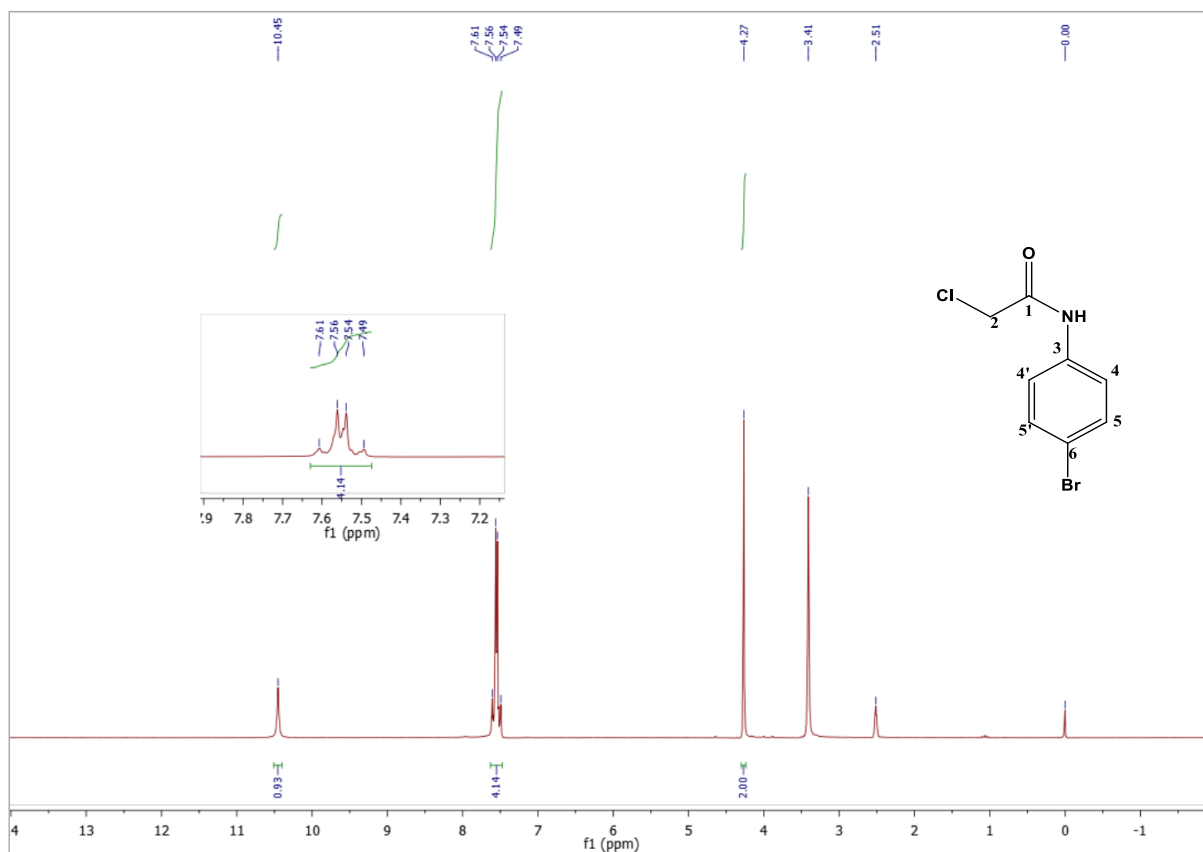


Rendimento: 84 %, p.f. 184 – 186 °C, IV ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3263, 3194 (N-H), 3124, 3076 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 2999, 2953 ( $\text{C-H}$ ), 1670 ( $\text{C=O}$ ), 1610, 1550 ( $\text{C=C}_{\text{Ar}}$ ), 1281, 1246 ( $\text{C-Cl}$ ), 1188 ( $\text{C-Br}$ ), 1072, 860 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 736 (N-H), 497 ( $\text{C-C}_{\text{Ar}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  4,27 (s, 2H, H-2), 7,55 (m, 4H, H-4,4' e H-5,5'), 10,45 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  164,83 (C-1), 137,83 (C-3), 131,71 (C-5,5'), 121,28 (C-4,4'), 115,51 (C-6), 43,56 (C-2).

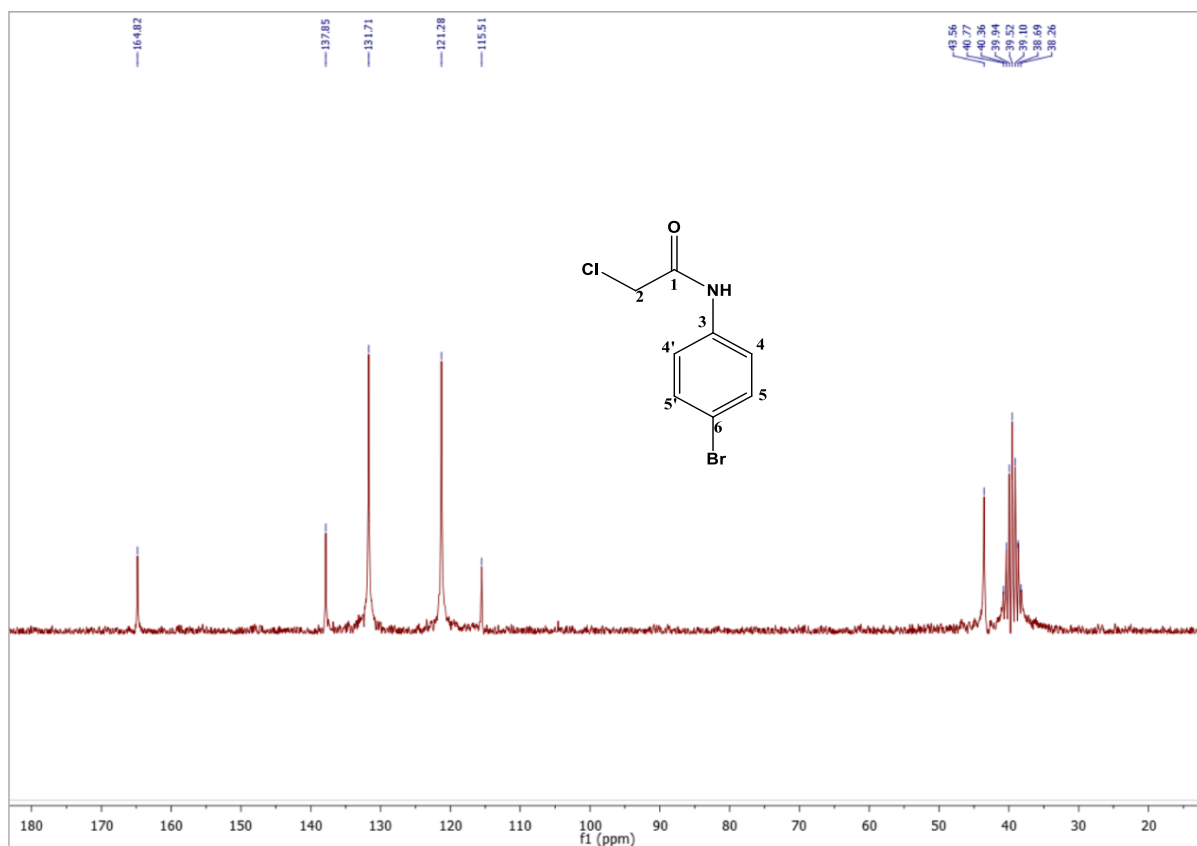
**Espectro 181.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A5.



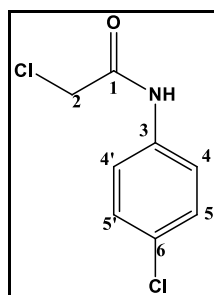
**Espectro 182.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) da acetamida A5.



**Espectro 183.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A5.

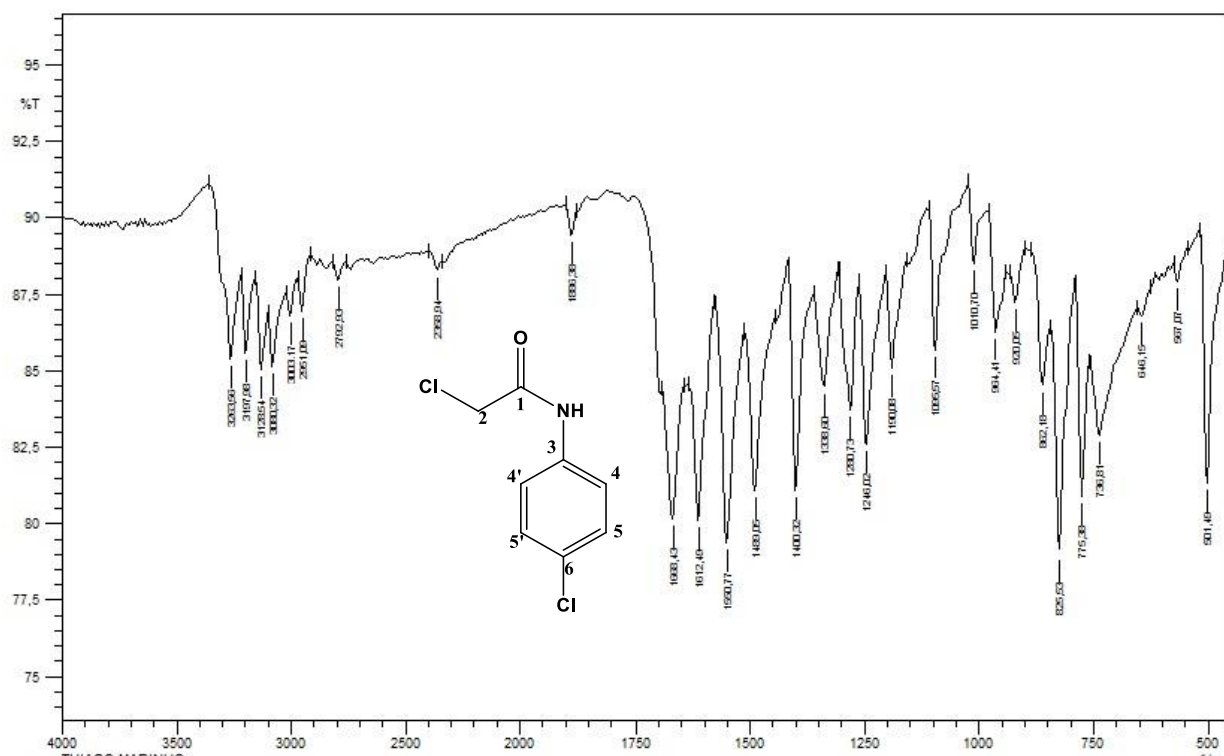


**2-cloro-N-(*p*-clorofenil)acetamida (A6):**

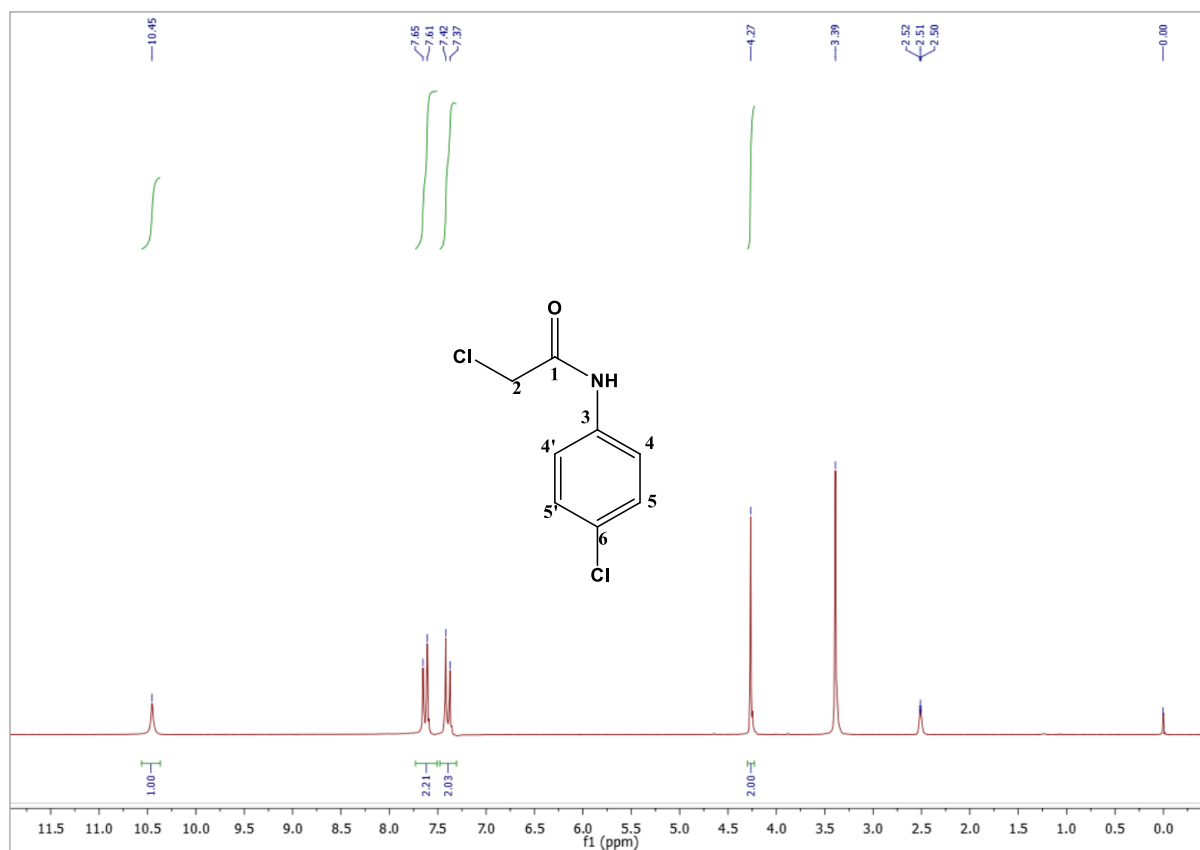


Rendimento: 76 %, p.f. 170 – 172 °C, IV ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3264, 3198 (N-H), 3128, 3080 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar.}}$ ), 3003, 2951 ( $\text{C}-\text{H}$ ), 1668 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1612, 1551 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1281, 1246 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 1095 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ,  $\text{ArCl}$ ), 1010, 862 ( $\text{C}-\text{H}_{\text{Ar.}}$ ), 737 (N-H), 567, 501 ( $\text{C}-\text{C}_{\text{Ar.}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  4,27 (s, 2H, H-2), 7,40 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-5,5'), 7,63 (d,  $J = 8,8$  Hz, 2H, H-4,4'), 10,45 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  164,81 (C-1), 137,44 (C-6), 128,81 (C-5,5'), 127,45 (C-3), 120,92 (C-4,4'), 43,54 (C-2).

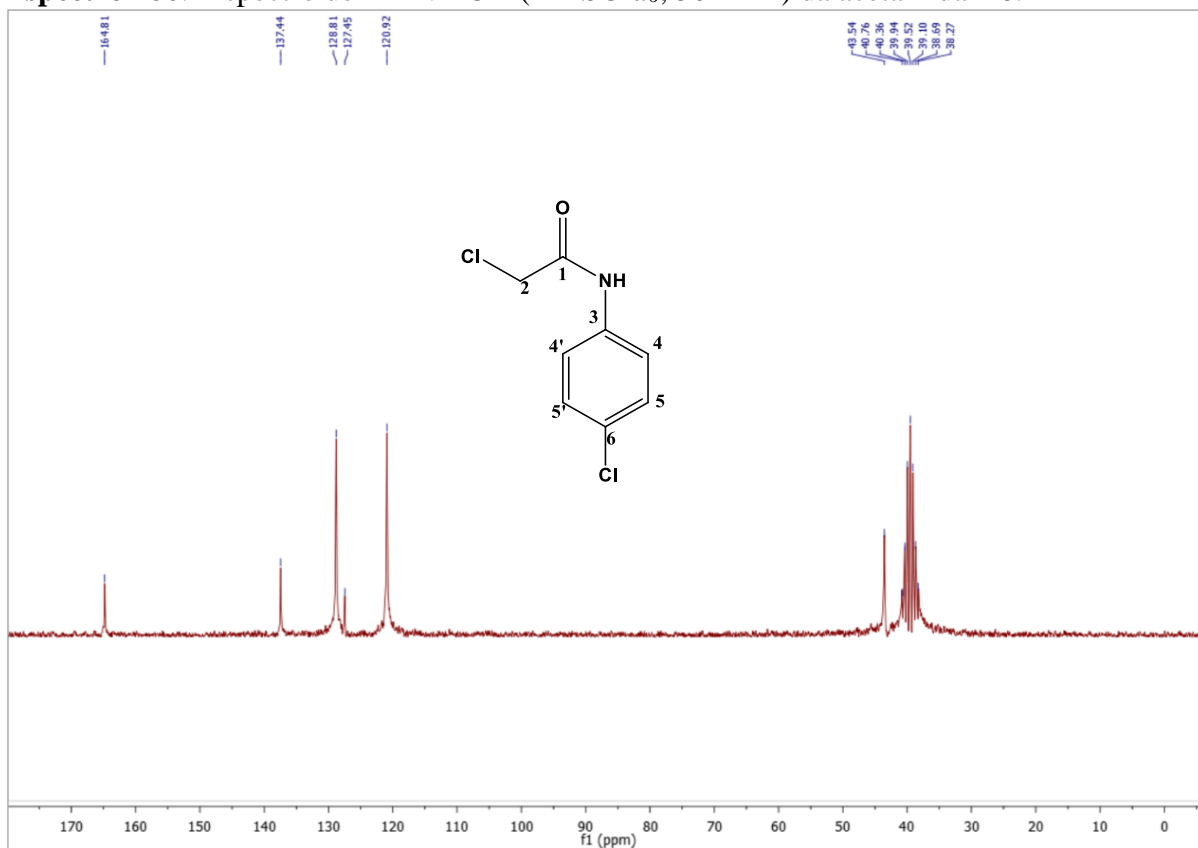
**Espectro 184.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A6.



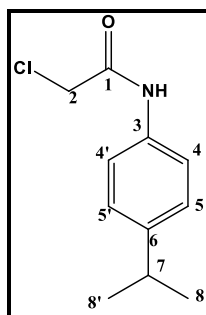
**Espectro 185.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) da acetamida A6.



**Espectro 186.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{DMSO}-d_6$ , 50 MHz) da acetamida A6.

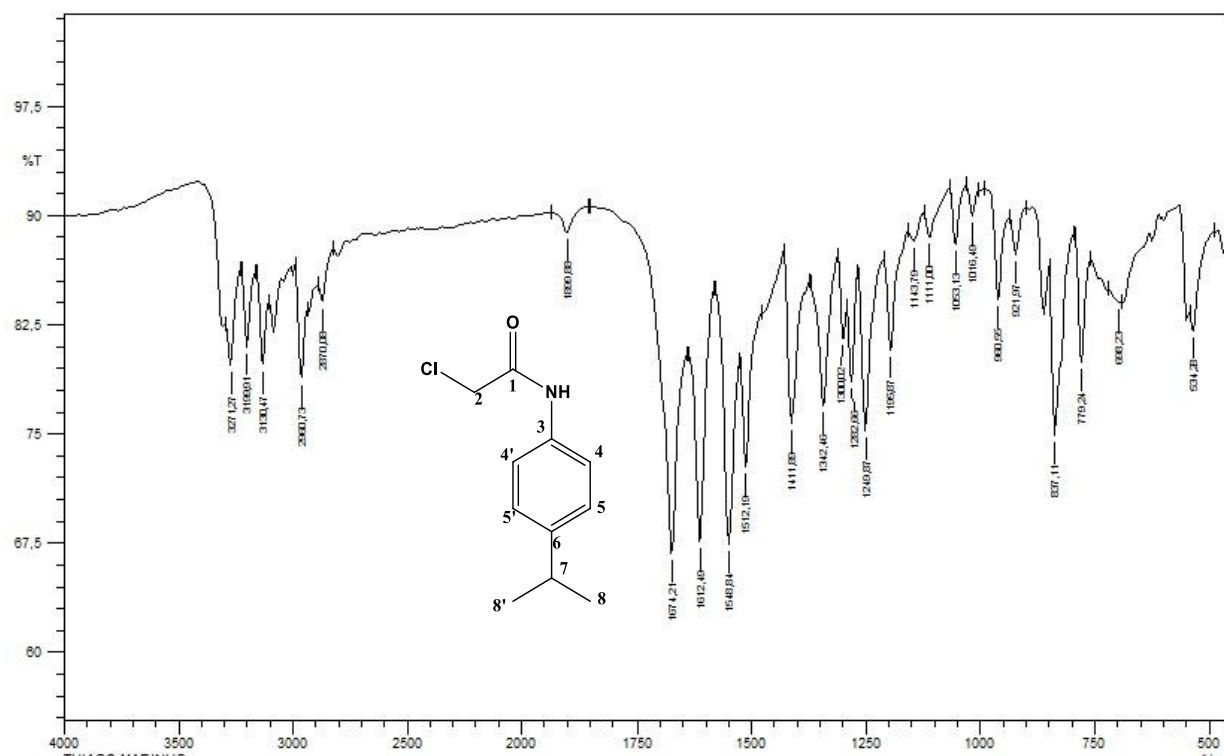


**2-cloro-N-(*p*-isopropilfenil)acetamida (A7):**

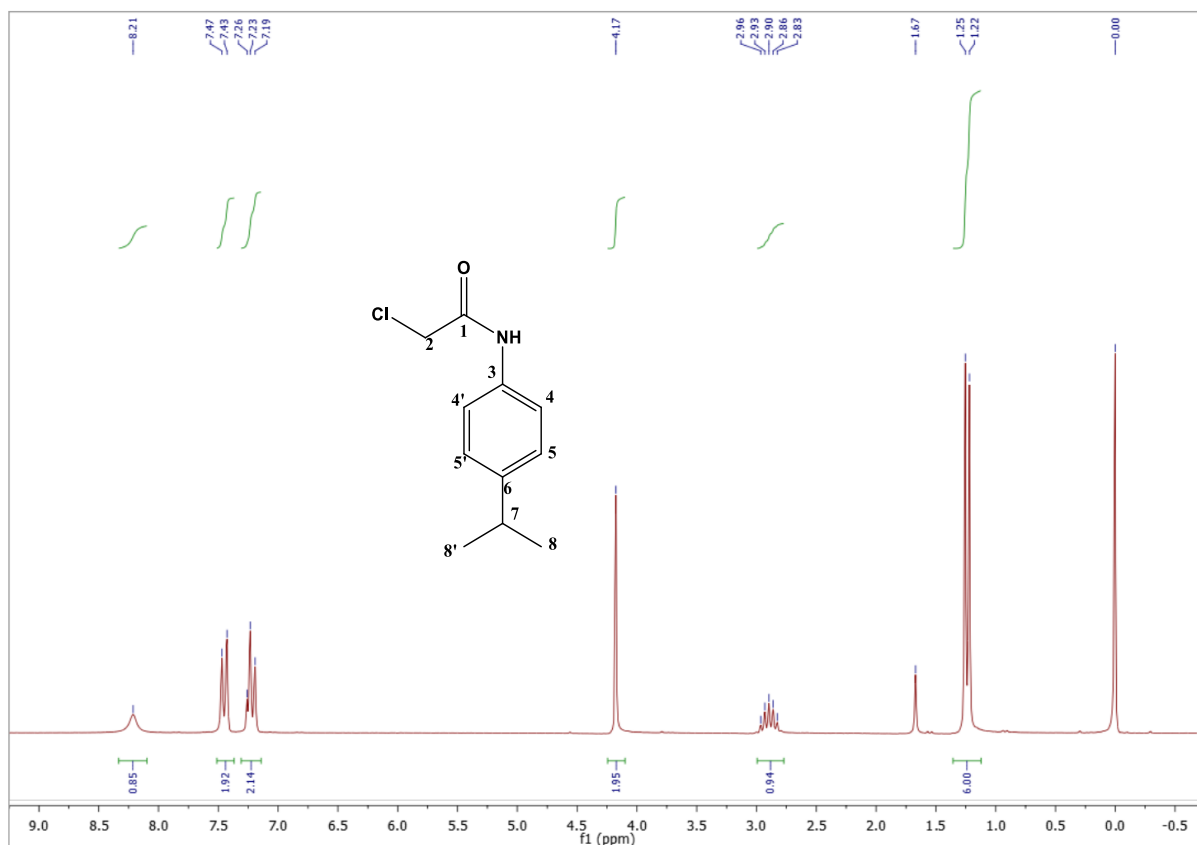


Rendimento: 78 %, p.f. 141 – 143 °C, IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3271, 3199 (NH), 3130 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 2960, 2870 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1674 (C = O), 1612, 1548 (C = C<sub>Ar</sub>), 1282, 1250 (C – Cl), 1300, 1282 ( $i\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1016, 837 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 779 (NH), 534 (C – C<sub>Ar</sub>). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,24 (d,  $J=6,9$  Hz, 6H, H-8,8'), 2,90 (sept,  $J = 13,8$ ; 6,9 Hz, 1H, H-7), 4,17 (s, 2H, H-2), 7,23 (t,  $J = 6,6$  Hz, 2H, H-5,5'), 7,45 (d,  $J = 8,4$  Hz 2H, H-4,4'), 8.21 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  163,87 (C-1), 146,19 (C-6), 134,42 (C-3), 127,16 (C-5,5'), 120,47 (C-4,4'), 43,01 (C-2), 33,76 (C-7), 24,12 (C-8,8').

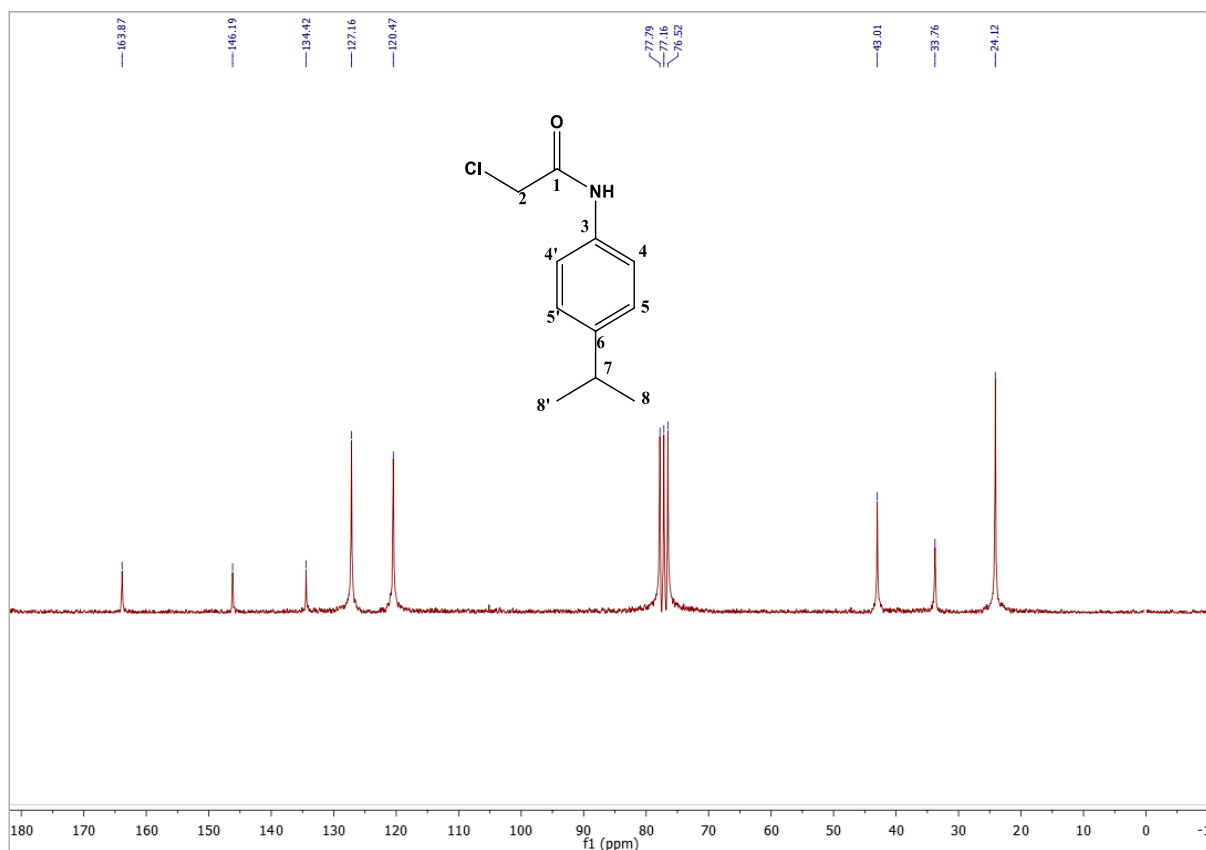
**Espectro 187.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A7.



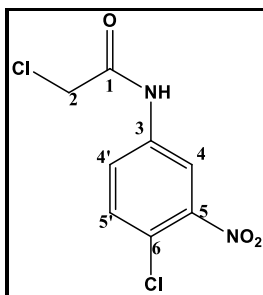
**Espectro 188.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A7.



**Espectro 189.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A7.



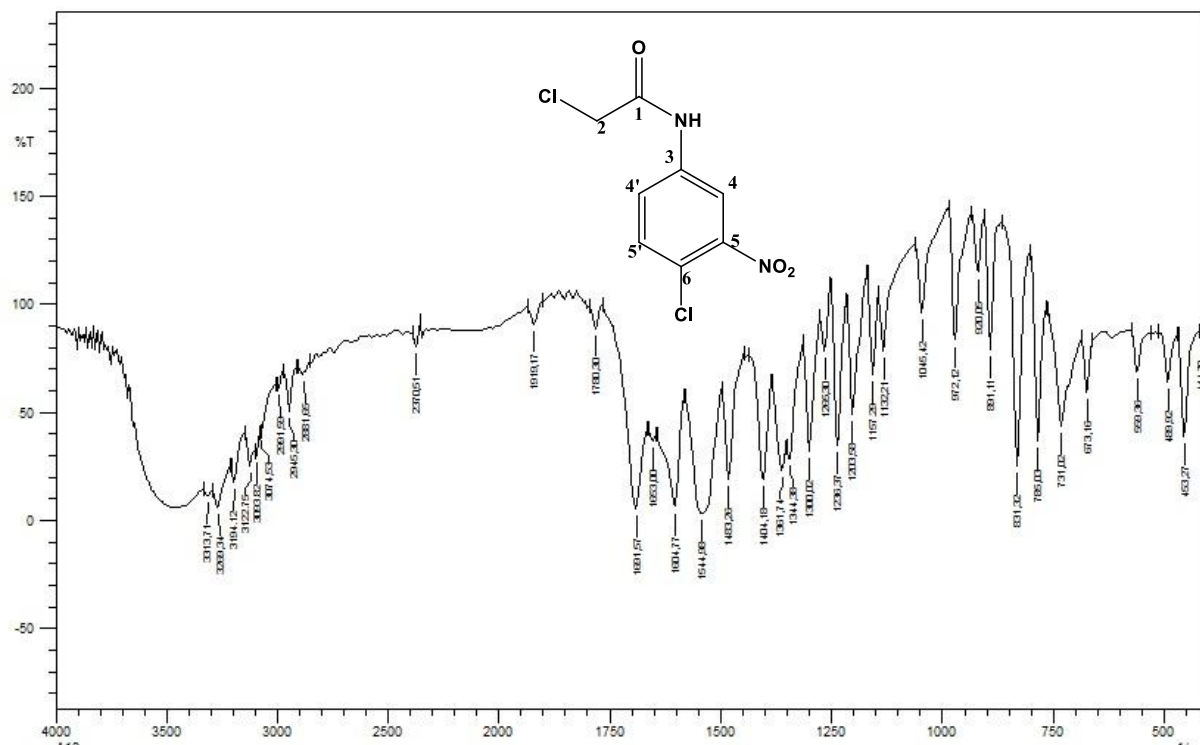
**2-cloro-N-(*m*-nitro-*p*-clorofenil)acetamida (A9):**



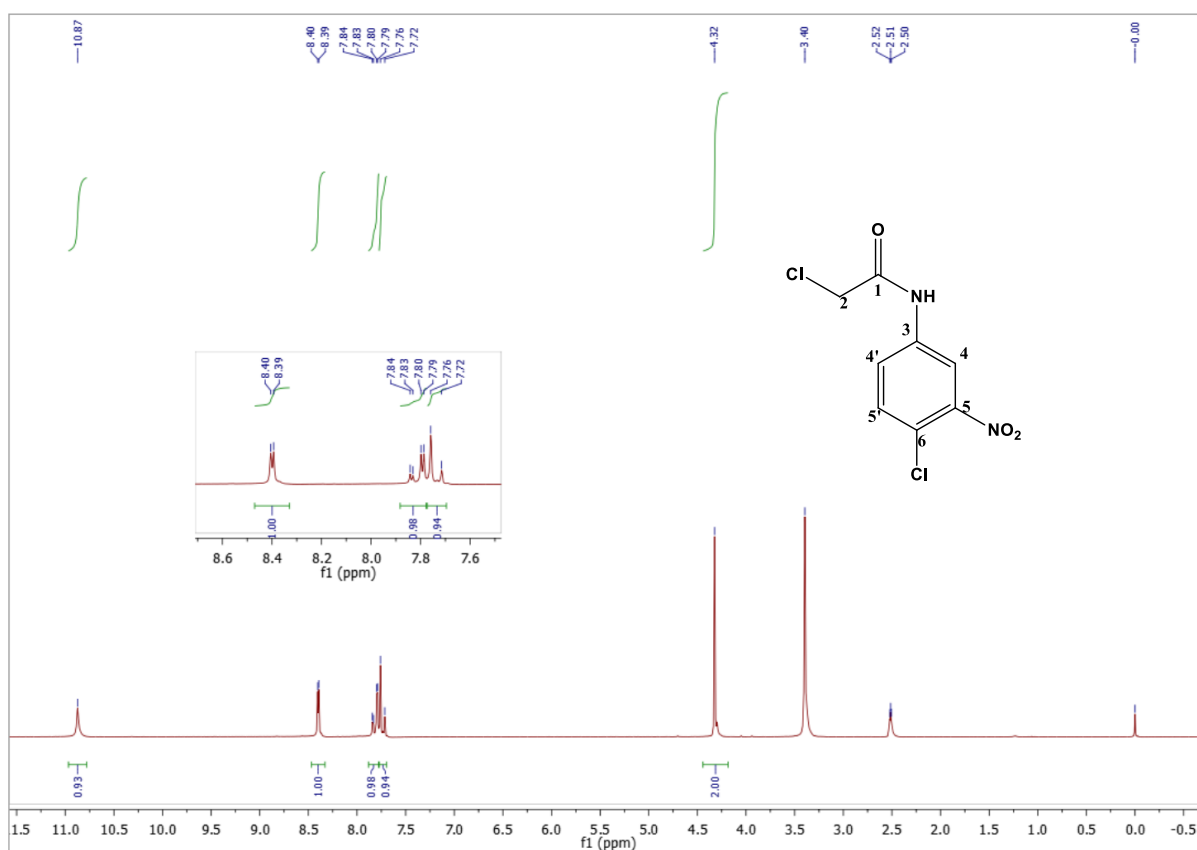
Rendimento: 78 %, p.f. 120 – 122 °C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3313, 3269 (NH), 3122, 3094 ( $\text{CH}_{\text{Ar.}}$ ), 2945, 2881 ( $\text{CH}_{\text{Alif.}}$ ), 1691 (C = O), 1605, 1544 (C =  $\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1483, 1404, 1344 ( $\text{NO}_2$ ), 1300, 1265 (C – Cl), 1045, 831 ( $\text{CH}_{\text{Ar.}}$ ), 895 (C – N de  $\text{ArNO}_2$ ), 785 (NH), 559 (C –  $\text{C}_{\text{Ar.}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  4,32 (s, 2H, H-2), 7,74 (d,  $J$  = 8,8 Hz, 1H, H-5,5'), 7,81 (dd,  $J$  = 8,9 e 2,4 Hz, 1H, H-4,4'), 8,40 (d,  $J$  = 2,3 Hz, 1H, H-4), 10,87 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{DMSO}-d_6$ ):  $\delta$  165,54 (C-1), 147,28 (C-5), 138,33 (C-3), 132,20 (C-5'), 124,27 (C-4,4'), 119,16 (C-6), 115,76 (C-5,5'), 43,42 (C-2).



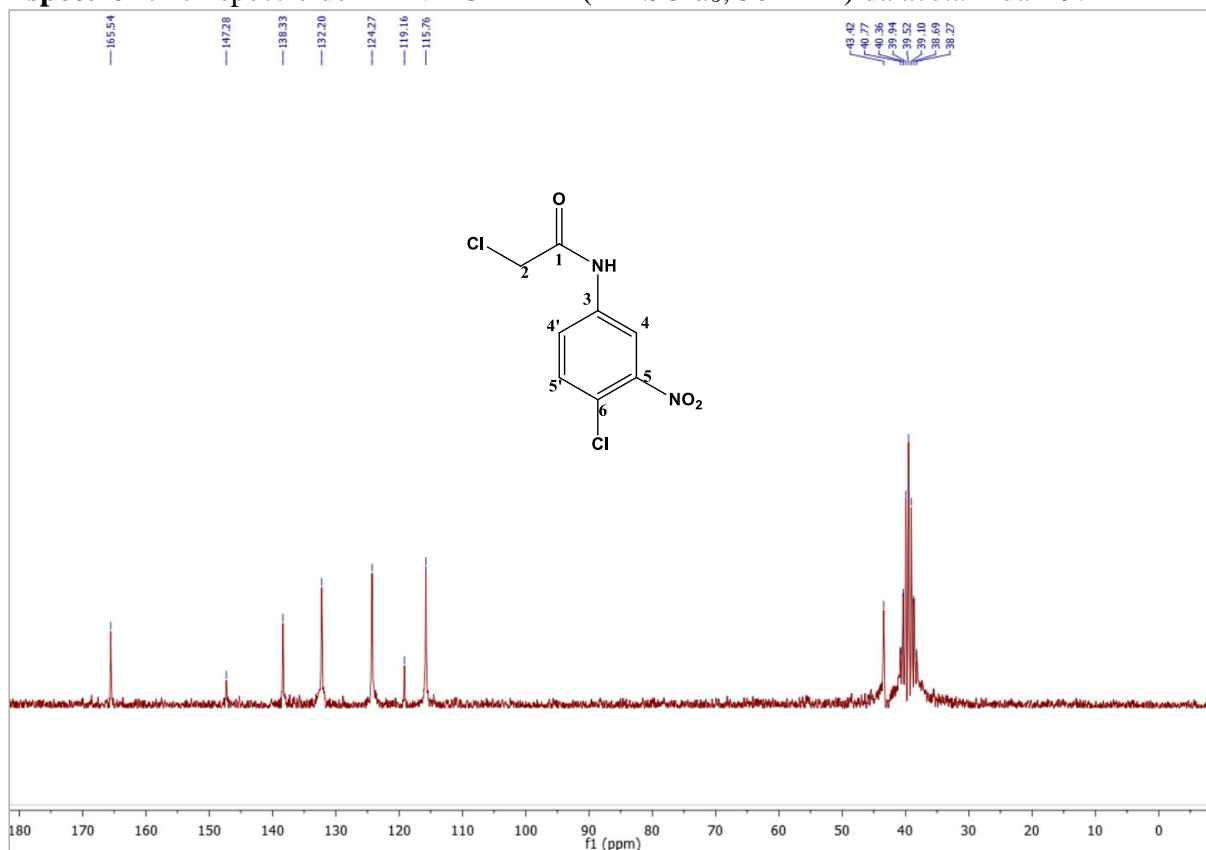
**Espectro 190.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A9.



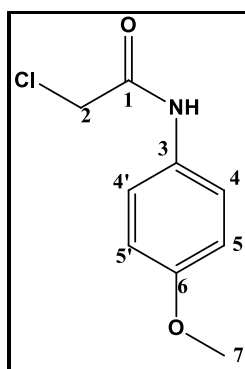
**Espectro 191.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ , 200 MHz) da acetamida A9.



**Espectro 192.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT (DMSO- $d_6$ , 50 MHz) da acetamida A9.

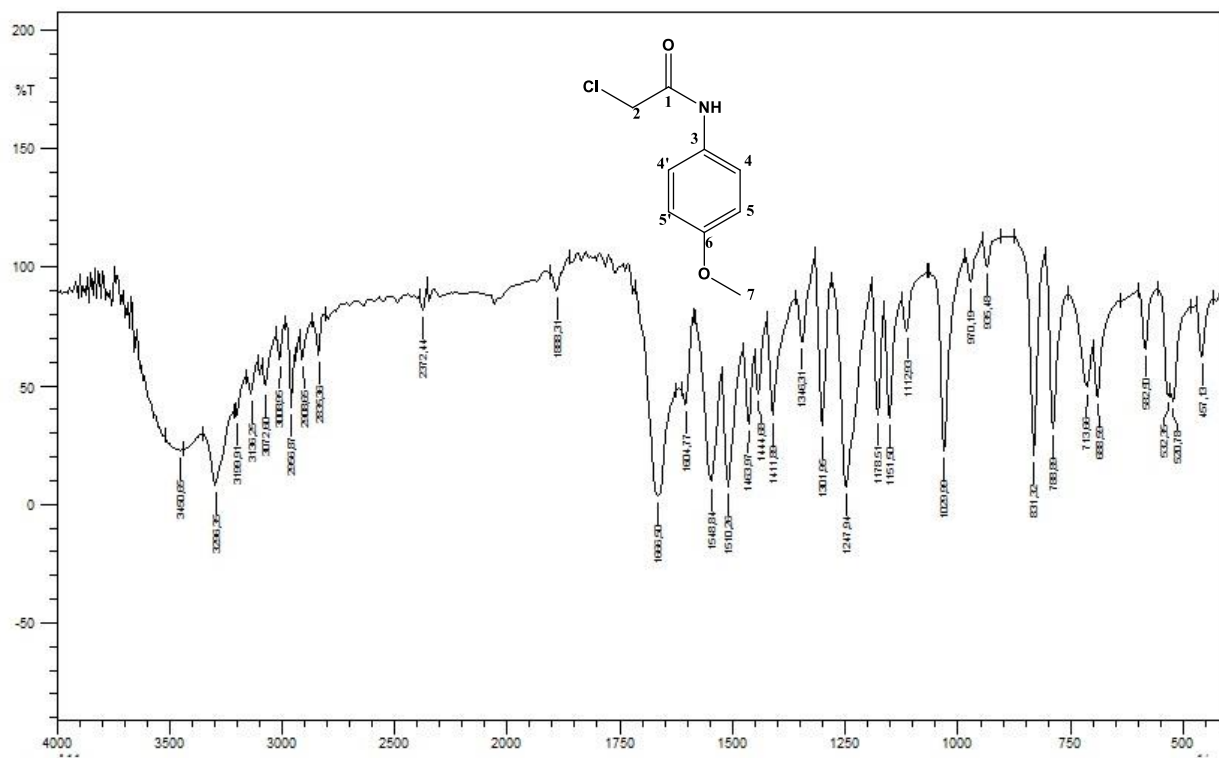


**2 - cloro- *N* - (*p*-metóxfenil) acetamida (A10):**

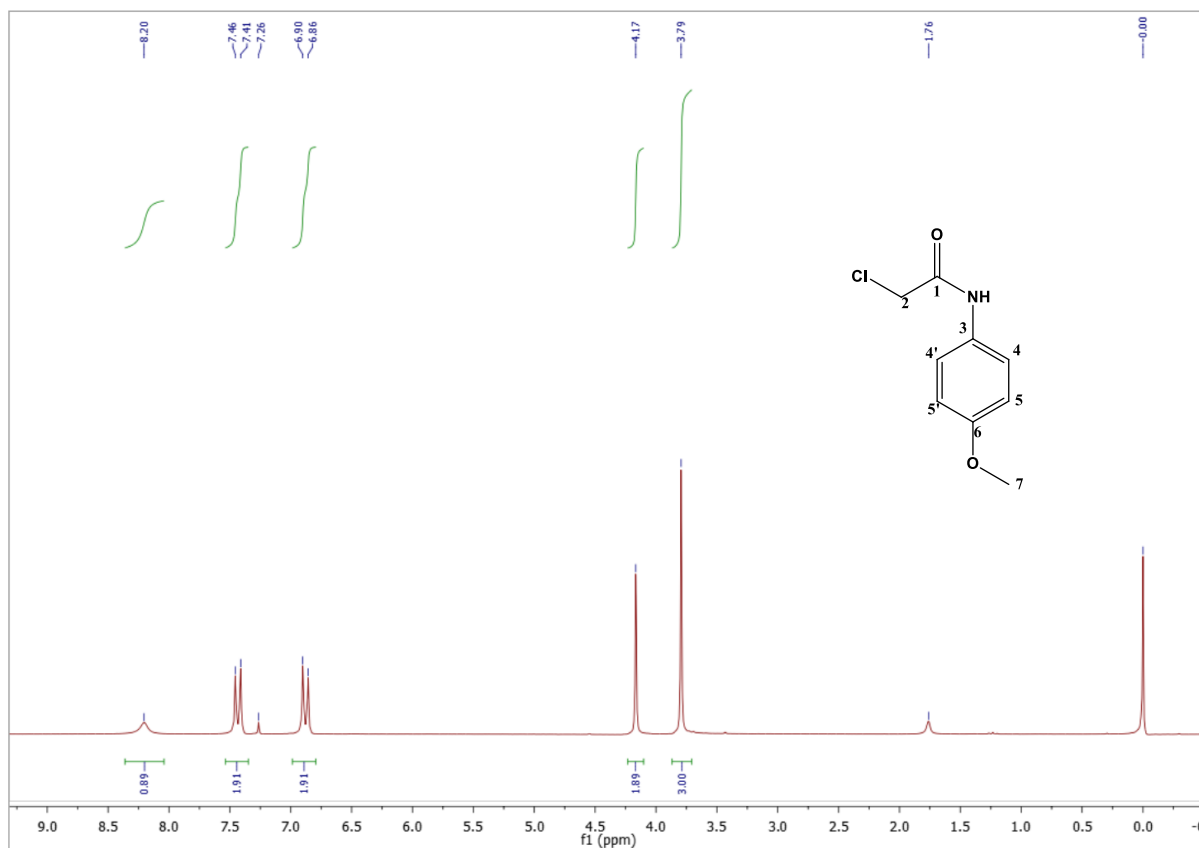


Rendimento: 80 %, p.f. 119 – 120 °C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3296, 3199 (NH), 3136, 3072 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 2956, 2835 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1666 (C = O), 1605, 1548 (C =  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1346, 1301 (C – Cl), 1248, 1113 (O –  $\text{CH}_2$  – O), 1029, 831 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 788 (NH), 582, 532 (C –  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  3,79 (s, 3H, H-7), 4,17 (s, 2H, H-2), 6,88 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-5,5'), 7,43 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-4,4'), 8,20 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  163,89 (C-1), 157,16 (C-6), 129,79 (C-3), 122,22 (C-4,4'), 114,34 (C-5,5'), 55,61 (C-7), 42,97 (C-2).

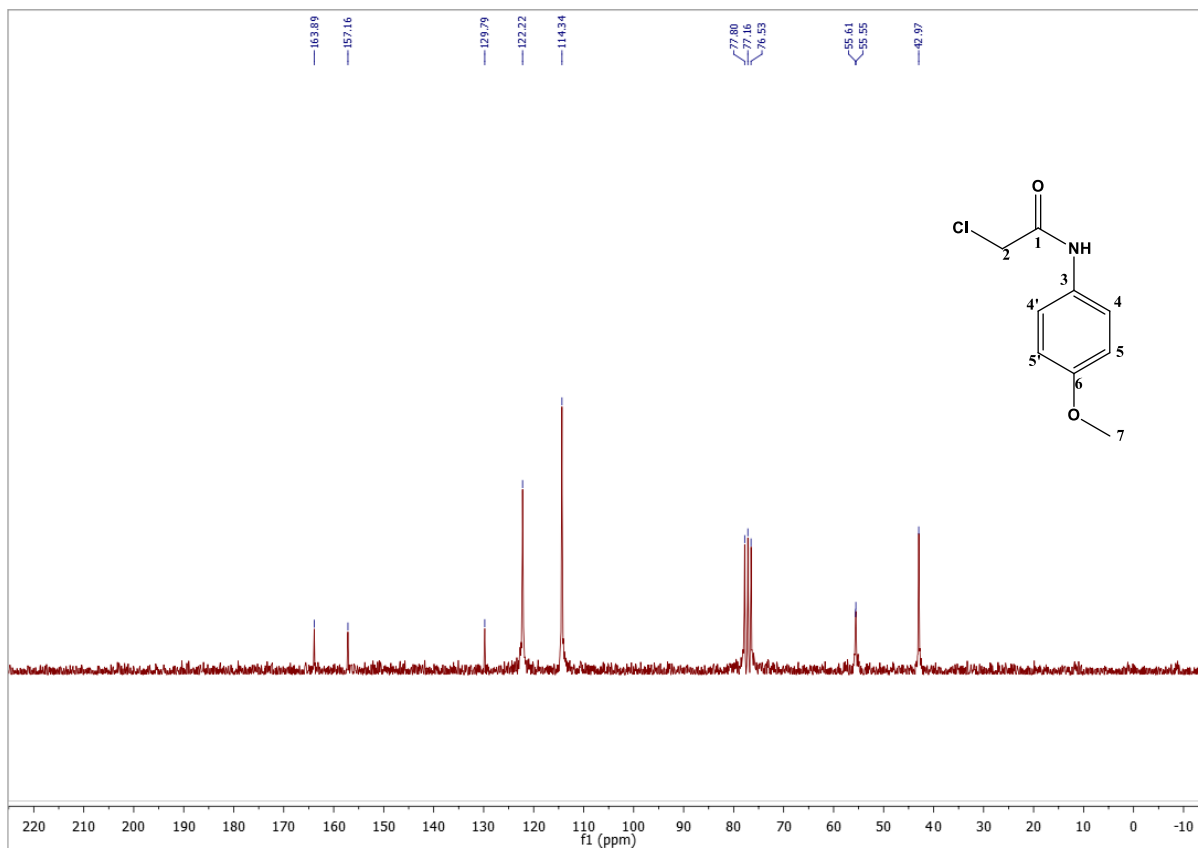
**Espectro 193.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A10.



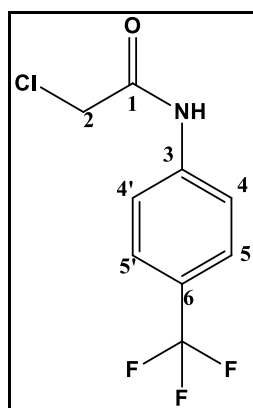
**Espectro 194.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz) da acetamida A10.



**Espectro 195.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – ( $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz) da acetamida A10.

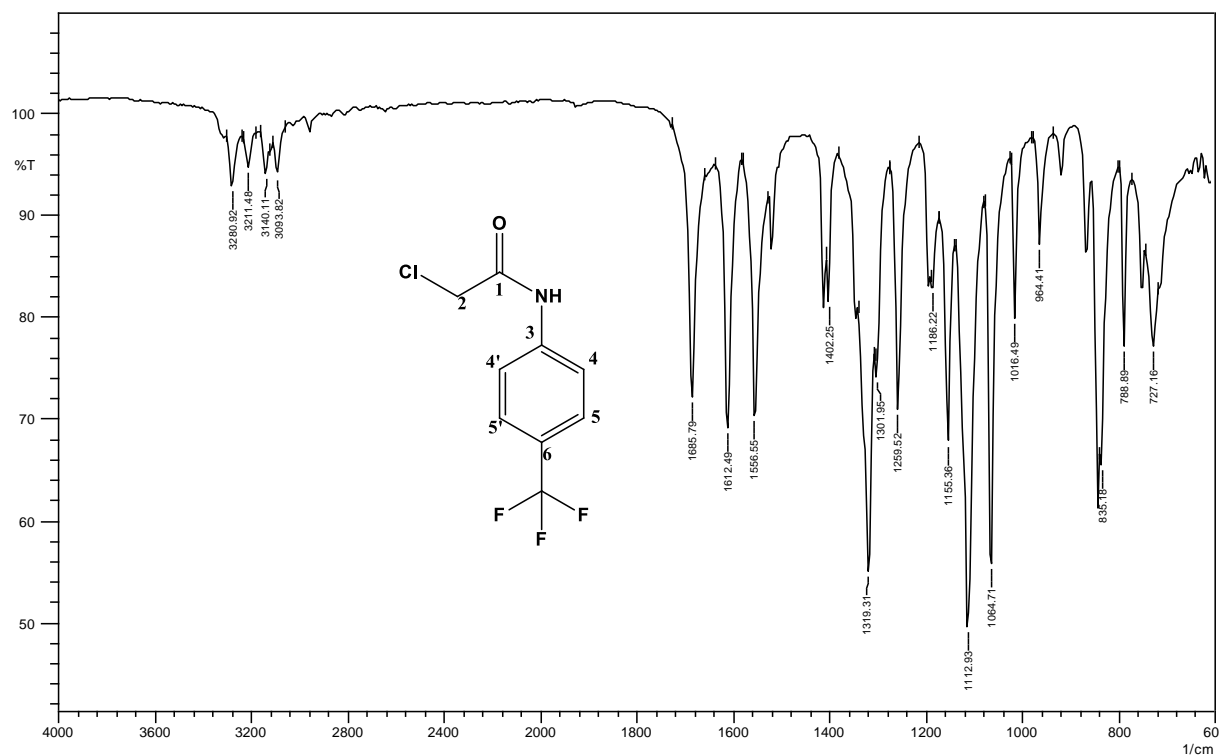


**2-cloro-*N*-(*p*-trifluormetilfenil)acetamida (A11):**

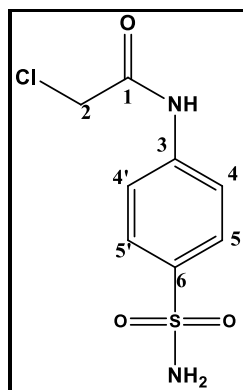


Rendimento: 94%. P.f. 161 – 162°C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3280 (NH), 3140 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 3093 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1685 (C = O), 1556, 1402 (C =  $\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1319, 1259 (C – Cl), 1112 (C – F), 1155, 1064 (O- $\text{CH}_2$ -O), 835( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 788 (NH).

**Espectro 196.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A11.

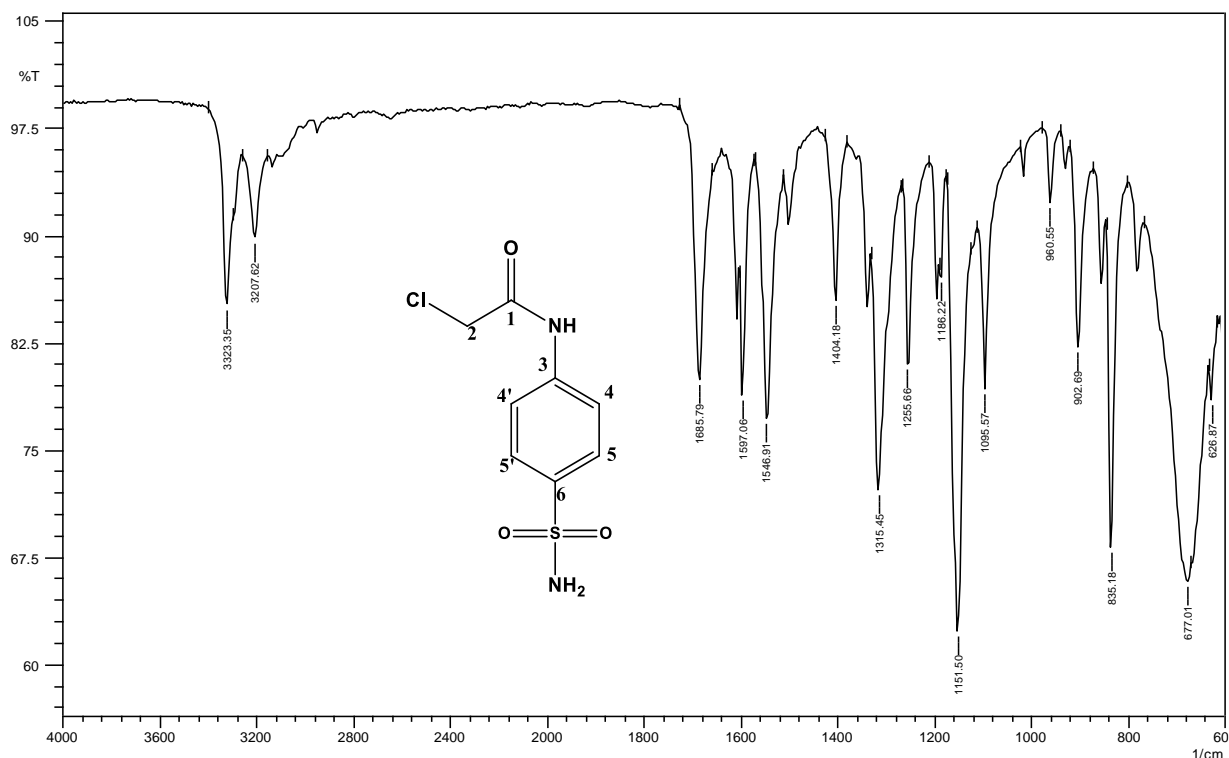


**2-cloro-N-(p-sulfonilfenil)acetamida (A12):**

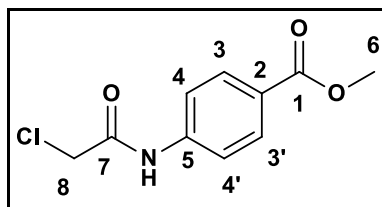


Rendimento: 78%. p.f. 214 - 216°C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3323 (NH), 1685 (C = O), 1597, 1546 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1255, 1186 (C – Cl), 1315, 1151 (S=O), 835 (CH<sub>Ar.</sub>), 677 (NH).

**Espectro 197.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A12.

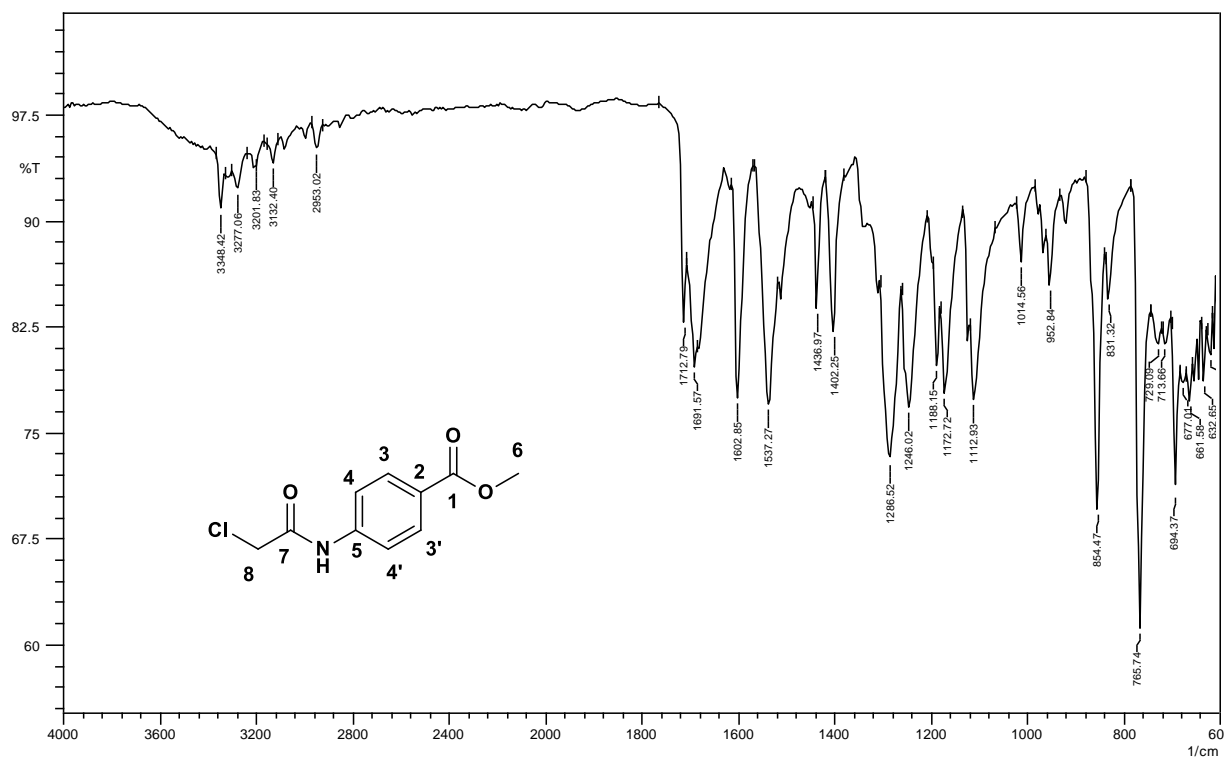


**2-cloro-N-(*p*-benzoato de metila)acetamida (A13):**

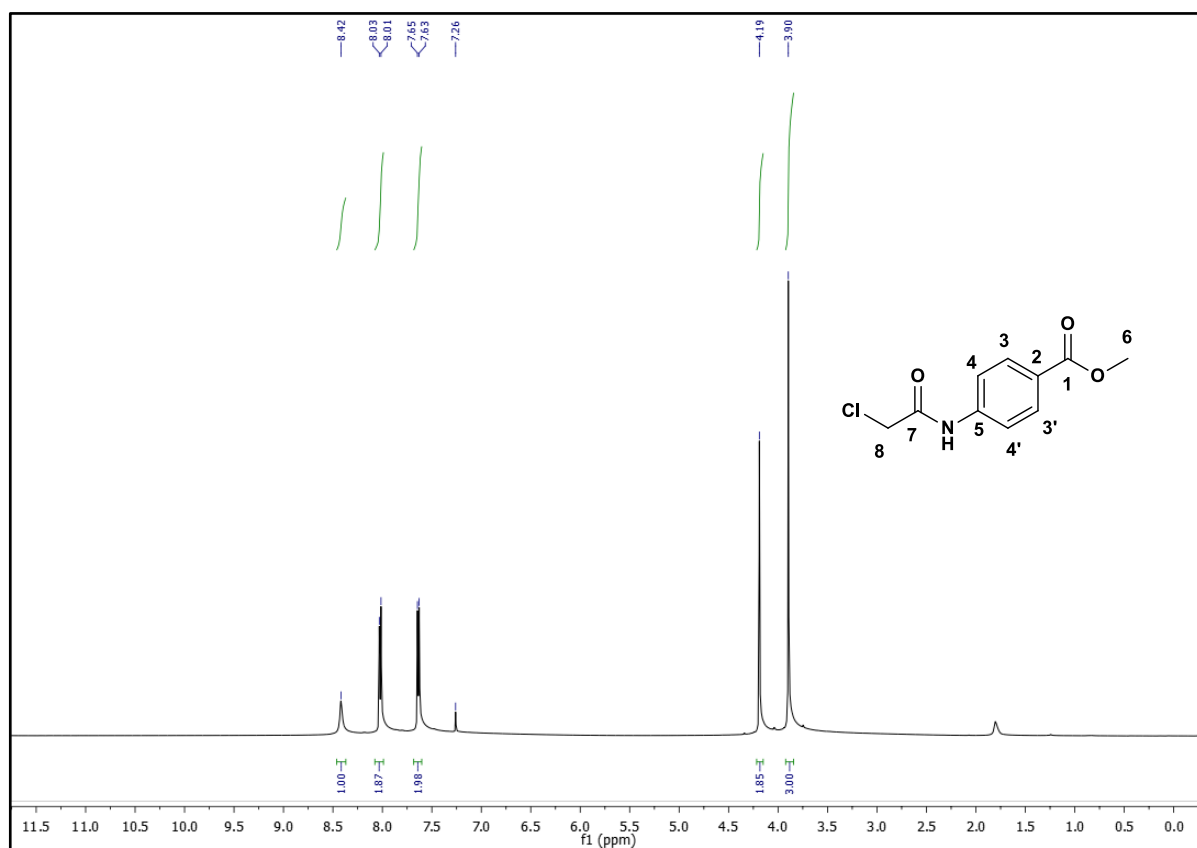


Rendimento: 86%. P.f. 143 – 145°C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3348 (NH), 3132 (CH<sub>Ar.</sub>), 2953 (CH<sub>Alif.</sub>), 1712, 1691 (C = O), 1602, 1537 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1436, 1402 (CH<sub>Alif.</sub>), 1286, 1246 (C-Cl), 1172, 1112 (C – O), 854 (CH<sub>Ar.</sub>), 765 (NH). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz - CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  3.90 (s, 3H, H-6), 4.19 (s, 2H, H-8); 8.42 (s, 1H, NH); 7.64 (d,  $J=8,6$  Hz, 2H, H-4,4'). 8.02 (d,  $J=8,5$  Hz, 2H, H-3,3'). RMN <sup>13</sup>C (125 MHz - CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  166.53 (C-1), 164,17 (C-7), 140,92 (C-5), 130,98 (3,3'), 126,72 (C-2), 119.31 (4,4'), 52,23 (C-6), 43,00 (C-8).

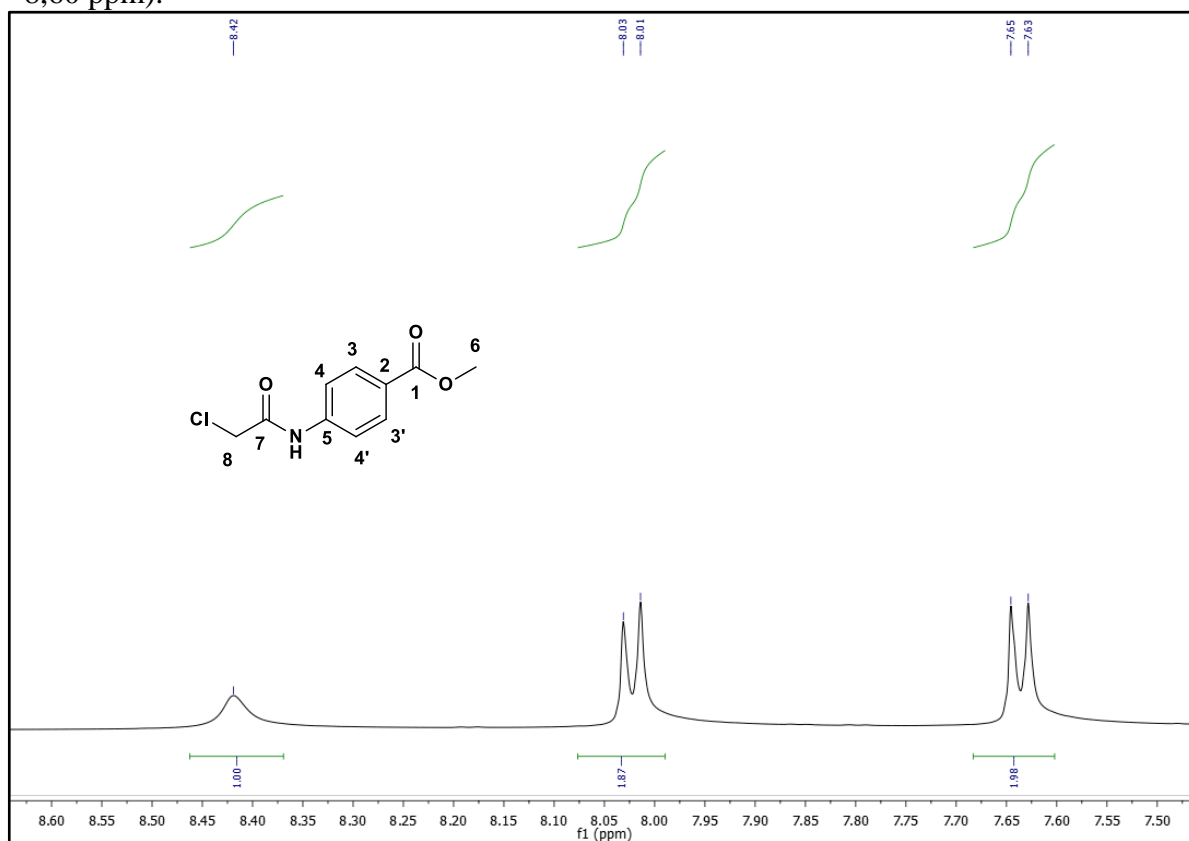
**Espectro 198.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A13.



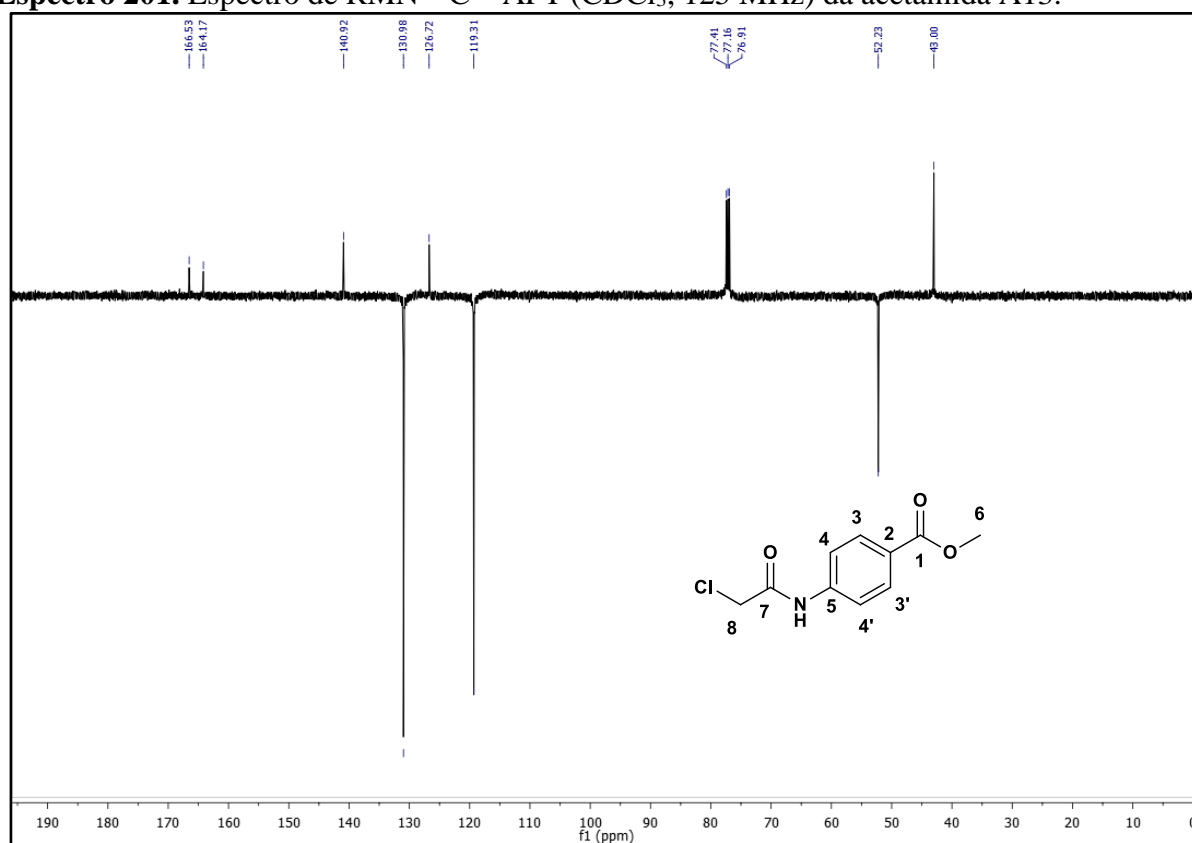
**Espectro 199.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) da acetamida A13.



**Espectro 200.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A13 (7,50 – 8,60 ppm).

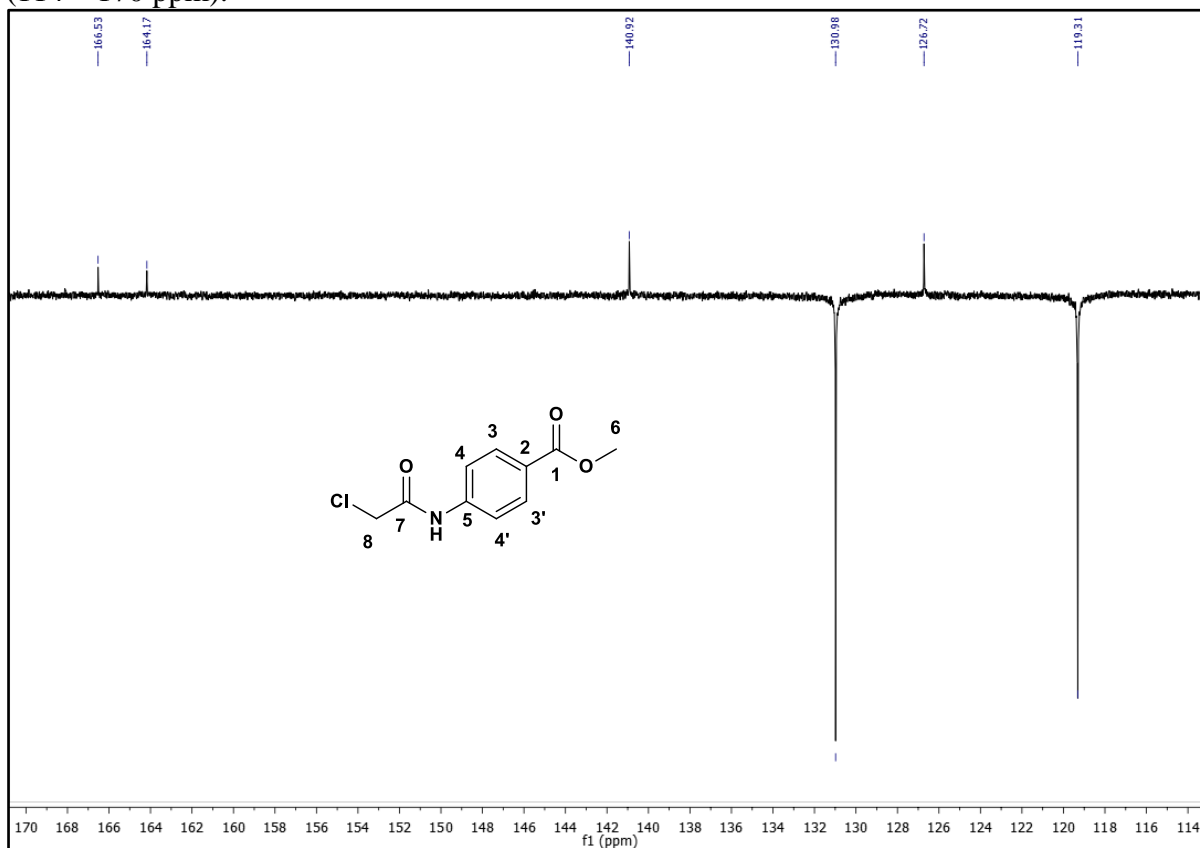


**Espectro 201.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A13.

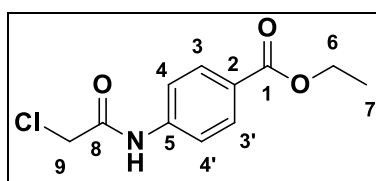




**Espectro 202.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A13 (114 – 170 ppm).

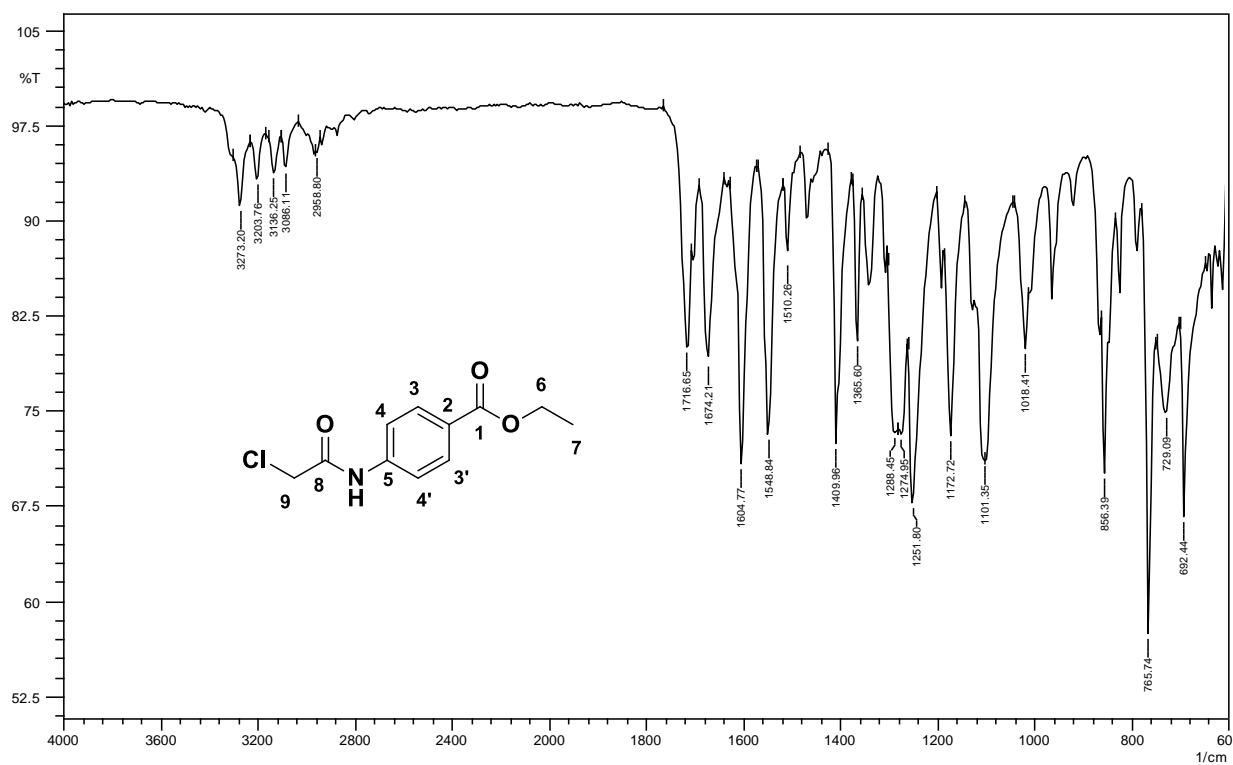


**2-cloro-*N*-(*p*-benzoato de etila)acetamida (A14):**

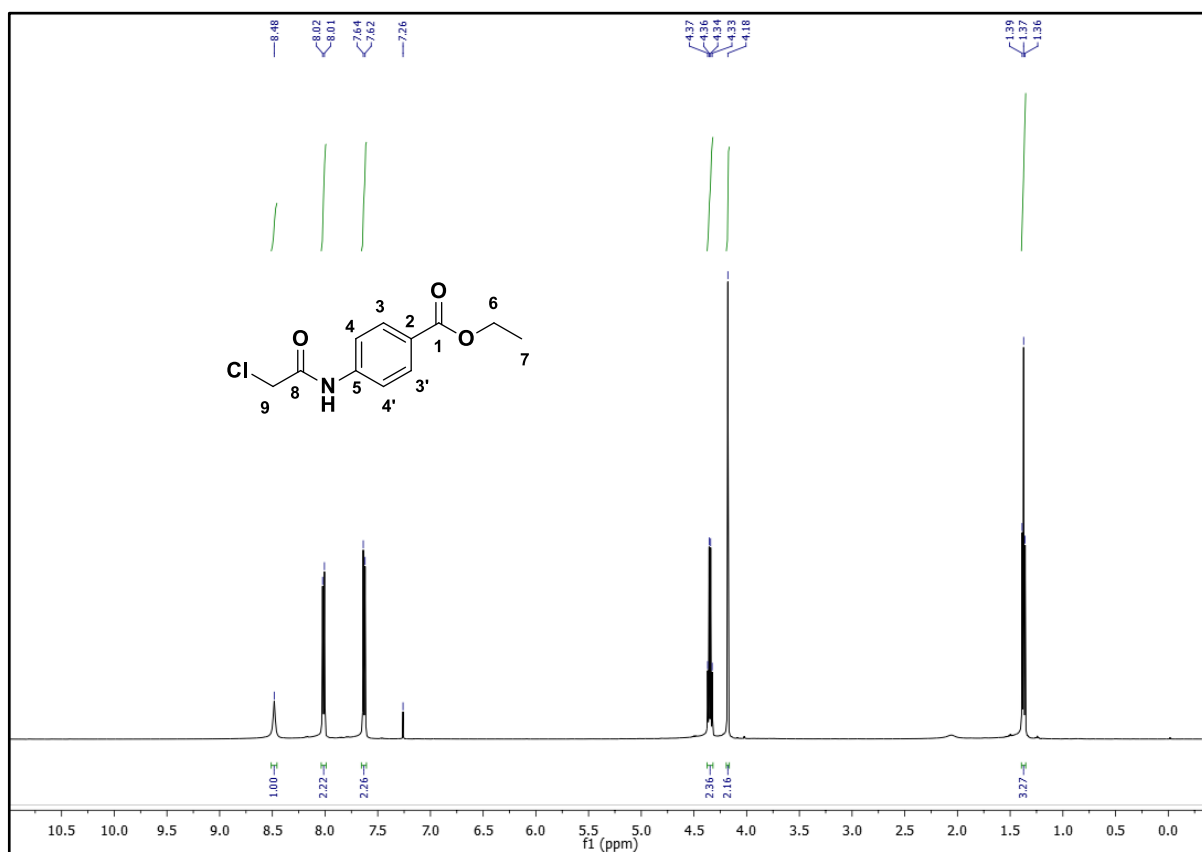


Rendimento: 83%. P.f. 115 – 117°C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3273 (NH), 3086 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 2958 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1716, 1674 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1604, 1548 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1409, 1365 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1274, 1251 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 1172, 1101 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 831 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 765 (NH). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,37 (t,  $J = 7,1$  Hz, 4H, H-7), 4.18 (s, 2H, H-9), 4.35 (q,  $J = 7,1$  Hz, 2H, H-6); 7,63 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-4,4'). 8,01 (d,  $J = 8,7$  Hz, 2H, H-3,3'), 8,48 (s, 1H, NH). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  166,07 (C-1), 164,24 (C-8), 140,88 (C-5), 130,88 (C-3,3'), 126,99 (C-2), 119,28 (C-4,4'), 61,10 (C-6), 43,00 (C-9).

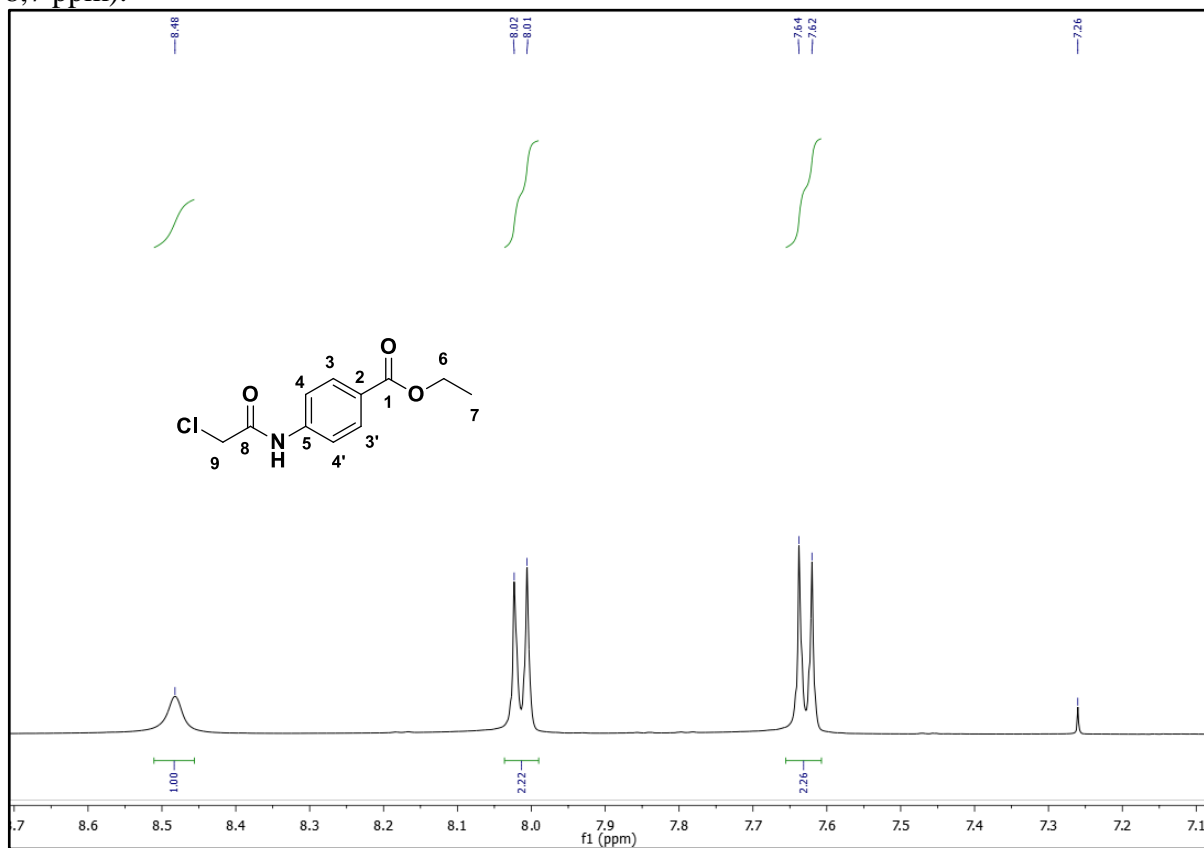
**Espectro 203.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A14.



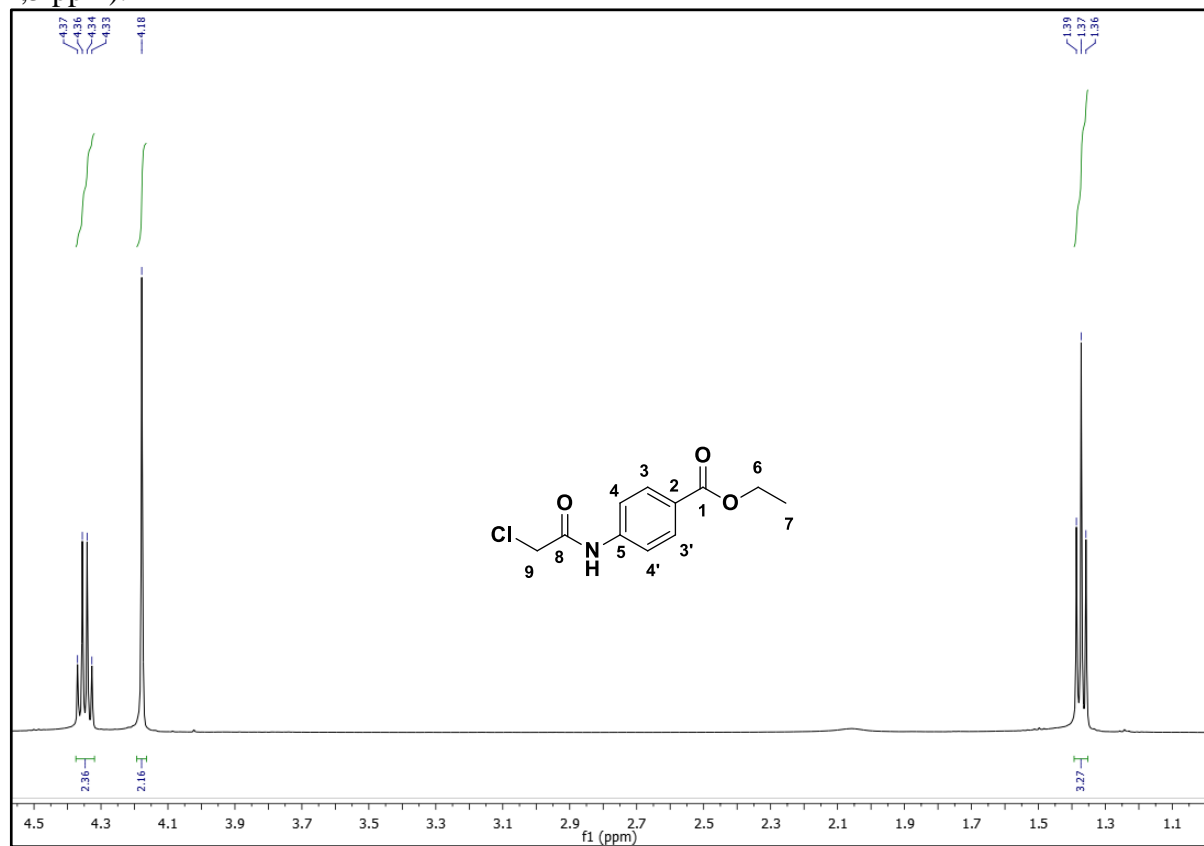
**Espectro 204.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz) da acetamida A14.



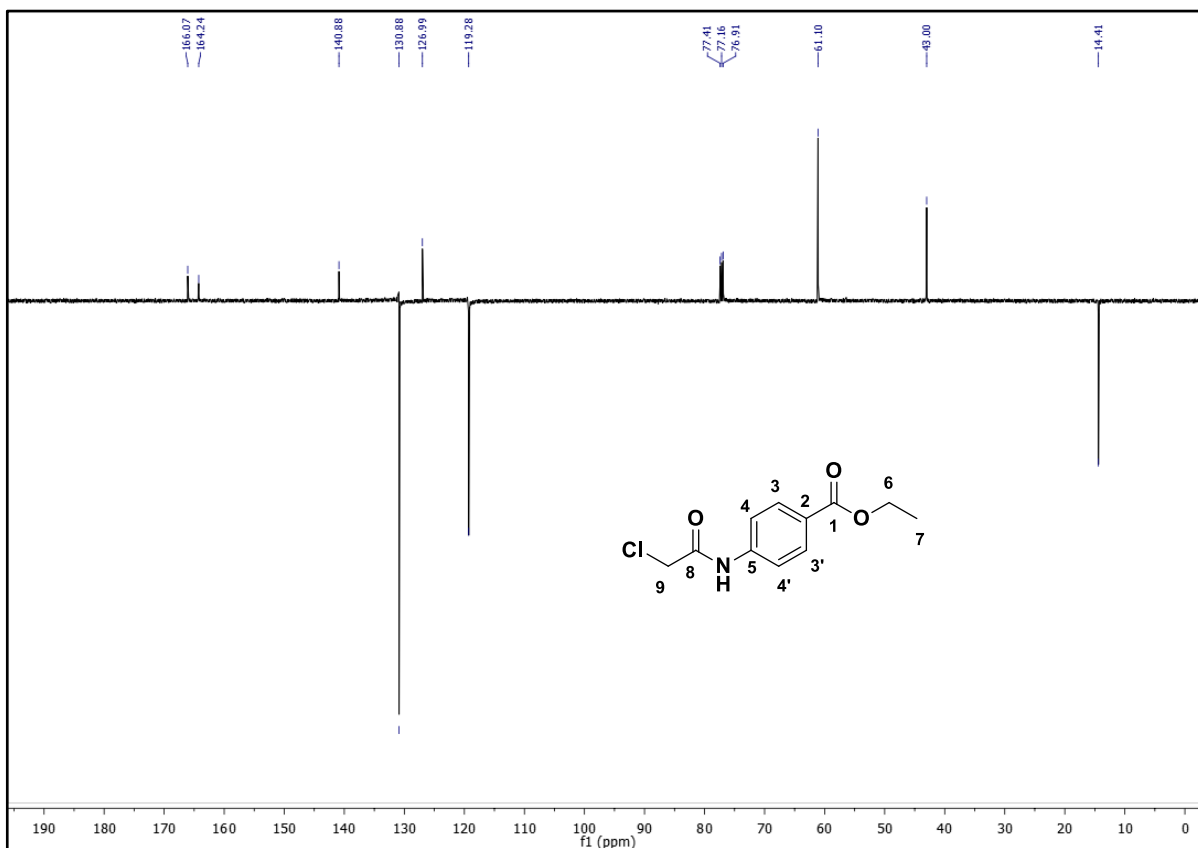
**Espectro 205.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A14 (7,1 – 8,7 ppm).



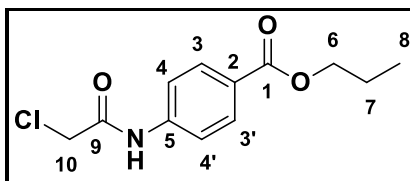
**Espectro 206.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A14 (1,1 – 4,5 ppm).



**Espectro 207.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A14.

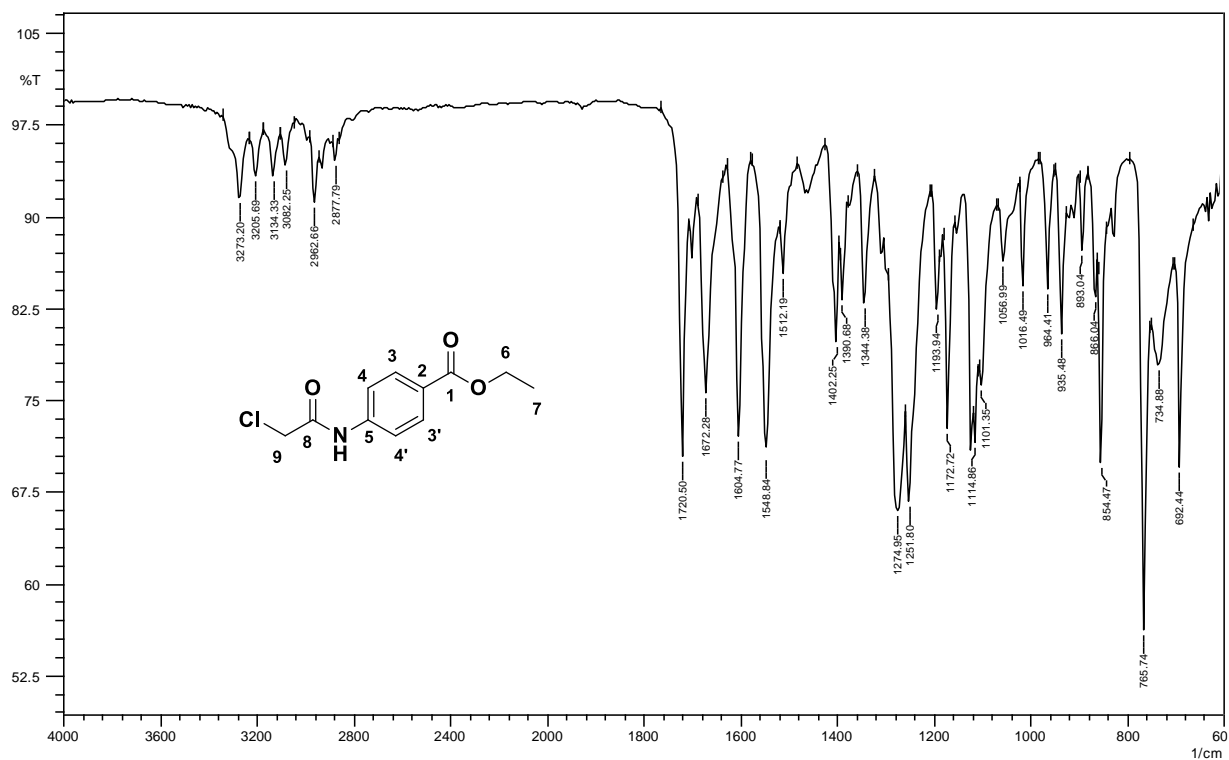


**2-cloro-*N*-(*p*-benzoato de *n*-propila)acetamida (A15):**

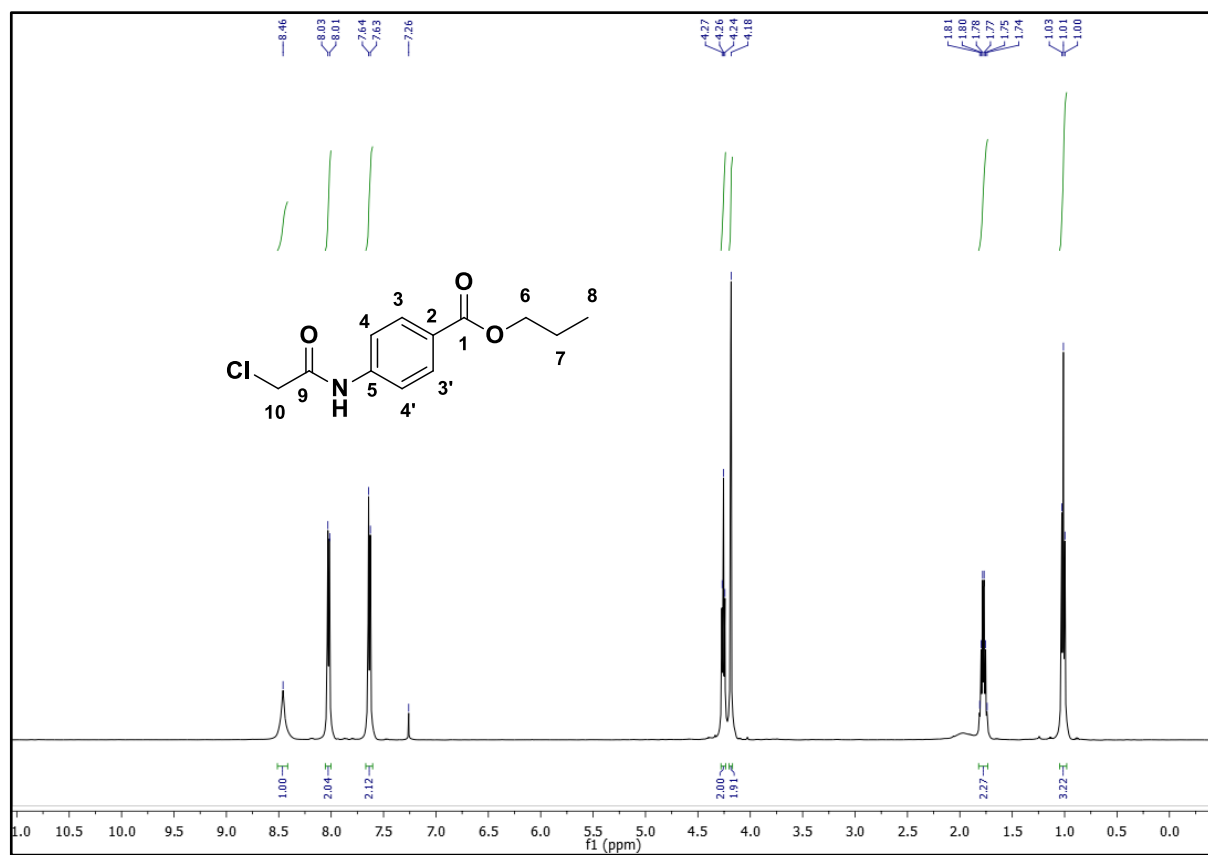


Rendimento: 85%. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3271 (NH), 3086 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 2964, 2875 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1720, 1674 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1606, 1546 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1408 ( $\text{CH}_{\text{Alif}}$ ), 1276, 1251 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 1172, 1099 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 852 ( $\text{CH}_{\text{Ar}}$ ), 765 (NH). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,01 (t, 3H, H-8), 1,83-1,72 (m, 2H, H-7), 4,18 (s, 2H, H-10), 4,26 (t, 2H, H-6); 7,63 (d,  $J=8,4$  Hz, 2H, H-4,4'). 8,02 (d,  $J=8,6$  Hz, 2H, H-3,3'), 8,48 (s, 1H). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz -  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  166,12 (C-1), 164,22 (C-9), 140,86 (C-5), 130,90 (C-3,3'), 127,04 (C-2), 119,30 (C-4,4'), 66,70 (C-6), 43,05 (C-10), 22,21 (C-8), 10,60 (C-7).

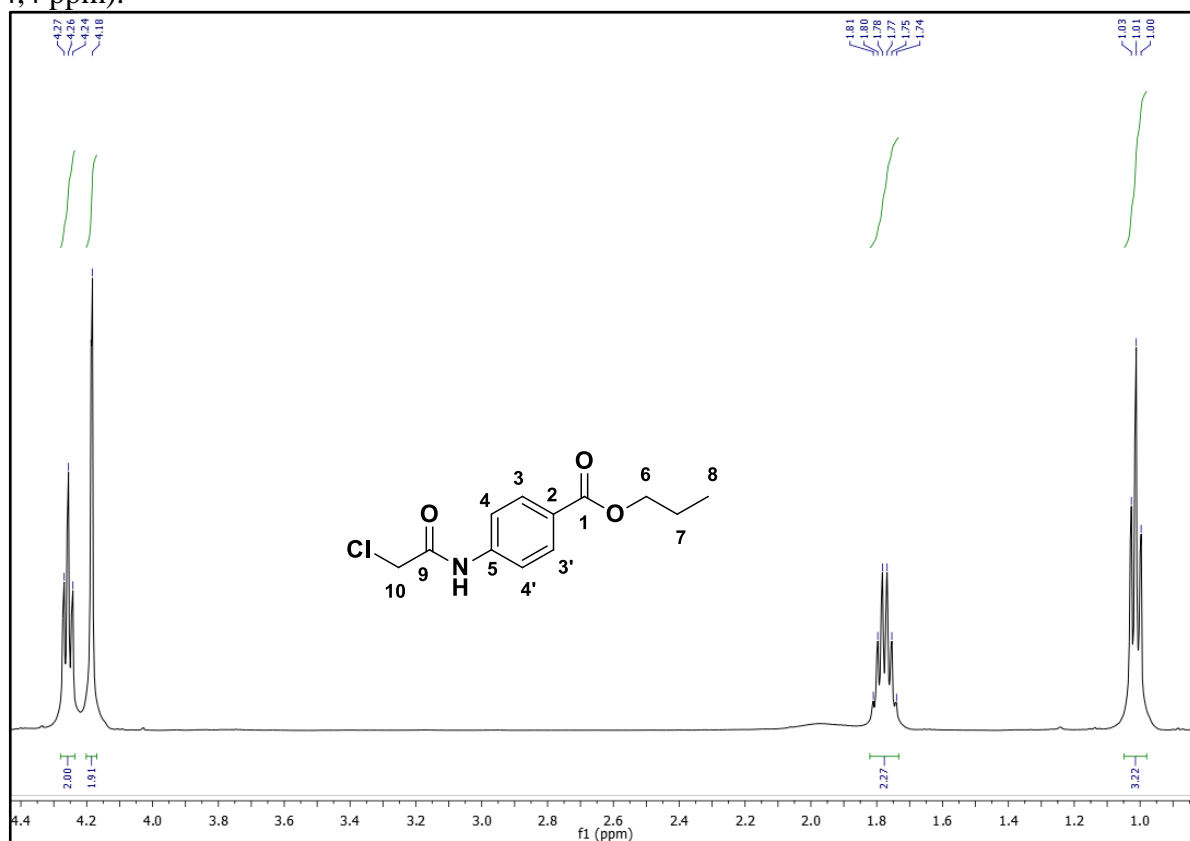
**Espectro 208.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A15.



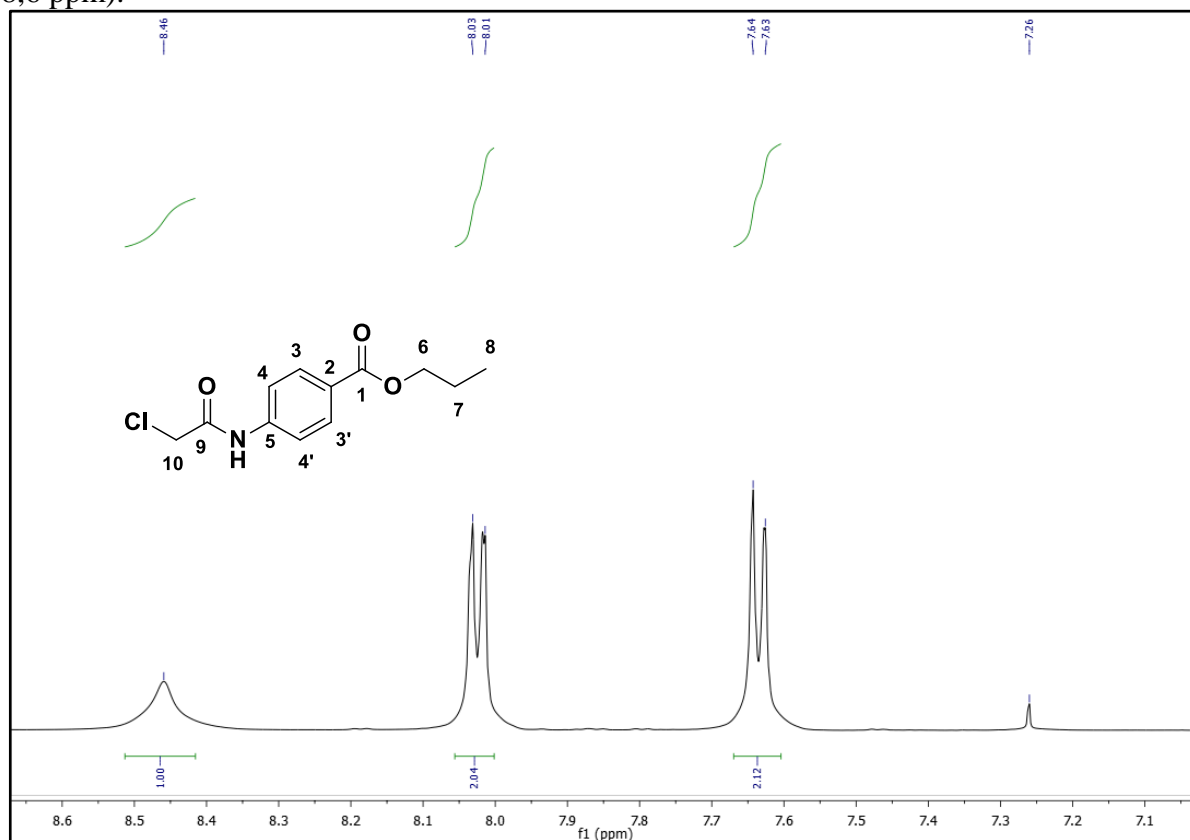
**Espectro 209.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15.



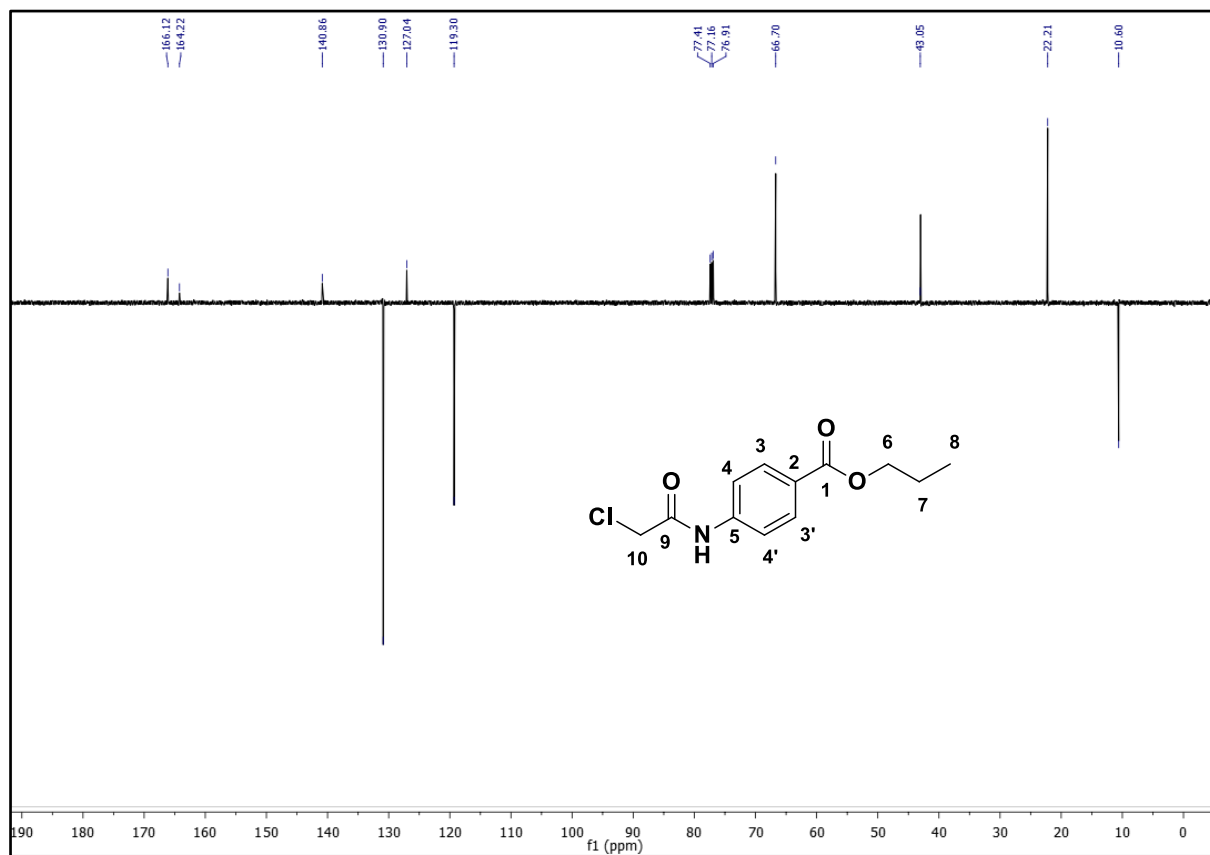
**Espectro 210.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15 (1,0 – 4,4 ppm).



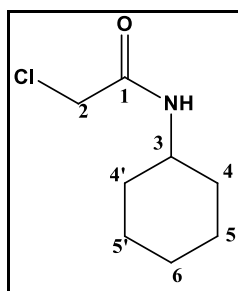
**Espectro 211.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz) da acetamida A15 (7,1 – 8,6 ppm).



**Espectro 212.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  – APT ( $\text{CDCl}_3$ , 125 MHz) da acetamida A15.

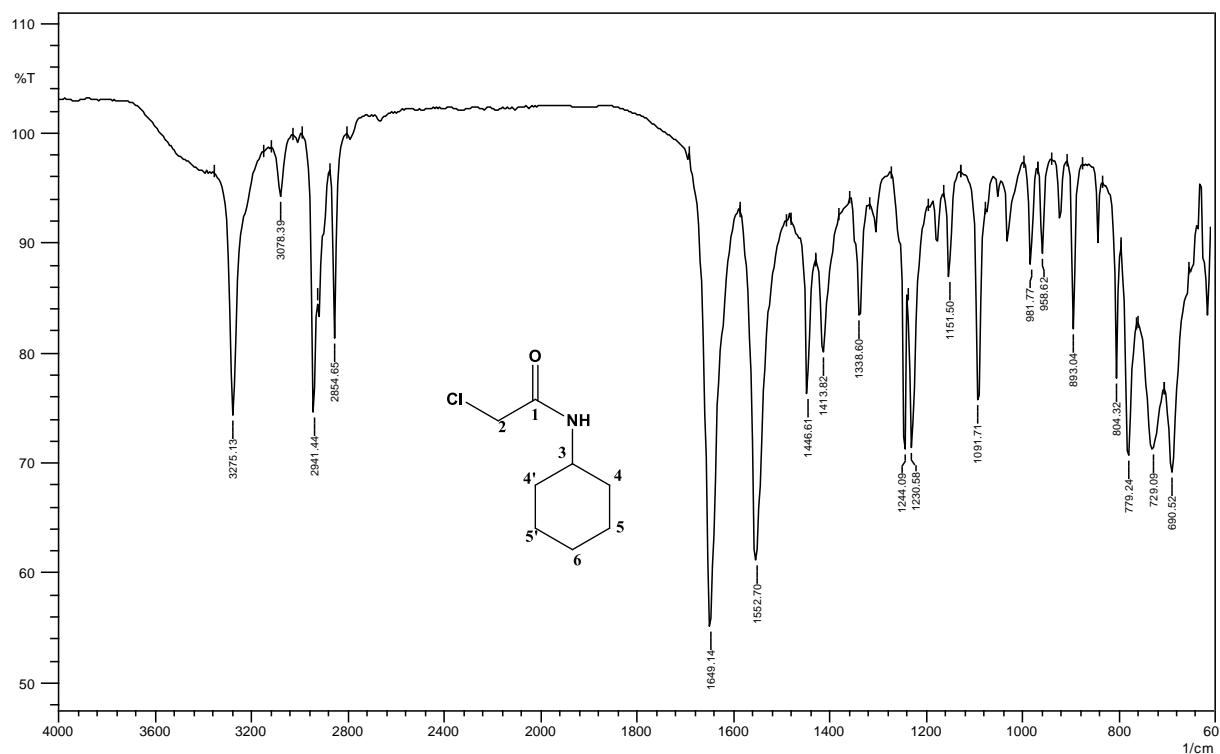


**2-cloro-N-(cicloexila) acetamida (A16):**



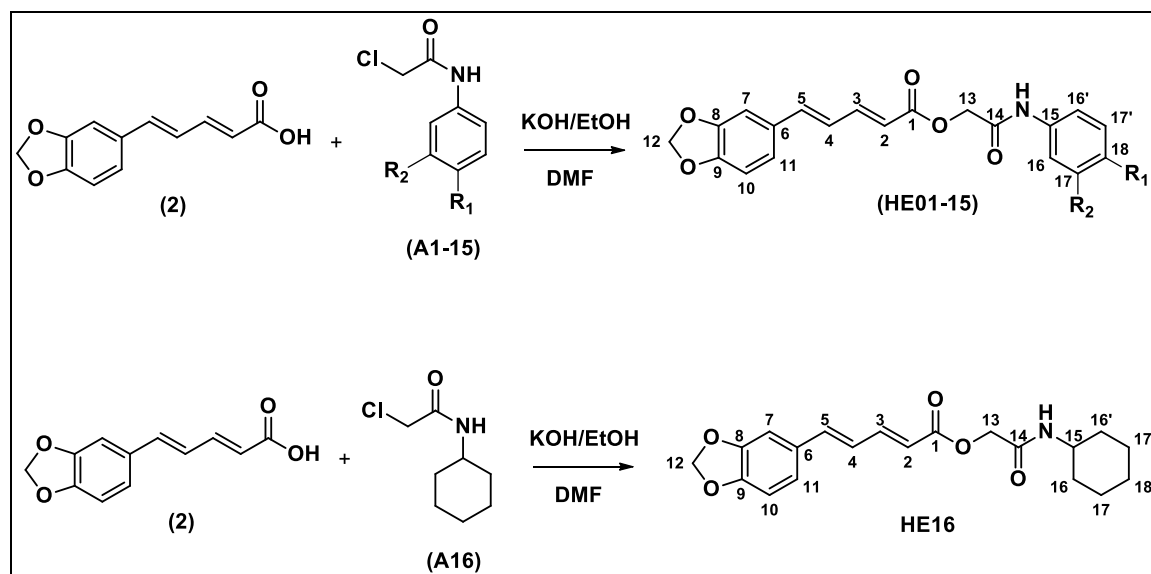
Rendimento: 93%. p.f. 109 – 111°C. IV (KBr):  $\nu/\text{cm}^{-1}$  3275, (NH), 3078 ( $\text{CH}_{\text{Ar.}}$ ), 2941, 2859 ( $\text{CH}_{\text{Alif.}}$ ), 1649 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1552, 1446 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1338 ( $\text{CH}_{\text{Alif.}}$ ), 1244, 1230 ( $\text{C}-\text{Cl}$ ), 1151, 1091 ( $\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$ ), 893 ( $\text{CH}_{\text{Ar.}}$ ), 779 (NH).

**Espectro 213.** Espectro de IV (KBr) da acetamida A16.



## 6.4 PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS FINAIS

### 6.4.1 Síntese dos compostos 2-oxo-N-(alil ou arilamina)-piperidinoato de etila (HE01-16)

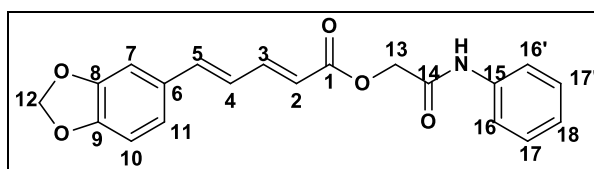




## Procedimento geral

Em um balão de 50 mL, uma mistura equimolar de ácido pipérico **2** com uma solução de hidróxido de potássio (0,005 mol) em 30 mL de etanol foi agitada a temperatura ambiente por 20 minutos. Depois o solvente foi evaporado a pressão reduzida e o resíduo foi tratado com a 2-cloroacetamida (A1-16) correspondente (0,005 mol) em DMF (10 mL) a 100 °C durante 24 horas. Após o termino da reação, a mistura foi esfriada, adicionou água gelada e o sólido foi separado por filtração a vácuo. O produto bruto foi recrystalizado em etanol/água ou ácido acético/água.

### (2*E*, 4*E*)-2-oxo-2-(fenilamina)-piperidinoato de etila (HE01)



Aspecto: sólido amarelo claro.

Rendimento: 66 %, p.f. 200 – 201 °C.

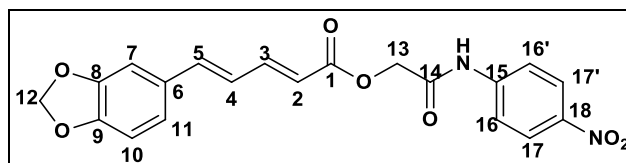
Análise elementar (%) – calc.: C = 68,37, H = 4,88, N = 3,99. Análise elementar (%) – exp.: C = 67,39, H = 4,86, N = 3,98.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3305 (N-H), 3140(C-H<sub>Ar.</sub>), 2955 (C-H<sub>Alif.</sub>), 1683 (C = O), 1597, 1440 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1255 (C - O - C), 1195 (C - O), 854 (C-H<sub>Ar.</sub>), 756 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 500 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 4,75 (s, 2H, H-13); 6,06 (s, 2H, H-12); 6,12 (d,  $j = 15,2$  Hz, 1H, H-2); 6,93 (d,  $j = 8$  Hz, 1H, H-10); 7,09-7,02 (m, 4H, H-4); 7,09-7,02 (m, 4H, H-5); 7,09-7,02 (m, 4H, H-11); 7,09-7,02 (m, 4H, H-18); 7,25 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7); 7,34 – 7,29 (m, 2H, H-17,17'); 7,46 (ddd,  $J = 15,3; 7,4; 2,9$  Hz, 1H); 7,59 (d,  $J = 7,6$  Hz, 2H, H-16,16'); 10,10 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 125 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 165,77 (C-14), 165,31 (C-1), 148,30 (C-9), 147,99 (C-8), 145,96 (C-3), 140,97 (C-5), 138,44 (C-15), 130,35 (C-6), 128,73 (C-17,17'), 124,60 (C-4), 123,49 (C-18), 123,34 (C-11), 119,31 (C-16, 16'), 119,05 (C-2), 108,51 (C-10), 105,77 (C-7), 101,39 (C-12), 62,49 (C-13).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-nitrofenilamina)-piperidinoato de etila (HE02)**



Aspecto: sólido amarelo escuro

Rendimento: 68 %, p.f. 216 - 217 °C.

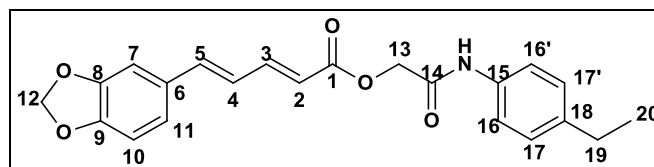
Análise elementar (%) – calc.: C = 60,61, H = 4,07, N = 7,07. Análise elementar (%) – exp.: C = 60,60, H = 4,05, N = 7,08.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3296 (N-H), 3093 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 1678 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1595, 1500 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1342 ( $\text{NO}_2$ ) 1246 ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ), 1174, 1091 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 852 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 748 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 500 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 4,81 (s, 2H, H-13), 6,05 (s, 2H, H-12), 6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H, H-2), 6,92 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,06 – 7,01 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,24 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7), 7,46 (ddd,  $J = 15,3; 7,9; 2,4$  Hz, 1H, H-3), 7,83 (d,  $J = 9,4$  Hz, 2H, H-16, 16'), 8,22 (d,  $J = 9,3$  Hz, 2H, H-17, 17'), 10,74 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 125 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 166,61 (C-14), 165,79 (C-1), 148,34 (C-9), 148,01 (C-8), 146,22 (C-3), 144,60 (C-15), 142,43 (C-18), 141,15 (C-5), 130,34 (C-6), 124,99 (C-17, 17'), 124,58 (C-4), 123,40 (C-11), 118,98 (C-16, 16'), 118,82 (C-2), 108,53 (C-10), 105,79 (C-7), 101,42 (C-12), 62,54 (C-13).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-etilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE03)**



Aspecto: sólido amarelo claro

Rendimento: 74 %, p.f. 169-170 °C.

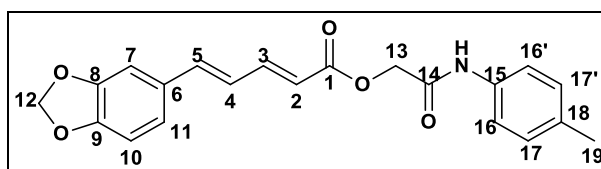
Análise elementar (%) – calc.: C = 69,64, H = 5,58, N = 3,69. Análise elementar (%) – exp.: C = 69,66, H = 5,56, N = 3,67.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3275 (N-H), 3080 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 2956 (C-H), 1716, 1672 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1500, 1444 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1253 ( $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 1136, 1036 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 833 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  – (500 MHz, DMSO,  $\delta$ ): 1,15 (t, 3H, H-20), 2,55 (q, 2H, H-19), 4,73 (s, 2H, H-13), 6,05 (s, 2H, H-12), 6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,05 – 7,02 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,14 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H, H-17,17'), 7,47 – 7,42 (m, 1H, H-3), 7,25 (d,  $J = 1,7$  Hz, 1H, H-7), 10,01 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  – (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ ): 165,79 (C-14), 165,30 (C-1), 148,31 (C-9), 148,01 (C-8), 145,95 (C-3), 136,12 (C-15), 138,94 (C-18), 140,96 (C-5), 130,37 (C-6), 127,92 (C-17,17'), 124,61 (C-4), 123,35 (C-11), 119,45 (C-16, 16'), 119,10 (C-2), 108,52 (C-10), 105,79 (C-7), 101,40 (C-12), 62,49 (C-13), 27,57 (C-19), 15,61 (C-20).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-metilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE04)**



Aspecto: sólido amarelo claro

Rendimento: 63 %, p.f. 184 – 185 °C.

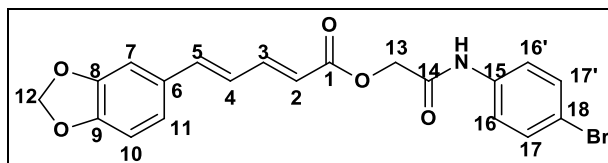
Análise elementar (%) – calc.: C = 69,03, H = 5,24, N = 3,83. Análise elementar (%) – exp.: C = 69,01, H = 5,25, N = 3,84.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3259 (N-H), 3032 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 2954 (C-H), 1703, 1658 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1598, 1498 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1246 ( $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 1155, 1033 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 817 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 500 MHz -  $\text{DMSO-}d_6$ ): 2,25 (s, 3H, H-19), 4,73 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,11 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,05 – 7,02 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,11 (d,  $J = 8,2$  Hz, 2H, H-17,17'), 7,48 – 7,42 (m, 3H, H-3 e H-16,16'), 7,25 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7), 10,02 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  – (125 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ ): 165,81 (C-14), 165,29 (C-1), 148,32 (C-9), 148,02 (C-8), 145,98 (C-3), 135,95 (C-15), 132,45 (C-18), 140,99 (C-5), 130,38 (C-6), 129,15 (C-17,17'), 124,63 (C-4), 123,40 (C-11), 119,34 (C-16, 16'), 119,10 (C-2), 108,54 (C-10), 105,78 (C-7), 101,42 (C-12), 62,51 (C-13), 20,43 (C-19).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-bromofenilamina)-piperidinoato de etila (HE05)**



Aspecto: sólido amarelo claro

Rendimento: 76%, p.f. 186 – 187 °C.

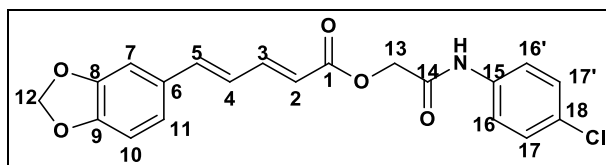
Análise elementar (%) – calc.: C = 55,83, H = 3,75, N = 3,26. Análise elementar (%) – exp.: C = 55,84, H = 3,74, N = 3,24.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3251 (N-H), 3039 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 2897 (C-H), 1726, 1674 (C = O), 1535, 1489 (C =  $\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1253 (O-CH<sub>2</sub>-O), 1138, 1037 (C – O), 819 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ).

RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$ , 200 MHz - DMSO-*d*<sub>6</sub>): 4,74 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,11 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 6,93 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 7,05 – 7,01 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,25 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,45 (ddd, *J* = 15,3; 7,3; 3,0 Hz, 1H, H-3), 7,50 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-17,17'), 7,56 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-16,16'), 10,26 (s, 1H, NH).

RMN <sup>13</sup>C ( $\delta$ , 50 MHz - DMSO-*d*<sub>6</sub>): 165,81 (C-14), 165,71 (C-1), 148,34 (C-9), 148,02 (C-8), 146,10 (C-3), 141,08 (C-5), 137,83 (C-15), 130,36 (C-6), 124,61 (C-4), 123,42 (C-11), 121,62 (C-17,17'), 121,24 (C-16, 16'), 118,98 (C-2), 115,15 (C-18), 108,55 (C-10), 105,79 (C-7), 101,44 (C-12), 62,51 (C-13).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-clorofenilamina)-piperidinoato de etila (HE06)**



Aspecto: sólido amarelo

Rendimento: 76%, p.f. 189 – 200 °C.

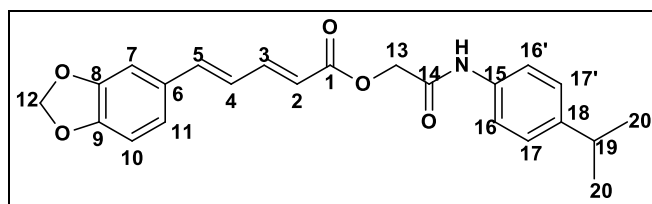
Análise elementar (%) – calc.: C = 62,26, H = 4,18, N = 3,63. Análise elementar (%) – exp.: C = 62,28, H = 4,17, N = 3,61.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3325 (N-H), 3113 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 2997 (C-H), 1681 (C = O), 1595, 1487 (C =  $\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1249 (O-CH<sub>2</sub>-O), 1193, 1031 (C – O), 831 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 705 (NH).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 200 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 4,75 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,11 (d,  $J = 15,3$  Hz, 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,06 – 7,00 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,24 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7), 7,37 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-17,17'), 7,45 (ddd,  $J = 15,2; 7,6; 2,7$  Hz, 1H, H-3), 7,62 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-16,16'), 10,24 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 165,75 (C-14), 166,71 (C-1), 148,30 (C-9), 147,99 (C-8), 146,02 (C-3), 141,01 (C-5), 137,38 (C-15), 130,33 (C-6), 128,65 (C-17,17'), 127,10 (C-18), 124,57 (C-4), 123,34 (C-11), 120,85 (C-16, 16'), 118,96 (C-2), 108,49 (C-10), 105,76 (C-7), 101,39 (C-12), 62,46 (C-13).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-isopropilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE07)**



Aspecto: sólido amarelo claro

Rendimento: 82%, p.f. 175 – 176 °C.

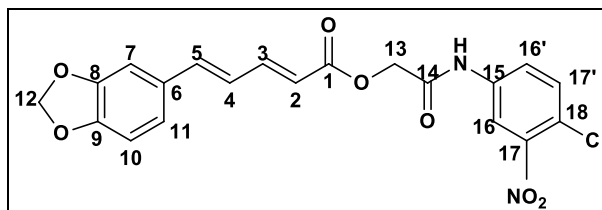
Análise elementar (%) – calc.: C = 70,21, H = 5,89, N = 3,56. Análise elementar (%) – exp.: C = 70,25, H = 5,85, N = 3,55.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3261 (N-H), 3035 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 2956 (C-H), 1726, 1672 (C = O), 1535, 1440 ( $\text{C} = \text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1251 (O- $\text{CH}_2$ -O), 1128, 1035 (C – O), 828 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 690 (NH).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 200 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 1,16 (d,  $J = 6,6$  Hz, 6H, H-20,20'), 2,82 (m,  $J = 12,9; 6,4$  Hz, 1H, H-19), 4,73 (s, 2H, H-13), 6,10 (d,  $J = 19,8$  Hz, 3H, H-2 e H-12), 7,25 - 6,94 (m, 6H, H-4, H-5, H-10, H-11, H-17,17'), 7,48 (d,  $J = 7,4$  Hz, 3H, H-3 e H-16,16'), 10,06 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz - DMSO- $\text{d}_6$ ): 165,91 (C-14), 165,42 (C-1), 148,40 (C-9), 148,09 (C-8), 146,10 (C-3), 143,69 (C-18), 141,10 (C-5), 136,27 (C-15), 130,44 (C-6), 126,56 (C-17,17'), 124,69 (C-4), 123,52 (C-11), 119,50 (C-16,16'), 119,16 (C-2), 108,63 (C-10), 105,85 (C-7), 101,51 (C-12), 62,56 (C-13), 32,95 (C-19), 24,01 (C-20,20').

**(2E,4E)-2-oxo-2-(3-nitro-4-clorofenilamina)-piperidinoato de etila (HE09)**



Aspecto: sólido marrom

Rendimento: 75 %, p.f. 136 - 138 °C.

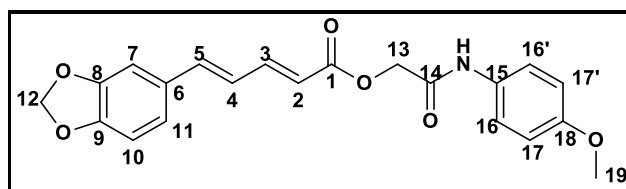
Análise elementar (%) – calc.: C = 55,76, H = 3,51, N = 6,50. Análise elementar (%) – exp.: C = 55,75, H = 3,53, N = 6,49.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3275 (N-H), 3020 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 2926 ( $\text{C-H}_{\text{alif}}$ ), 1716, 1674 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1529, 1444 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$ ), 1253 ( $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 1234, 1138 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 800 ( $\text{C-H}_{\text{Ar}}$ ), 725 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 400 MHz -  $\text{DMSO-d}_6$ ): 4,78 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,07 – 7,01 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,25 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7), 7,46 (ddd,  $J = 15,2$ ; 7,1; 3,3 Hz, 1H, H-3), 7,72 (d,  $J = 8,8$  Hz, 1H, H-17'), 7,80 (dd,  $J = 8,9$ ; 2,5 Hz, 1H, H-16'), 8,39 (d,  $J = 2,5$  Hz, 1H, H-16), 10,70 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 100 MHz -  $\text{DMSO-d}_6$ ): 166,61 (C-14), 165,83 (C-1), 148,41 (C-9), 148,06 (C-8), 147,29 (C-17), 146,32 (C-3), 141,24 (C-5), 138,34 (C-15), 132,17 (16'), 130,38 (C-6), 124,62 (C-4), 124,23 (17'), 123,50 (C-11), 115,71 (C-16), 118,83 (C-2), 118,88 (C-18), 108,59 (C-10), 105,82 (C-7), 101,48 (C-12), 62,47 (C-13).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-metoxifenilamina)-piperidinoato de etila (HE10)**



Aspecto: sólido amarelo escuro

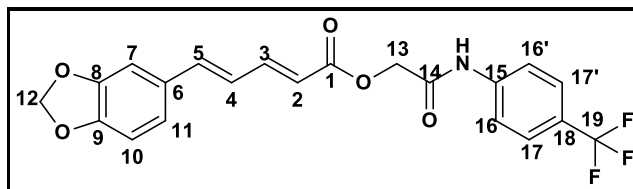
Rendimento: 87 %, p.f. 190 - 191 °C.

Análise elementar (%) – calc.: C = 66,13, H = 5,02, N = 3,67. Análise elementar (%) – exp.: C = 66,11, H = 5,04, N = 3,66.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (N-H), 3078 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 1720, 1670 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1500, 1440 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1251 ( $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 1130, 1035 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 835 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 702 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 200 MHz -  $\text{DMSO-d}_6$ ): 3,71 (s, 3H, H-19), 4,71 (s, 2H, H-13), 6,10 (d,  $J = 19,2\text{Hz}$ , 2H, H-2 e H-12), 6,96 – 6,84 (m, 3H, H-10 e H-17,17'), 7,04 (d,  $J = 4,7\text{ Hz}$ , 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,44 (d,  $J = 17,8\text{ Hz}$ , 3H, H-3 e H-16,16'), 7,25 (d,  $J = 1,6\text{ Hz}$ , 1H, H-7), 10,00 (s, 1H, NH).  
 RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz -  $\text{DMSO-d}_6$ ): 165,93 (C-14), 165,19 (C-1), 155,48 (C-18), 148,41 (C-9), 148,10 (C-8), 146,10 (C-3), 141,10 (C-5), 131,61 (C-15), 130,45 (C-6), 124,71 (C-4), 123,53 (C-11), 121,02 (C-16, 16'), 119,19 (C-2), 113,97 (C-17,17'), 108,64 (C-10), 105,86 (C-7), 101,52 (C-12), 62,56 (C-13), 55,22 (C-19).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-trifluorometilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE11)**



Aspecto: sólido amarelo

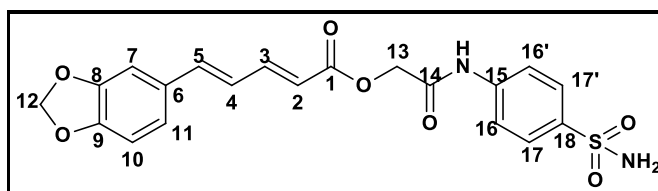
Rendimento: 90 %, p.f. 193 - 194 °C.

Análise elementar (%) – calc.: C = 60,15, H = 3,85, N = 3,34. Análise elementar (%) – exp.: C = 60,13, H = 3,81, N = 3,33.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3221 (N-H), 3059 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 2902 ( $\text{C-H}_{\text{alif}}$ ), 1718, 1687 ( $\text{C}=\text{O}$ ), 1544, 1413 ( $\text{C}=\text{C}_{\text{Ar.}}$ ), 1253 ( $\text{O-CH}_2\text{-O}$ ), 1145, 1068 ( $\text{C}-\text{O}$ ), 1111 ( $\text{C-F}$ ), 839 ( $\text{C-H}_{\text{Ar.}}$ ), 729 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 400 MHz -  $\text{DMSO-d}_6$ ): 4,79 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,13 (d,  $J = 15,2\text{ Hz}$ , 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0\text{ Hz}$ , 1H, H-10), 7,04 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,24 (d,  $J = 1,6\text{ Hz}$ , 1H, H-7), 7,46 (ddd,  $J = 15,3; 7,4; 2,8\text{ Hz}$ , 1H, H-3), 7,68 (d,  $J = 8,6\text{ Hz}$ , 2H, H-17,17') 7,80 (d,  $J = 8,5\text{ Hz}$ , 2H, H-16,16'), 10,49 (s, 1H, NH).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(4-sulfonilfenilamina)-piperidinoato de etila (HE12)**



Aspecto: sólido amarelo

Rendimento: 70 %, p.f. 215 - 217 °C.

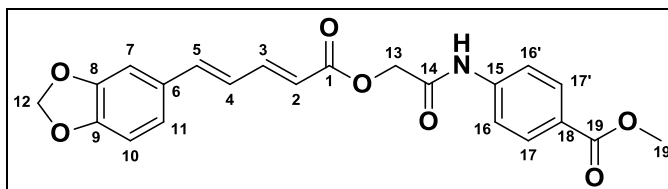
Análise elementar (%) – calc.: C = 55,81, H = 4,22, N = 6,51, S = 7,45. Análise elementar (%) – exp.: C = 55,83, H = 4,21, N = 6,50, S = 7,46.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3327 (N-H), 2939 (C-H), 1716, 1689 (C = O), 1597, 1436 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1234, 1090 (C – O), 1329, 1145 (S=O), 831 (C-H<sub>Ar.</sub>), 729 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 400 MHz - DMSO- $d_6$ ): 4,78 (s, 2H, H-13), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,12 (d,  $J$  = 15,2 Hz, 1H, H-2), 6,94 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 1H, H-10), 7,07 – 7,02 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,26 (d,  $J$  = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,27 (s, 2H, NH<sub>2</sub>), 7,46 (ddd,  $J$  = 15,3; 7,0; 3,4 Hz, 1H, H-3), 7,76 (q,  $J$  = 9,1 Hz, 4H, H-16,16' e H-17,17'), 10,48 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz - DMSO- $d_6$ ): 165,85 (C-14), 166,22 (C-1), 148,38 (C-9), 148,05 (C-8), 146,20 (C-3), 141,39 (C-15), 141,15 (C-5), 138,67 (C-18), 130,38 (C-6), 126,79 (C-17,17'), 124,63 (C-4), 123,47 (C-11), 118,94 (C-2), 118,89 (C-16, 16'), 108,58 (C-10), 105,81 (C-7), 101,46 (C-12), 62,52 (C-13).

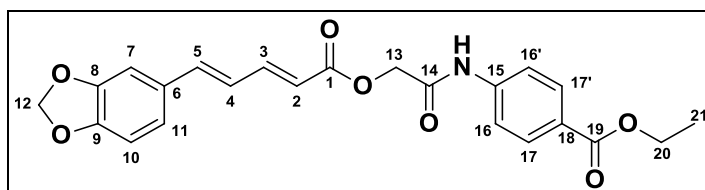
**(2E,4E)-2-oxo-2-[4-(benzoato de metila)fenilamina]-piperidinoato de etila (HE13)**





RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 100 MHz - DMSO- $d_6$ ): 166,21 (C-14), 165,83 (C-1), 165,79 (C-19), 148,35 (C-9), 148,03 (C-8), 146,14 (C-3), 142,85 (C-15), 141,10 (C-5), 130,37 (C-6), 130,34 (C-17,17'), 124,61 (C-4), 124,29 (C-18), 123,41 (C-11), 118,70 (C-16, 16'), 118,95 (C-2), 108,55 (C-10), 105,82 (C-7), 101,44 (C-12), 62,56 (C-13), 51,88 (C-20).

**(2E,4E)-2-oxo-2-[4-(benzoato de etila)fenilamina]-piperidinoato de etila (HE14)**



Aspecto: sólido amarelo.

Rendimento: 84 %, p.f. 155 - 157°C.

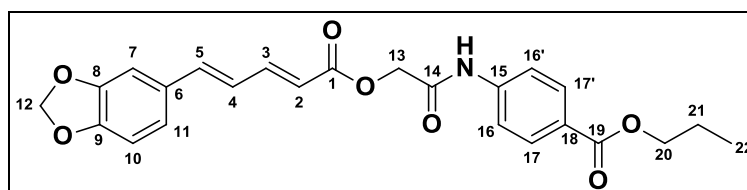
Análise elementar (%) – calc.: C = 65,24, H = 5,00, N = 3,31. Análise elementar – exp.: C = 65,26, H = 5,02, N = 3,33.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3340 (N-H), 2983 (C-H<sub>alif</sub>), 1705, 1687 (C = O), 1543, 1446 (C = C<sub>Ar</sub>), 1280, 1146 (C – O), 1251 (O-CH<sub>2</sub>-O), 854 (C-H<sub>Ar</sub>), 765 (N-H).

RMN  $^1\text{H}$  ( $\delta$ , 400 MHz - DMSO- $d_6$ ): 1,30 (t, 3H, H-21), 4,28 (q, 2H, H-20), 4,78 (s, 2H, H-13), 6,05 (s, 2H, H-12), 6,12 (d,  $J = 15,2$  Hz, 1H, H-2), 6,93 (d,  $J = 8,0$  Hz, 1H, H-10), 7,06 – 7,01 (m, 3H, H-4, H-5 e H-11), 7,24 (d,  $J = 1,6$  Hz, 1H, H-7), 7,45 (ddd,  $J = 15,3$ ; 6,9; 3,5 Hz, 1H, H-3), 7,72 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-16,16'), 7,92 (d,  $J = 8,9$  Hz, 2H, H-17,17'), 10,49 (s, 1H, NH).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 100 MHz - DMSO- $d_6$ ): 166,24 (C-14), 165,89 (C-1), 165,33 (C-19), 148,39 (C-9), 148,06 (C-8), 146,20 (C-3), 142,84 (C-15), 141,15 (C-5), 130,40 (C-6), 130,33 (C-17,17'), 124,60 (C-4), 124,58 (C-18), 123,48 (C-11), 118,70 (C-16, 16'), 118,97 (C-2), 108,59 (C-10), 105,83 (C-7), 101,48 (C-12), 62,57 (C-13), 60,52 (C-20), 14,23 (C-21).

**(2E,4E)-2-oxo-2-[4-(benzoato de n-propila)fenilamina]-piperidinoato de etila (HE15)**



Aspecto: sólido castanho

Rendimento: 68 %, p.f. 150 - 152 °C.

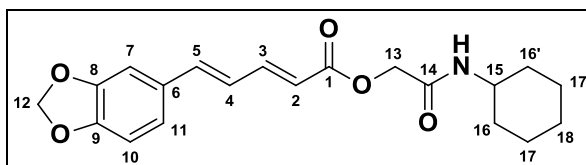
Análise elementar (%) – calc.: C = 65,90, H = 5,30, N = 3,20. Análise elementar – exp.: C = 65,87, H = 5,32, N = 3,22.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3352 (N-H), 2970 (C-H), 1697 (C = O), 1537, 1498 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1234, 1090 (C – O), 1247 (O-CH<sub>2</sub>-O), 854 (C-H<sub>Ar.</sub>), 789 (N-H).

RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$ , 400 MHz - DMSO-d<sub>6</sub>): 1,02 (t, 3H, H-22), 1,84 – 1,74 (m, 2H, H-21), 4,26 (t, 2H, H-20), 4,81 (s, 2H, H-13), 6,00 (s, 2H, H-12), 6,06 (d,  $J$  = 15,2 Hz, 1H, H-2), 6,96 – 6,70 (m, 4H, H-4, H-5, H-10 e H-11), 7,01 (s, 1H, H-7), 7,61 – 7,51 (m, 1H, H-3), 7,65 (d,  $J$  = 8,7 Hz, 2H, H-16,16'), 8,03 (d,  $J$  = 8,6 Hz, 2H, H-17,17'), 8,09 (s, 1H, NH).

RMN <sup>13</sup>C ( $\delta$ , 100 MHz - DMSO-d<sub>6</sub>): 166,19 (C-14), 165,77 (C-1), 165,33 (C-19), 149,15 (C-9), 148,52 (C-8), 147,58 (C-3), 142,84 (C-15), 141,15 (C-5), 130,94 (C-17,17'), 130,29 (C-6), 126,78 (C-18), 124,00 (C-4), 123,63 (C-11), 119,36 (C-2), 117,91 (C-16, 16'), 108,76 (C-10), 106,07 (C-7), 101,65 (C-12), 63,30 (C-13), 66,67 (C-20), 22,24 (C-21), 10,64 (C-22).

**(2E,4E)-2-oxo-2-(ciclohexilamina)-piperidinoato de etila (HE16)**



Aspecto: sólido marrom.

Rendimento: 92 %, p.f. 191 - 192 °C.

Análise elementar (%) – calc.: C = 67,21, H = 6,49, N = 3,92. Análise elementar – exp.: C = 67,19, H = 6,51, N = 3,94.

IV (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3282 (N-H), 3078 (C-H<sub>Ar.</sub>), 2852 (C-H), 1726, 1660 (C = O), 1556, 1442 (C = C<sub>Ar.</sub>), 1226, 1132 (C – O), 1251 (O-CH<sub>2</sub>-O), 856 (C-H<sub>Ar.</sub>), 707 (N-H).

RMN <sup>1</sup>H ( $\delta$ , 400 MHz - DMSO-d<sub>6</sub>): 1,23 – 1,11 (m, 4H, H-17,17'), 1,75 – 1,66 (m, 4H, H-16,16'), 2,14 (s, 1H), 3,83 (qd,  $J$  = 11,1 e 6,0 Hz, 1H, H-15), 4,62 (s, 2H, H-13), 5,98 (s, 2H, H-12), 6,01 (s, 1H, H-2), 6,71 (dd,  $J$  = 15,4 e 11,0 Hz, 1H, H-4), 6,78 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,85 (d,  $J$  = 15,5 Hz, 1H, H-5), 6,98 (s, 1H, H-7), 6,91 (d,  $J$  = 8,1 Hz, 1H, H-11), 7,48 (dd,  $J$  = 15,2 e 10,9 Hz, 1H, H-3).

RMN  $^{13}\text{C}$  ( $\delta$ , 50 MHz - DMSO- $d_6$ ): 166,41 (C-14), 165,69 (C-1), 148,98 (C-9), 148,45 (C-8), 146,82 (C-3), 48,07 (C-15), 141,70 (C-5), 130,34 (C-6), 124,10 (C-4), 123,43 (C-11), 118,45 (C-2), 108,69 (C-10), 105,98 (C-7), 101,57 (C-12), 63,03 (C-13), 33,08 (C-16, 16'), 25,54 (C-17,17'), 24,88 (C-18).

## 6.5 Estudos *in silico*

Os parâmetros da regra dos cinco de Lipinski (cLogP, massa molecular, número de aceptores de ligações de hidrogênio e doadores de ligações de hidrogênio), área de superfície polar topológica (TPSA) foram calculados utilizando os programas on-line “Molinspiration” (<http://www.molinspiration.com>) e SwissADME (<http://www.swissadme.ch>) enquanto que a solubilidade aquosa (LogS), druglikeness, drug score e riscos de toxicidade (relacionado aos efeitos irritantes, risco mutagênico, risco tumorigênico e efeito sobre o osistema reprodutivo) foram calculados usando-se o programa on-line “Osiris Property Explorer” (<http://www.organic-chemistry.org.prog.peo/>).

## 6.6 Ensaios de toxicidade pré-clínica aguda e de atividade antitumoral *in vivo* do HE02 e HE03

Os ensaios de toxicidade pré-clínica aguda e de atividade antitumoral *in vivo* foram realizados no Laboratório de Oncofarmacologia (OncoFar), localizado no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) onde funciona o Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos (PPgPNSB), da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob orientação da Professora Dra. Marianna Vieira Sobral.

Para isso, foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) pesando entre 30 e 35 g, com faixa etária próxima de 60 dias, obtidos do biotério Prof. Thomas George (IPeFarM/UFPB). Os animais foram agrupados em gaiolas de polietileno, mantidos sob condições controladas de temperatura ( $21 \pm 1$  °C), com livre acesso à comida (*pellets* de ração da marca Purina®) e água potável disponível em garrafas graduadas de polietileno, colocadas nas grades metálicas das gaiolas em sua parte superior. Os animais foram mantidos em ciclo claro-escuro de doze horas. Antes da realização de qualquer protocolo experimental, os animais foram colocados no ambiente de trabalho por pelo menos 30 minutos de antecedência à execução do experimento. Todos os procedimentos experimentais foram analisados e

previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFPB, sob a certidão N° 006/2016 para o HE02 e a certidão de N° 0801/14 para o HE03.

#### **6.6.1 Avaliação da toxicidade pré-clínica aguda**

Os ensaios de toxicidade pré-clínica aguda em camundongos foram realizados de acordo com o “Guideline for testing of chemicals” n° 423 da OECD (OECD, 2001). Camundongos, três fêmeas por grupo, foram submetidos a doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg do HE02 por via intraperitoneal (i.p.), e ao grupo controle (n=3) foi administrado apenas o veículo (12% Tween 80). Para o HE03, foram utilizada as mesmas condições experimentais.

#### **6.6.2 Avaliação do HE02 e HE03 sobre o SNC e SNA**

Para avaliar possíveis alterações comportamentais sugestivas de atividade sobre o Sistema Nervoso Central (SNC) ou Sistema Nervoso Autônomo (SNA), após a administração de HE02 foi realizada observação para se detectar sinais tóxicos de caráter geral nos intervalos: 0, 15, 30 e 60 minutos; após 4 horas; e diariamente durante 14 dias, utilizando-se protocolo experimental descrito por Almeida et al. (1999). Com relação ao HE03, também foi utilizada a mesma metodologia descrita anteriormente.

#### **6.6.3 Avaliação da atividade antitumoral *in vivo* em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE)**

Para avaliar a atividade antitumoral *in vivo*, células de CAE com cinco a sete dias de crescimento foram aspiradas da cavidade peritoneal de camundongos e implantadas por via intraperitoneal (0,5 mL -  $2 \times 10^6$  células/mL) nos animais experimentais. Vinte e quatro horas após o implante, grupo de seis camundongos (fêmeas) foram tratados diariamente por via intraperitoneal com diferentes doses de HE03 (6,25; 12,5 e 25 mg/kg) e HE02 (doses), com o veículo (Tween 80 a 12 %) e com o 5-Fluorouracil (5-FU) (Sigma-Aldrich®), 25 mg/kg, durante nove dias. Com relação ao HE02, foram usadas praticamente as mesmas condições experimentais, exceto a concentração de células implantada na cavidade peritoneal (0,5 mL –  $4 \times 10^6$  células/mL) e a concentração do veículo Tween 80 (5%). O HE02 também foi administrado por via intraperitoneal nas doses de 6,25; 12,5 e 25 mg/kg.

#### **6.6.4 Avaliação dos efeitos antitumorais do HE02 e HE03**

Para avaliar o efeito antitumoral, foi analisado os parâmetros de massa tumoral, volume do tumor, viabilidade e total celular. Após a última administração do HE03 e HE02, os animais foram eutanasiados por deslocamento cervical, o líquido ascítico foi coletado da cavidade peritoneal e o volume foi medido e expresso em mL. Uma alíquota foi retirada para a determinação da viabilidade celular pelo ensaio de exclusão do azul de tripan. A massa do tumor foi determinada pela diferença dos pesos dos camundongos antes e depois da retirada do líquido ascítico e expresso em gramas (g). O total celular ( $\times 10^7$  células) foi obtido como o produto do volume do tumor, expresso em mL, pela viabilidade celular, expressa como a quantidade de células  $\times 10^6/\text{mL}$ .

#### **6.6.5 Avaliação dos efeitos antiangiogênicos do HE02 e HE03**

Para a investigação do efeito antiangiogênico os animais foram tratados e eutanasiados como já descrito. Após a coleta das células tumorais, o peritônio foi cortado e o revestimento interior da cavidade peritoneal dos animais tratados com HE02 (6,25, 12,5 e 25 mg/kg) e HE03 (6,25 e 12,5 mg/kg), com veículo e com 5-FU foram examinados e fotografados para investigação da microdensidade vascular peritumoral, com o auxílio do software AVSOFT®. A microdensidade dos vasos foi determinada pela área ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada.

### **6.7 Estudo da atividade antibacteriana e antifúngica da piperina e seus derivados (HE01-16)**

#### **6.7.1 Local de trabalho**

Os ensaios laboratoriais referentes a este estudo foram realizados no Laboratório de Pesquisa: Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Departamento de Ciências Farmacêuticas/Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba: novembro/2017 sob responsabilidade da Professora Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima.

### 6.7.2 Produtos testados

Os compostos abaixo descritos foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias, fungos leveduriformes e filamentosos. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção de até 10 % e tween 80 a 0,02 %. Em seguida, foram solubilizados com água destilada esterilizada (q.s.p. 2mL) para obter uma emulsão na concentração inicial de 1024 µg/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

**Compostos:** HE01, HE02, HE03, HE04, HE05, HE06, HE07, HE09, HE10, HE11, HE12, HE13, HE14, HE15, e HE16.

### 6.7.3 Meios de cultura

Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram Brain Heart Infusion (BHI), Agar Sabouraud Dextrose (ASD)- adquiridos da Difco Laboratories Ltd, USA, France, para manutenção das cepas. E caldo Brain Heart Infusion (BHI) e meio RPMI 1640/com L-glutamina e sem bicarbonato para os ensaios de atividade biológica (Difco Laboratories Ltd, USA, France e INLAB, São Paulo, Brasil). Todos foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

### 6.7.4 Microrganismos

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas padrão:

- **Bactérias:** *Staphylococcus aureus* ATCC-13150, *Staphylococcus epidermidis* ATCC-12228 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-25853.
- **Fungos:**
- **Leveduras:** *Candida albicans* ATCC-76645 e LM-108; *C. tropicalis* ATCC-13803 e LM-18;
- **Fungos filamentosos:** *Aspergillus flavus* LM-714.

Os micro-organismos pertencem a Micoteca do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). As cepas foram mantidas em BHI/bactérias e em ASD/fungos à temperatura de 4°C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24 – 48 horas em BHI/ASD, respectivamente, para bactérias e leveduras, incubados a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  e repiques de 7 – 14 dias em ASD para fungos filamentosos, incubados a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ .

#### **6.7.5 Inóculo**

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas de bactérias e fungos mantidas em BHI/ASD, foram suspensas em solução fisiológica a 0,9 % estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de McFarland para obtenção de  $10^6$  UFC/mL para cepas fúngicas e  $10^8$  UFC/mL para cepas bacterianas (CLSI, 2015; CLSI<sup>a</sup>, 2008; HADACECK; GREEGER, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ANTUNES et al., 2006; FREIRE et al., 2014).

#### **6.7.6 Concentração inibitória mínima (CIM)**

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland; Squires (1991), Eloff (1998) e CLSI (2008). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas bacterianas e fúngicas foram realizadas através da técnica de microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”. Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de RPMI/BHI duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão dos produtos preparados foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 1024 µg/mL até 16 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas bacterianas e fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie. Paralelamente, foram realizados os controles: micro-organismos (CBHI + bactérias e RPMI + leveduras ou fungos filamentosos) e meio de cultura (RPMI/CBHI), para comprovação da viabilidade das cepas e esterilidade do meio, respectivamente. As placas preparadas foram assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 - 48 horas para os

ensaios com bactérias e leveduras, já os fungos filamentosos foram incubados a temperatura de  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$  por 7 dias.

No caso do ensaio com espécies bacterianas, após o tempo de incubação foram adicionados 20  $\mu\text{L}$  de resazurina sódica (Sigma-Aldrich®) na concentração de 0,01 % (p/v), reconhecido como indicador colorimétrico de óxido-redução para bactérias. E em paralelo, 20  $\mu\text{L}$  de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 1% (Sigma-Aldrich®), um indicador colorimétrico de óxido-redução para fungos (GRABE, 1976; DESWAL; CHAND, 1997; DUARTE et al., 2005). As placas foram novamente incubadas a  $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$  para bactérias e leveduras; e a  $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$  para os fungos filamentosos por 24 - 48 horas. A leitura dos ensaios foi procedida por meio da visualização da mudança de coloração nas cavidades de azul para rosa, nos ensaios com bactérias, e de incolor para rosa nos ensaios com fungos, indicando crescimento do micro-organismo. A CIM para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico e/ou verificado pela permanência da coloração do corante indicador de crescimento.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500  $\mu\text{g/mL}$ = forte/ótima atividade; 600-1500  $\mu\text{g/mL}$ = moderada atividade; > acima de 1500  $\mu\text{g/mL}$ =fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).



# Conclusões e perspectivas

## 7. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

### 7.1 Conclusões

Foram obtidos o ácido piperínico através da piperina (previamente extraída e isolada), e sintetizados três derivados do ácido p-aminobenzoico, quinze acetamidas substituídas e, a partir destes, 15 derivados amido ésteres da piperina, moléculas totalmente inéditas na literatura.

A metodologia para a síntese dos novos compostos apresentou ser muito eficaz, e os rendimentos entre 63 a 95% demonstram que essas moléculas possuem bons rendimentos. Todos os compostos sintetizados, sejam intermediários ou compostos finais, tiveram suas estruturas elucidadas e confirmadas por meio de técnicas de infravermelho, RMN  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensionais e para os derivados finais usamos como ferramenta a análise elementar CNHS, para constatar a fórmula molecular.

Os estudos *in silico* dos derivados HE01-15 indicam que os compostos investigados devem apresentar boa permeabilidade, boa absorção e baixa solubilidade, o único fora dos padrões para uma biodisponibilidade via oral foi o HE12. Já o efeito de toxicidade todos apresentaram efeitos reprodutivos provenientes da molécula da piperina, retirando esse efeito só a molécula HE03 (irritante médio) e o HE05 (tumorigênico alto) apresentaram outros possíveis efeitos tóxicos.

Pelos estudos experimentais de carcinoma de Ehrlich, podemos inferir que o HE02 e o HE03 apresentam potente atividade antitumoral e toxicidade menor do que a piperina administrada por via oral. O tratamento com HE02 e HE03 reduziram significativamente a microdensidade vascular peritumoral, o que sugere atividade antiangiogênica. Portanto, é possível inferir que os análogos sintéticos da piperina estudados apresentam potente atividade antitumoral *in vivo*, com mecanismo que envolve possivelmente a indução de apoptose e efeitos antiangiogênicos, bem como, baixa toxicidade.

Em relação as cepas em estudo (bactérias, leveduras e fungos) os novos derivados não apresentaram atividades inibitórias nas concentrações testadas.

## 7.2 Perspectivas

Diante dos bons resultados frente a linhagens de células tumorais apresentados por algumas moléculas sintetizadas, o estudo da relação Estrutura Atividade (SAR) será realizado afim de entender melhor esse resultado. Estudos termoanalíticos e cinéticos desses derivados amidos ésteres através dos processos de decomposição térmica a partir de curvas termogravimétricas serão realizados, assim como a determinação de ordem de estabilidade através da temperatura inicial de decomposição.

Pretende-se ainda avaliar as demais moléculas biologicamente, especificamente a atividade antitumoral dos derivados, para as moléculas com maiores potencias ou indicativos de outras atividades biológicas serão direcionadas para estudos complementares, ressaltando que já estão em andamento para a maioria dos compostos.

# Referências bibliográfica

## REFERÊNCIAS

- ALI, J.; CAMILLERI, P.; BROWN, M. B.; HUTT, A. J. KIRTON, S. B. *In silico* prediction of aqueous solubility using simple QSPR models: the importance of phenol and phenol-like moieties. **J. Chem. Inf. Model**, v. 52, p. 2950-2057, 2012.
- ALMEIDA, R. N.; FALCÃO, A. C. G. M.; DINIZ, R. S. T.; QUINTANS – JÚNIOR, L. J.; POLARI, R. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; AGRA, M. F.; DUARTE, J. C.; FERREIRA, C. D.; ANTONIOLLI, A. R.; ARAÚJO, C. C. Metodologia para avaliação de plantas com atividade no Sistema Nervoso Central e alguns dados experimentais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 80, p. 72-76, 1999.
- ANTUNES, R. M. P.; LIMA, E. O.; PEREIRA, M. S. V.; CAMARA, C. A.; ARRUDA, T. A.; CATÃO, R. M. R.; BARBOSA, T. P.; NUNES, X. P.; DIAS, C. S.; SILVA, T. M. S. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 517-524, 2006.
- ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividades. **Rev. Química nova**, v. 33, n. 3, p. 694-699, 2010.
- ATAL, C. K., ZUTSHI, U., RAO, P. G. Scientific evidence on the role of ayurvedic herbals on bioavailability of drugs. **J. Ethnopharm.** 4 (2): 229-232, 1981.
- ATAL, C. K., DUBEY, R. K., SINGH, J. Biochemical basic of enhanced drug bioavailability by piperine-evidence that piperine is a potent inhibitor of drug-metabolism. **The J. Pharm. Exp. Therap.** 232 (1): 258-262, 1985.
- AZEVEDO, F. A. C.; CARVALHO, L. R. B.; GRINBERG, L. T.; FARFEL, J. M.; FERRETTI, R. E. L.; LEITE, R. E. P.; JACOB FILHO, W.; LENT, R.; HERCULANO-HOUZEL, S. Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. **J. Comp. Neurol.** 532, 532-541, 2009.
- BAE, G. S, KIM, M. S.; JUNG, W. S.; SEO, S. W.; YUN, S. W.; KIM, S. G.; PARK, R. K.; KIM, E. C.; SONG, H. J.; PARK, S. **J. Eur. J. Pharmacol.** 2010, 642, 154
- BANG, J. S.; OH, D. H.; CHOI, H. M.; SUR, B. J.; LIM, S. J.; KIM, J. Y.; YANG, H. I.; YOO, M. C.; HAHM, D. H.; KIM, K. S. Anti-inflammatory and antiarthritic effects of piperine in human interleukin 1B-stimulated fibroblast-like synoviocytes and in rat arthritis. **Arthritis Res. Ther.** 11, R49, 2009.
- BANO, G., RAINA, R. K., ZUTSHI, U., BEDI, K. L., JOHRI, R. K., SHARMA, S. C. Effect of piperine on bioavailability and pharmacokinetics of propranolol and theophylline in healthyvolunteers. **Eur. J. Clin. Pharm.** 41 (6): 615-617, 1991.
- BARREIRO, E. J. A química medicinal e o paradigma do composto-protótipo. **Revista Virtual de Química**, v. 1, p. 29-34, 2009.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M.; Química Medicinal – As bases moleculares da ação dos fármacos, 3ªed., ARMED, Porto Alegre, 2014.

BERRIDGE, M.V.; HERTS, P.M.; TAN, A.S. Tetrazolium dyes as tools in cell biology: new insights into their cellular reduction. **Biotechnology Annual Review**. 11: 127-152. 2005.

CAMPOS-BUZZI, F.; FRACASSO, M. C.; TICONA, B. K.; JUAN-GIMENEZ, A.; CECHINEL, V. F. Evaluation of antinociceptive effects of Galipea longiflora alkaloid extract and major alkaloid 2-phenylquinoline. **Methods and findings in experimental and clinical pharmacology**., v. 32, p. 707-711, 2010.

CEPLAC.GOV.BR site: <http://www.ceplac.gov.br/radar/pimentadoreino.htm> <> acessado em 11 Mar.2015.

CHENG, T.; ZHAO, Y.; LI, X.; LIN, F.; XU, Y.; ZHANG, X.; LI, Y.; WANG, R.\*; LAI, L. "Computation of Octanol-Water Partition Coefficients by Guiding an Additive Model with Knowledge", **J. Chem. Inf. Model.**, 47, p. 2140-2148, 2007.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials “*in vitro*” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Williams & Wilkins, p. 739-788, 1991.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE<sup>c</sup>. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically**. Approved standard M07-A10. Pennsylvania, United States of America: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2015.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE<sup>a</sup>. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. Approved standard M27-A3. Pennsylvania, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE<sup>b</sup>. **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi**. Approved standard M38-A2. Pennsylvania, United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

CORRÊA, R.; CAMPOS-BUZZI, F.; CECHINEL FILHO, V. Química medicinal e síntese de psicofármacos. *In press*. UNIFESP, 2011.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. iLOGP: A Simple, Robust, and Efficient Description of n-Octanol/Water Partition Coefficient for Drug Design Using the GB/AS Approach. **J. Chem. Inf. Model.**, v. 54, p. 3284-3301. 2014.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, druglikeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**. V. 7, p. 1-13. 2017.

DAINA, A.; ZOETE, V. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules. **ChemMedChem.**, v. 11, p. 1117-1121. 2016.

DE PAULA, V. F., BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J., VELOSO, D. P., PICANÇO, M. C. Synthesis and insecticidal activity of new amide derivatives of piperine. **Pest. Manag. Sci.** 56 (2): 168-174, 2000.

DESWAL, D. P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thumb) Ohwi & Ohashi) seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, p.409-417, 1997.

DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; SARTORATTO, A.; REHDER, V. L. G.; DELARMELINA, C. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, p. 305-311, 2005.

EATON, D. L.; GILBERT S. G. Principles of toxicology. In: KLAASSEN, C. D. **Casarett & Doull's Toxicology: The basic Science of poisons**, 7. Ed. New York: MacGraw-Hill, cap. 2, p. 11-43, 2008.

EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of Drug Absorption Using multivariate Statistics. **J. Med. Chem.** V. 43, p. 3867-3877. 2000.

ELDER, D.; HOLMB, R. Aqueous solubility: Simple predictive methods (*in silico*, *in vivo* and bio-relevant approaches). **Int. J. Pharm.**, v. 453, n. 1, p. 3-11, 2013.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplatemethod to determine the Minimal Inhibitory Concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

FERREIRA, W. S. et al. Síntese e avaliação da atividade antifúngica de novas 1,3,4-oxadiazol-2-tionas N -substituídas, obtidas a partir da piperina. **Soc. Bras. Quím. (SBQ)**, v. 36, n. c, p. 1991, 2012.

FLORES, ESTHER. Metabolitos secundarios bioactivos de especies del genero Piper de la flora Boliviana. Tesis Doctoral. Bolivia. Universidad de la Laguna. Facultad de Ciencia y Tecnología, p.21, 2006.

FREIRE, I. C. M.; PÉREZ, A. L. A. L.; CARDOSO, A. M. R.; MARIZ, B. A. L. A.; ALMEIDA, L. F. D.; CAVALCANTI, Y. W.; PADILHA, W. W. N. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.16 n.2, 2014.

FREIRE-DE-LIMA, L.; RIBEIRO, T. S.; ROCHA, G. M.; BRANDÃO, B. A.; ROMEIRO, A.; MENDONÇA-PREVIATO, L.; PREVIATO, J. O.; LIMA, M. E. F.; CARVALHO, T. M. U.; HEISE, N. **Parasitol. Res.** v. 102, p. 1059, 2008.

GRABE, D. F. **Manual de Teste de Tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976.

GRIJALVA, Augusto. Familia Piperaceae. En:Flora útil etnobotánica de Nicaragua. 1 ed. Managua: MARENA-ARAUCARIA, p. 32-35, 2006.

HOLLENBERG, P. F. Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes. **Drug Metab. Rev.**, v. 34, p. 17-35. 2002.

IKAN, R. **Natural Products: A Laboratory Guide**. 2nd Ed. SanDiego: Academic Press,360p, 1991.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOLLEMBERG, P. F. Mechanisms of cytochrome P-450 and peroxidase-catalyzed xenobiotic metabolism. **FASEB Journal**. v. 6, p. 686-694, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Etnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

HUANG, S. M. ET AL. New era in drug interaction evaluation: US Food and Drug Administration update on CYP enzymes, transportes, and the guidance process. **J. Clin. Pharmacol.**, v.48, p. 662-670. 2008.

JARAMILLO, M. A., MANOS, P. S. Phylogeny na patterns of floral diversity in the genus Piper (Piperaceae). *Am. J. Bot.* 88, 706 – 716, 2001.

JOHRI, R. K., THUSU, N., KHAJURIA, A., ZUTSHI, U. Piperine-mediated changes in the permeability of rat intestinal epithelial-cells the status of gamma-glutamyl transpeptidase activity, uptake of amino-acid and lipid-peroxidation. **Biochem. Pharmacol.** 43 (7): 1401-1407, 1992.

KAPETANOVIC, I. M. Computer-aided drug discovery and development (CADD): *In Silico* chemico-biological approach. **Chemico-Biological Interactions**, v. 171, n. 2, p. 165-176, 2008.

KARPAKAVALLI, M.; SINI, K. R.; ARTHI, I. Microwave assisted extraction and estimation of piperine, andrographolide using HPLC techniques. **Pharmacie Globale**, v.3, p. 3, 2012.

KENNEDY JR., G. L. Biological effects of acetamide, formamide, and their mono and dimethyl derivatives: na update. **Crit. Rev. Toxicol.**, v. 31, n. 2, p. 139-122, 2001.

KHATIK, R.; DWIVEDI, P.; SHUKLA, A.; SRIVASTAVA, P.; RATH, S. K.; PALIWAL, S. K.; DWIVEDI, A. K. Development, characterization and toxicological evaluations of phospholipids complexes of curcumin for effective drug delivery in cancer chemotherapy. **Research Article**, 2014.



KOUL, S., KOUL, J. L., TANEJA, S. C., DHAR, K. L., JAMWAL, D. S., SINGH, K., REEN, R. R., SINGH, J. Structure-activity relationship of piperine and its synthetic analogues for their inhibitory potentials of rat hepatic microsomal constitutive and inducible cytochrome P450 activities. **J. Bioorg. Med. Chem.** 8 (1): 251-268, 2000.

KRISTENSEN, D. M.; MAZAUD-GUITTOT, S.; GAUDRIAULT, P.; LESNÉ, L.; SERRANO, T.; MAIN, K. M.; JÉGOU, B. Analgesic use – prevalence, biomonitoring and endocrine and reproductive effects. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2016.

LEE, S. A., HONG, S. S., HAN, X. H., HWANG, J. S., OH, G. J. LEE, S. K. Peperine from the Fruits of *Piper longum* with Inhibitory Effect on Monoamine Oxidase and Antidepressant Like Activity. **Chem. Pharm. Bull.** 53 (7): 832-835, 2005.

LEE, S. E., PARK, B. S., KIM, M. K., CHOI, W. S., KIM, H. T., CHO, K. Y., LEE, S. G., LEE, H. S. Fungicidal activity of pipernonadine, a piperidine alkaloid derived from long pepper, *Piper longum* L., against phytopathogenic fungi. **Crop. Protec.** 20: 523-528, 2001.

LIMA, D. *et al.* Piperina, seus Análogos e Derivados: Potencial como Antiparasitários. **Rev. Virt. Quím**, v. 4, n. 3, p. 208–224, 2012.

LIN, Z. X.; HOULT, J. R. S.; BENNET, D. C. RAMAN, A. Stimulation of mouse melanocyte proliferation by *Piper nigrum* fruit extract and its main alkaloid, piperine. **Planta Medica.** V. 65, p. 600, 1999.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 23, 3-25, 1997.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.** v. 46, p. 3-26 2001.

LOVERING, F.; BIKKER, J.; HUMBLET, C. Escape from Flatland: Increasing Saturation as na Approach to Improving Clinical Success. **J. Med. Chem.**, v. 52, p. 6752-6756. 2009.

MAO, L.; LI, S; ZHENG, H. Synthesis and biological activity of novel barbituric and thiobarbituric acid derivatives against non-alcoholic fatty liver disease. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v 46, p. 2003-2010, 2011.

MATSUDA, H.; NINOMIYA, L. A.; MORIKAWA, T.; YASUDA, D.; YAMAGUCHI, I.; YOSHIKAWA, M. **Hepatoprotective amide constituents from the fruit of *Piper chaba*: Structural requirements**, mode of action, and new amides. *M. Bioorg. Med. Chem.*, v. 17, p. 7313, 2009.

MARQUES, J. V.; OLIVEIRA, A.; RAGGI, L.; YOUNG, M. C. M.; KATO, M. J. Antifungal activity of natural and synthetic amides from *Piper* species. *J. Braz. Chem. Soc.*, v.21 p. 1807, 2010.

MOHAMMED, T.; ERKO, B.; GIDAY, M. Evaluation of antimalarial activity of leaves of *Acokanthera schimper* and *Croton macrostachyus* against *Plasmodium berghei* in Swiss albino mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, v. 14, n. 314, p. 1-10, 2014.

MORIGUCHI, I.; SHUICHI, H.; LIU, Q.; NAKAGOME, I.; MATSUSHITA, Y. Simple Method of Calculating Octanol/Water Partition Coefficient. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 40, p. 127-130, 1992.

MORIGUCHI, I.; SHUICHI, H.; LIU, Q.; NAKAGOME, I.; HIRANO, H. Comprison of reliability of log P values for Drugs calculated by several methods. *Chem. Pharm. Bull.*, v. 42, p. 976-978, 1994.

MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. *J. Med. Chem.*, v. 44, p.1841-1846, 2001.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A. R.; SANTOS, M. P. O.; JÚNIOR, A. M. B., TRINDADE, R. C. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 17, n. 1, p. 108-113, 2007.

NATTIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS-NCCLS. Perfomance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

NITTA, A et al. (3R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorophenyl)-N-{4-[6-(2 methoxyethoxy) benzothiazol-2-yl]tetrahydropyran-4-yl}butanamide as a potent dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* v. 18, p. 5435 – 5438, 2008.

NOVOTNY, V.; MILLER, S. E.; CIZEK, L.; MILAN, J. L.; BASSET, J. Y.; WEIBLEN, G. D.; DARROW, K. Colonising aliens: caterpillars (Lepidoptera) feeding on *Piper aduncum* and *Piper umbellatum* in rainforests of Papua New Guinea. *Ecological Entomology*. v. 28, p. 704-726, 2003.

OECD. Test N° 423: Acute oral toxicity – acute toxic class method, 2001.

OSIRIS PROPERTY EXPLORER. Thomas Sander, Actelion Pharmaceuticals Ltd., Gewebestrasse 16, 4123 Allschwil. Switzerland, 2001. disponível em: <http://www.organicchemistry.org/prog/peo/>.

PAWINEE PIYACHATURAWAT, *et al.* Enhancement of fertilization by Piperine in Hamsters. *Cell Biology International*, 21(7): 405-409, 1997.

PARMAR, V. S., JAIN, S. C., BISHT, K. S., JAIN., TANEJA, P., JHA, A., TYAGI, O. D., PRASAD, A. K., WENGEL, J., OLSEN, C. E., BOLL, P. M. Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry* 46 (4): 597-673, 1997.

PERDERSEN, M. E.; METZLER, B.; STAFFORD, G. I.; VAN-STANDEN, J.; JAGER, A. K.; RASMUSSEN, H. B. Amides from *Piper capense* with CNS activity - a preliminary SAR analysis. *Molecules*, v.14, p. 3833, 2009.

PEREIRA, F. O.; MENDES, J. M.; LIMA, I. O.; MOTA, K. S. L.; OLIVEIRA, W. A.; LIMA, E. O. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 1–7, 2014.

PIYACHATURAWAT, P.; GLINSUKON, T.; TOSKULKAO, C. Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters. **Toxicology Letters**, v. 16, p. 351-359, 1983.

RAMOS, L. S.; VANIN, S. A.; KATO, M. J. Metabolismo f (-)-grandisin from *Piper Solmsianum* in *Coleoptera* and *Lepidoptera* species. **Phytochemistry**. v. 69, p. 2157-2161, 2008.

RAO, V. R. S.; SURESH, G.; RAO, R. R.; BABU, K. S.; CHASHOO, G.; SAXENA, A. K.; RAO, J. M. Synthesis of piperine-amido acid ester conjugates and study of their cytotoxic activities against human cancer cell lines. **Med. Chem. Res.** V. 21, p. 38, 2012.

REEN, R. K., JAMWAL, D. S., TANEJA, S. C., KOUL, J. L., DUBEY, R. K., WIEBEL, F. J., SINGH, J. Impairment of UDP-glucose dehydrogenase and glucuronidation activities in liver and small-intestine of rat and guinea-pig in vitro by piperine. **Biochem. Pharmacol.** 46 (2): 229-238, 1993.

RIBEIRO, T. S.; Transformações químicas no alcalóide natural piperina e avaliação da atividade teórica sobre *TrTrypanosoma cruzi*. UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO - [S.l.]. Brasil, 2004.

RITCHIE, T. J.; ERTL, P.; LEWIS, R. The graphical representation of ADME-related molecule properties for medicinal chemists. **Drug Discov. Today**., v. 16, p. 65-72, 2011.

RUIZ, S. P.; ANJOS, M. M. dos; CARRARA, V. S.; LIMA, J. N. de; CORTEZ, D. A. G.; NAKAMURA, T. U.; NAKAMURA, C. V.; ABREU FILHO, B. A. Evaluation of the antibacterial activity of Piperaceae extracts and nisin on *Alicyclobacillus acidoterrestris*. **Journal of Food Science**, v. 78, p. 1772-1777, 2013.

SANGWAN, P. L.; KOUL, J. L.; SURRINDER, K.; REDDY, M. V.; THOTA, N.; KHAN, I. A.; KUMAR, A.; KALIA, N. P.; QAZI, G. N. **Biorg. Med. Chem.** V. 16, p. 9847, 2008.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, p. 275-280, 2004.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug solubility: importance and enhancement techniques. **ISRN Pharm.**, 2012.

SCOTT, W. P, *et al.* Toxicity of black pepper extract to boll weevils. **J. Econ. Entomol.** 71 (2): 343-344, 1978.

SEMLER U.; GROSS, G. G. Distribution of piperine in vegetative parts of *Piper nigrum*. **Phytochemistry**. V. 27 (5). P. 1566-1567, 1988.

SIMÕES, C. M. O, *et al.* Farmacognosia: da Planta ao Medicamento. 5th ed. rev. Editora da UFRGS/UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 2004.

SHITYAKOV, S.; NEUHAUS, W.; DANDEKAR, T.; FORSTER, C. Analysing molecular polar surface descriptors to predict blood-brain barrier permeation. v. 6, 2013.

SHOBA, G., JOY, D., THANGAM, J., MAJEED, M., RAGENDRAN, R., SRINIVAS, P. S. R. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Medica** 64 (4): 353-356, 1998

SINGH, I. P.; JAIN, S. K.; KAUR, A.; SINGH, S.; KUMAR, R.; GARG, P.; SHARMA, S. S.; ARORA, S. K. Synthesis and Antileishmanial activity of Piperoyl-Amino Acid Conjugates. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 45, p. 3439-3445, 2010.

SONG LI, *et al.* Antidepressant like effects of piperine in chronic mild stress treated mice and its possible mechanisms. **Life Sciences** 80: 1373-1382, 2007.

SUNILA, E. S.; KUTTAN, G. Immunomodulatory and antitumor activity of Piper longum Linn. And piperine. **J. Ethnopharmacol.** 90, 339, 2004.

THEJASWINI, J. C.; GURUPADAYYA, B.; KOGANTI; V. S. In vitro in vivo drug interaction study of paracetamol and propranolol hydrochloride. *J. Young Pharm.*, v. 7, p. 480-485, 2015.

TOZER, T. M.; ROWLAND, M. Introdução a farmacocinética e farmacodinâmica: as bases quantitativas da terapia farmacológica. Porto Alegre: Artmed, p. 336, 2009.

UMADEVI, P.; DEEPTI, K. e VENUGOPAL, D. V. R. Synthesis, anticancer and antibacterial activities of piperine analogs. **Med. Chem. Research**, v. 22, n. 11, p. 5466-5471, 2013.

VANIN, S. A.; RAMOS, C. S.; GUIMARÃES, E. F.; KATO, M. J. Insect feeding preferences on Piperaceae species observed in São Paulo city, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 52, p. 72-77, 2008.

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H. U.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates, **J. Med. Chem.** 45, 2615-2623, 2002.

VENKATASAMY, R., FAAS, L., YOUNG, A. R., RAMAN, A., HIDER, R. C. Effects of piperine analogues on stimulation of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. **Bioorg. Med. Chem.** 12: 1905-1920, 2004.

VIEGAS-JUNIOR, C. *et al.* Molecular hybridization: a useful tool in the design of new drug prototypes. **Cur. Med. Chem.**, v. 14, n. 17, p. 1829-52, 2007.

WERMUTH, C.G. **The Practice of Medicinal Chemistry**, 2nd ed., Academic Press: London, p. 29. 2003.

WILDMAN, S. A.; CRIPPEN, G. M. Prediction of Physicochemical Parameters by Atomic Contributions. **J. Chem. Inf. Model.**, v.39, p. 868-873. 1999.

WHITTON, P. A.; LAU, A.; SALISBURY, A.; WHITEHOUSE, J.; EVANS, C. S. Kava lactones and the kava-kava controversy. **Phytochemistry**. v. 64, p. 673-679, 2003.

ZHANG, H.; MATSUDA, H.; NAKAMURA, S. YOSHIKAWA, M. Effects of amide constituents from pepper on adipogenesis in 3T3-L1 cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 11, p. 3272-3277, 2008

# Anexos

## ANEXOS

### ANEXO 1: CERTIDÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DE PESQUISA EM ANIMAL



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**



#### CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"ESTUDO DA TOXICIDADE E POTENCIAL ANTITUMORAL ANÁLOGO DA 2-OXO-2-(4 NITROFENILAMINA)-PIPERINOATO DE ETILA"**, protocolo nº **005/2016** sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. **Marianna Vieira Sobral** – que envolve a produção, manutenção e/ou a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado *ad referendum* pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB).

Vigência do Projeto	2016 a 2018
Espécie/linhagem	Camundongos Swiss
Número de animais	140 animais
Peso/idade	60 dias (28 a 30 g)
Sexo	Fêmeas
Origem	Biotério Prof. Thomas George

*Islania Giselia Albuquerque*  
Profa. Dra. Islania Giselia Albuquerque Gonçalves  
Coordenadora da CEUA-UFPB

*Prof. Dr. Maria G. A. Gonçalves*  
Coordenadora CEUA/UFPB  
SIAPEC/005301

## ANEXO 2: PATENTE E PUBLICAÇÃO

### PATENTE

**Número de depósito:** BR 102016019918-2

**Título:** Compostos Farmacêuticos Análogos da Piperina Para Tratamento do Câncer.

**Data de depósito:** 28/08/2016

### PUBLICAÇÃO



International Journal of  
*Molecular Sciences*



*Article*

## Th1-Biased Immunomodulation and In Vivo Antitumor Effect of a Novel Piperine Analogue

Jephesson Santos <sup>1</sup>, Monalisa Brito <sup>1</sup>, Rafael Ferreira <sup>1</sup>, Ana Paula Moura <sup>1</sup>, Tatyanna Sousa <sup>1</sup>, Tatianne Batista <sup>1</sup>, Vivianne Manguiera <sup>1</sup>, Fagner Leite <sup>1</sup>, Ryldene Cruz <sup>1</sup>, Giciane Vieira <sup>2</sup>, Bruno Lira <sup>3</sup>, Petrônio Athayde-Filho <sup>3</sup>, Helivaldo Souza <sup>3</sup>, Normando Costa <sup>3</sup>, Robson Veras <sup>1,4</sup>, José Maria Barbosa-Filho <sup>1,4</sup>, Hemerson Magalhães <sup>1,4</sup> and Marianna Sobral <sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa, Paraíba, Brazil; jephesson@gmail.com (J.S.); monalisa.brito@gmail.com (M.B.); rafaelcarlos@ltf.ufpb.br (R.F.); anapaulagomesm@hotmail.com (A.P.M.); tatyannakelvia@hotmail.com (T.S.); tatiannemota@gmail.com (T.B.); vivianmanguiera@gmail.com (V.M.); fagnercarvalho.farm@gmail.com (F.L.); ryldene@hotmail.com (R.C.); robsonveras@ccs.ufpb.br (R.V.); jbarbosa@ltf.ufpb.br (J.M.B.-F.); hemersoniury@gmail.com (H.M.)

<sup>2</sup> Departamento de Morfologia, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa, Paraíba, Brazil; giciane.carvalho@uol.com.br

<sup>3</sup> Departamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa, Paraíba, Brazil; brunofrlira@hotmail.com (B.L.); athayde-filho@quimica.ufpb.br (P.A.-F.); helivaldog3@gmail.com (H.S.); normandoalex@uol.com.br (N.C.)

<sup>4</sup> Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba, 58051-970 João Pessoa, Paraíba, Brazil

\* Correspondence: mariannavbs@ltf.ufpb.br; Tel.: +55-83-98812-3555

Received: 16 July 2018; Accepted: 14 August 2018; Published: 1 September 2018



check for  
updates