



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE DE NOVOS DIÉSTERES DERIVADOS DA PIPERINA
COMO POTENCIAIS CANDIDATOS A AGENTES
ANTIMICROBIANOS E ANTITUMORAIS**

EMMELY OLIVEIRA DA TRINDADE

SAPIENTIA ÆDIFICAT

João Pessoa – PB – Brasil

Outubro/2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

TESE DE DOUTORADO

**SÍNTESE DE NOVOS DIÉSTERES DERIVADOS DA PIPERINA
COMO POTENCIAIS CANDIDATOS A AGENTES
ANTIMICROBIANOS E ANTITUMORAIS**

EMMELY OLIVEIRA DA TRINDADE

**Tese apresentada ao Centro de Ciências Exatas
e da Natureza da Universidade Federal da
Paraíba, em cumprimento às exigências para
obtenção do título de Doutor em Química, área
de concentração em Química Orgânica.**

Orientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho

***Bolsista CAPES/FAPESQ-PB**

João Pessoa – PB – Brasil

Outubro/2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

T833s Trindade, Emmely Oliveira da.

Síntese de novos diésteres derivados da piperina como potenciais candidatos a agentes antimicrobianos e antitumorais / Emmely Oliveira da Trindade. - João Pessoa, 2021.

234 f. : il.

Orientação: Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. Piperina. 2. Diésteres. 3. Atividade antimicrobiana.

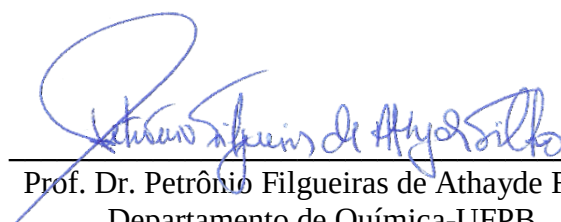
4. Antitumoral. I. Athayde Filho, Petrônio Filgueiras de. II. Título.

UFPB/BC

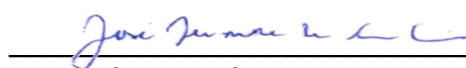
CDU 547.82(043)

Síntese de novos diésteres derivados da piperina como potenciais candidatos a agentes antimicrobianos e antitumorais.

Tese de Doutorado apresentada pela aluna Emmely Oliveira da Trindade e aprovada pela banca examinadora em 19 de outubro de 2021.



Prof. Dr. Petrónio Filgueiras de Athayde Filho
Departamento de Química-UFPB
Orientador/Presidente



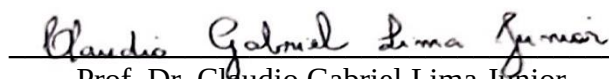
Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luís
Centro de Educação da Saúde - UFCG
Examinador Externo



Profa. Dra. Maria Cláudia Rodrigues Brandão
IFPB – Campina Grande-PB
Examinadora Externa



Profa. Dra. Antonia Lúcia e Souza
Departamento de Química-UFPB
Examinadora Interna



Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior
Departamento de Química-UFPB
Examinador Interno

Assinaturas da Banca realizadas em modo Webconferência em 19/10/2021, digitalizadas e certificadas pelo Prof. Dr. Petrónio Filgueiras de Athayde Filho (SIAPE: 1227933) em 19/10/2021.

Dedicatória

A minha amada mãe Dulcelenita (*in memorian*),
que é a minha maior inspiração e maior saudade...
Mãe, seu amor incondicional e seus valiosos
ensinamentos são responsáveis por todas as
conquistas que acompanham a minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por estar presente em todos os momentos da minha vida, por cuidar de cada detalhe, por ser meu abrigo e minha fonte de força e coragem nos momentos difíceis. Para mim, a Ciência sempre foi uma das coisas mais incríveis que Ele criou, por isso a química me encanta tanto... Ao maior Químico do universo, a minha eterna gratidão.

Agradeço a minha amada mãe Dulcelenita (*in memorian*), por todo amor, por todos os ensinamentos e por desde muito cedo ter despertado em mim o amor pelos estudos. Mãe, senti sua falta em todos os momentos, você é a minha inspiração, e de todos os títulos que eu possa ter na vida, ser sua filha sempre vai ser o que eu mais terei orgulho. Eu te amo muito.

Aos meus familiares, em especial ao meu pai Emmanoel e as minhas queridas irmãs Ellen e Evelyn, que são as pessoas que eu mais amo nessa vida, agradeço por todo amor, companheirismo e por sempre acompanharem e incentivarem cada passo da minha trajetória.

Ao Prof. Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, por me aceitar como sua orientanda e por todo conhecimento compartilhado durante esses 9 anos (Iniciação Científica, Mestrado e Doutorado). Muito obrigada por tornar possível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antônio Bezerra de Carvalho, Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior e Prof. Dr. Mário Vasconcellos, agradeço por todos os ensinamentos e contribuições para minha formação. Agradeço pelas aulas maravilhosas que sempre fizeram meus olhos brilharem, obrigada por me encantarem com a Química Orgânica, eu sempre serei grata a vocês.

Ao Prof. Dr. Claudio Gabriel Lima Junior, Prof. Dra. Antonia Lúcia de Souza, Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luis e Prof. Dra. Maria Cláudia Rodrigues Brandão por todas as contribuições dadas a esta tese.

A todos da família LPBS: Thalisson, Fernanda, Cláudia, Isabelle, Helivaldo, Welisson, Alan, Matheus, Bruno, Priscila, Isabela, Michele, Minfu, Francinara e Thamires. Reação que dá certo é uma maravilha, mas se sentir em casa entre tanta gente querida jamais caberá no Lattes.

À Cláudia, que foi um dos maiores presentes que a Química me deu, muito obrigada pela amizade e apoio na pesquisa e na vida.

Ao Jônatas, por todo amor, companheirismo, preocupação e cuidado comigo durante grande parte dessa trajetória. Obrigada por sonhar junto comigo os meus sonhos.

Aos meus amigos: Alexsandra, Lais, Sylvia, Rafael, Thalisson e Zé Luiz, por nunca soltarem a minha mão. A amizade de vocês é uma das coisas mais preciosas da minha vida.

Aos melhores “colegas” de graduação que alguém poderia ter: Denise, Dean, Igor, Lucas e Maiza. Obrigada por sempre estarem presentes, vocês são muito especiais pra mim.

A Central Analítica pela realização das análises de RMN.

Ao secretário da Pós-Graduação em Química, Marcos Pequeno.

A CAPES/FAPESQ-PB pela bolsa concedida.

Enfim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Muito obrigada.

RESUMO

Título: Síntese de novos diésteres derivados da piperina como potenciais candidatos a agentes antimicrobianos e antitumorais

A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é a especiaria mais consumida no mundo, sendo um fruto de grande importância econômica e farmacêutica. Os efeitos fisiológicos benéficos da pimenta-do-reino, tais como: alívio da dor e calafrios, tratamento de gripes e resfriados, reumatismo, entre outros, são atribuídos ao seu principal princípio ativo, a piperina. Esta, por sua vez, possui um amplo espectro de atividades biológicas e vem desempenhando um importante papel como matéria-prima para a síntese de novos compostos com interesse farmacológico. O objetivo desta pesquisa foi a utilização da piperina, extraída da pimenta-do-reino, como precursor na síntese de novas moléculas derivadas, a fim de avaliar a potencialidade antimicrobiana e antitumoral destes compostos. Inicialmente, foram planejados e sintetizados como intermediários duas séries de cloro-ésteres substituídos e o sal do ácido pipérico, os quais foram submetidos a reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) dando origem a 30 novos diésteres derivados da piperina. Os compostos finais apresentaram rendimentos entre 50 e 84% e foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de infravermelho (IV), ressonância magnética nuclear (RMN) de 1H e ^{13}C e RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC). A potencialidade biológica dos compostos finais foram avaliadas através do estudo *in silico*, atividade antimicrobiana *in vitro*, toxicidade não clínica aguda e atividade antitumoral *in vivo*. No estudo *in silico*, apenas os compostos 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (**DE-05**) e 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-08**) violaram dois dos parâmetros de Lipinski, portanto, pode-se inferir que os demais compostos devem apresentar uma boa biodisponibilidade oral. Na avaliação antimicrobiana *in vitro* foram utilizadas cepas de bactérias (*Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*), fungos leveduriformes (*Candida albicans* e *C. tropicalis*) e fungos filamentosos (*Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* e *A. niger*). O resultado da avaliação dos compostos finais mostrou que a substância 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (**DE-06**) apresentou ação antimicrobiana mais abrangente, conseguindo inibir várias cepas com uma concentração inibitória mínima (CIM) de 256 $\mu g/mL$. Boa parte de todas as substâncias se mostrou eficaz contra os fungos leveduriformes, e apenas uma pequena parcela dessas substâncias foi eficaz também contra os fungos filamentosos. Contudo, nenhum dos produtos finais apresentou atividade antibacteriana. O composto 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-07**) foi submetido a ensaios de toxicidade não clínica aguda, a dose letal (DL_{50}) foi estimada em 1000 mg/kg, sendo considerado um composto de baixa toxicidade aguda. O resultado da avaliação do efeito antitumoral *in vivo* do composto **DE-07**, em modelo de carcinoma ascítico de Ehrlich (CAE), mostrou uma redução significativa da massa tumoral e dos parâmetros de viabilidade e total celular; tais resultados permitem inferir que o composto, no modelo experimental avaliado, apresenta significativa atividade antitumoral *in vivo*.

Palavras-chave: Piperina, Diésteres, Atividade antimicrobiana, Antitumoral

ABSTRACT

Title: Synthesis of new piperine-derived diesters as potential candidates for antimicrobial and antitumor agents

Black pepper (*Piper nigrum* L.) is the most consumed spice in the world, being a fruit of great economic and pharmaceutical importance. The beneficial physiological effects of black pepper, such as: relief of pain and chills, treatment of colds and flu, rheumatism, among others, are attributed to its main active ingredient, piperine. This, in turn, has a wide spectrum of biological activities and has been playing an important role as a raw material for the synthesis of new compounds with pharmacological interest. The objective of this research was the use of piperine, extracted from black pepper, as a precursor in the synthesis of new derived molecules, in order to evaluate the antimicrobial and antitumor potential of these compounds. Initially, two series of substituted chloro-esters and the salt of piperic acid were planned and synthesized as intermediates, which were submitted to a nucleophilic bimolecular substitution reaction (S_N2) giving rise to 30 new diesters derived from piperine. The final compounds showed yields between 50 and 84% and were characterized by infrared (IR) spectroscopic techniques, 1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance (NMR) and 2D NMR (COSY, HSQC, HMBC). The biological potential of the final compounds were evaluated through the *in silico* study, *in vitro* antimicrobial activity, acute non-clinical toxicity and *in vivo* antitumor activity. In the *in silico* study, only the compounds Butyl 4-(4-iodobenzoate)-piperate (**DE-05**) and Butyl 4-(3,5-dinitrobenzoate)-piperate (**DE-08**) violated two of the Lipinski parameters, therefore, it can be inferred that the other compounds must present a good oral bioavailability. In the *in vitro* antimicrobial evaluation, bacterial strains (*Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*), yeast fungi (*Candida albicans* and *C. tropicalis*) and filamentous fungi (*Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* and *A. niger*) were used. The result of the evaluation of the final compounds showed that the substance Butyl 4-(4-methylbenzoate)-piperate (**DE-06**) presented a more comprehensive antimicrobial action, managing to inhibit several strains with a minimum inhibitory concentration (MIC) of 256 $\mu g/ml$. Most of all substances were effective against yeast fungi, and only a small portion of these substances were also effective against filamentous fungi. However, none of the final products had antibacterial activity. The compound 4-(4-nitro-benzoate)-butyl piperate (**DE-07**) was submitted to acute non-clinical toxicity tests, the lethal dose (LD_{50}) was estimated at 1000 mg/kg, being considered a low compound acute toxicity. The result of the evaluation of the *in vivo* antitumor effect of the compound **DE-07**, in an Ehrlich ascitic carcinoma (EAC) model, showed a significant reduction in the tumor mass and in the parameters of viability and total cell; such results allow us to infer that the compound, in the experimental model evaluated, has significant antitumor activity *in vivo*.

Keywords: Piperine, Diesters, Antimicrobial activity, Antitumor

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Fórmula estrutural da piperina.	29
Figura 2- Representação esquemática do efeito da piperina em células cancerígenas	33
Figura 3- Estruturas dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres (I-01 a I-15)	57
Figura 4- Estrutura dos α -cloro-acetatos R-substituídos	58
Figura 5- Estruturas e rendimentos dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres	61
Figura 6- Estruturas e rendimentos dos compostos intermediários α - cloro acetatos	63
Figura 7- Estruturas e rendimentos dos 15 diésteres derivados da piperina (Série I).	65
Figura 8- Estruturas e rendimentos dos 15 diésteres derivados da piperina (Série II).	66
Figura 9- Efeito do tratamento com DE-07 (50 mg/kg) e 5-FU (25 mg/kg) em camundongos transplantados com CAE.	97
Figura 10- Efeito do tratamento com DE-07 (50 mg/kg) e do 5-FU (25 mg/kg) na microdensidade vascular peritoneal de camundongos transplantados com CAE.....	98

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Propriedades físico-químicas dos compostos intermediários (I-01 a I-15).	83
Tabela 2- Solubilidade, porcentagem de absorção, <i>drug-likeness</i> e drug-score dos compostos intermediários (I-01 a I-15).	83
Tabela 3- Toxicidade teórica dos compostos intermediários (I-01 a I-15).....	84
Tabela 4- Propriedades físico-químicas dos compostos finais (DE-01 a DE-15).	85
Tabela 5- Solubilidade, porcentagem de absorção e <i>drug-likeness</i> e drug-score dos compostos finais (DE-01 a DE-15).....	85
Tabela 6- Toxicidade teórica dos compostos finais (DE-01 a DE-15).....	86
Tabela 7- Propriedades físico-químicas dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15).....	87
Tabela 8- Solubilidade, porcentagem de absorção, <i>drug-likeness</i> e drug-score dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15)	87
Tabela 9- Toxicidade teórica dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15).....	88
Tabela 10- Propriedades físico-químicas dos compostos finais (E-01 a E-15).	88
Tabela 11- Solubilidade, porcentagem de absorção, drug-score e <i>drug-likeness</i> dos compostos finais (E-01 a E-15).....	89
Tabela 12- Toxicidade teórica dos compostos (E-01 a E-12).	90
Tabela 13- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos intermediários (I-01 a I-15) contra cepas bacterianas e fúngicas.	91
Tabela 14- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos diésteres derivados da piperina (DE-01 a DE-15) contra cepas bacterianas e fúngicas.	92
Tabela 15- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos intermediários (I-01 a I-12) contra cepas bacterianas e fúngicas.	93
Tabela 16- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos finais (E-01 a E-12) contra cepas bacterianas e fúngicas.	94
Tabela 17- Efeitos da administração i.p. de doses únicas de DE-07 em camundongos	95

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Síntese total da piperina a partir do catecol.....	30
Esquema 2- Abordagem sintética descrita por Sloop para obtenção da piperina	30
Esquema 3- Abordagem sintética descrita por Bauer <i>et al</i> para obtenção da piperina em três etapas..	31
Esquema 4- Algumas possibilidades de reações da piperina	35
Esquema 5- Obtenção de compostos heterocíclicos a partir da piperina	37
Esquema 6- Síntese dos derivados da piperina acoplados com ésteres de aminoácidos	39
Esquema 7- Síntese do composto piperato de N-(p-nitrofenil) acetamida (HE-02).....	39
Esquema 8- Obtenção dos derivados do ácido pipérico e ácido 4-etil-pipérico.....	40
Esquema 9- Obtenção dos análogos da piperina derivados do ácido dipeptidil-borônico.....	41
Esquema 10- Síntese dos derivados da piperina contendo o grupo benzotiazol	42
Esquema 11- Rota sintética para a preparação de fenilsulfonil-hidrazonas derivadas da piperina.....	43
Esquema 12- Obtenção dos compostos heterociclos do sistema 1,2,4-oxadiazol derivados da piperina	43
Esquema 13- Estratégia para obtenção dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazolio-2-fenilamina derivados da piperina.....	44
Esquema 14- Esterificação do ácido pipérico com álcoois utilizando a reação de Steglich.....	44
Esquema 15- A síntese do novo éster derivado da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona.....	45
Esquema 16- Esquema para obtenção dos ésteres derivados da piperina	45
Esquema 17- Rota sintética para obtenção do éster derivado do ácido pipérico e do amido.	46
Esquema 18- Esquema geral para síntese dos ésteres derivados da piperina.	47
Esquema 19- Esquema para obtenção dos ésteres derivados da piperina	47
Esquema 20- Estratégia sintética para obtenção das amidas e ésteres derivados da piperina	48
Esquema 21- Estratégia sintética para obtenção dos ésteres derivados da piperina utilizando P(Ph) ₃	49
Esquema 22- Esquema geral para obtenção de δ -cloro-ésteres a partir do THF	50
Esquema 23- Exemplos de formas de obtenção dos ésteres derivados do ácido cloro acético.	51
Esquema 24- Análise retro-sintética das moléculas-alvo.	56
Esquema 25- Reação para obtenção dos δ -cloro-ésteres.	61
Esquema 26- Proposta do ciclo catalítico para a síntese dos cloroésteres.....	62
Esquema 27- Reação para obtenção dos α -cloro-acetatos.....	62
Esquema 28- Rota sintética para obtenção dos novos derivados da piperina.....	64

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1- Espectro de infravermelho (ATR) do 4-nitro-benzoato de 4-cloro-butila (I-07).....	67
Espectro 2- Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 4-nitrobenzoato de 4-cloro-butila (I-07).....	68
Espectro 3- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (126 MHz, CDCl_3) do 4-nitrobenzoato de 4-cloro butila (I-07).	69
Espectro 4- Espectro de infravermelho (ATR) do 2-cloro-acetato de propila (IE-03).	70
Espectro 5- Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-cloro acetato de propila (IE-03).....	71
Espectro 6- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (101 MHz, CDCl_3) do 2-cloro acetato de propila (IE-03).	71
Espectro 7- Espectro de infravermelho (ATR) do composto DE-07.	73
Espectro 8- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 4-(4-nitrobenzoato)-piperato de butila (DE-07).	74
Espectro 9- Espectro de RMN ^{13}C – APT – ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) do 4-(4-nitrobenzoato)-piperato de butila (DE-07).	75
Espectro 10- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 500 MHz) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	76
Espectro 11- Espectro de RMN ^{13}C – APT – ($\text{DMSO}-d_6$, 126 MHz) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	77
Espectro 12- Comparação dos espectros na região IV da piperina, ácido pipérico, I-03 e E-03.	79
Espectro 13- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (E-03).....	80
Espectro 14- Espectro de RMN ^{13}C –APT–(CDCl_3 , 101 MHz) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (E-03).	82
Espectro 15- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da 1-piperoil-piperidina (Piperina).	146
Espectro 16- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) da 1-piperoil-piperidina (Piperina).	146
Espectro 17- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (Ácido pipérico).	147
Espectro 18- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (Ácido pipérico).	147
Espectro 19- Espectro de Infravermelho (ATR) do piperato de potássio.....	148
Espectro 20- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do acetato de 4-cloro butila (I-01).....	148
Espectro 21- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do acetato de 4-cloro butila (I-01).....	149
Espectro 22- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do benzoato de 4-cloro butila (I-02).....	149
Espectro 23- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do benzoato de 4-cloro butila (I-02).....	150
Espectro 24- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-cloro)-benzoato de 4-cloro butila (I-03).	150
Espectro 25- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-cloro)-benzoato de 4-cloro butila (I-03).	151

Espectro 26- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-bromo)-benzoato de 4-cloro butila (I-04).	151
Espectro 27- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-bromo)-benzoato de 4-cloro butila (I-04).	152
Espectro 28- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (I-05).	152
Espectro 29- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (I-05).	153
Espectro 30- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (I-05).	153
Espectro 31- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-metil)-benzoato de 4-cloro butila (I-06).	154
Espectro 32- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-metil)-benzoato de 4-cloro butila (I-06).	154
Espectro 33- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro butila (I-08).	155
Espectro 34- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro butila (I-08).	155
Espectro 35- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (I-09).	156
Espectro 36- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (I-09).	156
Espectro 37- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (I-09).	157
Espectro 38- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do cinamato de 4-cloro butila (I-10).	157
Espectro 39- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do cinamato de 4-cloro butila (I-10).	158
Espectro 40- Espectro de Infravermelho (ATR) do (3-nitro)-cinamato de 4-cloro butila (I-11).	158
Espectro 41- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do (3-nitro)-cinamato de 4-cloro butila (I-11).	159
Espectro 42- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) (3-nitro)-cinamato de 4-cloro butila (I-11).	159
Espectro 43- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-triflour-metil)-cinamato de 4-cloro butila (I-12).	160
Espectro 44- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-triflour-metil)-cinamato de 4-cloro butila (I-12).	160
Espectro 45- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-triflour-metil)-cinamato de 4-cloro butila (I-12).	161
Espectro 46- Espectro de Infravermelho do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (I-13).	161
Espectro 47- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (I-13).	162
Espectro 48- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (I-13).	162

Espectro 49- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (I-14).	163
Espectro 50- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (I-14).	163
Espectro 51- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (I-14).	164
Espectro 52- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (I-15).	164
Espectro 53- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (I-15).	165
Espectro 54- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (I-15).	165
Espectro 55- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de metila (IE-01).	166
Espectro 56- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de metila (IE-01).	166
Espectro 57- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de etila (IE-02).	167
Espectro 58- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de etila (IE-02).	167
Espectro 59- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isopropila (IE-03i)...	168
Espectro 60- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isopropila (IE-03i)...	168
Espectro 61- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de butila (IE-04).	169
Espectro 62- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de butila (IE-04).	169
Espectro 63- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isobutila (IE-04i).	170
Espectro 64- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isobutila (IE-04i).	170
Espectro 65- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de pentila (IE-05).	171
Espectro 66- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de pentila (IE-05).	171
Espectro 67- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isopentila (IE-05i).....	172
Espectro 68- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isopentila (IE-05i). ..	172
Espectro 69- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de hexila (IE-06).	173
Espectro 70- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de hexila (IE-06).	173
Espectro 71- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de cicloexila (IE-06c)...	174
Espectro 72- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de cicloexila (IE-06c)...	174
Espectro 73- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de octila (IE-08).	175
Espectro 74- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de octila (IE-08).	175
Espectro 75- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de decila (IE-10).	176
Espectro 76- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de decila (IE-10).	176
Espectro 77- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de dodecila (IE-12).....	177
Espectro 78- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de dodecila (IE-12).....	177
Espectro 79- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cloro-acetato de fenila (IE-14).	178
Espectro 80- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de fenila (IE-14).	178
Espectro 81- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cloro-acetato de cinamila (IE-15).	179
Espectro 82- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-cloro-acetato de cinamila (IE-15).	179

Espectro 83- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-acetato-piperato de butila (DE-01).....	180
Espectro 84- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-acetato-piperato de butila (DE-01).....	180
Espectro 85- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-acetato-piperato de butila (DE-01).	181
Espectro 86- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-acetoxi-piperato de butila (DE-02).	181
Espectro 87- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-acetoxi-piperato de butila (DE-02).	182
Espectro 88- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-benzoato-piperato de butila (DE-02).	182
Espectro 89- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).	183
Espectro 90- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).....	183
Espectro 91- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).....	184
Espectro 92- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(4-cloro)-piperato de butila (DE-03).	184
Espectro 93- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).....	185
Espectro 94- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).....	185
Espectro 95- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).	186
Espectro 96- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).....	186
Espectro 97- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (DE-04).....	187
Espectro 98- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (DE-04).....	187
Espectro 99- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (DE-04).	188
Espectro 100- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05).	188
Espectro 101- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05).....	189
Espectro 102- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05).	189
Espectro 103- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (DE-06).	190

Espectro 104- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (DE-06).	190
Espectro 105- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (DE-06).	191
Espectro 106- Expansão do espectro de RMN ^1H do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	191
Espectro 107- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	192
Espectro 108- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	192
Espectro 109- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	193
Espectro 110- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	193
Espectro 111- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).	194
Espectro 112- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (DE-08).	194
Espectro 113- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (DE-08).	195
Espectro 114- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)- piperato de butila (DE-08).	195
Espectro 115- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-cloro,3-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-09).	196
Espectro 116- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-cloro, 3-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-09).	196
Espectro 117- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-(4-cloro, 3-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-09).	197
Espectro 118- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-cinamato-piperato de butila (DE-10).	197
Espectro 119- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-cinamato-piperato de butila (DE-10).	198
Espectro 120- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-cinamato-piperato de butila (DE-10).	198
Espectro 121- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	199
Espectro 122- Expansão do espectro de RMN ^1H 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	199
Espectro 123- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	200
Espectro 124- Expansão do espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	200

Espectro 125- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	201
Espectro 126- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	201
Espectro 127- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	202
Espectro 128- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).	202
Espectro 129- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12).	203
Espectro 130- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12).	203
Espectro 131- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101MHz) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12).	204
Espectro 132- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (DE-13).	204
Espectro 133- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (DE-13).	205
Espectro 134- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (DE-13).	205
Espectro 135- Espectro Infravermelho (ATR) do 4-(2-(4-metóxifenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14).	206
Espectro 136- Espectro de RMN ^1H (CDCl $_3$, 400 MHz) do 4-(2-(4-metóxifenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14).	206
Espectro 137- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl $_3$, 101 MHz) do do 4-(2-(4-metóxifenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14).	207
Espectro 138- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)- piperato de butila (DE-15).	207
Espectro 139- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)-piperato de butila (DE-15).	208
Espectro 140- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)-piperato de butila (DE-15).	208
Espectro 141- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (E-01).	209
Espectro 142- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (E-01).	209
Espectro 143- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (E-01).	210
Espectro 144- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).	210
Espectro 145- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 400 MHz) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).	211

Espectro 146- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).	211
Espectro 147- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03).	212
Espectro 148- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03).	212
Espectro 149- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila(E-03).	213
Espectro 150- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila(E-03).	213
Espectro 151- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (E-03).	214
Espectro 152- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (E-03).	214
Espectro 153- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03i)...	215
Espectro 154- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03i).	215
Espectro 155- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03i).	216
Espectro 156- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).	216
Espectro 157- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).	217
Espectro 158- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).	217
Espectro 159- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04i)....	218
Espectro 160- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04i).	218
Espectro 161- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04i).	219
Espectro 162- Espectro Infravermelho (ATR) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).	219
Espectro 163- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).	220
Espectro 164- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).	220
Espectro 165- Espectro Infravermelho (ATR) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05i).	221
Espectro 166- Espectro de RMN ^1H (CDCl $_3$, 500 MHz) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05i).	221
Espectro 167- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl $_3$, 126 MHz) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05i).	222
Espectro 168- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06).	222

Espectro 169- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06).	223
Espectro 170- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06)	223
Espectro 171- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06c).	224
Espectro 172- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06c).	224
Espectro 173- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06c)	225
Espectro 174- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (E-08).....	225
Espectro 175- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (E-08).....	226
Espectro 176- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (E-08).....	226
Espectro 177- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (E-10).....	227
Espectro 178- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (E-10).....	227
Espectro 179- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (E-10).....	228
Espectro 180- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-dodecóxi-2-oxo-piperato de etila (E-12).....	228
Espectro 181- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-dodecóxi-2-oxo-piperato de etila (E-12).....	229
Espectro 182- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO}-d_6$, 101 MHz) do 2-dodecóxi-2-oxo-piperato de etila (E-12).....	229
Espectro 183- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (E-14)	230
Espectro 184- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (E-14).....	230
Espectro 185- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (E-14)	231
Espectro 186- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (E-15).....	231
Espectro 187- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (E-15)	232
Espectro 188- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (E-15).....	232

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

δ	Deslocamento químico
λ	Comprimento de onda
5-FU	5-fluorouracil
% ABS	Porcentagem de Absorção
ADMET	Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade
ALH	Aceptores de Ligação de Hidrogênio
Alif.	Alifático
APT	Attached Proton Test
Ar.	Aromático
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CDCl_3	Clorofórmio deuterado
CIM	Concentração Inibitória Mínima
cLopP	Lipofilicidade
COSY	Homonuclear Correlation Spectroscopy
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
ddd	Duplo duplo dubleto
DL ₅₀	Dose letal média
DLH	Doadores de Ligação de Hidrogênio
DMSO-d ₆	Dimetilsulfóxido deuterado
HMBC	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
IV	Espectroscopia na Região do Infravermelho
<i>J</i>	Constante de acoplamento
LogS	Solubilidade
m	Multiplete
MHz	Mega Hertz
MM	Massa Molecular
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development
ppm	Partes por milhão
qt	Quinteto
q	Quarteto
s	Singlete
t	Triplete
TPSA	Topological Polar Surface Area

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	25
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	28
2.1 Gênero <i>Piper</i>	28
2.1.1 Pimenta-do-reino	28
2.2 Piperina	28
2.2.1 Estratégias sintéticas para obtenção da piperina.....	29
2.2.2 Potencialidades farmacológicas da piperina.....	31
2.2.2.1 Atividade anticâncer	31
2.2.2.2 Atividade antimicrobiana	34
2.2.3 Versatilidade da piperina na síntese de novas moléculas bioativas.....	34
2.2.4 Atividades biológicas dos derivados da piperina	38
2.2.5 Ésteres derivados da piperina	44
2.3 Cloro ésteres	49
2.3.1 δ -Cloro-ésteres.....	49
2.3.2. α -Cloro-acetatos	51
2.4 Estudos <i>in silico</i> no planejamento de fármacos	51
3. OBJETIVOS.....	54
3.1 Objetivos gerais	54
3.2 Objetivos específicos:	54
4. ESTRATÉGIA SÍNTEICA	56
4.1 Planejamento das moléculas alvo	56
4.2 Planejamento dos intermediários-chave	57
4.2.1. δ -Cloro ésteres.....	57
4.2.2. α -Cloro acetatos	57
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
5.1 Síntese dos compostos intermediários	60
5.1.1 Extração da piperina a partir da pimenta-do-reino (<i>Piper nigrum</i> , L.).....	60
5.1.2 Síntese do ácido pipérico.....	60
5.1.3 Preparação dos cloretos de ácido.....	60
5.1.4 Síntese dos δ -cloro-ésteres	60
5.1.5 Síntese dos α -cloro-acetatos.....	62
5.2 Síntese dos Diésteres: Obtenção das moléculas alvo	63
5.3 Determinação estrutural.....	66
5.3.1 Determinação estrutural dos compostos intermediários.....	66
5.3.1.1 Determinação estrutural dos intermediários δ -cloro-ésteres	66

5.3.1.2	Determinação estrutural dos intermediários α -cloro-acetatos.....	69
5.3.2	Determinação estrutural dos compostos finais	72
5.3.2.1	Determinação estrutural dos diésteres (Série I)	72
5.3.2.2	Determinação estrutural dos diésteres (Série II).....	78
5.4	Estudos Biológicos	82
5.4.1	Estudos <i>in silico</i>	82
5.4.1.1	Estudos <i>in silico</i> dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres – (I-01 a I-15).....	82
5.4.1.2	Estudos <i>in silico</i> dos compostos finais – Série I – (DE-01 a DE-15)	84
5.4.1.3	Estudos <i>in silico</i> dos compostos intermediários α -cloro-acetatos – (I-01 a I-15).....	86
5.4.1.4	Estudos <i>in silico</i> dos compostos finais – Série II – (E-01 a E-15)	88
5.4.2	Estudos antimicrobianos.....	90
5.4.2.1	Avaliação antimicrobiana dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres – (I-01 a I-15).....	90
5.4.2.2	Avaliação antimicrobiana dos diésteres finais – Série I – (DE-01 a DE-15).....	91
5.4.2.3	Avaliação antimicrobiana dos compostos intermediários α -cloro-acetatos – (IE-01 a IE-12).....	93
5.4.2.4	Avaliação antimicrobiana dos diésteres finais – Série II – (E-01 a E-12)....	94
5.4.3	Estudos de toxicidade não clínica aguda e atividade antitumoral <i>in vivo</i> do DE-07.....	95
5.4.3.1	Resultados da toxicidade não clínica aguda em camundongos	95
5.4.3.2	Atividade antitumoral <i>in vivo</i> em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE).....	96
5.4.3.3	Atividade antiangiogênica do composto DE-07	Erro! Indicador não definido.
6	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	100
6.1	Conclusões	100
6.2	Perspectivas	101
7	METODOLOGIA.....	103
7.1	Equipamentos	103
7.2	Obtenção dos compostos intermediários.....	103
7.2.1	Isolamento da amida 1-Piperoil-piperidina (piperina) (1)	103
7.2.2	Preparação do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico-ácido pipérico (2).....	104
7.2.3	Preparação do piperato de potássio (3).....	104

7.2.4	Preparação do ácido 2-(1,3-dioxoisindolin-2-ila)acético (Ftalglicina) (4)...	104
7.2.5	Metodologia geral para obtenção dos cloretos de ácido (5)	105
7.2.6	Metodologia geral para obtenção dos δ -cloro-ésteres (I-01 – I-15)	105
7.2.7	Metodologia para obtenção dos α -cloro acetatos substituídos (IE-01 a IE-15)	111
7.2.7.1	Obtenção dos α -cloro acetatos utilizando esterificação de Fisher	112
7.2.7.2	Síntese dos α -cloro acetatos substituídos via cloreto de ácido.....	114
7.3	Síntese dos compostos finais	117
7.3.1	Metodologia geral para obtenção dos diésteres derivados da piperina	117
7.3.1.1	Obtenção dos diésteres derivados dos δ -cloro-ésteres (Diésteres Série I) .	118
7.3.1.2	Obtenção dos diésteres derivados dos α -cloro-acetatos (Diésteres Série II)	125
7.4	Estudos biológicos	133
7.4.1.	Estudos <i>in silico</i>	133
7.4.2	Atividade Antimicrobiana	133
7.4.2.1	Meios de Cultura	133
7.4.2.2	Micro-organismos.....	134
7.4.3	Ensaio de toxicidade não clínica aguda e atividade antitumoral <i>in vivo</i> do DE-07.....	134
7.4.3.1	Avaliação de toxicidade não clinica aguda.....	135
7.4.3.2	Avaliação da atividade antitumoral <i>in vivo</i> em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich (CAE)	135
7.4.3.3	Avaliação dos efeitos antiangiogênicos do DE-07	136
REFERÊNCIAS		138
ANEXOS		146
ANEXOS I:	Espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC) ...	146
ANEXO II:	Certidão da Comissão de Ética no Uso de Animais para camundongos Swiss <i>Mus musculus</i>).	233
ANEXO III:	Fluxograma de realização do teste de toxicidade aguda com uma dose inicial de 2000 mg/kg	234
ANEXOS IV:	Patentes e Publicações.....	235

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Antes dos produtos sintéticos, as plantas já eram utilizadas como fontes de moléculas biologicamente ativas, sendo utilizadas *in natura* ou na forma de chás, infusões, xaropes e óleos, concentrando estas substâncias desde a medicina arcaica. Os avanços científicos permitiram isolar e identificar os princípios ativos de muitas plantas, e a Química vem se encarregando de reproduzir em laboratório tais moléculas, possibilitando a potencialização de suas atividades biológicas e aplicações.

Entre as plantas investigadas até hoje, as espécies da família Piperaceae vêm demonstrando um enorme potencial terapêutico.¹ A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é uma das espécies mais conhecidas na família e é considerada a especiaria mais popular do mundo, ocupando um lugar de destaque como a principal especiaria comercializada para atender a indústria alimentícia, medicinal, de perfumaria e cosmética.^{2,3,4} Segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), o Brasil está entre os três maiores produtores e exportadores mundiais de pimenta-do-reino.⁵

A pimenta-do-reino tem sido utilizada como tempero popular desde a antiguidade, mas além do sabor, ela apresenta uma ampla gama de aplicações na medicina popular e moderna.² A *Piper nigrum* L. é utilizada no tratamento de várias doenças, incluindo: tosse, resfriados, gripes, dores musculares, febres, calafrios, reumatismo, exaustão e dispnéia, também sendo utilizada como estimulador de apetite, anti-inflamatório, entre outras aplicações terapêuticas.^{6,7} Os efeitos fisiológicos benéficos da pimenta-do-reino são atribuídos em grande parte ao seu principal princípio ativo, a piperina, uma amida natural de fórmula molecular $C_{17}H_{19}NO_3$, que pode ser extraída com rendimentos de 3-7% a partir dos frutos de diversas espécies do gênero *Piper*.^{8,9}

A piperina possui um amplo espectro de atividades biológicas tais como: atividade antioxidante, anticâncer, antimicrobiana, antiinflamatória, imunomoduladora, hepatoprotetora, antiasmática, anticonvulsivante, antimutagênica, antitumoral, antidepressiva, antitireoidiana entre outras.^{10,11} A piperina tem recebido uma enorme atenção nas duas últimas décadas, e vem sendo considerada como uma molécula bioativa extremamente versátil.¹² A estrutura da piperina possibilita diversas alterações químicas, e isso vem desempenhando um importante papel na síntese de novos compostos derivados com aplicação terapêutica para várias doenças. Os derivados da piperina apresentaram atividade anti-inflamatória,¹³ anticâncer,¹⁴ antimicrobiana,¹⁵ antidiabética,¹⁶ antichagássica,¹⁷ antivitaligo,¹⁸ entre outras propriedades farmacológicas. Muitos dos derivados apresentaram atividades biológicas superiores a própria

piperina, fazendo com que aumentasse o interesse na descoberta continua de novas moléculas derivadas desta amida natural.

A investigação das propriedades químicas e biológicas da piperina e de seus derivados ganharam mais importância nas últimas décadas. De fato, a cada ano o número de trabalhos científicos com esses compostos aumenta consideravelmente. Como pode ser verificado na base de dados Scifinder Scholar® (<http://www.cas.org/products/scifinder/>) que registra 5392 artigos com a palavra “Piperine” como entrada, sendo destes 3543 artigos publicados nos últimos 10 anos (2011-2021), demonstrando a relevância deste composto na química de produtos naturais.

Na busca por novos fármacos, muita atenção é dada aos produtos naturais. Produtos naturais e seus análogos estruturais têm historicamente feito uma grande contribuição para a farmacoterapia, especialmente para o tratamento do câncer e de doenças infecciosas.¹⁹

O surgimento e a disseminação de micro-organismos resistentes aos medicamentos disponíveis, como também, a incidência e a mortalidade por câncer estão crescendo mundialmente a níveis alarmantes. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a resistência antimicrobiana é uma das 10 principais ameaças a saúde pública global que a humanidade enfrenta, e o câncer é a segunda principal causa de morte em todo o mundo, sendo responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018.^{20,21} Além da resistência aos medicamentos disponíveis, a toxicidade e os custos da terapia são outros fatores que dificultam o tratamento adequado, bem-sucedido e seguro contra essas doenças. Diante disto, aumenta a necessidade de pesquisas para o desenvolvimento de novos fármacos antitumorais e antimicrobianos que sejam mais seguros, eficazes e com menos efeitos colaterais do que os medicamentos atualmente disponíveis.

Tendo em vista estes aspectos, este trabalho se insere numa linha de pesquisa que visa a utilização da piperina, extraída da pimenta-do-reino, como fonte para obtenção de novos compostos derivados com potenciais atividades antimicrobianas e antitumorais.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Gênero *Piper*

A família Piperaceae forneceu a muitas civilizações do passado e do presente uma enorme fonte de fármacos e temperos alimentares. Alguns membros da família Piperaceae estavam entre as primeiras plantas cultivadas, e as espécies do gênero *Piper* são plantas medicinais importantes utilizadas em várias áreas da medicina.^{22,23}

O gênero *Piper* possui mais de 700 espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. A pimenta-do-reino (*P. nigrum*) e a pimenta longa (*P. longum*) são as espécies mais conhecidas na família Piperaceae e vêm sendo utilizadas medicinalmente há séculos.²³

2.1.1 Pimenta-do-reino

A pimenta-do-reino (*P. nigrum*) é originária da Índia e foi introduzida no Brasil por imigrantes japoneses na década de 1930. Em geral, ela é cultivada em muitas regiões tropicais, como o Brasil, Indonésia e a Índia.²⁴ Segundo a Embrapa, a produção brasileira em 2018 foi de 102 mil toneladas, assegurando a posição do Brasil entre os três países com maior produção e exportação de pimenta-do-reino no mundo.⁵

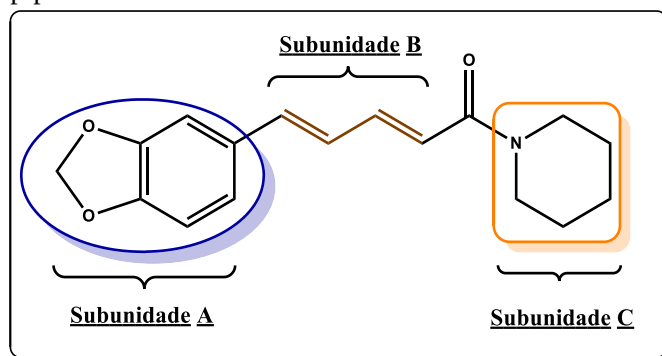
No mundo globalizado da agricultura, a pimenta-do-reino (*P. nigrum*) tem ocupado um lugar de destaque como a principal especiaria comercializada para atender a indústria alimentícia, medicinal, de perfumaria e cosmética.³ Suas sementes são utilizadas há séculos como condimento no preparo de alimentos, e na medicina popular dada suas ações terapêuticas sobre o organismo.²⁵ Muitas das atividades associadas aos frutos da pimenta-do-reino são atribuídas ao seu principal princípio ativo, a piperina, que é responsável pela pungência da pimenta-do-reino e da pimenta longa.²⁶

2.2 Piperina

Em 1820, o físico e químico dinamarquês Hans Christian Ørstedt, buscando o isolamento de "novos álcalis", relatou um novo alcaloide da pimenta (*Piper nigrum* L.), que ele chamou de Piperina.²⁷ A piperina (1-piperil-piperidina) é uma amida natural com a fórmula molecular $C_{17}H_{19}NO_3$ (Figura 1). É um composto bioativo versátil, encontrado em quase 2000 espécies do gênero *piper*.⁹

A estrutura da piperina pode ser dividida em três partes: (a) uma porção aromática contendo um anel metilenodioxo, (b) uma cadeia alifática e insaturada, e (c) o anel de piperidina ligado à carbonila.

Figura 1- Estrutura da piperina.



Fonte: Adaptado de Ferreira *et al*, (2012).²⁸

A piperina foi o primeiro composto farmacologicamente ativo isolado de diferentes membros da família Piperaceae, sendo também o alcaloide mais abundante presente na pimenta.²⁹ Um aspecto importante é a sua abundância, o qual pode ser extraído da pimenta-do-reino e pimenta longa com rendimentos em torno de 3-7% a partir de seus frutos secos.³⁰

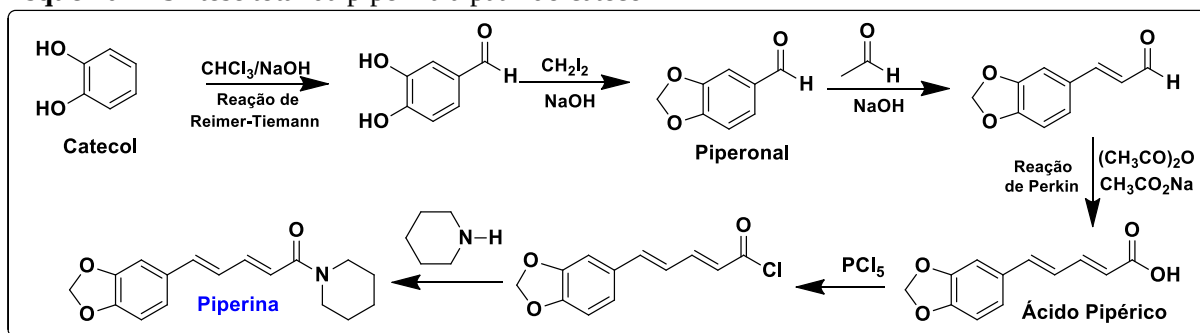
Vários métodos são utilizados para isolar a piperina pura dos outros componentes da pimenta do reino, tais como: extração com solventes, extração por soxhlet, técnicas de ultra-som, micro-ondas e extração com fluido supercrítico.³¹

2.2.1 Estratégias sintéticas para obtenção da piperina

Além da possibilidade de obtenção da piperina a partir dos frutos secos da pimenta-do-reino, diferentes grupos de pesquisa vêm trabalhando no desenvolvimento de rotas sintéticas que viabilizem a obtenção da piperina em bons rendimentos. Neste tópico, detalhar-se-ão apenas alguns dos trabalhos presentes na literatura.

Um exemplo de rota sintética para obtenção da piperina foi descrita por Ladenburg e colaboradores em 1894, que obtiveram a piperina através do piperonal preparado a partir do catecol (reação de Reimer-Tiemann), seguido da reação da condensação com di-iodometano (CH_2I_2) na presença de base. Na sequência, ocorre uma reação de Claisen-Schmidt do piperonal com o acetaldeído na presença de hidróxido de sódio, formando assim um cinamaldeído derivado. O produto é aquecido com anidrido acético na presença de acetato de sódio (reação de Perkin) para produzir ácido pipérico. O ácido pipérico é convertido no seu cloreto de ácido, reagindo com o pentacloreto de fósforo (PCl_5), que em seguida reage com a piperidina em solução de benzeno para produzir a piperina (Esquema 1).³²

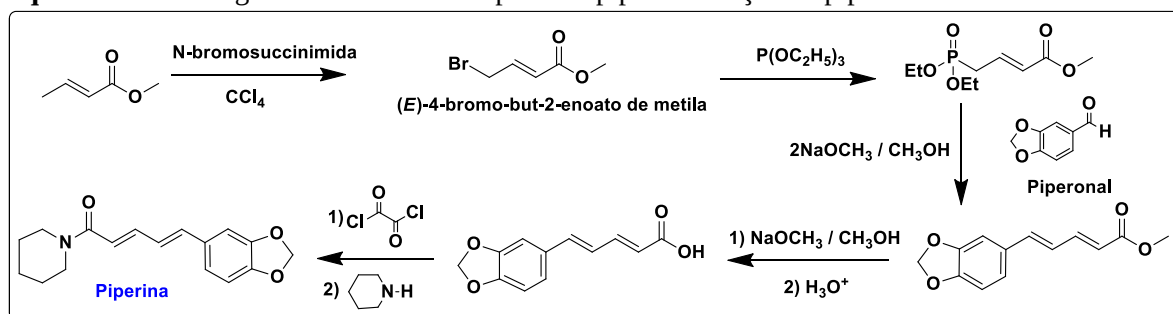
Esquema 1- Síntese total da piperina a partir do catecol



Fonte: Adaptado de Okwute, (2013).³³

Outra metodologia para obtenção da piperina foi descrita por Sloop em 1995, tendo como etapa-chave uma reação de Emmons-Horner do piperonal com o fosfonato adequado. Após hidrólise do éster metílico e preparação do respectivo cloreto de acila, a piperina foi obtida pela reação deste com a piperidina, com rendimento global de 50%, (Esquema 2).²⁸

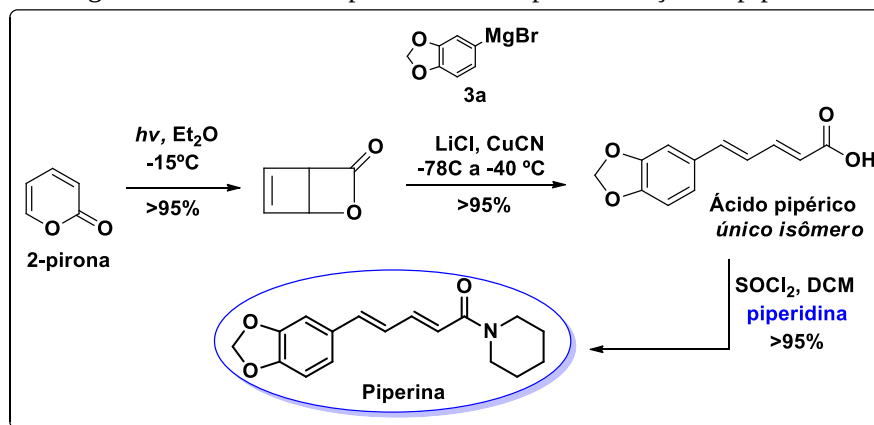
Esquema 2- Abordagem sintética descrita por Sloop para obtenção da piperina



Fonte: Adaptado de Sloop, (1995).³⁴

Bauer e colaboradores²⁷ sintetizaram a piperina, com estereosseletividade completa, em apenas três etapas utilizando como precursor a 2-pirona. Através de uma reação fotoquímica a 2-pirona sofre uma ciclização dando origem a lactona do ciclobuteno. A síntese baseia-se em um ataque nucleofílico estereosseletivo de um cuprato gerado *in situ* sobre a lactona do ciclobuteno. O ciclobuteno passa por uma abertura de anel através de uma reação 4 π -eletrocíclica, através de um movimento conrotatório, para formar o ácido pipérico como um único diastereoisômero. A última etapa consiste na síntese do cloreto do ácido pipérico e a reação com a piperidina, formando a piperina com 95% de rendimento. A rota sintética utilizada está apresentada no Esquema 3.

Esquema 3- Abordagem sintética descrita por Bauer *et al* para obtenção da piperina em três etapas



Fonte: Adaptado de Bauer *et al*, (2019).²⁷

A síntese de alto rendimento pode ser facilmente modulada no anel arila e na porção amida para a síntese de uma ampla gama de análogos de piperina.²⁷

2.2.2 Potencialidades farmacológicas da piperina

Após seu isolamento e caracterização completa, as propriedades biológicas da piperina foram extensivamente estudadas e mostraram uma gama interessante de atividades farmacológicas.³⁵ Podemos citar sua atividade anti-oxidante, anticonvulsiva, antimicrobiana, antiparasitária, neuroprotetiva, anticâncer, entre outras.³⁶ Atualmente, devido ao seu amplo espectro de atividades biológicas, a piperina está abrindo caminho para se tornar uma estrutura privilegiada para o desenvolvimento de novos compostos bioativos com aplicação terapêutica para diversas doenças.

2.2.2.1 Atividade anticâncer

A incidência e a mortalidade por câncer estão crescendo mundialmente de maneira extremamente rápida. Dados da OMS mostram que o câncer é a segunda principal causa de morte em todo o mundo e foi responsável por 9,6 milhões de mortes em 2018.²¹

A resistência das células cancerígenas aos medicamentos é um fenômeno muito complexo e um desafio no campo da quimioterapia do câncer.³⁷ Embora muitos tipos de cânceres sejam inicialmente suscetíveis à quimioterapia, com o tempo eles podem desenvolver resistência através de vários mecanismos. Alguns métodos de resistência a drogas são específicos da doença, enquanto outros, como o efluxo (observado em micróbios e em cânceres humanos resistentes a fármacos) é evolutivamente conservado. Além do efluxo, eles podem desenvolver resistência através de outros mecanismos, tais como mutações no DNA e alterações metabólicas que podem promover a inibição e degradação das drogas.³⁸

Na busca por novos fármacos que possam ser utilizados no tratamento do câncer, muita atenção é dada aos produtos naturais. Cerca de 74% dos compostos anticâncer são naturais ou derivados de produtos naturais, podemos citar como exemplos os quimioterápicos Topotecano, Docetaxel, Vindesina, Etoposídeo e Vinorelbina.¹⁴

Fitoquímicos derivados de especiarias, incluindo pimentas, são considerados importantes para o desenvolvimento de potenciais agentes antitumorais.³⁹ A piperina, que pode ser isolada de espécies como *Piper nigrum* e *Piper longum*, pode ser considerada um potencial agente anticâncer, podendo aumentar a eficácia da quimioterapia em pacientes.³⁷

Nas células cancerígenas, a superexpressão das bombas de efluxo, como a glicoproteína-p (P-gp), reduz o acúmulo de drogas quimioterápicas dentro do tumor e a capacidade desses agentes atingirem seu alvo. A piperina é um potente inibidor da P-gp, podendo reverter a resistência das células cancerígenas a múltiplos fármacos, atuando como intensificador de biodisponibilidade para muitos agentes quimioterápicos.¹¹

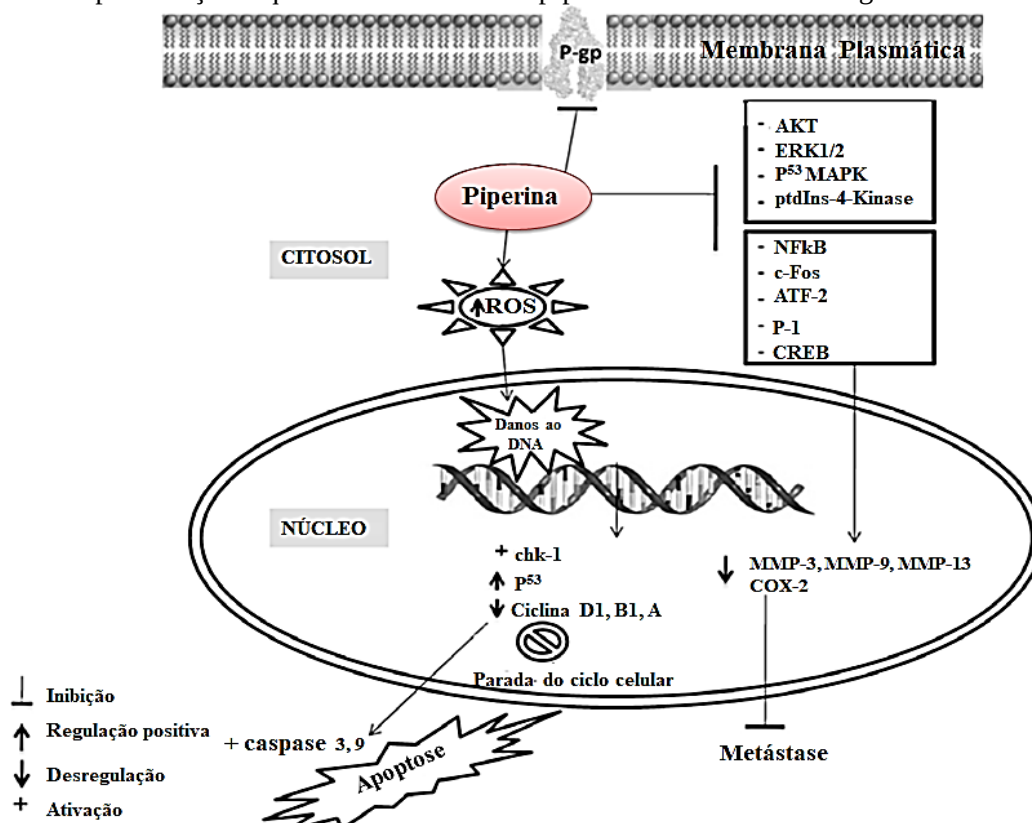
Os efeitos anticancerígenos da piperina, em conjunto com seu efeito inibitório sobre a P-gp, ganharam atenção considerável na tentativa de descobrir novos agentes anticancerígenos naturais que podem superar a resistência a múltiplas drogas na quimioterapia do câncer.⁴⁰ Li e colaboradores⁴¹ mostraram que a piperina consegue combater a resistência a múltiplos fármacos em células cancerígenas resistentes à Doxorubicina. A piperina também torna as células multirresistentes de câncer de pulmão e câncer de mama sensíveis aos agentes quimioterápicos convencionais.⁴²

Wojtowicz e colaboradores³⁷ investigaram o efeito do tratamento com piperina em linhagens de células de câncer de ovário resistentes a Paclitaxel (PAC) e Topotecano (TOP). Os resultados mostraram que a piperina aumentou o efeito citotóxico destes agentes quimioterápicos em todas as linhagens de células resistentes testadas.

Foi relatado que a piperina suprime o crescimento do tumor e metástase em câncer de Mama,⁴³ também induz morte celular apoptótica em melanoma humano, câncer de pulmão, em linhagens celulares de carcinoma colorretal e inibe a proliferação de células cancerígenas da próstata humana através da indução de parada do ciclo celular.⁴⁴

Em geral, ainda estão sendo realizadas investigações para elucidar o mecanismo subjacente de ação anticâncer da piperina.⁹ A Figura 2 mostra uma proposta sobre o efeito da piperina em células cancerígenas.

Figura 2- Representação esquemática do efeito da piperina em células cancerígenas



Fonte: Adaptado de Chinta *et al*, (2015).¹⁹

Como podemos observar, a piperina age inibindo a glicoproteína-P (P-gp), uma proteína de efluxo da membrana plasmática, que atua bombeando fármacos do interior para o exterior celular. Esse bombeamento reduz a quantidade do fármaco no citosol e, como consequência, diminui a fração do fármaco disponível para ligação ao seu alvo. Outro importante mecanismo de ação relacionado à piperina diz respeito ao aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS), envolvidas em danos ao DNA. Como consequência desse efeito, vias pró-apoptóticas são estimuladas, a exemplo da p53, a “guardiã do genoma”, bem como ocorre inibição de moléculas-alvo importantes para a progressão do ciclo celular, tais como as ciclinas D1, B1 e A, culminando na parada do ciclo. Tais eventos levam à ativação da apoptose e morte da célula tumoral. Tem-se demonstrado que vias de sinalização e fatores de transcrição, intrinsecamente relacionados à proliferação, progressão e sobrevivência do tumor (como AKT e NF- κ B, por exemplo) são inibidos pela piperina. Tais vias estão envolvidas, por exemplo, na ativação da expressão de proteínas como as metaloproteinases de matriz (MMP) e COX-2 envolvidas no processo de metástase tumoral. Com a inibição das vias de sinalização e fatores de transcrição, ocorre diminuição das MMP e COX-2, e com isto ocorre a inibição da metástase.

2.2.2.2 Atividade antimicrobiana

O número de micro-organismos resistentes a medicamentos está aumentando a níveis alarmantes. A crise de resistência aos antibióticos tem sido atribuída principalmente ao uso excessivo e inadequado desses medicamentos. Atualmente, há ainda um sério agravante: o uso indevido de antibióticos durante a pandemia de Covid-19, que pode levar à aceleração do surgimento e disseminação da resistência microbiana, fazendo com que o tratamento eficaz para infecções causadas por micro-organismos resistentes se torne cada vez mais desafiador para os sistemas de saúde pública.^{45,46,47}

Micro-organismos como bactérias e fungos têm a capacidade genética de transmitir e adquirir resistência aos medicamentos.⁴⁸ Os agentes patogênicos resistem à ação antimicrobiana por meio de mecanismos como: redução da acessibilidade do medicamento ao seu alvo molecular, diminuição da captação celular e aumento do efluxo da droga, resultando em uma concentração baixa e ineficaz do medicamento, ou mutações que alteram seus alvos moleculares, tornando o antibiótico inútil.⁴⁹

Por ser um potente inibidor da P-gp a piperina aumenta a biodisponibilidade de várias drogas sintéticas e naturais como por exemplo o quimioterápico Sulfadiazina e os antibióticos Estreptomicina, Rifampicina, Pirazinamida e Isoniazida.¹⁶ Este efeito é observado quando alguns medicamentos são co-administrados com a piperina, resultando assim numa maior concentração plasmática dos fármacos, aumentando sua eficiência.⁵⁰

Apesar das numerosas propriedades terapêuticas demonstradas pela piperina, as suas atividades farmacológicas são limitadas pela sua baixa solubilidade em meio aquoso e porque seu uso em altas concentrações pode ser tóxico para os sistemas nervoso central e reprodutivo.²⁹ Como a estrutura da piperina possui vários centros reativos, ela se torna um importante candidato a modificações químicas na tentativa de otimização dos seus efeitos biológicos e/ou obtenção de compostos derivados com menor toxicidade.

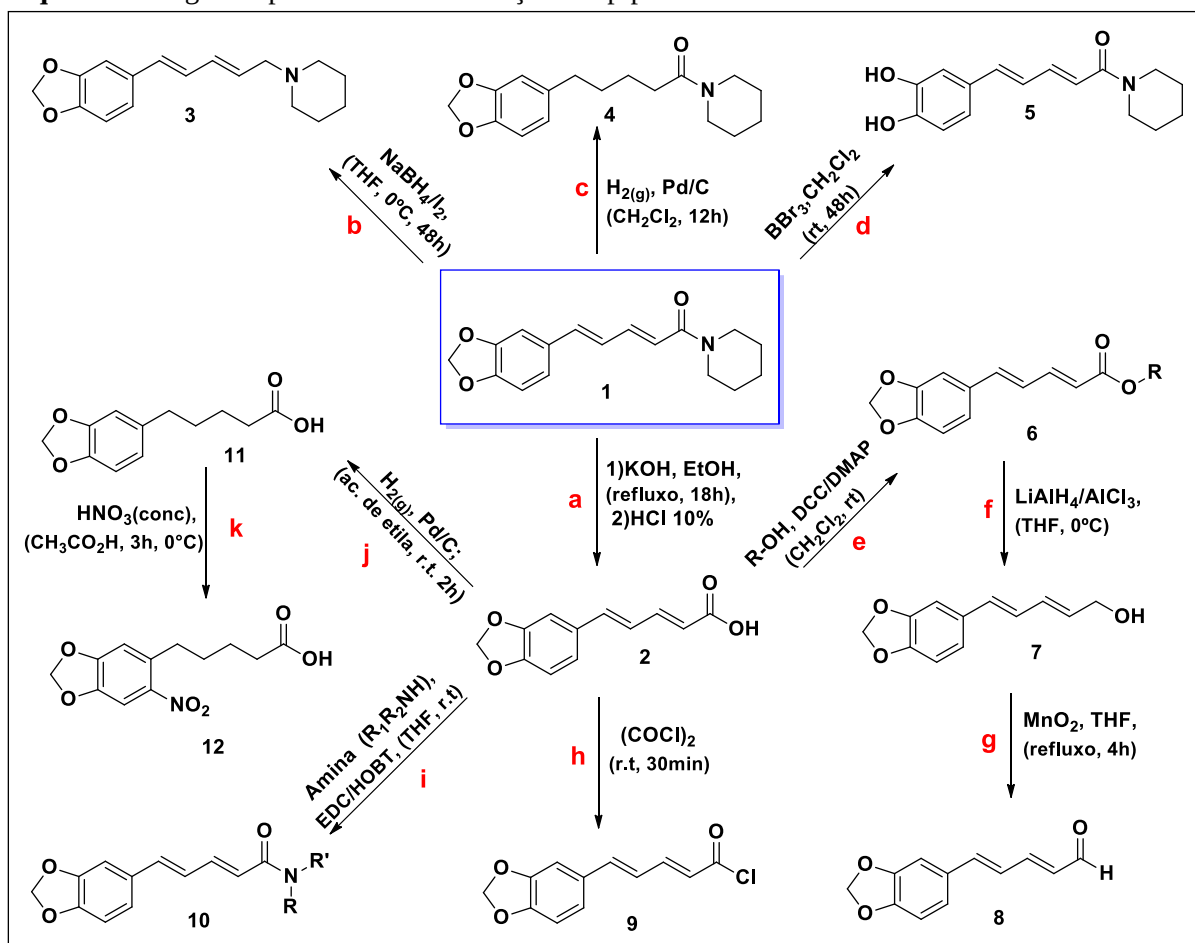
2.2.3 Versatilidade da piperina na síntese de novas moléculas bioativas

Ao planejar o uso de produtos naturais como fármacos ou mesmo como matéria-prima para síntese de novos compostos, geralmente há uma limitação devido ao fato de que metabólitos especiais de origem vegetal são biossintetizados em pequenas quantidades e normalmente são isolados de forma trabalhosa. A piperina é uma exceção, devido à sua abundância e facilidade de isolamento,⁵¹ além de possuir funcionalidades possíveis de sofrerem variadas manipulações sintéticas.

Como mostrado na Figura 1, a estrutura piperina pode ser dividida em três partes: (a) uma porção aromática contendo um anel metilenodioxo, (b) uma cadeia alifática insaturada e (c) o anel piperidina acoplado à carbonila. Todas essas partes foram exploradas pelos químicos em uma tentativa de sintetizar vários derivados da piperina com propriedades biológicas melhoradas.⁵²

A estrutura da piperina nos permite aplicar várias reações bases da química orgânica, como por exemplo reações de redução com LiAlH_4 , NaBH_4 , reação de hidrogenação catalisada com Pd/C , hidrólise para obtenção de ácido carboxílico, reações para obtenção dos derivados de ácido, além de várias outras reações possíveis. Tais estruturas podem servir como intermediários para a síntese de vários compostos derivados com diversas aplicações relevantes. Algumas metodologias relatadas na literatura para a preparação de derivados da piperina (1) estão esboçadas no Esquema 4.

Esquema 4- Algumas possibilidades de reações da piperina

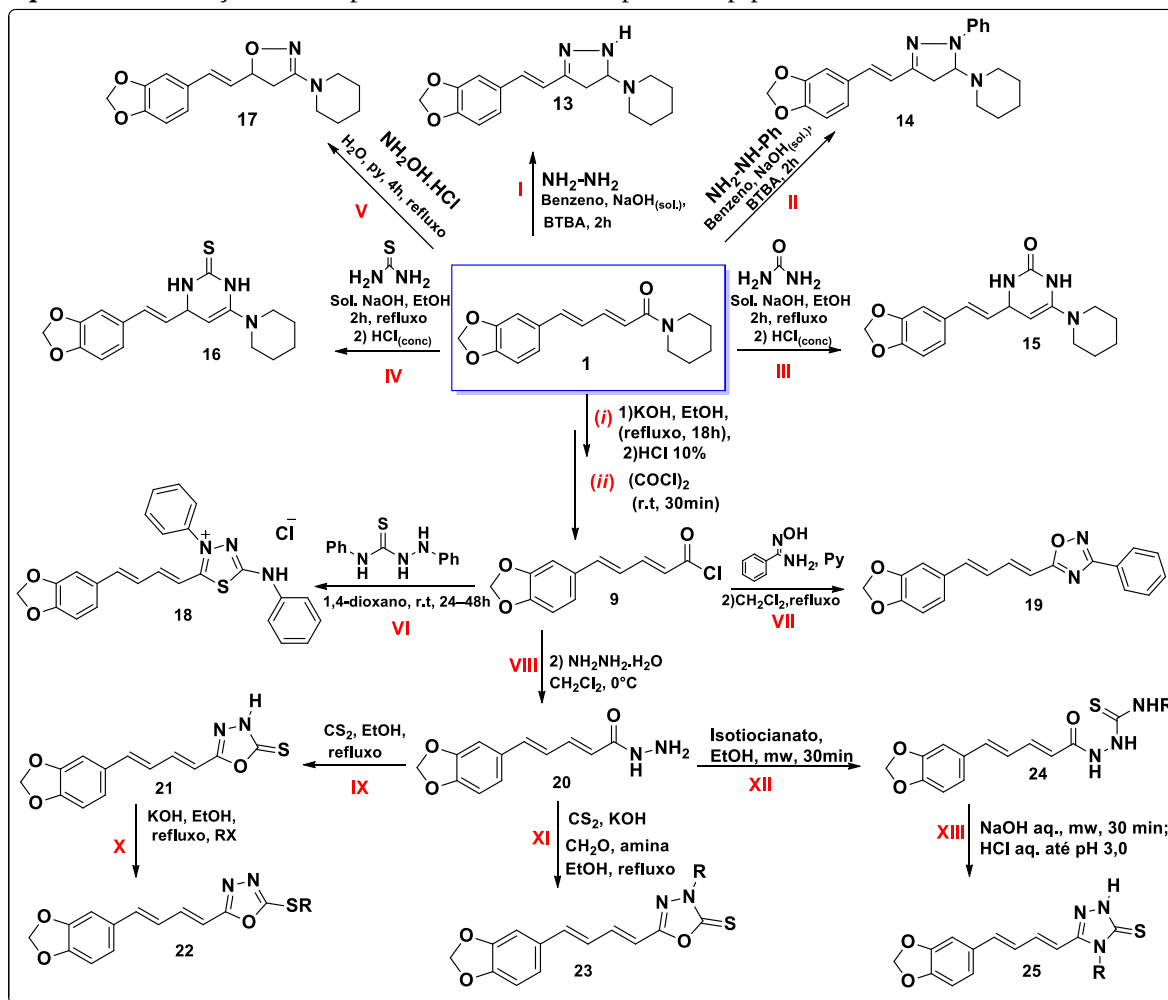


A abordagem **a** envolve a hidrólise da amida para formação do ácido piperico (2), o qual pode ser empregado para diversas aplicações em síntese orgânica, dando várias

possibilidades de compostos derivados. A reação envolve uma hidrólise básica utilizando solução etanólica de KOH 20% seguida de acidificação com solução 10% de HCl.³⁰ A abordagem **b** faz uso do NaBH₄ como agente redutor do grupo carbonila, para gerar a amina terciária derivada da piperina (**3**).⁵³ A abordagem **c** trata-se, também, de uma redução quimiosseletiva, através da hidrogenação catalítica utilizando o catalizador de Pd/C, sendo possível reduzir seletivamente as ligações duplas alifáticas da piperina, formando o composto (**4**). Outra reação possível é a quebra do anel 3,4-metilenodioxo da piperina, como mostrado na abordagem **d**. Essa reação ocorre através da reação com o tribrometo de boro, formando o 3,4-dihidroxifenil correspondente (**5**).⁵³ A partir do intermediário (**2**), é possível realizar uma série de reações. Alguns exemplos são mostrados nas abordagens **e**, **f**, **g**, **h**, **i** e **j**. Na abordagem **e**, temos a reação do ácido pipérico (**2**) com álcoois em presença de DCC/DMAP, para formação de ésteres (**6**) que, através da redução com LiAlH₄ em presença de AlCl₃, é possível obter um álcool alílico (**7**), que pode ser oxidado com MnO₂ ao aldeído correspondente (**8**),⁵⁴ que é um intermediário aplicável em diversas sínteses. A abordagem **h** consiste na formação do cloreto de ácido (**9**) que pode ser convertido em muitos outros tipos de compostos pelos mecanismos de substituição nucleofílica acílica. A abordagem **i** envolve a formação de amidas (**10**) através da reação de aminas com o ácido pipérico (**2**) na presença do cloridrato de 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC.HCl) e 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), as quais também podem ser obtidas a partir da reação do cloreto de ácido (**9**) com aminas variadas. A abordagem **j** consiste na hidrogenação catalítica com Pd/C do intermediário (**2**), reduzindo as duplas alifáticas gerando o ácido carboxílico correspondente (**11**) que, dentre várias possibilidades, através da reação de nitração utilizando HNO₃(conc), gera o ácido carboxílico com o grupo nitro substituinte (**12**).⁵⁰

Outro exemplo de aplicação da piperina na síntese orgânica é sua utilização na obtenção de compostos heterocíclicos. Os compostos carbonílicos α , β -insaturados são considerados como o núcleo principal para sintetizar muitos compostos heterocíclicos importantes.⁵⁵ Logo, a piperina pode ser um material de partida para obtenção destes compostos. No Esquema 5 temos algumas reações para obtenção de compostos heterocíclicos derivados da piperina.

Esquema 5- Obtenção de compostos heterocíclicos a partir da piperina



Através da reação direta da piperina com a hidrazina (I), fenil-hidrazina (II), ureia (III), tiourea (IV) e hidroxilamina hidroclorada (V), é possível obter os compostos 13, 14, 15, 16 e 17 respectivamente.⁵⁵ Após a hidrólise básica da piperina (i), para obtenção do ácido pipérico (2), seguido da reação com cloreto de oxalila (ii), para síntese do seu cloreto de ácido (9), podemos obter compostos heterocíclicos dos sistemas 1,3,4-oxadiazóis, 1,2,4-oxadiazóis, triazóis e compostos mesoiônicos. A abordagem (VI) envolve a reação do cloreto do ácido pipérico (9) com a 1,4-difenil-tiosemicarbazida, sendo possível obter o composto mesoiônico (18).⁵⁰ A abordagem (VII) mostra a reação com a benzamidoxima formando o derivado 1,2,4-oxadiazólico (19).⁵⁶ Na abordagem (VIII) temos a reação do cloreto de ácido (9) com a hidrazina, formando a hidrazida (20), que serve como precursor de vários compostos. Alguns exemplos são mostrados nas abordagens IX, XI e XII. A reação do intermediário (20) com dissulfeto de carbono (IX), forma o intermediário (21) que quando submetido a refluxo com solução etanólica de KOH seguido da reação com haletos de alquila (X) forma os compostos 1,3,4-oxadiazóis (22).⁵⁷ A abordagem (XI) mostra a reação da hidrazida do ácido pipérico (20)

com CS₂ em solução alcoólica de KOH, seguido da reação para substituição no nitrogênio formando os 1,3,4-oxadiazóis-2-tionas *N*-substituídos (23).⁵⁸ Na abordagem (XII) temos a reação da hidrazida (20) com diferentes isotiocianatos formando as carbotioamidas (24) que reagem com solução de NaOH_(aq) (XIII) dando origem aos triazóis correspondentes (25).⁵¹

Diante disso, a piperina pode ser considerada como uma fonte para obtenção de arcabouços estruturais interessantíssimos, pois, através de uma série de reações químicas é possível construir inúmeros derivados com potenciais atividades biológicas.

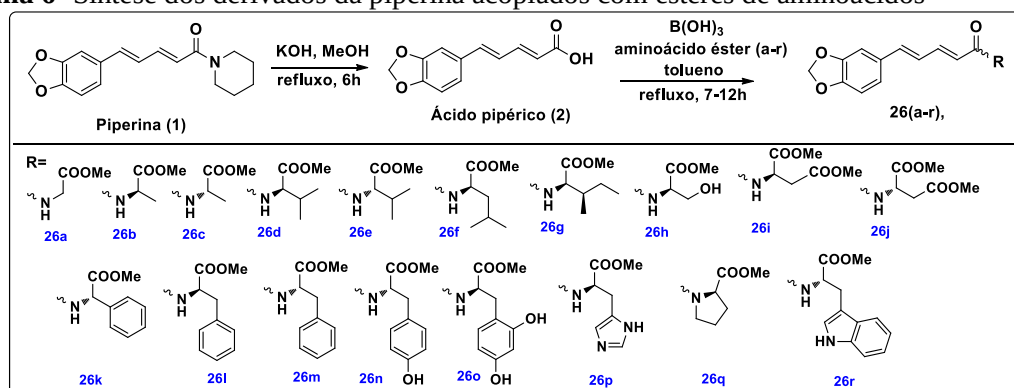
2.2.4 Atividades biológicas dos derivados da piperina

A análise estrutural de compostos naturais e sua capacidade de sintetizá-los permitiram que os químicos modificassem esses compostos a fim de suprimir ou melhorar certas características como solubilidade, eficiência ou estabilidade no corpo humano.⁵⁹

Na literatura, encontram-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 seus derivados e análogos. Vários destes derivados foram mais ativos do que a própria piperina, e isto implica que rotas sintéticas para obtenção de novos análogos e derivados desta amida natural são altamente desejáveis.^{60,27}

Podemos citar como exemplo da potencialidade dos derivados da piperina, o trabalho realizado por Rao e colaboradores,⁶¹ que sintetizaram novos derivados da piperina a partir do acoplamento do ácido pipérico (2) com ésteres de (D e L) aminoácidos. Os compostos alvos (26) foram preparados através da reação utilizando ácido bórico em quantidade catalítica e refluxo em tolueno. A amidação catalisada por ácido bórico se mostra bastante vantajosa. Alguns estudos recentes empregam o ácido bórico como um catalisador verde, barato e acessível, além de permitir a formação direta de amidas a partir de ácidos carboxílicos e aminas em geral.⁶² Nesta reação, o ácido bórico ativa a carbonila do ácido pipérico, reduzindo a densidade eletrônica no carbono carboxílico, tornando-o mais eletrofílico e mais propenso a adição nucleofílica da amina. Desta forma, os autores obtiveram os produtos finais com rendimentos entre 70-88% (Esquema 6).

Esquema 6- Síntese dos derivados da piperina acoplados com ésteres de aminoácidos

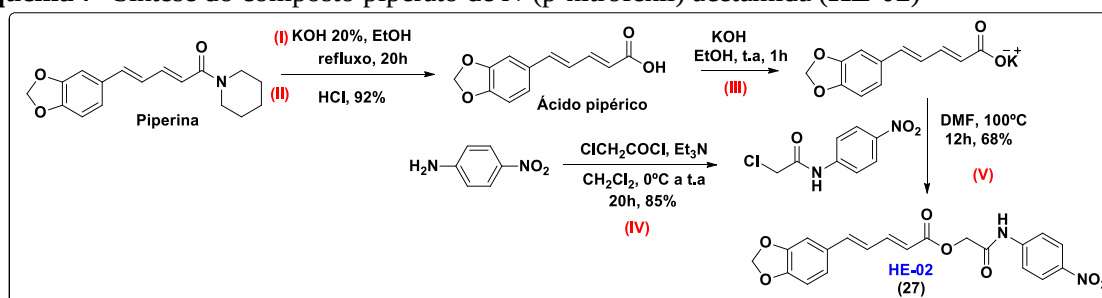


Fonte: Adaptado de Rao *et al*, (2012).⁶¹

As atividades citotóxicas destes novos derivados foram avaliadas frente às seguintes linhagens de câncer humano: neuroblastoma (IMR-32), mama (MCF-7), próstata (PC-3, DU-145), cólon (Colo-205) e fígado (HEPG-2). Os resultados mostraram que a maioria dos derivados apresentaram atividade citotóxica superior a piperina. Verificou-se que os ésteres de L-aminoácidos foram mais eficazes que os D-aminoácidos, e que os aminoácidos alifáticos são mais eficazes do que os aromáticos. Análogos com cadeia lateral heteroaromática também foram bons agentes citotóxicos. Pelos resultados obtidos, a histidina (**26p**) e a glicina (**26a**) podem ser identificadas como a melhor cadeia lateral possível entre os aminoácidos analisados contra as linhagens de câncer testadas.⁶¹

Santos e colaboradores⁶³ sintetizaram um novo amido-éster derivado da piperina, denominado HE-02 (**27**). Inicialmente, a piperina foi convertida a ácido pipérico, que reagiu com solução etanólica de KOH para obtenção do piperato de potássio (**III**), que atuou como nucleófilo na reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) (**V**) com a 2-Cloro-N-(4-nitrofenil) acetamida, obtida a partir da reação da p-nitro-anilina com o cloreto de cloreto acetila (**IV**). Desta forma, eles obtiveram o **HE-02** com 68% de rendimento (Esquema 7).

Esquema 7- Síntese do composto piperato de N-(p-nitrofenil) acetamida (**HE-02**)



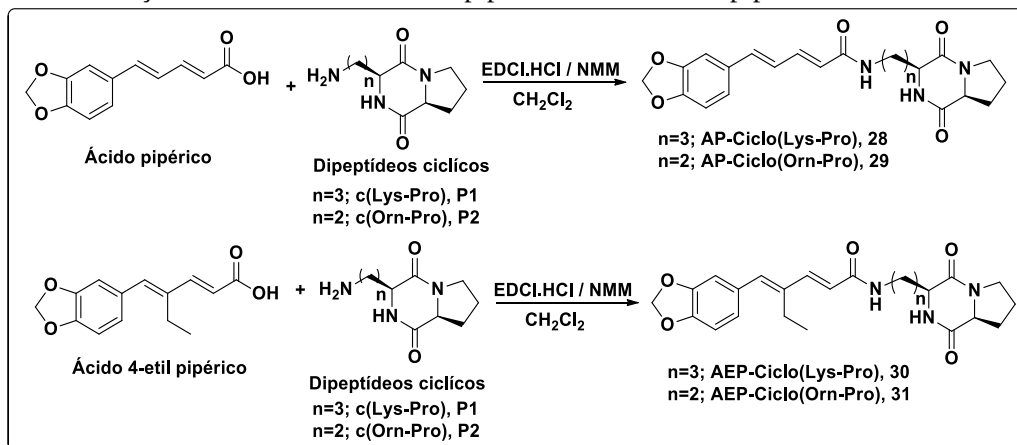
Fonte: Adaptado de Santos *et al*, (2018)⁶³

Eles avaliaram os efeitos antitumorais e toxicológicos *in vivo* do **HE-02**, utilizando o modelo de carcinoma ascítico de Ehrlich. O mecanismo foi feito com a concentração de 12,5

mg/kg de peso de animal. Após nove dias de tratamento com **HE-02**, eles observaram inibição significativa do crescimento tumoral considerando o parâmetro de viabilidade celular. Além disto, o **HE-02** não induziu dano hepático nas condições avaliadas, além de produzir baixa citotoxicidade em eritrócitos de camundongos. Com este estudo pode-se concluir que a molécula apresenta potencial atividade antitumoral via mecanismos antiangiogênicos e imunomoduladores, e que a substituição do anel piperidina por um amidoéster no **HE-02** reduziu a toxicidade do composto em relação ao composto original.⁶³

Shankar e colaboradores⁶⁴ sintetizaram amidas derivadas do ácido pipérico, obtido a partir da hidrólise básica da piperina extraída da pimenta-do-reino, e do ácido 4-etil-pipérico, que teve como precursor o piperonal. Os ácidos pipérico e 4-etil-pipérico foram acoplados a dipeptídeos cíclicos (Lys-Pro) e (Orn-Pro) a partir da reação de amidação feita na presença da carboimida EDCI.HCl e N-metilmorfolina (NMM). Desta forma, foram formados os produtos **28** e **29**, derivados do ácido pipérico, e os produtos **30** e **31** derivados do ácido 4-etil pipérico. (Esquema 8).

Esquema 8- Obtenção dos derivados do ácido pipérico e ácido 4-etil-pipérico

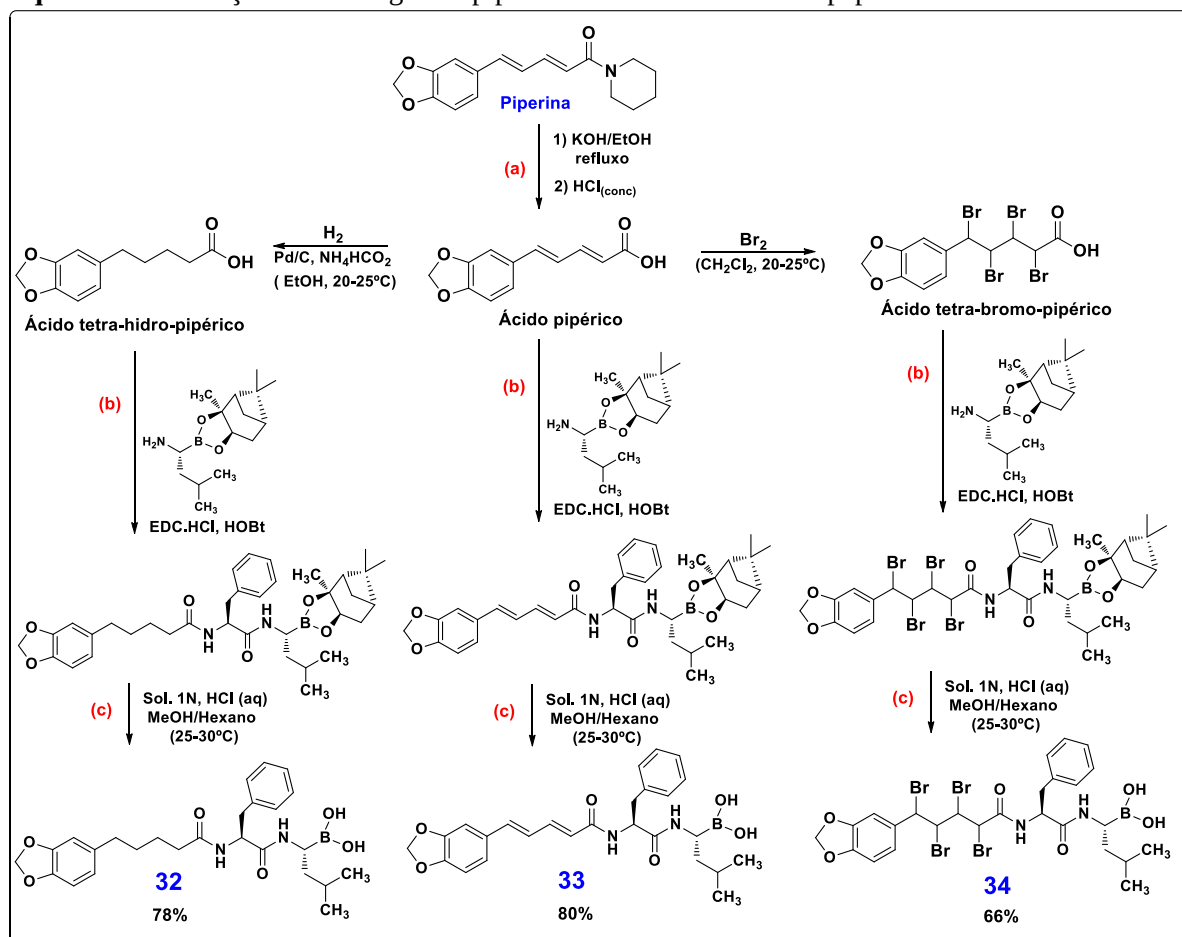


Fonte: Adaptado de Shankar *et al*, (2018).⁶⁴

Eles testaram a atividades dos compostos frente às linhagens celulares de câncer de mama (MCF-7, MDA-MB-231), câncer de próstata (PC-3), câncer de cólon (HCT-116) e câncer pancreático (MIA PaCa-2). Os resultados mostraram que o composto **31** apresentou uma potente atividade anticâncer frente às linhagens MDA-MB-231 ($\text{CI}_{50} = 1,3\mu\text{M}$), PC-3 ($\text{CI}_{50} = 3,5\mu\text{M}$), MCF-7 ($\text{CI}_{50} = 8,9\mu\text{M}$), MIA PaCa-2 ($\text{CI}_{50} = 9,6\mu\text{M}$). Além disso, este composto apresentou toxicidade mínima contra linhagem de células epiteliais mamárias normais (fR-2), mostrando a seletividade da molécula frente as células tumorais. Os resultados da avaliação *in vivo* do composto **31** em modelo de câncer de mama ressaltaram seu potencial antitumoral e antimetastático em uma dose segura e tolerável de 20 mg/kg.

Venugopal e colaboradores⁶⁵ sintetizaram três novos análogos da piperina com o ácido dipeptidil-borônico. Inicialmente, a piperina, extraída da pimenta-do-reino, foi hidrolisada a ácido pipérico, este foi submetido à hidrogenação catalisada com Pd/C para formar o ácido tetra-hidro-pipérico, e submetido à bromação para obtenção do ácido tetra-bromo-pipérico. Os ácidos pipérico, tetra-hidro-pipérico e tetra-bromo-pipérico foram acoplados com o grupo amino do éster α -amino-acil-fenil-alanina pinanodiol borônico utilizando a carbodiimida EDC.HCl e HOBT, que foi escolhido como agente de acoplamento devido à sua seletividade e pelo subproduto ser solúvel em água, o qual pode ser lavado para administrar o produto puro. Em seguida o éster do derivado borônico foi submetido a hidrólise, sendo obtidos os compostos **32**, **33** e **34** com rendimentos entre 80-66%.⁶⁵ (Esquema 9).

Esquema 9- Obtenção dos análogos da piperina derivados do ácido dipeptidil-borônico.



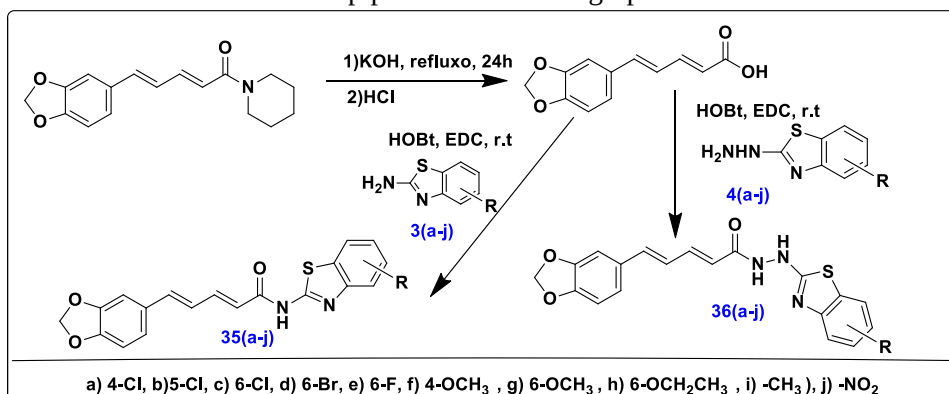
Fonte: Adaptado de Venugopal *et al*, (2014).⁶⁴

Eles testaram as atividades antimicrobiana e anticâncer dos compostos. Todos os compostos sintetizados apresentaram atividades anticâncer frente às linhagens de câncer de mama (MCF-7), carcinoma cervical (HeLa) e câncer pancreático (MIA PaCa-2). Todos os análogos sintetizados foram superiores à piperina em relação às propriedades citotóxicas e

antimicrobianas. O Composto **33** apresentou melhor atividade citotóxica e os menores valores de CI_{50} . O composto **32** mostrou menor valor de CIM, mostrando uma boa atividade antifúngica. Os resultados mostraram que, para atividade citotóxica, a redução das ligações duplas na piperina resultaram em menor atividade, e que a bromação das ligações duplas diminuiu ainda mais a atividade anticâncer dos compostos derivados. O contrário acontece para atividade antimicrobiana, em que a redução de ligações duplas ou a bromação de ligações duplas aumentaram a atividade.⁶⁵

O desenvolvimento de moléculas conjugadas entre produtos naturais e moléculas sintéticas surgiu como uma nova abordagem na descoberta de novos agentes bioativos⁶⁵. Kharbanda e colaboradores¹⁶ sintetizaram vinte derivados da piperina contendo o grupo benzotiazol e avaliaram o potencial antidiabético destas substâncias. Inicialmente, a piperina foi convertida a ácido pipérico e em seguida reagiu com os benzotiazóis substituídos (**3a-j**) e (**4a-j**) formando os compostos (**35a-j**) e (**36a-j**) respectivamente. Os resultados mostraram que nove dos vinte derivados demonstraram atividade antidiabética significativamente maior em comparação com os padrões piperina e rosiglitazona, (Esquema 10).

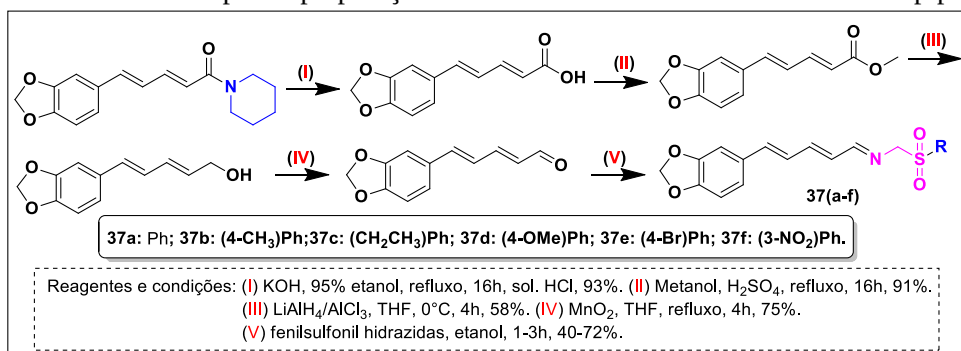
Esquema 10- Síntese dos derivados da piperina contendo o grupo benzotiazol



Fonte: Adaptado de Kharbanda *et al*, (2016)¹⁶

Qu e colaboradores⁵⁴ sintetizaram derivados fenilsulfonil-hidrazona derivados da piperina a fim de investigar a potencialidade destes compostos como agentes narcóticos botânicos contra a lagarta oriental, *M. Separata*. Inicialmente a piperina foi hidrolisada à ácido pipérico (**I**), seguido da formação do piperato de metila (**II**), que sofre redução na presença de $LiAlH_4/AlCl_3$ (**III**), o álcool primário formado é oxidado com MnO_2 (**IV**) para produzir o aldeído que reage com diferentes fenilsulfonil-hidrazidas (**V**) para obtenção dos derivados fenilsulfonil-hidrazonas (**37a-f**). Os resultados mostraram que compostos **37c** e **37e** são promissores agentes narcóticos botânicos com ampla aplicação no campo da química dos pesticidas (Esquema 11).

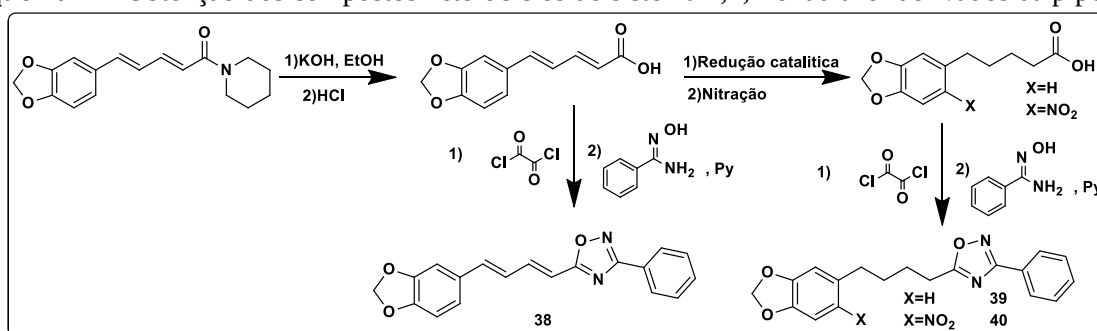
Esquema 11- Rota sintética para a preparação de fenilsulfonil-hidrazonas derivadas da piperina



Fonte: Adaptado de Qu *et al*, (2015).⁵⁴

Soares⁵⁶ sintetizou novos heterocíclicos do sistema 1,2,4-oxadiazóis derivados da piperina e avaliou suas atividades tripanocidas. O Esquema 12 descreve a estratégia sintética utilizada para obtenção dos compostos derivados da piperina. Inicialmente a piperina sofre uma hidrólise básica seguida da hidrogenação catalítica com Pd/C para hidrogenação das ligações duplas alifáticas, após essa etapa, o nitro-composto foi preparado através da reação de nitração com HNO₃(conc). Para a formação do produto final temos uma reação de substituição nucleofílica acíclica dos respectivos cloretos de ácidos com a benzamidoxima, em piridina, que atua como base e solvente nesta reação. O resultado da avaliação da atividade destes novos derivados contra a forma epimastigota do *T. cruzi* mostrou que o oxadiazol **38**, derivado direto da piperina, foi o composto mais ativo da série.⁵⁶

Esquema 12- Obtenção dos compostos heterociclos do sistema 1,2,4-oxadiazol derivados da piperina

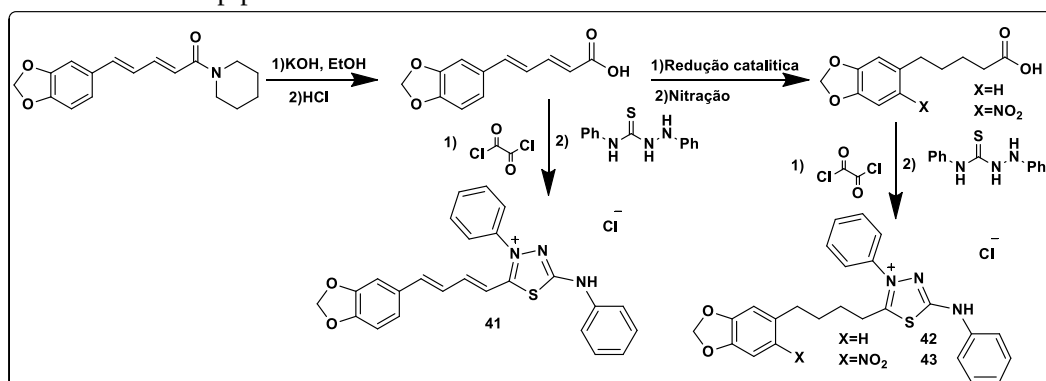


Fonte: Adaptado de Soares, (2009).⁵⁶

Ferreira e colaboradores⁵⁰ sintetizaram novos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina derivados e análogos da piperina, afim de avaliar sua atividade antichagássica. O Esquema 13 mostra a rota de obtenção dos compostos. A etapa chave desta síntese envolve a reação entre os respectivos cloretos de ácidos e a 1,4-difeniltiosemicarbazida formando os compostos mesoiônicos **41**, **42** e **43**. Os resultados mostraram que a molécula **41**, apresentou, nas avaliações *in vivo*, diminuição da parasitemia a níveis não detectáveis, com perfil de atividade tripanocida comparável ao benzonidazol. Concluindo que

esse novo derivado mesoiônico é um ótimo candidato a fármaco aplicável ao tratamento da doença de Chagas.

Esquema 13- Estratégia para obtenção dos compostos mesoiônicos do sistema 1,3,4-tiadiazolio-2-fenilamina derivados da piperina.



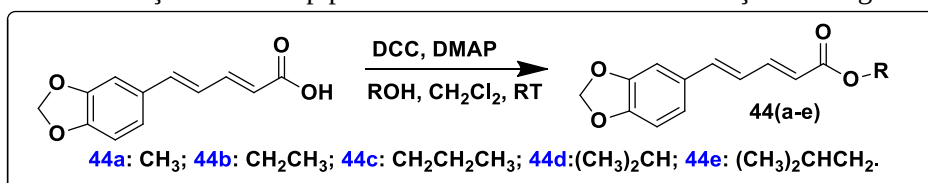
Fonte: Adaptado de Ferreira *et al*, (2009).⁵⁰

2.2.5 Ésteres derivados da piperina

A síntese de novos compostos derivados de produtos naturais bioativos abre um amplo espectro de possibilidades estratégicas no que se refere a modular ou até mesmo inserir novas atividades. A realização de modificações estruturais, como a esterificação, por promoverem o aumento da lipofilia das moléculas, podem ampliar a eficácia farmacológica e/ou contribuir para a formação de novos compostos com propriedades farmacológicas distintas.

Choochana e colaboradores⁶⁶ desenvolveram ésteres derivados do ácido pipérico como novos compostos de proteção UV, e realizaram um ensaio de citotoxicidade utilizando células de fibroblastos de pele humana. Inicialmente, a piperina foi submetida a hidrólise básica para obtenção do ácido pipérico e os ésteres foram obtidos através da reação deste ácido com os álcoois metanol, butanol, propanol, isopropanol e isobutanol através da reação de Steglich. Desta forma, foram obtidos o piperato de metila (84,94%), etila (92,79%), propila (62,39%), isopropila (84,60%) e isobutila (92,50%) com ótimos rendimentos, (Esquema 14).

Esquema 14- Esterificação do ácido pipérico com álcoois utilizando a reação de Steglich.

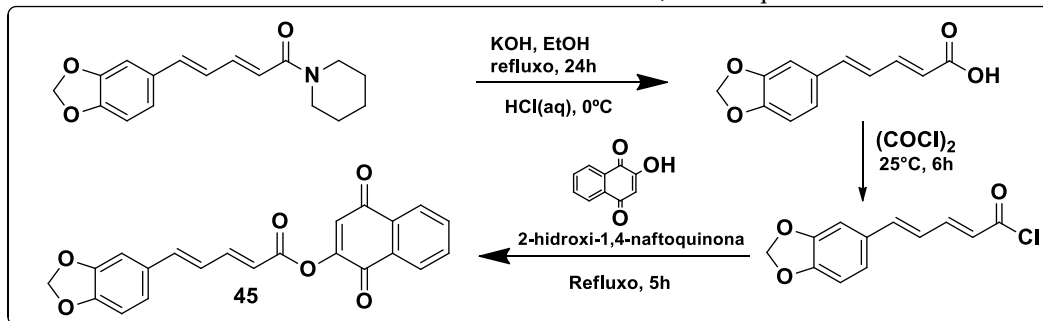


Fonte: Adaptado de Choochana, (2015).⁶⁶

Os resultados mostraram que o piperato de isopropila (**44d**) apresentou um alto potencial para ser um agente de proteção UV com alto FPS, alta relação UVA/UVB, com baixa citotoxicidade para as células de fibroblastos da pele humana.⁶⁶

Um novo éster derivado da piperina foi sintetizado por Paengsri e Baramée.⁶⁷ O composto (**45**) foi obtido a partir da esterificação do 2-hidroxi-1,4-naftoquinona com o cloreto de acila do ácido pipérico, obtido a partir da reação do ácido pipérico com o cloreto de oxalila (Esquema 15).

Esquema 15- A síntese do novo éster derivado da 2-hidroxi-1,4-naftoquinona

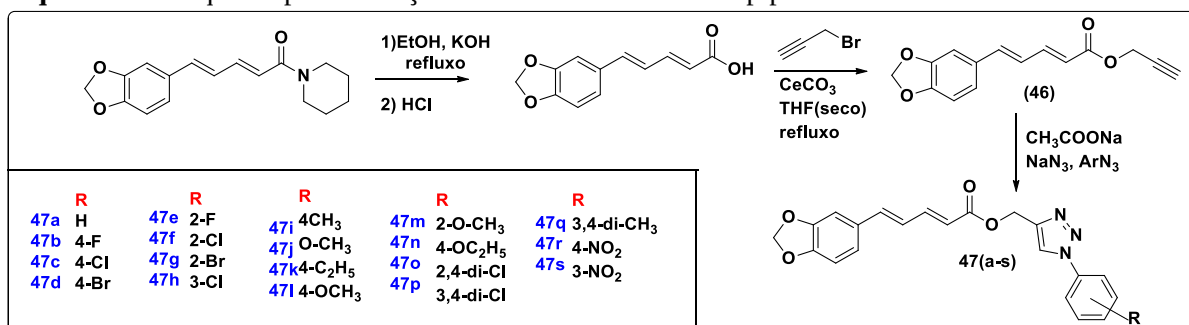


Fonte: Adaptado de Paengsri e Baramée, (2013).⁶⁷

Os autores avaliaram a atividade anticâncer do novo derivado frente às linhagens de câncer de mama (MCF-7) e câncer de pulmão (NCI-H187). O composto **45** apresentou atividade inibitória significativa contra as linhagens de câncer testadas, com os valores de (CI₅₀=3,84 µg/mL) para MCF-7 e (CI₅₀=2,24 µg/mL) para NCI-H187. Além disto, o composto foi considerado como não citotóxico contra células Vero, (uma linhagem estabelecida a partir de células renais de macaco verde africano)⁶⁷, o que demonstra a seletividade da molécula pelas células tumorais, não causando danos as células saudáveis.

Ali e colaboradores¹³ sintetizaram dezenove ésteres triazóis derivados da piperina e avaliaram suas atividades antiinflamatórias *in vivo*. Para a síntese dos compostos, inicialmente a piperina foi hidrolisada a ácido pipérico, que reagiu com o 3-bromo-1-propino, na presença de carbonato de cério em THF_(seco), gerando o éster (**46**) que sofre uma reação de cicloadição 1,3-dipolar com as azidas aromáticas resultando na síntese dos compostos finais **47(a-s)**. Como demonstrado no Esquema 16.¹³

Esquema 16- Esquema para obtenção dos ésteres derivados da piperina

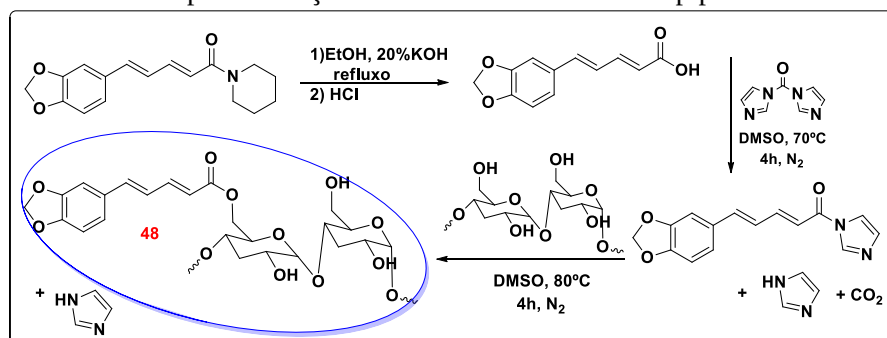


Fonte: Adaptado de Ali et al, (2015).¹³

Os compostos foram testados quanto sua atividade anti-inflamatória *in vivo* pelo modelo de edema de pata de rato induzido por carragenina. Os resultados indicaram que os compostos (**47e-g**) e (**47o-q**) possuem atividade anti-inflamatória significativa. Entre os compostos avaliados, o composto **47g** apresentou melhor atividade (76,12% às 3h e 80,40% de inibição às 5h) em comparação com o fármaco padrão indometacina (72,05% às 3h e 77,02% às 5h). Os produtos **47e** (70,81%), **47f** (76,71%), **47o** (71,21%), **47p** (72,97%) e **47q** (70,27%) também mostraram atividade anti-inflamatória significativa comparável a droga padrão indometacina em 5 h de inflamação, e maior que a piperina que mostrou 54,72% de inibição em 5 h. Os compostos que apresentaram atividade anti-inflamatória significativa foram testados quanto sua atividade analgésica *in vivo* pelo método de teste de contorções. Os resultados mostraram que o composto **47g** mostrou atividade analgésica (54,09%) em comparação ao medicamento padrão indometacina (57,43%). Os compostos **47f**, **47o** e **47p** também mostraram boa atividade analgésica. O estudo de relação estrutura-atividade mostrou que a presença de grupos retiradores de elétrons no anel aromático diminuiu o efeito anti-inflamatório *in vivo* em comparação com a presença de grupos doadores de elétrons. Foi observada uma melhor atividade anti-inflamatória *in vivo* para compostos com o grupo halogênio na posição *orto* do anel aromático em comparação com o halogênio ligado à posição *para*. A ordem crescente de atividade encontrada foi $F < Cl < Br$.¹³

Han e colaboradores⁶⁸ sintetizaram um novo éster derivado da piperina. O processo sintético incluiu três etapas que estão descritas no Esquema 17. Primeiramente, a piperina é hidrolisada a ácido pipérico e em seguida reage com o carbonildiimidazol (CDI) em DMSO sob atmosfera de N_2 a 70°C por 4 h. O éster foi obtido pela reação entre o ácido pipérico ativado e o grupo hidroxila do amido. A atividade anti-hiperlipidêmica do composto **48** foi avaliada por testes farmacológicos e os resultados indicaram que a molécula apresentou alta atividade anti-hiperlipidêmica.

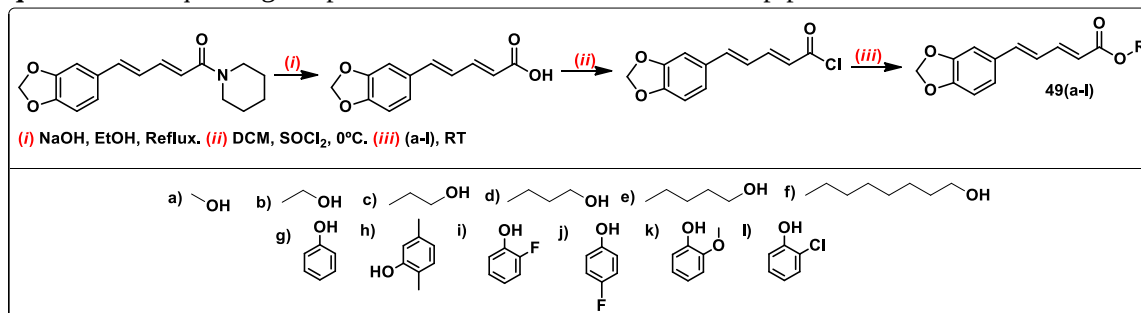
Esquema 17- Rota sintética para obtenção do éster derivado do ácido pipérico e do amido.



Fonte: Adaptado de Han *et al*, (2008).⁶⁸

Sivashanmugam e Velmathi⁶⁹ substituíram o grupo amida da piperina por ésteres alifáticos e aromáticos. Inicialmente a piperina foi hidrolisada a ácido pipérico, este foi convertido ao seu respectivo cloreto de ácido a partir da reação com o cloreto de tionila. O cloreto do ácido pipérico reagiu com os álcoois e fenóis (**a-j**) formando 12 ésteres derivados da piperina **49(a-l)**, (Esquema 18).

Esquema 18- Esquema geral para síntese dos ésteres derivados da piperina.

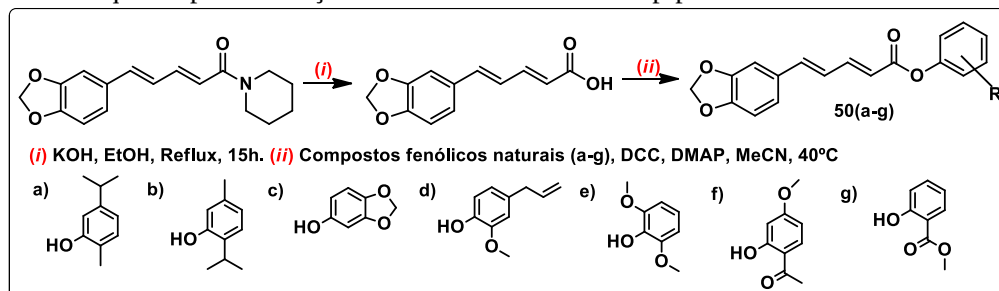


Fonte: Adaptado de Sivashanmugam e Velmathi (2021).⁶⁹

Eles avaliaram as propriedades antibacterianas dos compostos sintetizados frente as cepas de *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus epidermidis*. Os resultados mostraram que os derivados apresentaram atividade antibacteriana superior a piperina em todas as concentrações avaliadas. Os derivados **49-c**, **49-i** e **49-j** apresentaram melhor atividade entre todos os derivados para todas as bactérias testadas.

Wang e colaboradores⁷⁰ planejaram e sintetizaram uma série de derivados da piperina acoplados com compostos fenólicos naturais de óleos essenciais e avaliaram suas atividades antifúngicas contra vários fungos fitopatogênicos. Os compostos finais **50(a-g)** foram obtidos a partir da reação de esterificação do ácido pipérico com os compostos fenólicos (**a-g**) na presença de DCC, DMAP em acetonitrila, Esquema 19.

Esquema 19- Esquema para obtenção dos ésteres derivados da piperina



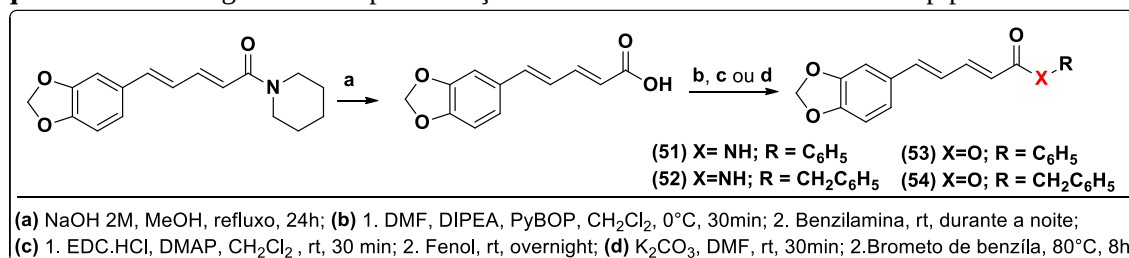
Fonte: Adaptado de Wang e colaboradores (2020).⁷⁰

Os compostos **50(a-g)** tiveram suas atividades antifúngicas *in vitro* avaliadas contra seis fungos patogênicos de plantas comuns (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium graminearum*,

Alternaria tenuis Nees, *Gloeosporium theae-sinensis*, *Phytophthora capsici*, *Phomopsis adianticola*). Os resultados para esta série de compostos mostraram que os compostos **50a** e **50d** apresentam melhor atividade fungicida.

Chavarria e colaboradores⁷¹ sintetizaram ésteres e amidas derivadas da piperina, e avaliaram suas atividades inibitórias significativas contra hMAO-A e hMAO-B. Em particular, os inibidores da MAO são usados na terapia das doenças de Alzheimer e Parkinson. A forma de obtenção dos compostos está descrito no Esquema 20. A amidação do ácido pipérico com anilina ou benzilamina foi mediada por PyBOP, produzindo as amidas **51** e **52**. Os ésteres do ácido pipérico foram sintetizados seguindo duas estratégias diferentes: o Composto **53** foi preparado por uma esterificação de Steglich entre ácido pipérico e o fenol utilizando EDC.HCl e DMAP, e o Composto **54** foi sintetizado a partir de uma reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre o ácido pipérico com o brometo de benzila.

Esquema 20- Estratégia sintética para obtenção das amidas e ésteres derivados da piperina

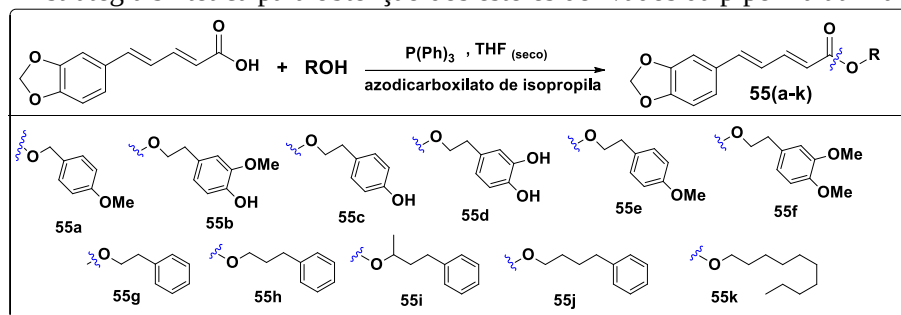


Fonte: Adaptado de Chavarria *et al*, (2019).⁷¹

Os resultados da atividade biológica da piperina e seus derivados mostraram que o ácido pipérico e as amidas **51** e **52** não apresentaram atividade inibitória significativa aos 10µM contra hMAO-A e hMAO-B. Em contraste, os ésteres **53** e **54** exibiram atividades inibitórias de hMAO relevantes, com valores de CI₅₀ para hMAO-B inferiores a piperina e dentro da faixa nanomolar (Ácido pipérico: CI₅₀= 1,05 µM; Composto **54**: CI₅₀= 169 nM; Composto **53**: CI₅₀= 156 nM). Os resultados preliminares sobre o perfil biológico da piperina e seus derivados sugerem que modificações estruturais do grupo carbonilamida afetam não apenas capacidade de inibir hMAOs em concentrações fisiologicamente relevantes, mas também a potência dos compostos obtidos.⁷¹

Sakagami e colaboradores (2017) investigaram a citotoxicidade e atividade anti-HIV de onze ésteres derivados do ácido pipérico e realizaram uma análise quantitativa de relação estrutura-atividade (QSAR). Os compostos foram sintetizados pelo acoplamento do ácido pipérico com os álcoois apropriados, na presença de trifetilfosfina (Ph₃P) e o azocarboxilato de isopropila, como mostrado no Esquema 21.⁷²

Esquema 21- Estratégia sintética para obtenção dos ésteres derivados da piperina utilizando $P(Ph)_3$.



Fonte: Adaptado de Sakagami *et al*, (2017)⁷²

Os testes de citotoxicidade foram feitos contra quatro linhagens de células humanas de carcinoma oral de células escamosas (Ca9-22, HSC-2, HSC-3, HSC-4) e três de células mesenquimais normais (HGF, HPLF, HPC). Para atividade anti-HIV, em contraste com os agentes anti-HIV populares (sulfato de dextrano, sulfato de curdlan, azidotimidina, 2', 3'-didesoxicitidina) (SI = 300-5805), nenhum dos ésteres pipéricos protegeu as células do efeito citopático da infecção pelo HIV (SI < 1). Os resultados da atividade citotóxica mostraram que cinco ésteres feniléticos (55c, 55d, 55e, 55f e 55g) apresentaram citotoxicidade e especificidade tumoral relativamente mais altas, sem ou com a introdução de grupo hidroxila ou grupo metoxi no anel benzênico. O éster fenilmetílico (55a) também apresentou maior especificidade tumoral, mas a remoção do grupo metoxi (55b) resultou em redução significativa tanto da citotoxicidade quanto da especificidade do tumor e os ésteres com cadeias laterais mais longas (55h, 55i, 55j, 55k) foram essencialmente inativos. Entre os onze ésteres derivados do ácido pipérico, o Composto 55d apresentou a maior citotoxicidade contra as linhagens celulares de carcinoma oral de células escamosas, mostrando ter uma potente atividade antitumoral. Tais resultados sugerem que a modificação da estrutura do esqueleto dos ésteres do ácido pipérico pode produzir compostos mais seletivos.⁷²

2.3 Cloro ésteres

2.3.1 δ-Cloro-ésteres

A transformação de éteres cíclicos em haloésteres é um método direto para a produção de intermediários sintéticos bifuncionais, sendo uma reação versátil e muito atraente na síntese orgânica.⁷³ No entanto, o uso de condições fortemente ácidas frequentemente leva à formação de produtos secundários. Assim, um catalisador suave e eficiente para a clivagem de éteres cíclicos e acíclicos com cloretos de ácido são altamente vantajosos.⁷⁴

A clivagem do tetrahidrofurano (THF) com cloretos de acila para formação de ésteres derivados 4-clorobutila é uma reação útil, particularmente na síntese de produtos naturais e de moléculas polifuncionais onde deseja-se colocar um grupo espaçador de 4 carbonos.⁷⁵ Essa

reação pode ser feita na presença de cloretos ácidos e ácidos de Lewis tais como ZnCl_2 , FeCl_3 , SnBr_2 , CoCl_2 , AlCl_3 , YCl_3 , LnCl_3 , Mg , Al , Zn , entre outros.⁷⁴ (Esquema 22).

Esquema 22- Esquema geral para obtenção de δ -cloro-ésteres a partir do THF



Pasha⁷⁶ realizou a reação para obtenção dos δ -cloroésteres com diferentes cloretos de ácido na presença de quantidades catalíticas de pó de zinco, na ausência de qualquer solvente adicional, sob condições normais e utilizando um ultrassom em um banho sônico operando a 35 KHz. Foi observado que a reação pode ser realizada utilizando quantidades catalíticas de pó de zinco, mas que sem pó de zinco a reação não ocorre. Sob a influência do ultrassom a velocidade da reação aumenta e a reação se completa de 5 a 50 minutos e os diferentes δ -cloroésteres são obtidos com rendimentos de 92% a 96%. Enquanto na reação sob condições normais os rendimentos dos produtos variaram entre 76% e 86% e a reação levou até 24h para conclusão. O que mostra que o método se mostrou bastante simples e economicamente viável para a preparação desses compostos.⁷⁶

Pasha e Manjula⁷⁵ obtiveram os δ -cloroésteres utilizando magnésio como catalisador para clivagem O-acilativa do THF na presença de cloretos de acila a 25 °C. O procedimento se mostrou simples, eficiente, economicamente viável, livre de solvente e condições de temperatura ambiente, sendo possível obter os compostos finais com excelentes rendimentos.

Enthaler e Weidauer⁷⁷, depois de estudarem as condições da reação, obtiveram os δ -cloroésteres utilizando ZnCl_2 (1,0% molar) como catalisador, o éter correspondente e o cloreto de ácido a 70°C durante 2h. Os cloro-ésteres obtidos foram posteriormente convertidos em δ -cianoésteres, que são precursores úteis na síntese de produtos naturais.⁷⁷

Tang e colaboradores⁷⁸ sintetizaram uma ampla série de cloroésteres a partir da reação de clivagem de éteres cíclicos e acíclicos com cloretos de acila. A reação foi catalisada por nanopartículas de óxido de zinco (nano- ZnO) em condições livres de solvente e em temperatura ambiente. O método apresentou vantagens tais como: reutilização do catalisador e alto rendimento, se mostrando uma metodologia ambientalmente atrativa.⁷⁸

Os δ -cloro-ésteres se mostram intermediários bastante versáteis para a síntese orgânica, principalmente na síntese de novos candidatos a fármacos. Por serem obtidos através de uma reação quimiosseletiva há possibilidade de utilização de uma ampla série de cloretos de ácido com variados grupos substituintes. Além disso, merece destaque a facilidade de realização de

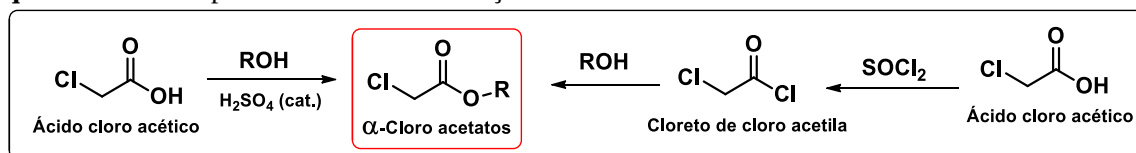
reações de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) no carbono da ligação C-Cl possibilitando a síntese de diversos compostos derivados.

2.3.2. α -Cloro-acetatos

O ácido cloroacético, fórmula molecular $C_2H_3O_2Cl$, é um composto químico incolor e higroscópico. Sendo bastante utilizado como intermediário na síntese orgânica e como matéria prima de agentes pesticidas, corantes e fármacos.⁷⁹ As várias reações para formação de derivados de ácido carboxílico e a facilidade de substituição no carbono da ligação C-Cl são características que o definem como um excelente intermediário.

Os ésteres derivados do ácido cloro acético podem ser obtidos através da esterificação de Fisher, onde o ácido carboxílico reage com o álcool correspondente em uma reação catalisada por ácido, ou a partir da reação do respectivo álcool com o cloreto de cloroacetila, numa reação de substituição nucleofílica acílica (Esquema 23).

Esquema 23- Exemplos de formas de obtenção dos ésteres derivados do ácido cloro acético.



Os α -cloro ésteres também podem ser utilizados como percussores de novas moléculas bioativas, sendo possível a síntese de ésteres substituídos com cadeias alifáticas e aromáticas, além das diversas possibilidades de substituições do grupo α -cloro, o que possibilita a obtenção de uma ampla gama de compostos derivados.

2.4 Estudos *in silico* no planejamento de fármacos

O estudo *in silico* é uma investigação teórica das propriedades farmacocinéticas, farmacodinâmicas e dos efeitos toxicológicos (ADMET – Absorção, Distribuição, Metabolização, Excreção e Toxicidade) apresentados pelos compostos com potencial bioatividade.⁸⁰ Propriedades farmacocinéticas indesejáveis ou toxicidade elevada são as principais causas do fracasso de candidatos a medicamentos no estágio de ensaio clínico.⁸¹ Logo, a previsão das propriedades ADMET ajudam na seleção dos melhores candidatos a fármacos, aumentando a taxa de sucesso, além de possibilitar redução no número de experimentos necessários para seleção e desenvolvimento dos compostos.⁸²

Uma das abordagens teóricas mais difundidas dos parâmetros farmacocinéticos no estudo *in silico* é a Regra dos Cinco de Lipinski.⁸³ A regra de Lipinski aplica um conjunto de parâmetros capazes de identificar compostos com problemas de absorção e permeabilidade,

visando avaliar o potencial teórico que uma molécula possui para ser absorvida por via oral. Desta forma, foi identificado que, para uma boa absorção e permeação, o medicamento deve atender a pelo menos três dos quatro critérios a seguir: aceptores de ligações de hidrogênio ($ALH \leq 10$; doadores de ligações de hidrogênio ($DLH \leq 5$, massa molecular ($MM \leq 500$ e lipofilicidade ($clogP \leq 5$).⁸⁴

Após uma série de estudos, a Regra dos Cinco foi reformulada e incluiu-se o parâmetro área de superfície polar topológica (TPSA), que indicou que as moléculas com $TPSA \leq 140 \text{ \AA}^2$, apresentam melhor biodisponibilidade oral e maior velocidade de permeação.⁸⁴ Uma boa biodisponibilidade oral é um atributo muito desejável para moléculas candidatas a fármacos, pois se refere à fração do fármaco administrado que chega a via sistêmica, onde poderá encontrar seu receptor-alvo e exercer o efeito terapêutico. Assim, uma boa biodisponibilidade oral é frequentemente uma consideração importante para o desenvolvimento de moléculas bioativas como agentes terapêuticos.⁸⁶

Zhao e colaboradores⁸⁷ utilizaram os descritores $clogP$, área de superfície polar topológica, número de aceptores e doadores de ligações de hidrogênio e descritores de Abraham, para prever a porcentagem de absorção teórica (% ABS) de um composto candidato a fármaco. A porcentagem de absorção teórica pode ser calculada utilizando a equação ($\%ABS = 109 - 0,345 \text{ TPSA}$), onde os candidatos a fármacos são classificados como tendo: alta absorção com %ABS variando de 100-67%, média absorção com %ABS variando de 66-33% e baixa absorção com %ABS variando de 32-0 %.⁸⁷

Um parâmetro muito importante para um candidato a fármaco é sua solubilidade aquosa. A solubilidade aquosa de um composto afeta significativamente a sua absorção e características de distribuição, tipicamente, uma baixa solubilidade contribui para uma má absorção. De acordo com o programa Osiris® (OSIRIS Property Explorer), a maioria dos medicamentos comerciais possui LogS (mol/L) maior do que -4,00.⁸⁸

Outras análises que são utilizadas para verificar o potencial teórico de um candidato a fármaco são os estudos dos potenciais *drug-likeness* e *drug-score*. O potencial de *drug-likeness* de uma substância está relacionado a semelhança de um composto com outros fármacos, sendo baseado em propriedades moleculares e características farmacofóricas.⁸⁹ O potencial de *drug-score* combina registros de *drug-likeness*, lipofilicidade, solubilidade, massa molecular e riscos de toxicidade em um único valor numérico que pode ser utilizado para prever o potencial global de um dado composto como candidato a novo fármaco.

Desse modo, a utilização de métodos *in silico* tem se mostrado uma ótima estratégia para acelerar a descoberta de possíveis fármacos.

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Utilização da piperina como precursor na síntese de novos diésteres derivados, acoplando ao grupo piperínico os δ -cloro-ésteres e os α -cloro-acetatos bem como a avaliação de suas potencialidades como agentes antimicrobianos e antitumorais.

3.2 Objetivos específicos:

- ✓ Extrair a piperina a partir da pimenta-do-reino e sintetizar o ácido pipérico;
- ✓ Sintetizar os intermediários-chave: Obtenção dos δ -cloro-ésteres e α -cloro-acetatos;
- ✓ Sintetizar os compostos finais: Obtenção de novos diésteres derivados da piperina, tendo como intermediário-chave o sal do ácido pipérico acoplado com ésteres de cadeias alifáticas e aromáticas com diferentes grupos substituintes;
- ✓ Caracterizar os compostos por técnicas espectroscópicas de infravermelho, RMN (^1H e ^{13}C) e RMN 2D (COSY, HSQC e HMBC);
- ✓ Realizar estudos *in silico* avaliando o potencial teórico das propriedades farmacocinéticas e toxicológicas das moléculas planejadas;
- ✓ Avaliar os diésteres obtidos quanto a sua atividade antimicrobiana *in vitro* e avaliação da toxicidade não clínica aguda e potencial antitumoral *in vivo*.

CAPÍTULO 4

ESTRATÉGIA SÍNTEICA

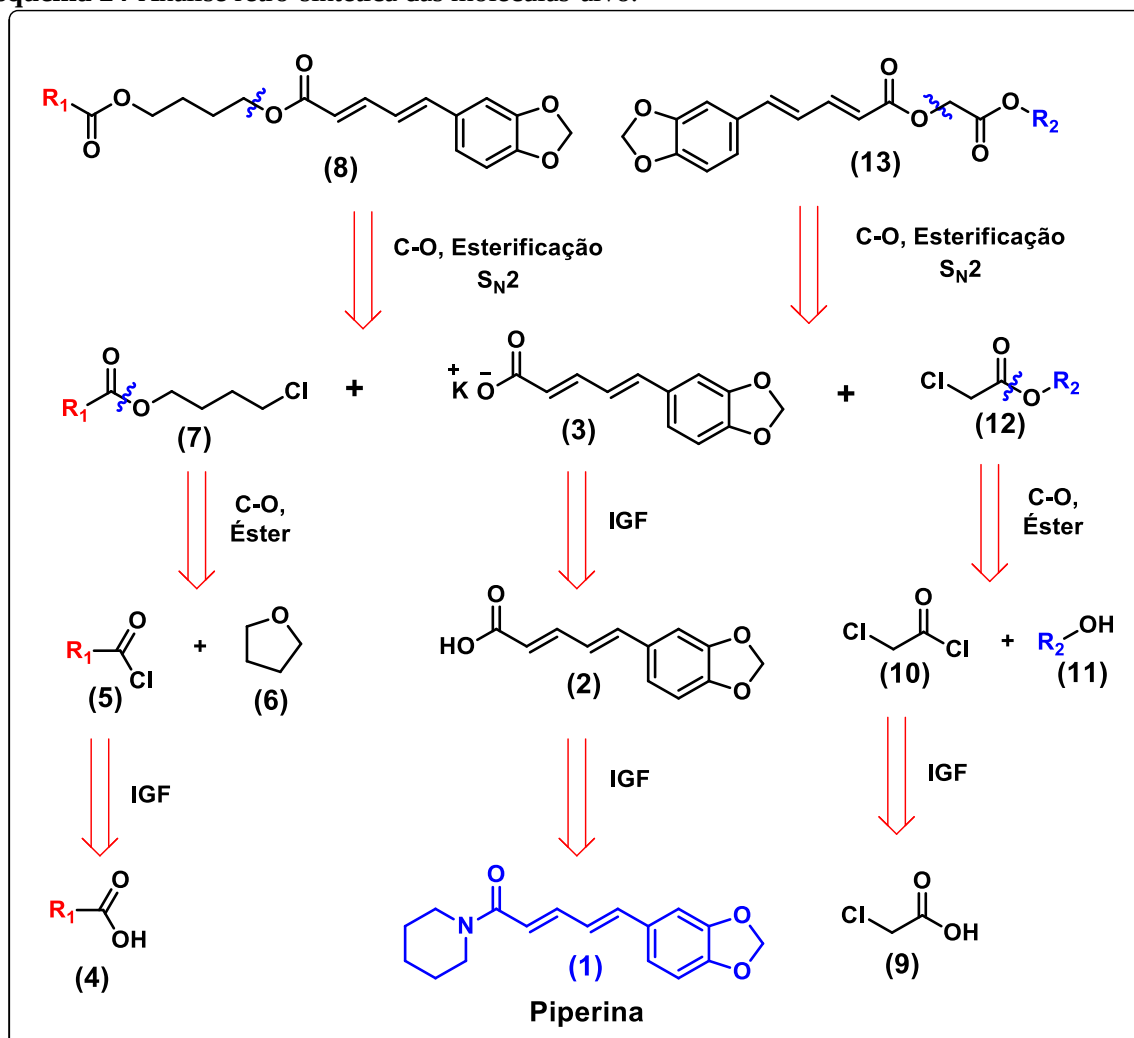
4. ESTRATÉGIA SÍNÉTICA

O uso de estratégias sintéticas é uma etapa fundamental no desenvolvimento de qualquer projeto ou estudo, pois possibilita uma maior chance de sucesso. Ao planejar a síntese de moléculas bioativas esse processo se torna fundamental, pois através da inserção de moléculas ou de grupos funcionais a uma estrutura molecular bioativa já conhecida, podemos alterar o seu efeito terapêutico ou até mesmo ampliar seu espectro de atividades biológicas.

4.1 Planejamento das moléculas alvo

Neste trabalho escolhemos a piperina como molécula chave para obtenção de novos compostos derivados. Para isto, pretende-se unir ao grupo piperínico os cloro-ésteres substituídos com cadeias alifáticas e aromáticas, formando assim duas séries de diésteres derivados da piperina. No Esquema 24 temos uma breve análise retro-sintética das moléculas-alvo planejadas.

Esquema 24-Análise retro-sintética das moléculas-alvo.



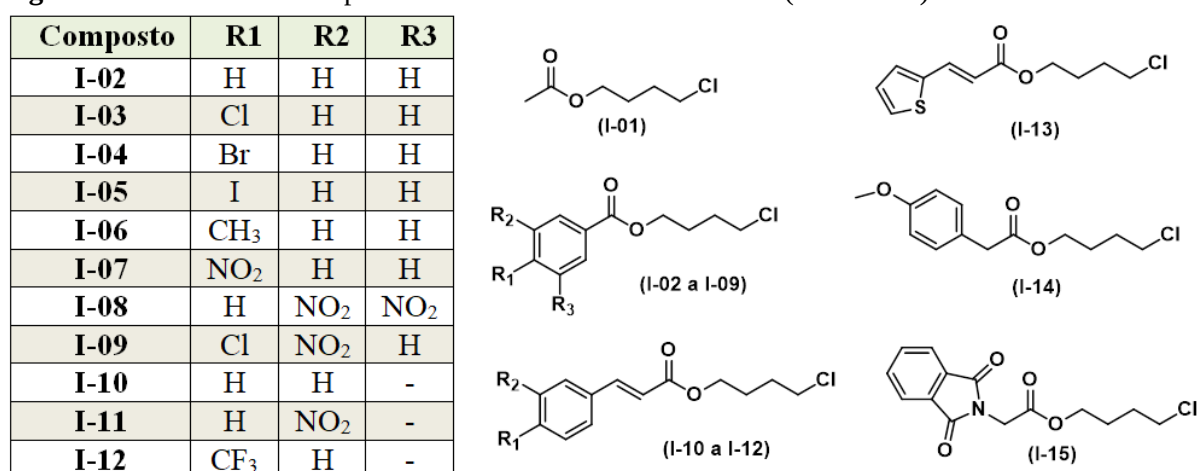
A primeira desconexão consiste em uma esterificação a partir da reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre o sal do ácido pipérico (**3**) e o cloro dos ésteres (**7**) e (**12**), formando os compostos (**8**) e (**13**) respectivamente. O composto (**3**) é formado a partir da reação de neutralização do ácido pipérico (**2**) com KOH, o ácido pipérico por sua vez, pode ser obtido a partir da hidrólise básica da piperina (**1**). Os compostos (**7**) são formados a partir da reação entre os respectivos cloretos de ácidos (**5**) e o THF (**6**), os cloretos de ácido são sintetizados a partir da reação dos ácidos carboxílicos correspondentes (**4**) com o cloreto de tioníla. O composto (**12**) pode ser formado através de uma reação de substituição nucleofílica acíclica entre o cloreto de cloro acetila (**10**), obtido a partir da reação do ácido cloro acético (**9**) com o cloreto de tioníla, e o álcool correspondente (**11**).

4.2 Planejamento dos intermediários-chave

4.2.1. δ -Cloro ésteres

No planejamento de novas moléculas bioativas, a variação do tamanho da cadeia, a presença de ramificações, grupos funcionais doadores ou receptores de elétrons podem influenciar na potencialidade do composto e na seletividade da sua ação no organismo. Baseando-se nessas características, foram planejados quinze δ -cloro-ésteres com diferentes grupos substituintes (Figura 3), afim de acoplá-los ao segmento piperínico. Sendo os intermediários **I-05**, **I-09**, **I-11**, **I-12**, **I-13**, **I-14** e **I-15** moléculas ainda não relatadas na literatura.

Figura 3-Estruturas dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres (I-01 a I-15)

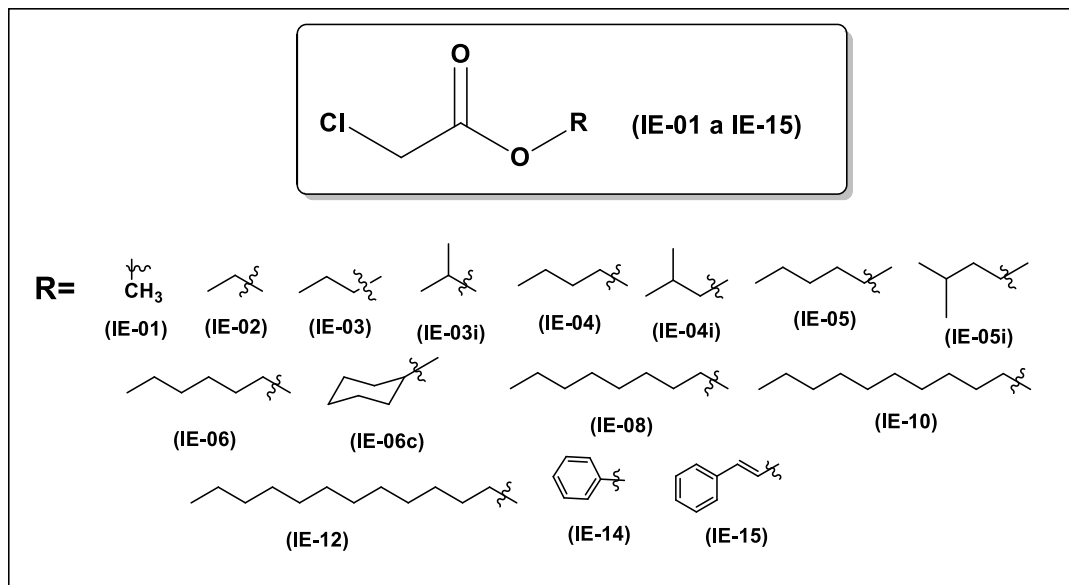


4.2.2. α -Cloro acetatos

Os ésteres derivados do ácido cloro acético são substâncias já descritas na literatura, entretanto podem ser utilizadas para a obtenção de moléculas inéditas com propriedades úteis

e relevantes. Neste trabalho, quinze α -cloro-acetatos R-substituídos (Figura 4) foram planejados, afim de acoplá-los com o segmento piperínico.

Figura 4- Estrutura dos α -cloro-acetatos R-substituídos



CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese dos compostos intermediários

5.1.1 Extração da piperina a partir da pimenta-do-reino (*Piper nigrum*, L.)

A piperina foi extraída da pimenta-do-reino utilizando a metodologia descrita por Ikan³⁰, utilizando um aparato de Soxhlet e etanol a 95% como solvente. Após a extração e isolamento, a piperina foi recristalizada e obtida na forma de cristais amarelos com 3,5% de rendimento, sendo devidamente caracterizada por ponto de fusão, infravermelho, RMN ¹H e RMN ¹³C. Suas caracterizações não serão detalhadas nessa sessão e seus dados estão apresentados no capítulo de metodologia.

5.1.2 Síntese do ácido pipérico

Após seu isolamento, a piperina foi submetida a hidrólise básica para obtenção do ácido pipérico. A metodologia encontra-se relatada no trabalho de Ikan³⁰, mas optamos por utilizar as alterações propostas nos trabalhos de Ribeiro⁹⁰ e Ferreira⁹¹, onde foi feita uma modificação no tempo reacional, de 2 horas para 12 horas de refluxo, e aumento na quantidade de base utilizada. Desta forma, foi obtido o ácido pipérico com 94,5% de rendimento. As caracterizações deste composto estão apresentadas no capítulo de metodologia.

5.1.3 Preparação dos cloretos de ácido

Neste trabalho, foi utilizado como agente halogenante o cloreto de tionila (SOCl₂) (P.E. 79 °C). Este reagente foi escolhido por se tratar de um agente halogenante barato e, além disso, os subprodutos da reação são gases, facilitando desta maneira a purificação dos cloretos de ácidos quando necessário. Os cloretos de ácido foram sintetizados e utilizados *in situ*, suas formas de obtenção estão detalhadas no capítulo de metodologia.

5.1.4 Síntese dos δ-cloro-ésteres

A preparação dos compostos intermediários δ-cloro-ésteres foi baseado na literatura de Enthaler e Weidauer⁷⁷, entre a reação de cloretos de ácido com o THF na presença de cloreto de zinco (ZnCl₂) como catalisador.

Os intermediários (**I-01** a **I-15**) foram obtidos utilizando a rota sintética apresentada no Esquema 25. Dos 15 ésteres sintetizados, 7 são estruturas inéditas na literatura. Os compostos foram obtidos com bons rendimentos (55,7 a 92,3%) e suas estruturas e rendimentos estão descritos na Figura 5.

Esquema 25- Reação para obtenção dos δ -cloro-ésteres.

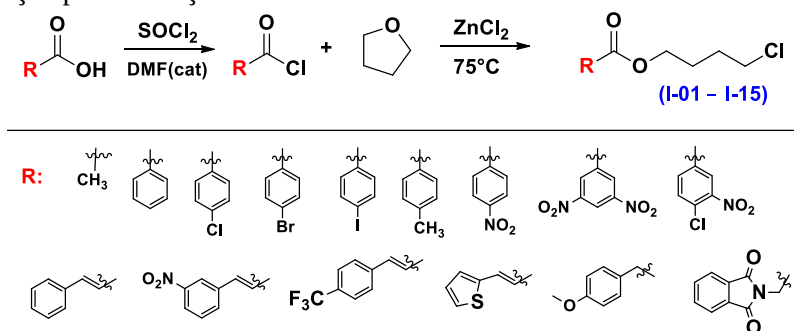
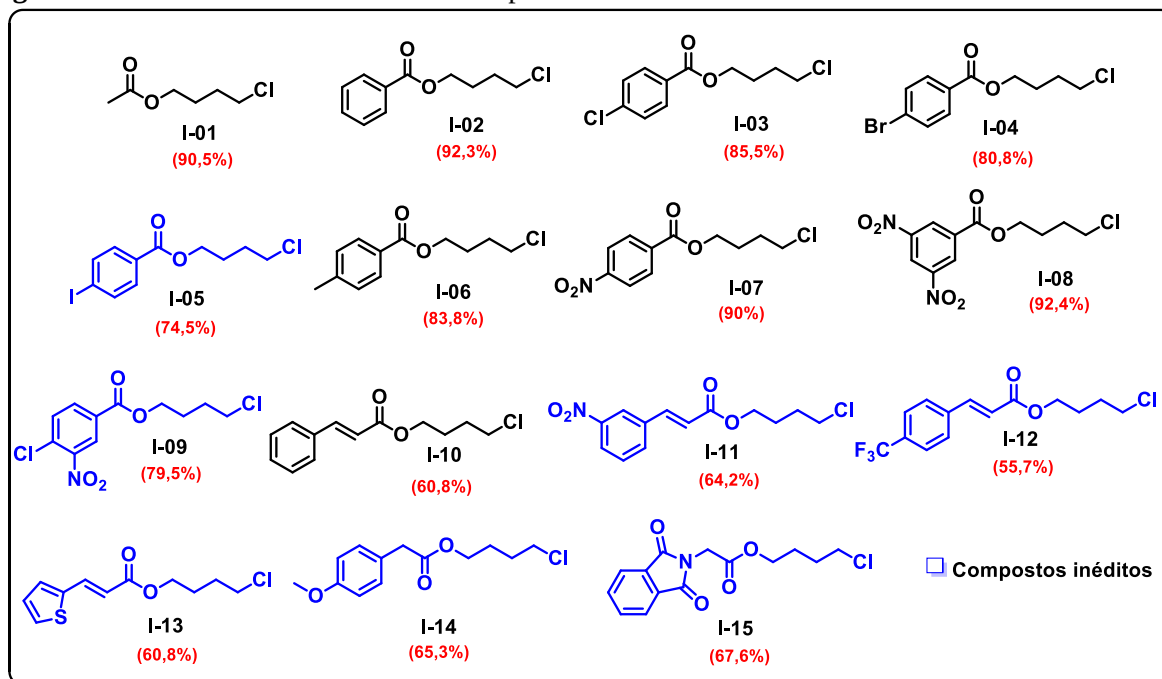
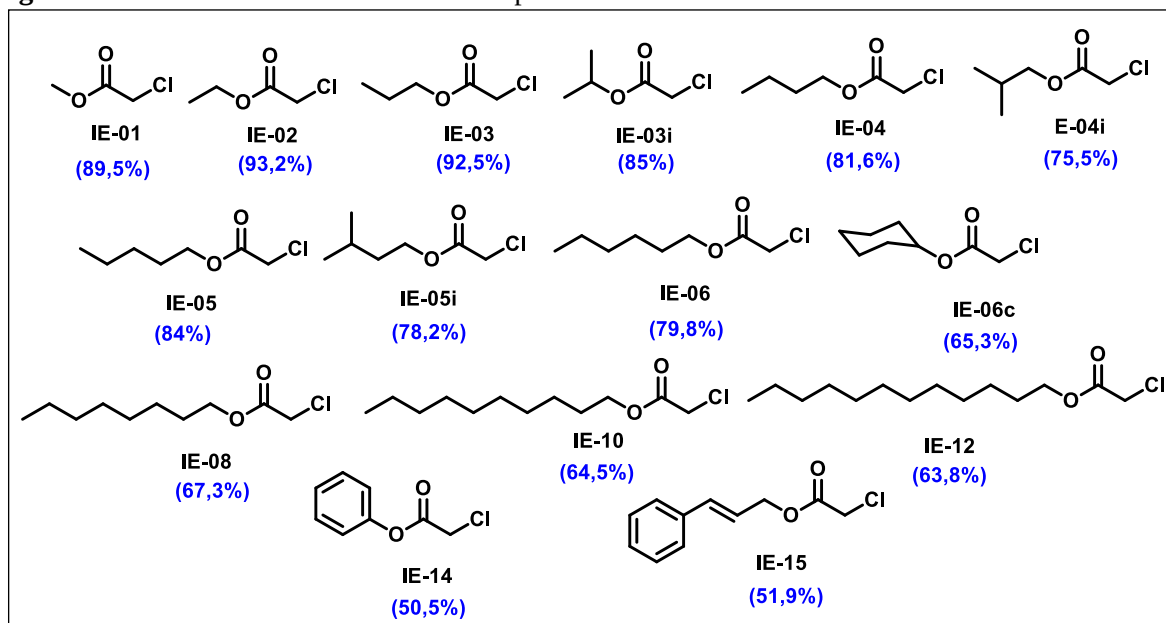


Figura 5- Estruturas e rendimentos dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres



No Esquema 26 temos o ciclo catalítico proposto para esta reação. Inicialmente, o ZnCl_2 é dissolvido em THF e o complexo (I) é formado através de uma reação ácido base de Lewis. A coordenação do oxigênio do THF ao zinco permite a ativação do oxigênio e do carbono adjacente. Na etapa seguinte, um ligante do THF dissocia e permite a coordenação da carbonila do cloreto de ácido. A coordenação da carbonila ao zinco torna o carbono carbonílico ainda mais eletrofílico. O par de elétrons do oxigênio do THF ataca a carbonila do cloreto de ácido, formando um intermediário tetraédrico. Subsequentemente, o cloreto que está sendo eliminado do grupo acila ataca o carbono eletrofílico do THF, clivando a ligação C-O. Sendo assim, o grupo acila é transferido para o oxigênio do THF. O cloroéster é eliminado e uma nova molécula de THF se coordena no complexo de zinco, que pode realizar o próximo ciclo catalítico.⁷⁷

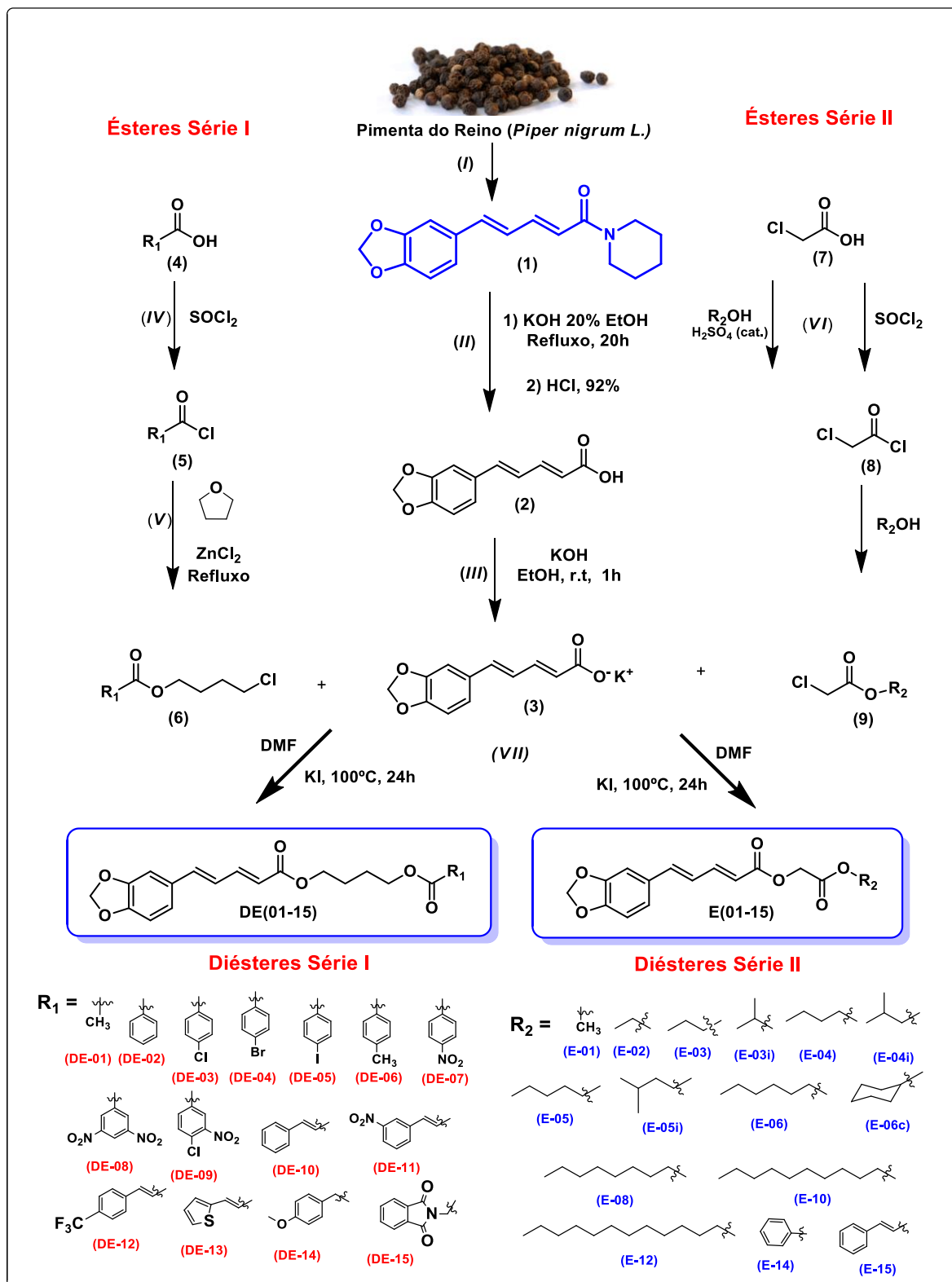
Figura 6- Estruturas e rendimentos dos compostos intermediários α - cloro acetatos



5.2 Síntese dos Diésteres: Obtenção das moléculas alvo

Tendo em vista a potencialidade dos compostos derivados da piperina, foram planejadas duas séries de novos diésteres derivados. A rota sintética utilizada neste trabalho para obtenção dos diésteres finais está descrita no Esquema 28, e consistiu em sete etapas: **(i)** a primeira etapa foi a extração da piperina a partir dos frutos secos da pimenta-do-reino (*piper nigrum*, L.), seguido da sua hidrólise básica **(ii)** e obtenção do sal do ácido pipérico **(iii)**. Para obtenção dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres (**6**) foi realizada a síntese *in situ* dos cloretos de ácido **(iv)** seguido da reação com THF catalisada por ZnCl_2 **(v)**. A síntese dos α -cloro-acetatos (**9**) foi feita via esterificação de Fisher e esterificação via cloreto de ácido **(vi)**. A obtenção dos compostos finais foi feita através da reação $\text{S}_\text{N}2$ entre os δ -cloro-ésteres e o sal do ácido pipérico, para obtenção dos Diésteres Série I, e entre a reação $\text{S}_\text{N}2$ dos α -cloro-acetatos e o sal do ácido pipérico formando os Diésteres Série II **(vii)**. Desse modo, foi possível obter os 30 diésteres inéditos derivados da piperina (**DE-01 a DE-15**) e (**E-01 a E-15**).

Esquema 28- Rota sintética para obtenção dos novos derivados da piperina.

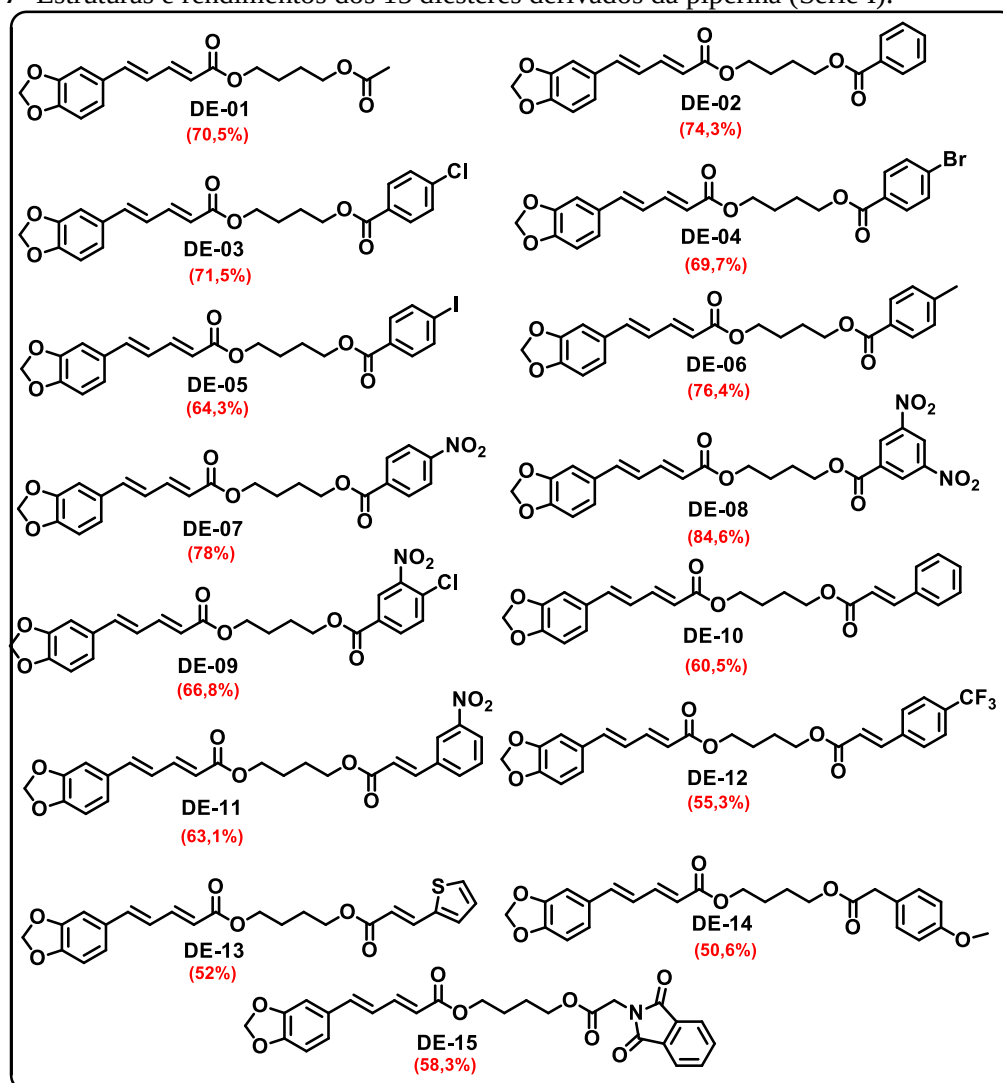


Todos os diésteres foram obtidos a partir da reação utilizando o piperato de potássio como nucleófilo, DMF como solvente e KI no meio reacional. Optou-se por utilizar um leve excesso do piperato de potássio para garantir que não haja cloro-éster residual, sendo este

excesso de sal facilmente removido pela adição de água. Outros solventes polares apróticos podem ser utilizados como solventes da reação. O DMF foi escolhido pela facilidade de precipitação do produto pela adição de água. O KI foi utilizado para melhorar o grupo abandonador (Cl), facilitando a reação de substituição. A reação se processou sob aquecimento com o intuito de aumentar a solubilidade do sal do ácido pipérico no solvente, facilitando deste modo a reação.

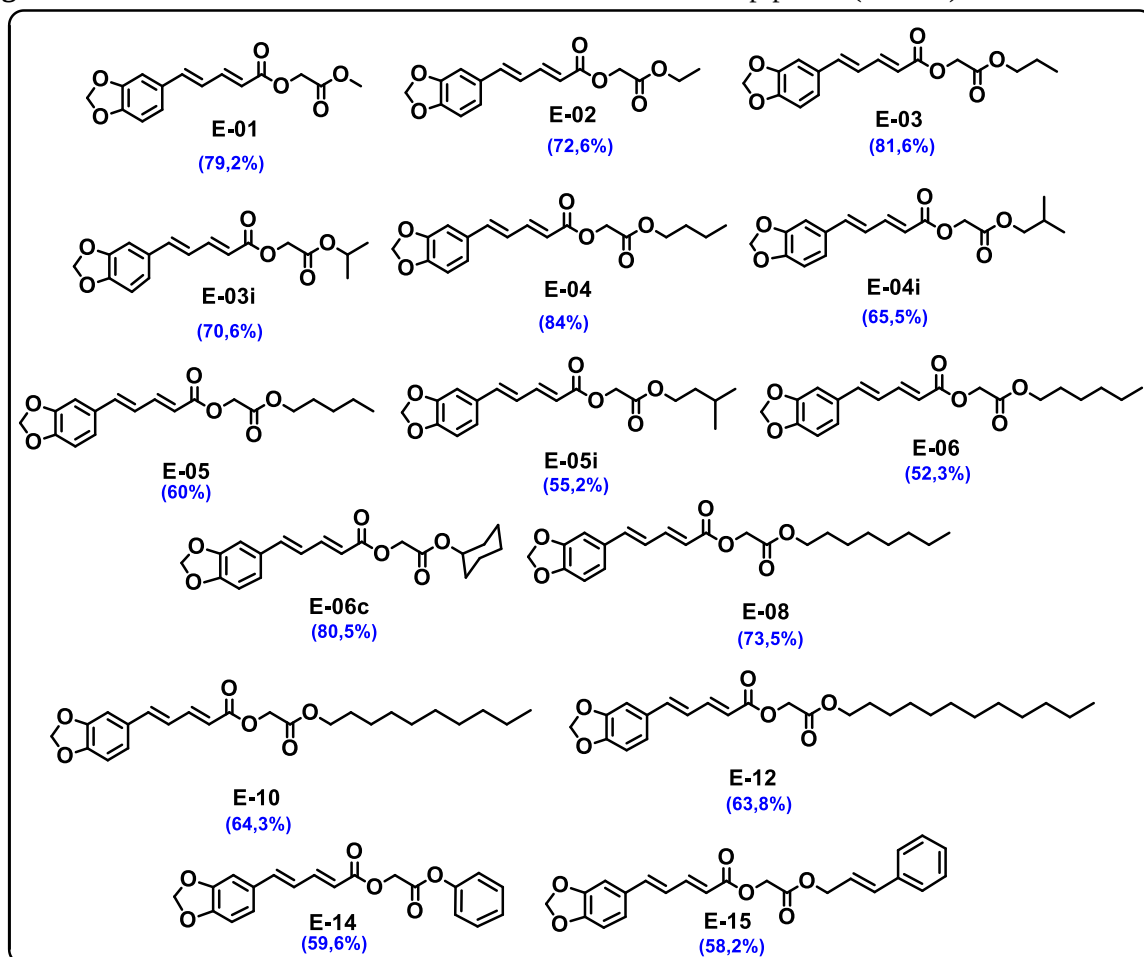
Na Figura 7 temos as estruturas e rendimentos dos diésteres derivados dos δ -cloro-ésteres (Diésteres Série I), onde o menor rendimento foi de 50,6% para o composto (**DE-14**) e o maior de 84,6% para o composto (**DE-08**).

Figura 7- Estruturas e rendimentos dos 15 diésteres derivados da piperina (Série I).



Na Figura 8 temos as estruturas e os rendimentos dos diésteres derivados dos α -cloro acetatos (Diésteres Série II), onde o menor rendimento foi de 52,3% para o composto (**E-06**) e o maior de 84% para o composto (**E-04**).

Figura 8- Estruturas e rendimentos dos 15 diésteres derivados da piperina (Série II).



5.3 Determinação estrutural

Os diésteres finais e os seus respectivos intermediários tiveram as suas estruturas elucidadas por espectroscopia de infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Todos os espectros citados neste item estão apresentados na seção de Anexos (pág. 146).

5.3.1 Determinação estrutural dos compostos intermediários

5.3.1.1 Determinação estrutural dos intermediários δ -cloro-ésteres

Os compostos intermediários δ -cloro-ésteres (**I-01** a **I-15**) foram caracterizados e posteriormente utilizados para síntese dos diésteres finais (**DE-01** a **DE-15**).

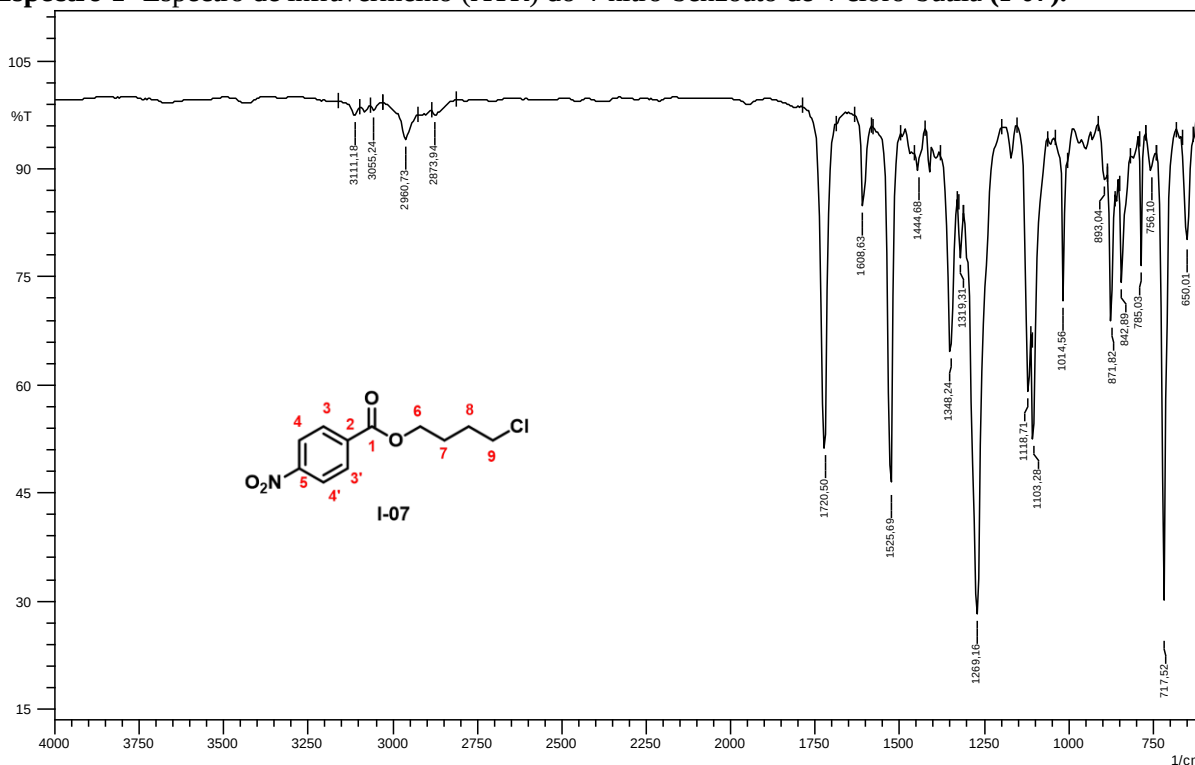
Por possuírem basicamente o mesmo esqueleto básico, os espectros na região do infravermelho desses intermediários são bastante similares. A formação destes compostos é comprovada pelo surgimento dos sinais correspondentes a banda de deformação axial do grupo $\text{C}=\text{O}$ de éster em torno de 1712 a 1735 cm^{-1} , bandas características de estiramento da ligação $\text{C}-\text{O}$ de ésteres aromáticos e insaturados aparecem em torno de 1050 – 1300 cm^{-1} , como também sinais de estiramento das ligações $\text{C}=\text{C}$ de aromático na região de 1600 – 1450 cm^{-1} .

Os sinais correspondentes às deformações angulares de CH₂ aparecem na região entre 1483 e 1474 cm⁻¹ e estiramento e deformação da ligação C-Cl na região de 800 cm⁻¹ e 1300 cm⁻¹ respectivamente.⁹⁴

As principais absorções dos espectros de infravermelho dos compostos intermediários (**I-01** a **I-15**) estão detalhadas no capítulo de metodologia. Nesta seção iremos detalhar apenas os espectros de infravermelho, RMN de ¹H e RMN ¹³C do composto intermediário **I-07**, cuja discussão serve como exemplo do detalhamento estrutural dos demais compostos dessa série.

No espectro de infravermelho do composto **I-07** observa-se as bandas de deformação axial das ligações C_{sp2}-H próximas de 3111 e C_{sp3}-H em aproximadamente 2958 e 2868 cm⁻¹. A função éster é caracterizada pelo sinal de estiramento do grupo carbonila (C=O) de éster em torno de 1720 cm⁻¹ e pelas bandas de deformação axial da ligação C-O de ésteres em torno de 1269 e 1103 cm⁻¹. As bandas de deformação axial assimétrica e simétrica da ligação N=O estão presentes na região de 1525 e 1348 respectivamente, as bandas de estiramento e deformação da ligação C-Cl encontram-se na região de 1118 e 717 cm⁻¹ (Espectro 1).

Espectro 1- Espectro de infravermelho (ATR) do 4-nitro-benzoato de 4-cloro-butila (**I-07**).



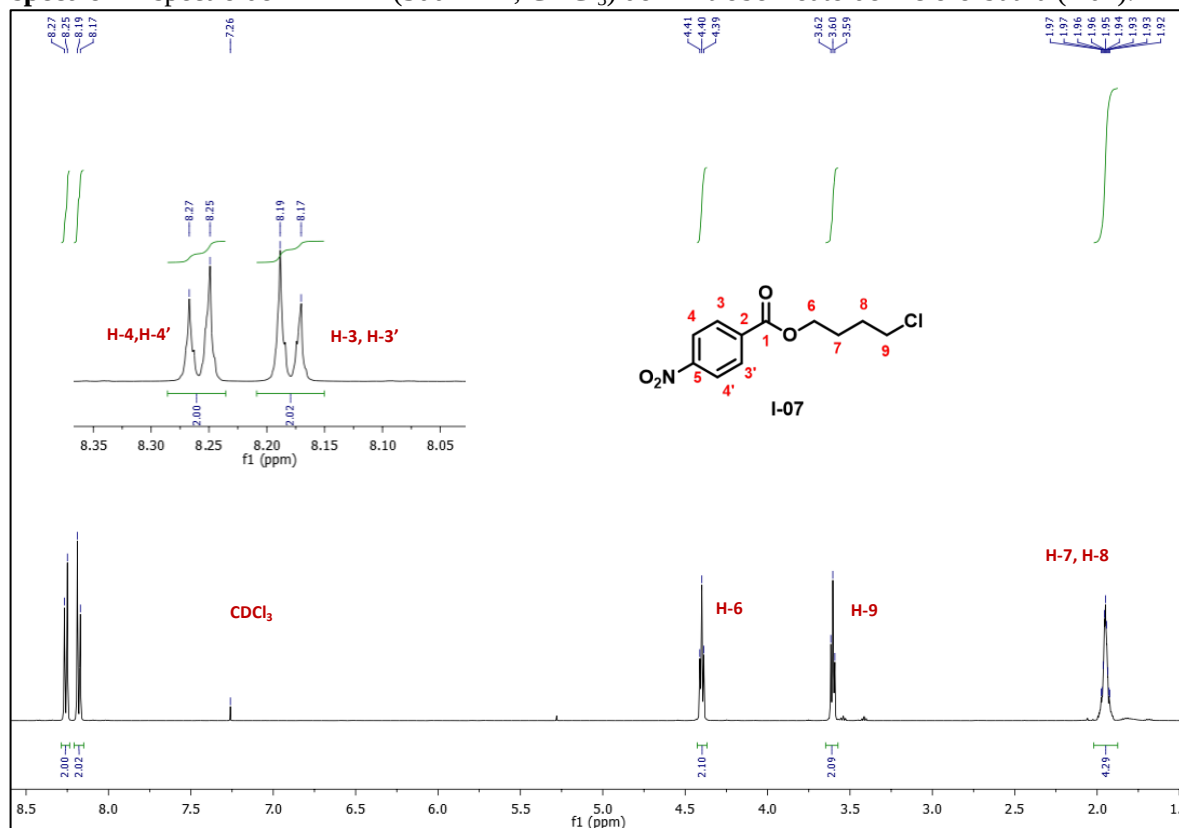
Os espectros de RMN ¹H dos compostos intermediários **I(01-15)** apresentam um multipeto na região de δ_H 1,71 – 2,06 ppm com integral para quatro hidrogênios referente aos hidrogênios metilênicos ligados aos carbonos secundários do grupo butila (-H₂C-CH₂-CH₂-CH₂-), seguido de um tripleto em torno de δ_H 3,63 – 3,50 ppm com integral para 2

hidrogênios, referente aos hidrogênios da ligação ($-\underline{\text{H}}_2\text{C}-\text{Cl}$). Na região de δ_{H} 4,50 – 4,07 ppm observa-se a presença de um tripleto para dois hidrogênios referente aos hidrogênios da ligação ($-\underline{\text{H}}_2\text{C}-\text{O}$). Os hidrogênios aromáticos foram caracterizados com base nos efeitos doadores/retiradores dos grupos substituintes ligados ao anel aromático e seus deslocamentos estão apresentados no capítulo de metodologia.

No espectro de RMN ^1H (500MHz em CDCl_3) do composto **I-07**, é possível observar na região de δ_{H} 8,27 – 8,17 ppm a presença de dubletos de tripletos referentes aos hidrogênios aromáticos de sistema descrito AA'BB'. Na região de δ_{H} 8,26 ppm referente aos hidrogênios H-4 e H-4' e na região de δ_{H} 8,18 ppm referente aos hidrogênios H-3 e H-3'. Os hidrogênios H-4 e H-4' encontram-se mais desblindados devido ao efeito anisotrópico das ligações π do grupo nitro ligado ao carbono adjacente, somado aos efeitos retiradores de elétrons que este grupo possui: efeito retirador de elétrons por ressonância e por efeito indutivo, este último devido a eletronegatividade do nitrogênio e a carga formal positiva a ele atribuída.⁹⁴

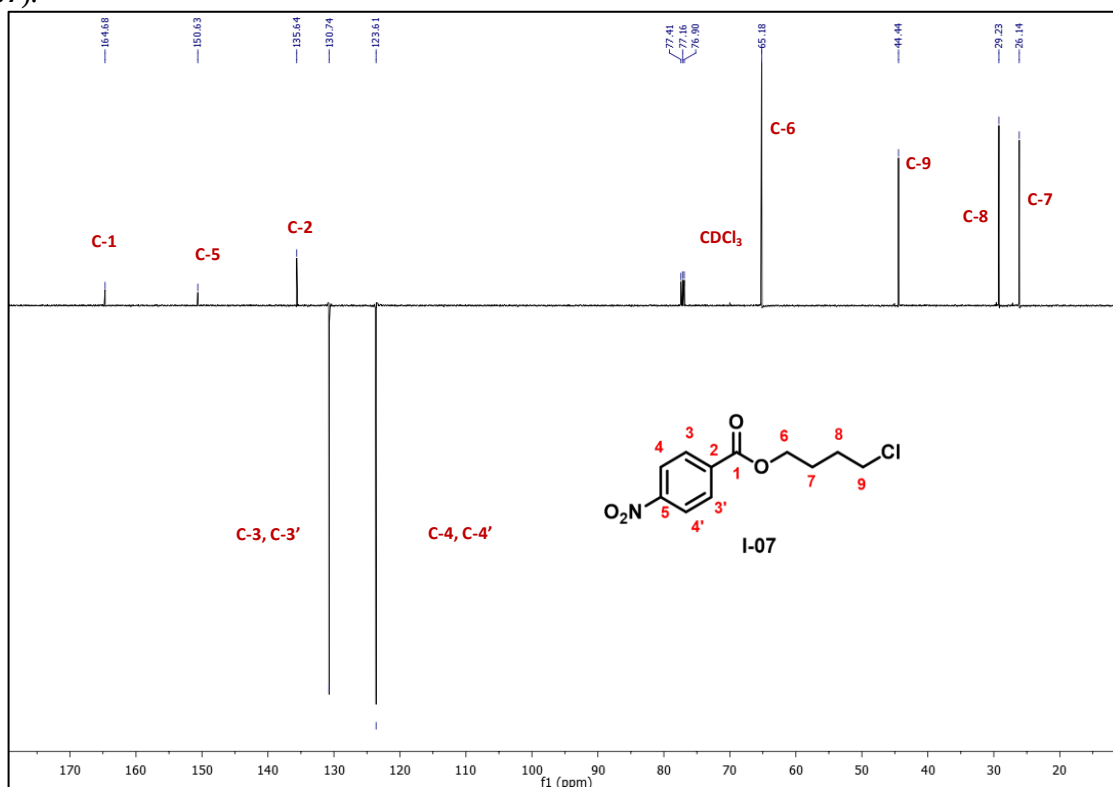
Na região de δ_{H} 4,40 ppm observa-se um tripleto referente aos dois hidrogênios metilênicos H-6. O tripleto em δ_{H} 3,60 ppm refere-se aos 2 hidrogênios metilênicos (H-9), que estão ligados ao carbono da ligação (C-Cl). Em δ_{H} 2,05 – 1,86 ppm observa-se a presença de um multipletto referente aos 4 hidrogênios metilênicos (H-7, H-8), (Espectro 2).

Espectro 2-Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 4-nitrobenzoato de 4-cloro-butila (**I-07**).



No Espectro de RMN ^{13}C APT (126 MHz, CDCl_3) do composto (**I-07**) foram observados nove sinais de carbono-13, além dos três sinais referentes ao solvente deuterado. O sinal referente ao carbono do grupo carbonila (C-1) está registrado em δ_{C} 164,6 ppm, em δ_{C} 150,6 ppm temos o sinal referente ao carbono C-5, seguido do sinal referente ao carbono C-2 em δ_{C} 135,6 ppm. Em δ_{C} 130,7 ppm temos o sinal correspondente aos carbonos C-3 e C-3' e em δ_{C} 123,5 ppm o sinal referente aos carbonos C-4 e C-4'. O sinal referente ao carbono C-6, que está ligado ao oxigênio do grupo éster, aparece em δ_{C} 65,1 ppm, seguido do sinal correspondente ao carbono C-9 em δ_{C} 44,4 ppm. Os sinais correspondentes aos carbonos C-8 e C-7 aparecem em δ_{C} 29,2 ppm e δ_{C} 26,1 ppm, respectivamente (Espectro 3).

Espectro 3- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (126 MHz, CDCl_3) do 4-nitrobenzoato de 4-cloro butila (**I-07**).



5.3.1.2 Determinação estrutural dos intermediários α -cloro-acetatos

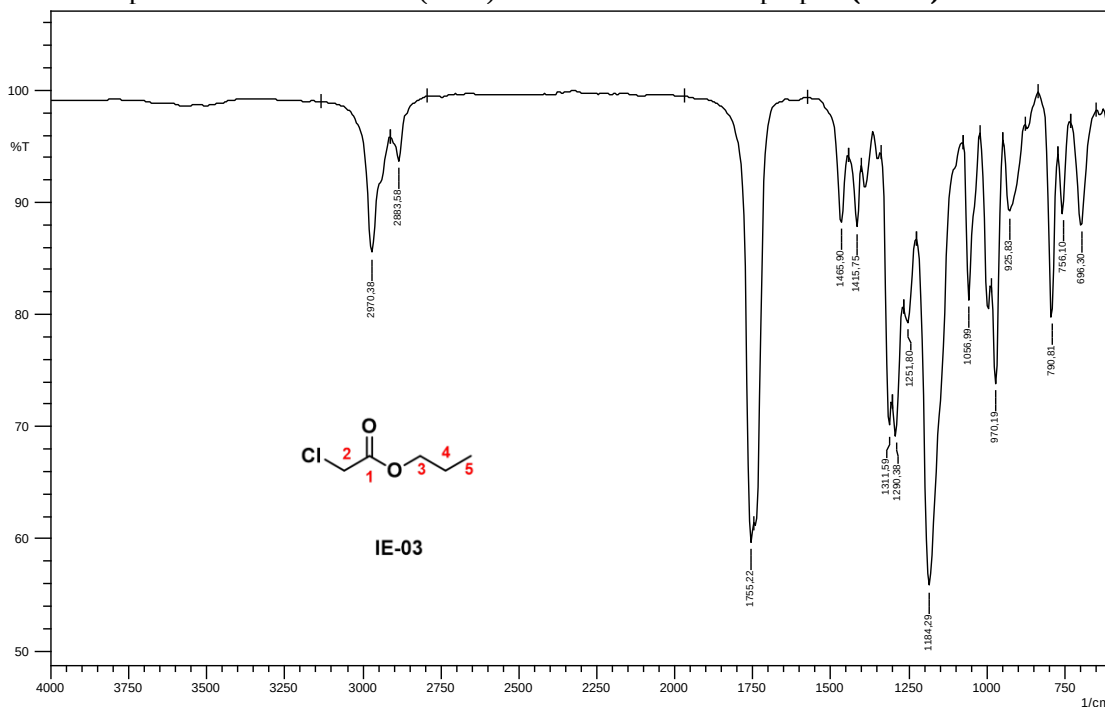
Os compostos intermediários α -cloro-acetatos **IE(01-15)** foram caracterizados e posteriormente utilizados para síntese dos diésteres finais **E(01-15)**. A formação destes compostos é comprovada pela ausência da banda de estiramento da ligação O-H em torno de 3400 cm^{-1} , surgimento dos sinais referentes a banda de C=O de éster em torno de 1750 a 1760 cm^{-1} e pelas bandas de deformação axial da ligação C–O na região de 1050 – 1300 cm^{-1} . A porção alquílica da molécula está caracterizada pelas bandas de deformação axial C-H na região de 2845 a 2971 cm^{-1} . As bandas de estiramento e deformação da ligação C-Cl aparecem

na região de 800 e 1300 cm^{-1} respectivamente. As principais absorções dos espectros de infravermelho dos compostos **IE(01-15)** estão detalhadas no capítulo de metodologia.

Por possuírem estruturas similares, podemos observar que os sinais referentes aos compostos **IE(01-15)** são semelhantes aos sinais referentes ao composto **IE-03**, desta forma, os espectros de infravermelho, RMN ^1H e ^{13}C deste composto serão detalhados nesta seção.

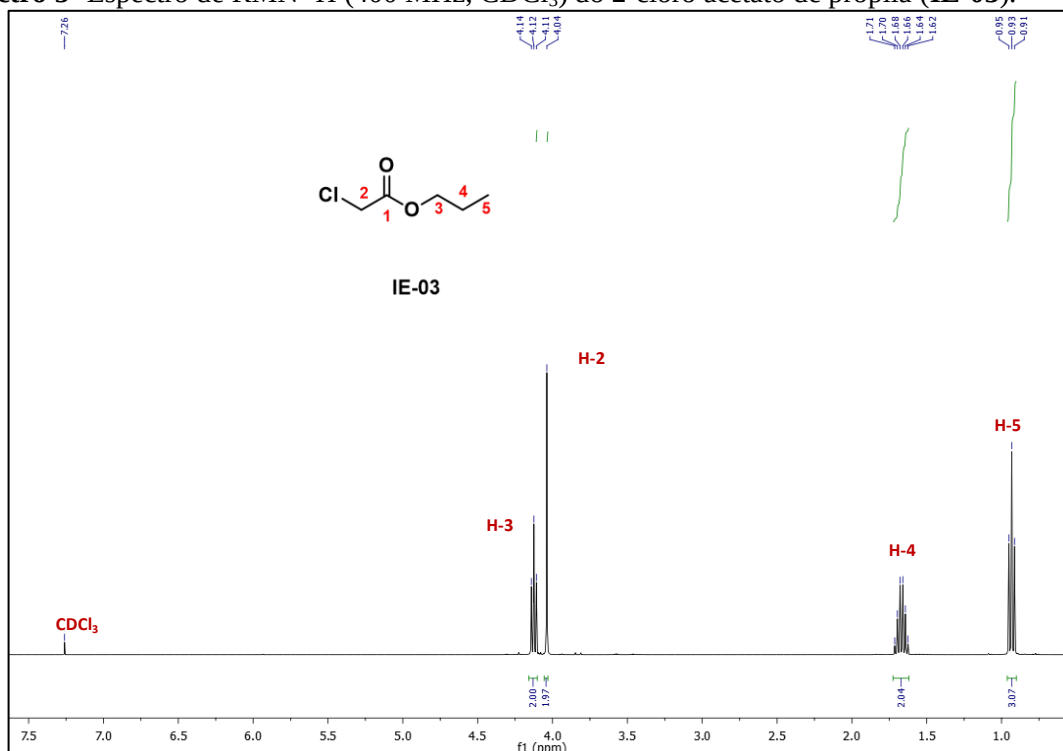
No espectro de infravermelho do composto (**IE-03**) a porção alquílica da molécula está caracterizada pelas bandas de vibração de deformação axial C-H próximas de 2970 e 2883 cm^{-1} e deformação angular em aproximadamente 1465 cm^{-1} . A função éster é caracterizada pelo sinal referente ao grupo carbonila (C=O) em torno de 1755 cm^{-1} e pelas bandas de deformação axial da ligação C–O de ésteres alifáticos em torno de 1359 e 1184 cm^{-1} . As bandas referentes a estiramento e deformação da ligação C-Cl ocorrem na região de 790 e 1290 cm^{-1} respectivamente, Espectro 4.

Espectro 4- Espectro de infravermelho (ATR) do 2-cloro-acetato de propila (**IE-03**).



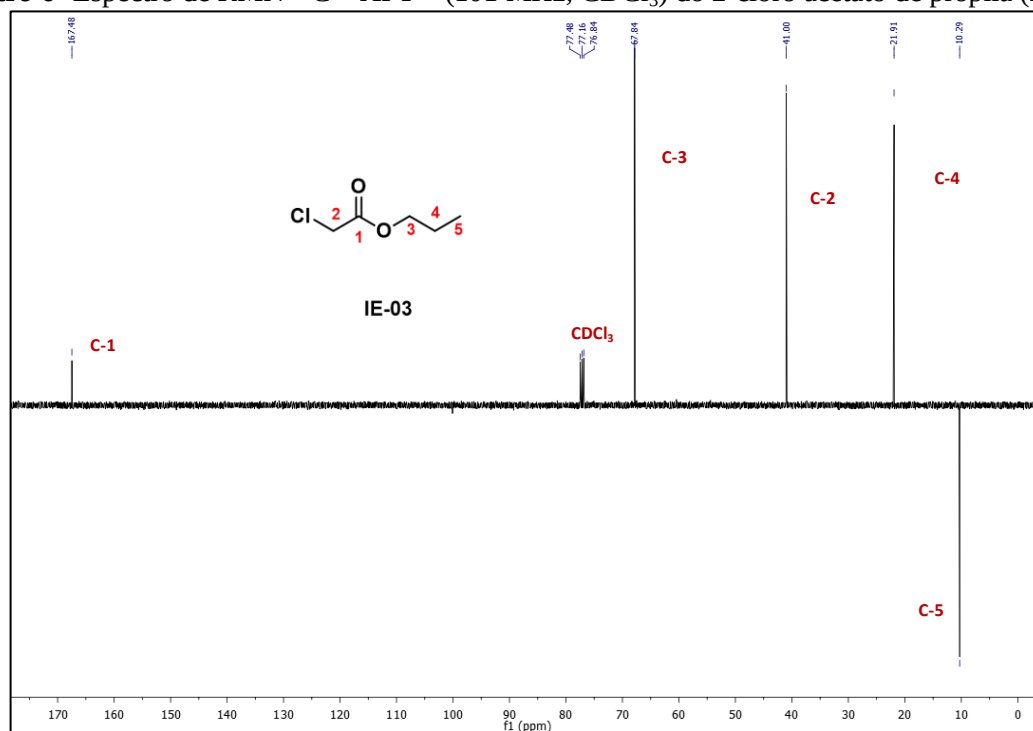
No espectro de RMN ^1H (400MHz em CDCl_3) do composto (**IE-03**), podemos observar um triplete na região de δ_{H} 4,17 – 4,13 ppm com integral para dois hidrogênios referente aos hidrogênios metilênicos H-3. Na região de δ_{H} 4,06 ppm observa-se um singlete com integral para dois hidrogênios referentes aos hidrogênios H-2. Em torno de δ_{H} 1,74– 1,65 ppm a presença de um sexteto referente aos hidrogênios metilênicos H-4 que acoplam com os hidrogênios H-3 e H-5, e um triplete na região de δ_{H} 0,97 – 0,94 ppm referente aos três hidrogênios metílicos H-5 (Espectro 5).

Espectro 5- Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-cloro acetato de propila (**IE-03**).



No Espectro de RMN ^{13}C APT (101 MHz, CDCl_3) do composto (**IE-03**) é possível observar em δ_C 167,4 ppm o sinal referente a carbonila (C-1). Em δ_C 67,8 ppm temos o sinal referente ao carbono C-3, que está ligado ao oxigênio do éster. O sinal referente ao C-2 aparece em δ_C 41,0 ppm, C-4 em δ_C 21,9 ppm e C-5 em δ_C 10,2 ppm (Espectro 6).

Espectro 6- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (101 MHz, CDCl_3) do 2-cloro acetato de propila (**IE-03**).



5.3.2 Determinação estrutural dos compostos finais

A caracterização dos compostos finais foi interpretada com a comparação entre os compostos obtidos e seus respectivos precursores já conhecidos, essa visão geral nos permite observar as alterações apresentadas pelos espectros de infravermelho, RMN ^1H e ^{13}C . Por se tratarem de diésteres, para ajudar na elucidação de suas estruturas, foram utilizados para alguns compostos as técnicas de RMN (2D) COSY, HSQC e HMBC.

5.3.2.1 Determinação estrutural dos diésteres (Série I)

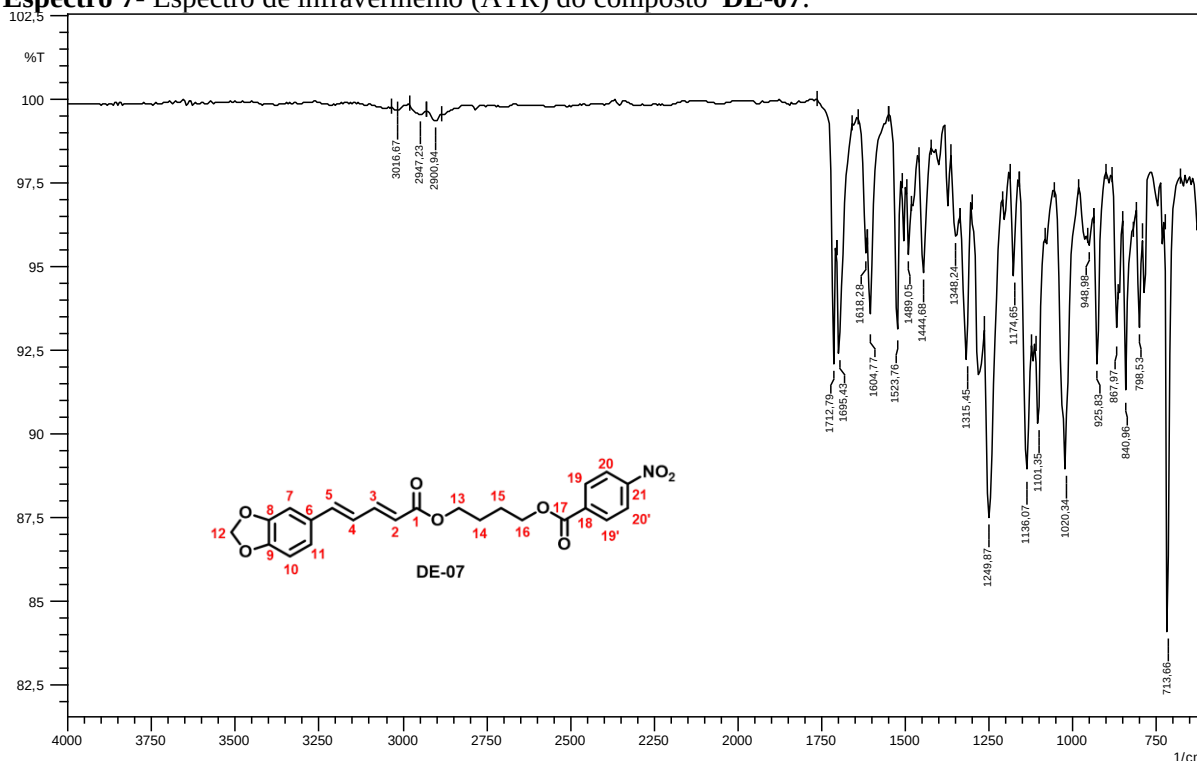
Os espectros de infravermelho dos diésteres **DE(01-15)** mostram a presença dos grupos aromáticos e alifáticos indicada através da deformação axial das ligações C–H entre 3103 e 3014 cm^{-1} juntamente com a deformação angular fora do plano em torno de 862 – 702 cm^{-1} para os grupos aromáticos e pela deformação axial em torno de 2964 – 2858 cm^{-1} para os grupos alifáticos. As deformações axiais das ligações C=C foram observadas na região de 1620–1442 cm^{-1} . As absorções dos grupos carbonilas (C=O) dos diésteres **DE(01-15)** apareceram entre 1745 e 1695 cm^{-1} . A banda de deformação axial da ligação C–O aparece em torno de 1236 e 1016 cm^{-1} . Em torno de 1250 cm^{-1} observa-se a banda referente ao anel metilenodioxi (O–CH₂–O), um sinal característico para os compostos derivados da piperina.

Os espectros de infravermelho dos compostos **DE (01-15)** estão na seção de Anexos e suas principais absorções estão detalhadas no capítulo de metodologia.

Por possuírem estruturas e absorções similares, as bandas observadas para os espectros de infravermelho dos compostos **DE(01-15)** são semelhantes as do composto **DE-07**, desta forma, o espectro de infravermelho deste composto será detalhado nesta seção.

No espectro de infravermelho do diéster (**DE-07**) observa-se a deformação axial das ligações C–H entre 3016 e 2900 cm^{-1} . Observa-se também o surgimento de duas bandas de C=O de éster em torno de 1712 e 1695 cm^{-1} , a conjugação do grupo carbonila com o grupo arila e com o segmento olefínico movem a banda de estiramento C=O de éster normal (1750 – 1735 cm^{-1}) para frequências mais baixas, como pode ser observado. A banda de deformação axial da ligação C–O aparece em torno de 1136 e 1020 cm^{-1} , em 1249 cm^{-1} tem-se a banda referente a ligação (O–CH₂–O) do anel metilenodioxi. Observa-se também sinais de C=C de aromático na região de 1604 – 1444 cm^{-1} . As bandas de deformação axial assimétrica e simétrica da ligação N=O estão presentes na região de 1523 e 1315 cm^{-1} respectivamente. Os sinais referentes a mono substituição de anel aromático aparece na região de 713 cm^{-1} .⁹⁴ (Espectro 7).

Espectro 7- Espectro de infravermelho (ATR) do composto **DE-07**.



As atribuições dos deslocamentos químicos para os hidrogênios e carbonos dos diésteres **DE(01-09)** e **DE(14-15)** foram feitas através da comparação com a estrutura de grupos semelhantes ao composto **DE-07**, e as atribuições para os deslocamentos químicos observados nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C -APT dos compostos **DE(10-13)** foram feitas através da comparação com a estrutura de grupos semelhantes ao composto **DE-11**. Tais compostos foram caracterizados neste trabalho pelo uso de técnicas de RMN 2D (COSY, HSQC e HMBC), que levaram aos assinalamentos inequívocos dos átomos de hidrogênio e carbono para os novos derivados da piperina. Desta forma, os espectros dos composto **DE-07** e **DE-11** serão detalhados nesta seção.

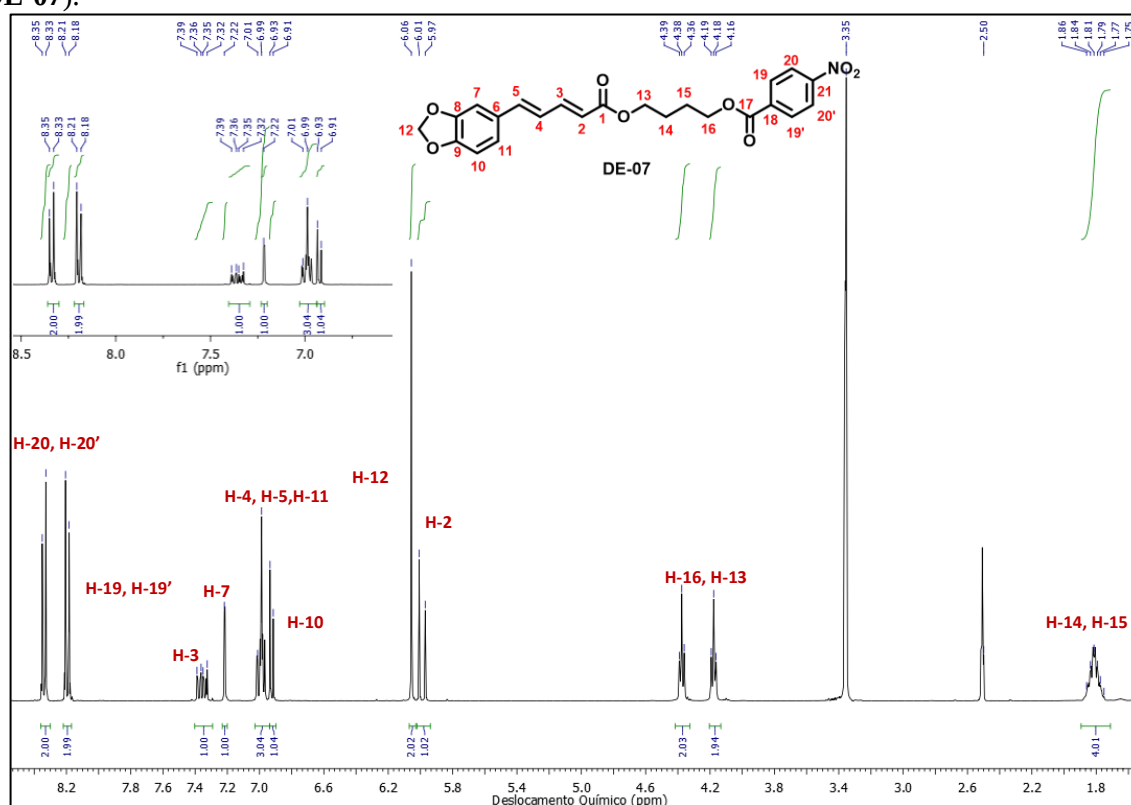
No espectro de RMN ^1H do composto **DE-07** (Espectro 8), são observados sinais referentes a onze hidrogênios nas regiões aromáticas e olefínicas entre δ_{H} 8,35 – 5,97 ppm. Dentro da região olefínica em δ_{H} 6,06 ppm, observa-se a presença de um singlete para dois hidrogênios referente aos hidrogênios do anel metilenodióxi (H-12). Na região de δ_{H} 5,98 ppm um dubleto (J 15.2 Hz) referente ao hidrogênio H-2. Na região de δ_{H} 4,39 – 4,16 ppm a presença de dois tripletos referente aos hidrogênios H-13 e H-16. Na região de δ_{H} 1,86 – 1,75 ppm tem-se um multipletto referente a sobreposição de dois quintetos com integral para 4 hidrogênios, referente a H-14, H-15.

Para a distinção dos hidrogênios metilênicos H-13 e H-16, tendo em vista que ambos encontram-se ligados diretamente ao oxigênio do éster, utilizamos o espectro bidimensional

de correlações heteronucleares a longa distância (HMBC), onde é possível observar os acoplamentos entre ^1H e ^{13}C distantes a 2 e 3 ligações, permitindo assinalar os hidrogênios H-13 e H-16 e atribuir seus acoplamentos, além de assinalar sem equívocos a carbonila de cada sub-unidade éster.

No espectro bidimensional HMBC do composto **DE-07** o sinal de carbono em δ_C 166,2 ppm acopla com os sinais de H-2 [δ_H 5,98 ppm] e H-13 [δ_H 4,18 ppm], mostrando que este sinal corresponde a carbonila do segmento piperínico (C-1), sendo portanto o tripleto mais blindado referente aos hidrogênios H-13. O sinal de carbono em δ_C 164,3 ppm acopla com os sinais dos hidrogênios H-19 e H-19' [δ_H 8,19 ppm] e H-16 [δ_H 4,38 ppm], correspondendo a carbonila (C-17), mostrando que a carbonila mais protegida corresponde a carbonila ligada ao segmento aromático, (Espectro 111, Anexos pág. 194).

Espectro 8- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-nitrobenzoato)-piperato de butila (**DE-07**).



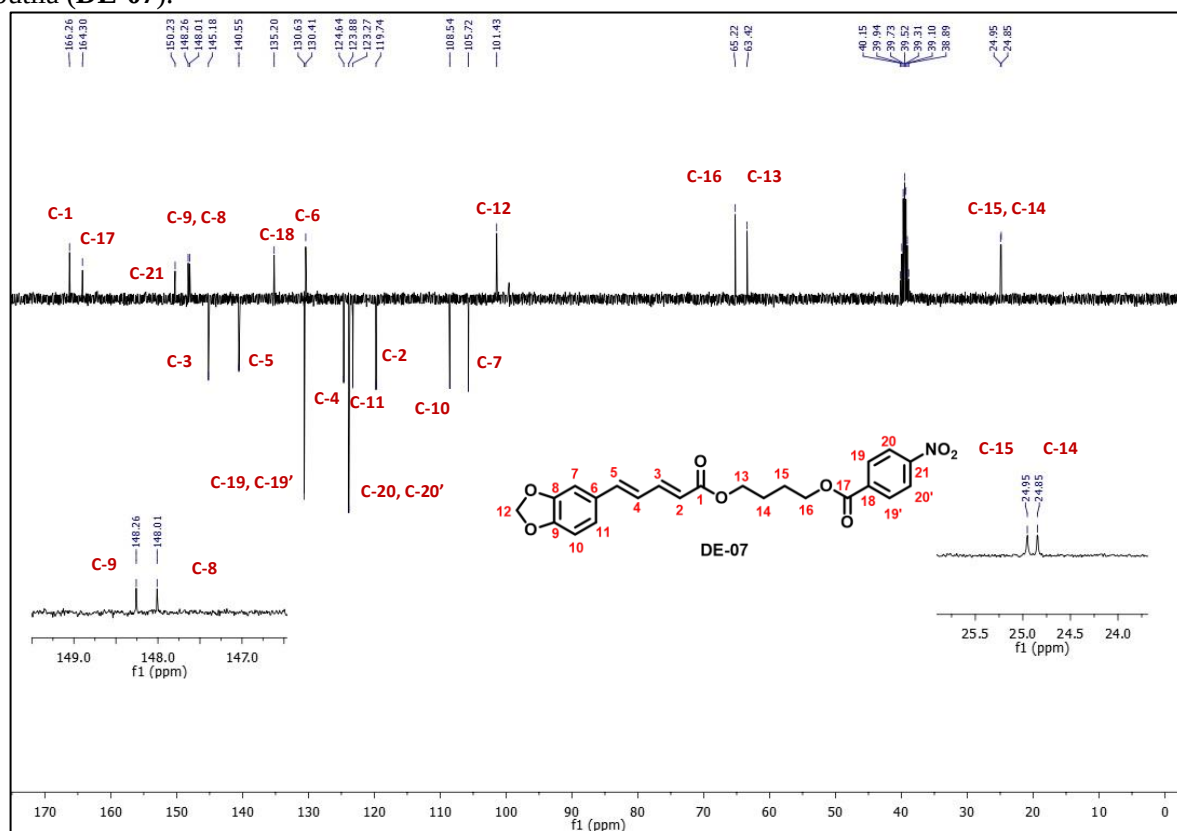
No espectro bidimensional (^1H , ^1H -COSY) é possível observar a presença de correlações como: o hidrogênio H-3 [δ_H 7,35 ppm] com H-2 [δ_H 5,98 ppm]; os hidrogênios H-13 [δ_H 4,17 ppm] e H-16 [δ_H 4,37 ppm] com a sobreposição dos quintetos referentes aos hidrogênios H-14 e H-15 [δ_H 1,80 ppm]. Ainda nesse espectro, pode-se observar as correlações entre os hidrogênios aromáticos em posição *para* em relação ao substituinte nitro no anel, entre H-19 e H-19' [δ_H 8,19 ppm] com H-20 e H-20' [δ_H 8,34 ppm] de

sistema descrito AA'BB', (Espectro 107, Anexos pág. 192).

Para atribuição inequívoca dos deslocamentos químicos do espectro de RMN ^{13}C APT do composto **DE-07**, (Espectro 9), foram utilizados os espectros de RMN 2D HMBC e HSQC.

No espectro bidimensional de correlação direta (^1H , ^{13}C -HSQC) foi possível atribuir os acoplamentos entre os sinais de hidrogênios metilênicos de H-13 [δ_{H} 4,18 ppm] com o carbono C-13 [δ_{C} 63,4 ppm]; e entre o sinal δ_{H} 4,38 ppm referente aos hidrogênios H-16 com o carbono C-16 [δ_{C} 65,2 ppm]. Além dos seguintes acoplamentos: Olefínicos ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): 5,98 (H-2)/ 119,7 (C-2); 7,35 (H-3)/ 145,1 (C-3); 6,98 (H-4)/ 124,6 (C-4); 6,98 (H-5)/ 140,5 (C-5); Alifáticos ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): 6,06 (H-12)/ 101,4 (C-12); 1,80 (H-15)/ 24,9 (C-15); 1,80 (H-14)/ 24,8 (C-14) e Aromáticos ($\delta_{\text{H}}/\delta_{\text{C}}$): 7,21 (H-7)/ 105,7 (C-7); 6,92 (H-10)/ 108,5 (C-10); 6,98 (H-11)/ 123,2 (C-11), 8,19 (H-19, H-19')/ 130,4 (C-19, C-19'), 8,34 (H-20, H-20')/ 123,8 (C-20, C-20'). (Espectro 108, Anexos pág. 192).

Espectro 9- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(4-nitrobenzoato)-piperato de butila (**DE-07**).

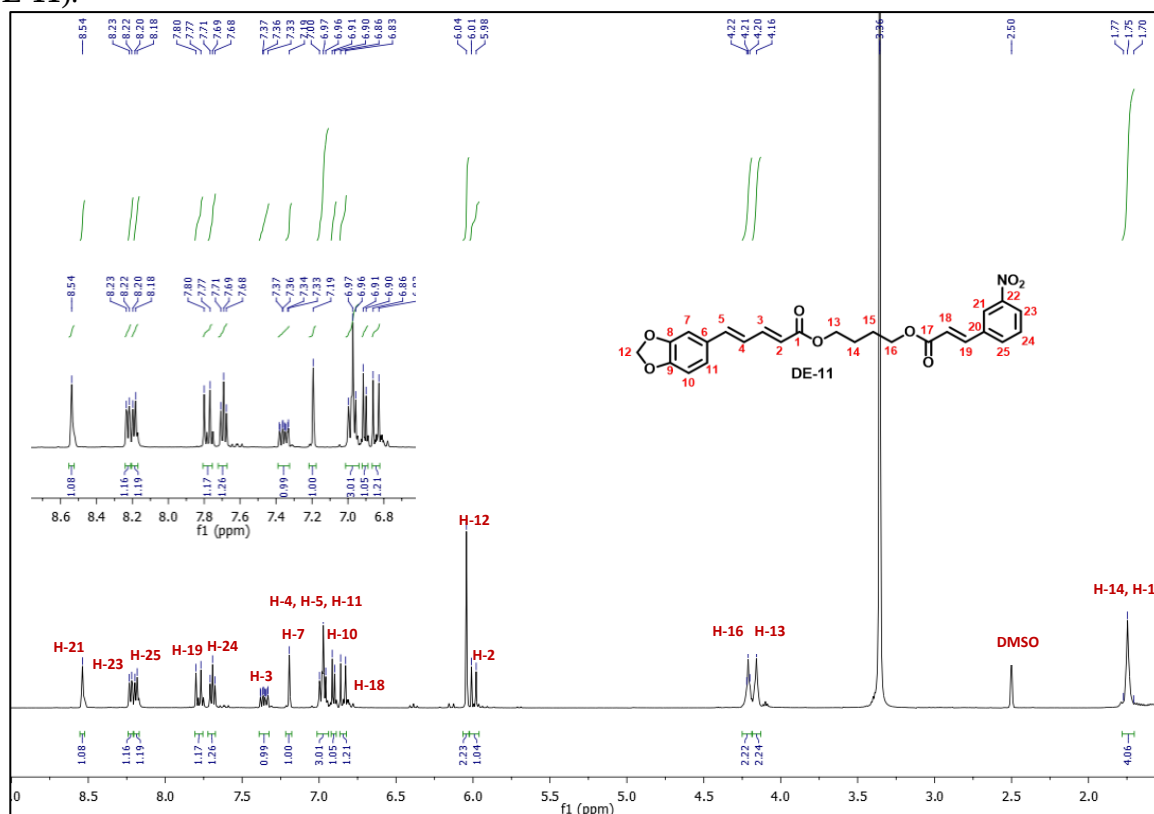


No espectro de RMN ^1H do composto **DE-11**, são observados sinais nas regiões de δ_{H} 8,54 – 5,98 ppm referente aos treze hidrogênios aromáticos e olefínicos e em δ_{H} 6,04 ppm o singlete para os hidrogênios do anel metilenodióxi (H-12). Na região de δ_{H} 4,21 – 4,16 ppm

observa-se a presença dos dois tripletos referente aos hidrogênios H-13 e H-16 e em δ_H 1,77 – 1,70 ppm a sobreposição dos sinais referentes aos hidrogênios H-14 e H-15, (Espectro 10).

No espectro bidimensional HMBC do composto **DE-11** o sinal de carbono em δ_C 166,2 acopla com os sinais de H-2 [δ_H 5,99 ppm], H-3 [δ_H 7,36 ppm] e H-13 [δ_H 4,16 ppm], mostrando que este sinal corresponde a carbonila do segmento piperínico (C-1). O sinal em δ_C 165,8 ppm acopla com os sinais dos hidrogênios H-19 [δ_H 7,78 ppm], H-18 [δ_H 6,84 ppm] e H-16 [δ_H 4,21 ppm], correspondendo a carbonila (C-17). Desse modo, pode-se assinalar sem equívocos os sinais referentes aos hidrogênios metilênicos H-13 e H-16 e os sinais das carbonilas de cada sub-unidade éster, (Espectro 127, Anexos pág. 202).

Espectro 10- Espectro de RMN 1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (**DE-11**).



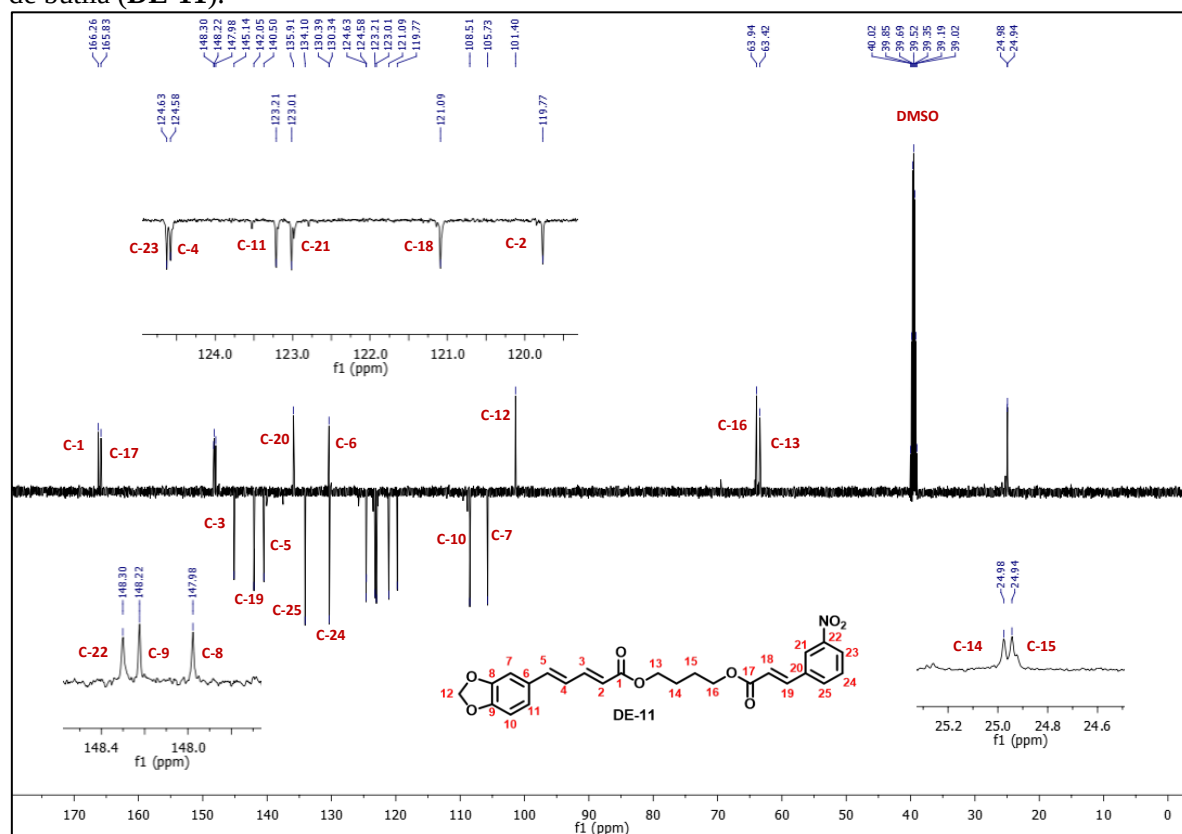
No espectro bidimensional (1H , 1H -COSY) do composto **DE-11** observa-se correlações (3J) entre os hidrogênios alifáticos H-13 [δ_H 4,16 ppm] com H-14 [δ_H 1,75 ppm]. Os hidrogênios H-14 acoplam com H-15 [δ_H 1,75 ppm] e H-15 com H-16 [δ_H 4,21 ppm] e vice-versa. Ainda nesse espectro, podemos verificar correlações importantes entre os hidrogênios aromáticos do segmento piperínico, na posição *orto* (3J) referente ao H-10 [δ_H 6,91 ppm] com H-11 [δ_H 6,98 ppm] e em posição *meta* (4J) entre o H-11 [δ_H 6,98 ppm] com H-7 [δ_H 7,19 ppm]. Semelhantemente foram observadas correlações entre hidrogênios aromáticos do anel aromático da outra sub-unidade éster, na posição *meta* (4J) referente ao H-21 [δ_H 8,54 ppm]

com H-23 [δ_H 8,23 ppm], e do H-21 [δ_H 8,54 ppm] com H-25 [δ_H 8,19 ppm], os demais em posição *orto* (3J) de H-23 [δ_H 8,23 ppm] com H-24 [δ_H 7,69 ppm] e de H-24 [δ_H 7,69 ppm] com H-25 [δ_H 8,19 ppm] e vice-versa, (Espectro 123, Anexos pág. 200).

O espectro bidimensional de correlação direta (1H , ^{13}C -HSQC) permitiu estabelecer as seguintes correlações: Olefínicos (δ_H/δ_C): 5,99 (H-2)/ 119,7 (C-2); 7,36 (H-3)/ 145,1 (C-3); 6,98 (H-4)/ 124,5 (C-4); 6,98 (H-5)/ 140,5 (C-5); 6,84 (H-18)/ 121,0 (C-18) e 7,78 (H-19)/ 142,0 (C-19); Alifáticos (δ_H/δ_C): 6,04 (H-12)/ 101,4 (C-12); 4,16 (H-13)/ 63,4 (C-13); 1,75 (H-14)/ 24,9 (C-14); 1,75 (H-15)/ 24,9 (C-15) e 4,21 (H-16)/ 63,9 (C-16) e Aromáticos (δ_H/δ_C): 7,19 (H-7)/ 105,7 (C-7); 6,91 (H-10)/ 108,5 (C-10); 6,98 (H-11)/ 123,2 (C-11), 8,54 (H-21)/ 123,0 (C-21); 8,22 (H-23)/ 124,6 (C-23); 7,69 (H-24)/ 130,3 (C-24); 8,19 (H-25)/ 134,1 (C-25), (Espectro 125, Anexos pág. 201).

Nos espectros de RMN ^{13}C dos compostos finais **DE(10-13)** observa-se a presença de duas carbonilas muito próximas, o que se deve a ambas estarem conjugadas com um segmento olefínico e aromático. Através do espectro bidimensional HMBC foi possível assinalar as duas carbonilas dos compostos e atribuir os acoplamentos entre ^{13}C e 1H distante 2 e 3 ligações. O Espectro 11 mostra o espectro de RMN ^{13}C APT do composto **DE-11**.

Espectro 11- Espectro de RMN ^{13}C – APT – (DMSO-*d*₆, 126 MHz) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (**DE-11**).

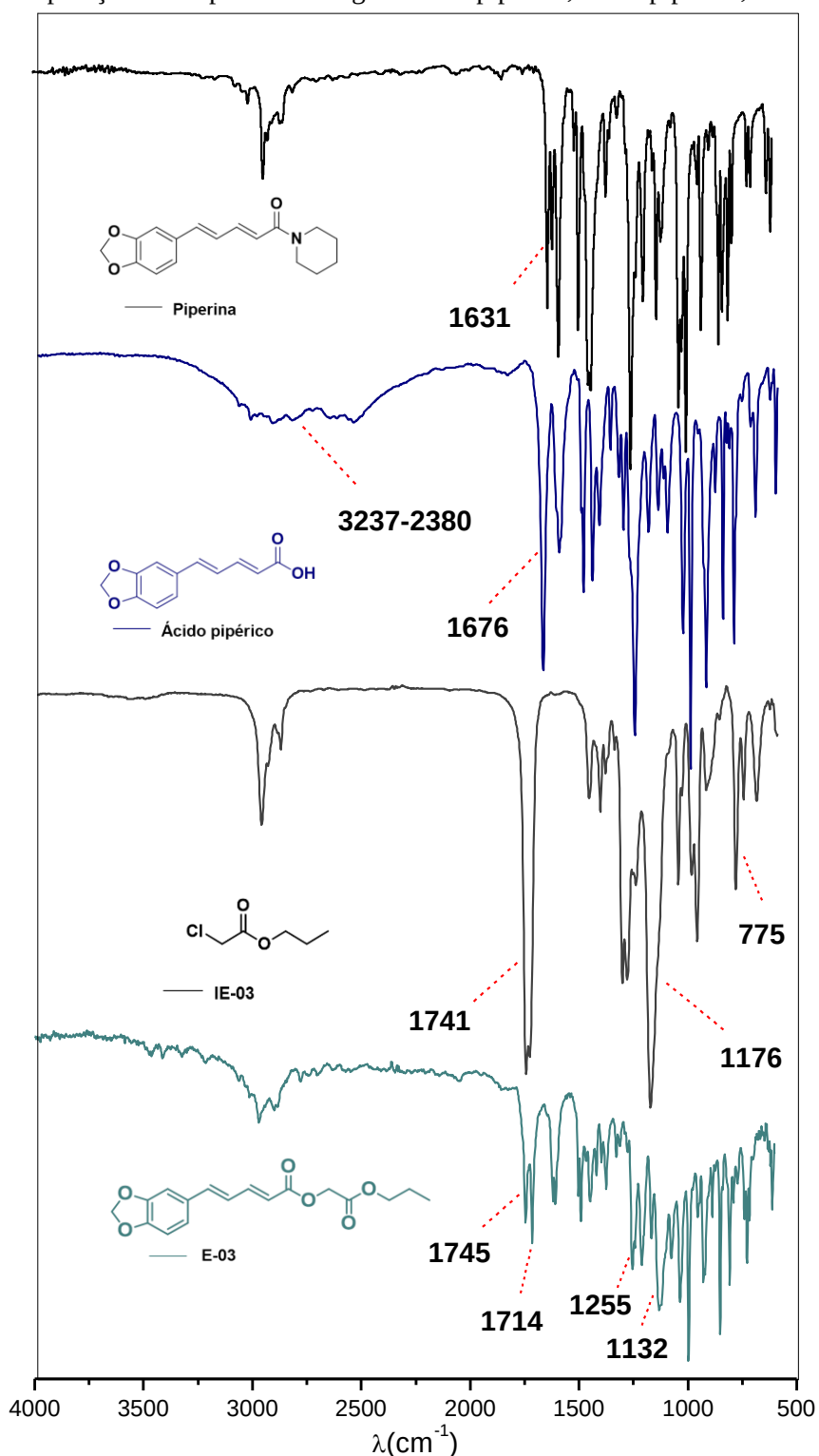


5.3.2.2 Determinação estrutural dos diésteres (Série II)

No espectro de infravermelho destes compostos a presença dos grupos aromáticos e alifáticos é evidenciada através das deformações axiais das ligações C–H na região de 3080 a 2787 cm^{-1} . Observa-se ainda as deformações axiais das ligações C=C na região de 1612 e 1450 cm^{-1} . As absorções dos grupos carbonilas (C=O) aparecem em torno de 1776 a 1697 cm^{-1} . As bandas de deformação axial da ligação C–O dos ésteres aparecem na região de 1300 e 1050 cm^{-1} , e na região de 1250 cm^{-1} a banda referente ao anel metilenodioxí. Os espectros de infravermelho dos diésteres **E(01-15)** estão na seção de Anexos, e suas principais absorções estão detalhadas no capítulo de metodologia.

No Espectro 12, é possível comparar as alterações sofridas nos espectros de infravermelho após cada etapa de síntese para obtenção do composto **E-03**. Ao comparar os espectros de infravermelho da piperina e do ácido pipérico a principal mudança observada é o surgimento da banda de estiramento da ligação O–H do ácido entre 2380 – 3237 cm^{-1} juntamente com a banda de estiramento da carbonila de ácido (C=O) em sistema conjugado, que aparece em torno de 1676 cm^{-1} . Após a formação do diéster (**E-03**) observa-se desaparecimento da banda característica de O–H e das bandas correspondentes às deformações axiais da ligação C–Cl em aproximadamente 775 cm^{-1} , além do surgimento de duas bandas de carbonila de éster em torno de 1745 e 1714 cm^{-1} , as bandas referentes ao estiramento simétrico e assimétrico da ligação C–O aparecem em torno de 1100 – 1300 cm^{-1} , e na região de 1255 cm^{-1} a banda referente ao anel metilenodioxí que é um sinal característico dos compostos derivados da piperina.⁹⁴

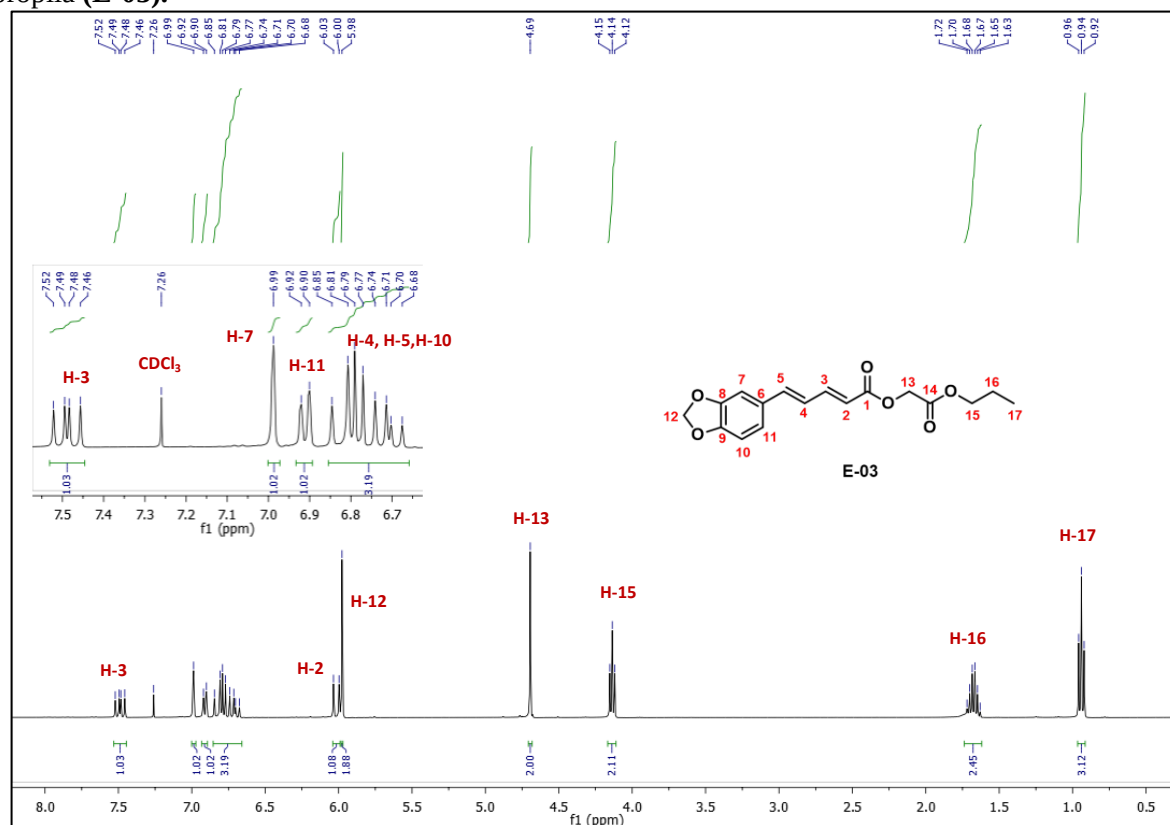
Espectro 12- Comparação dos espectros na região IV da piperina, ácido pipérico, **I-03** e **E-03**.



As atribuições dos deslocamentos químicos dos hidrogênios e carbonos nos espectros de RMN ^1H e ^{13}C dos diésteres **E(01-15)** foram feitas através da comparação com a estrutura do composto **E-03**, que foi elucidada pelo uso de técnicas de espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C – APT e RMN (2D) COSY, HSQC e HMBC. Desta forma, os espectros do composto **E-03** serão detalhados nesta seção.

No Espectro de RMN ^1H do composto **E-03** foram observados sinais nas regiões aromáticas e olefínicas entre $\delta_H = 7,52 - 6,00$ ppm referente a sete hidrogênios. Na região de δ_H 7,49 ppm (J 15.2, 10.8 Hz) observa-se a presença de duplos dubletos referentes ao hidrogênio H-3, seguido por um singleto para H-7 [δ_H 6,99 ppm]. O dubleto referente ao hidrogênio H-11 aparece na região de δ_H 6,91 ppm (d, J 8.1 Hz). Em δ_H 6,85–6,65 ppm observa-se a presença de um multipeto referente aos hidrogênios H-4, H-5 e H-10. Na região de δ_H 6,02 ppm (d, J 15.2 Hz, 1H) observa-se um dubleto referente ao hidrogênio H-2. Em $\delta_H = 5,98$ ppm a presença de um singleto para dois hidrogênios (H-12) referente aos hidrogênios do anel metilenodióxio. Na região de δ_H 4,69 ppm observa-se um singleto, com integral para dois hidrogênios, referente aos hidrogênios metilênicos H-13, seguido de um triplete em δ_H 4,14 ppm para os hidrogênios H-15. Na região de δ_H 1,68 ppm tem-se um sexteto referente aos hidrogênios H-16, e em δ_H 0,94 ppm um triplete referente aos hidrogênios H-17, (Espectro 13).

Espectro 13- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (**E-03**).



No espectro bidimensional de correlação homonuclear (^1H , ^1H -COSY), para o composto **E-03** observa-se as correlações entre o triplete dos hidrogênios H-15 [δ_H 4,14 ppm] e o multipeto para os hidrogênios H-16 [δ_H 1,67 ppm]; entre o multipeto H-16 [δ_H 1,67 ppm]

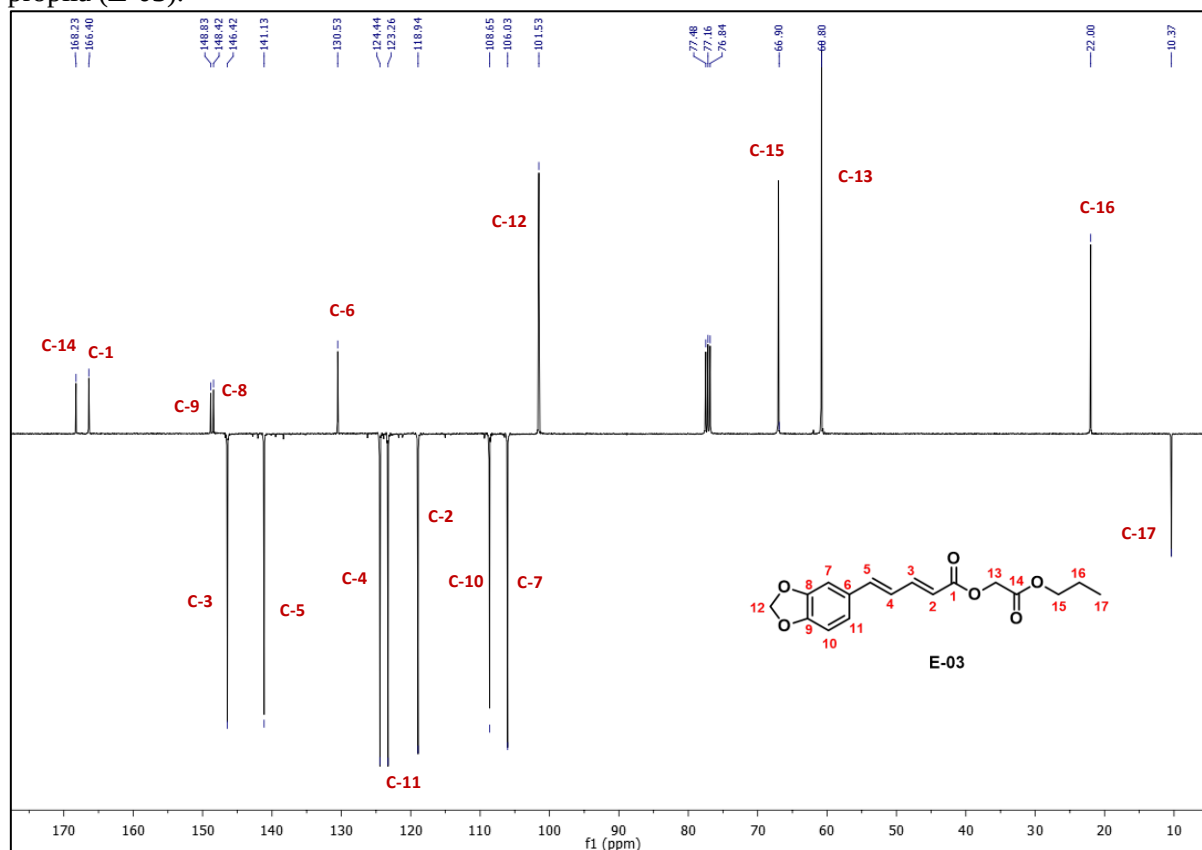
com o tripleto H-15 [δ_H 4,14 ppm] e o tripleto de H-17 [δ_H 0,94 ppm]. Observa-se ainda as correlações entre o duplo dubleto referente ao hidrogênio H-3 [δ_H 7,49 ppm] com o dubleto referente ao hidrogênio H-2 [δ_H 6,02 ppm] e com os hidrogênios H-4 e H-5 [δ_H 6,85–6,65 ppm]. (Espectro 148, Anexos pág. 212).

A partir do espectro bidimensional (HMBC) do composto **E-03**, foi possível assinalar sem equívocos a carbonila de cada sub-unidade éster presentes no composto. Os hidrogênios metilênicos do H-15 [δ_H 4,14 ppm] acoplam com o carbono C-16 [δ_C 22,0 ppm], com o carbono C-17 [δ_C 10,3 ppm] e com a carbonila C-14 [δ_C 168,1 ppm], assinalando a carbonila do éster do segmento alifático. Os hidrogênios olefínicos H-2 [δ_H 6,02 ppm] e H-3 [δ_H 7,49 ppm] acoplam com a carbonila C-1 [δ_C 166,4 ppm], mostrando que a carbonila mais protegida corresponde a carbonila do segmento piperínico, o que pode ser explicado pela maior estabilização do carbono carbonílico pelo efeito de ressonância com o segmento olefínico. Observa-se também os acoplamentos entre os hidrogênios H-16 [δ_H 1,67 ppm] e H-17 [δ_H 0,94 ppm] com o carbono C-15 [δ_C 66,9 ppm], diferenciando os sinais de CH₂ vizinhos aos oxigênios dos grupos ésteres, (Espectro 151, Anexos pág. 214).

No espectro bidimensional (¹H, ¹³C-HSQC) do composto **E-03** observa-se correlações entre o singlete em δ_H 4,69 ppm, referente aos hidrogênios H-13, com o sinal de carbono C-13 [δ_C 60,8 ppm]. Observa-se também a correlação do tripleto em δ_H 4,14 ppm, referente aos hidrogênios H-15, com o sinal de carbono C-15 [δ_C 66,9 ppm] e entre os sinais dos hidrogênios H-12 [δ_H 5,98 ppm] com o sinal em δ_C 101,5 ppm referente ao carbono C-12, (Espectro 149, Anexos pág. 213).

No Espectro de RMN ¹³C APT do composto **E-03**, observa-se os sinais referente às carbonilas dos ésteres em δ_C 168,2 ppm e δ_C 166,4 ppm, referente aos sinais dos carbonos C-14 e C-1, respectivamente. Em δ_C 148,8 ppm (C-9), δ_C 148,4 ppm (C-8), δ_C 146,4 ppm (C-3), δ_C 141,1 ppm (C-5), δ_C 130,5 ppm (C-6), δ_C 124,4 ppm (C-4), δ_C 123,2 ppm (C-11), δ_C 118,9 ppm (C-2), δ_C 108,6 ppm (C-10), δ_C 106,0 ppm (C-7), δ_C 101,5 ppm (C-12), δ_C 66,9 ppm (C-15), δ_C 60,8 ppm (C-13), δ_C 22,0 ppm (C-16) e δ_C 10,3 ppm (C-17) (Espectro 14).

Espectro 14-Espectro de RMN ^{13}C -APT-(CDCl_3 , 126 MHz) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (**E-03**).



5.4 Estudos Biológicos

Os estudos biológicos realizados neste trabalho foram divididos em estudos *in silico*, relacionados à farmacocinética e a toxicologia dos compostos, estudos *in vitro*, com avaliação da atividade antimicrobiana e estudos *in vivo* para avaliação da potencialidade antitumoral e toxicidade dos compostos.

5.4.1 Estudos *in silico*

A utilização de métodos *in silico* tem se mostrado uma ótima estratégia para acelerar a descoberta de possíveis fármacos. Diante disto, resolveu-se investigar a potencialidade teórica dos compostos sintetizados por meio da abordagem *in silico* dos parâmetros da regra dos cinco de Lipinski,^{83,95} porcentagem de absorção teórica (%ABS), solubilidade aquosa (log S), *druglikeness*, drug-score e riscos de toxicidade.

5.4.1.1 Estudos *in silico* dos compostos intermediários δ -cloro-ésteres – (I-01 a I-15)

As propriedades físico-químicas determinadas teoricamente para os δ -cloro-ésteres **I(01-15)** estão apresentadas na Tabela 1. Os resultados mostram que os intermediários avaliados não violam nenhum dos parâmetros da regra de Lipinski, indicando que todos devem apresentar boa biodisponibilidade oral e boa permeabilidade na membrana celular.

Tabela 1- Propriedades físico-químicas dos compostos intermediários (I-01 a I-15).

Composto	ALH	DLH	MM	CLogP	TPSA (Å ²)	Violação
I-01	2	0	150,60	1,67	26,30	0
I-02	2	0	212,68	3,12	26,30	0
I-03	2	0	247,12	3,72	26,30	0
I-04	2	0	291,57	3,84	26,30	0
I-05	2	0	338,57	3,55	26,30	0
I-06	2	0	226,70	3,46	26,30	0
I-07	5	0	257,67	2,20	72,12	0
I-08	8	0	302,67	1,27	117,90	0
I-09	5	0	292,12	2,8	72,12	0
I-10	2	0	238,71	3,45	26,30	0
I-11	5	0	283,71	2,52	72,12	0
I-12	2	0	306,71	4,29	26,30	0
I-13	2	0	244,74	3,31	54,54	0
I-14	3	0	256,73	3,05	35,53	0
I-15	5	0	295,72	3,97	63,68	0

ALD: aceptores de ligações de hidrogênio; DLH: doadores de ligações de hidrogênio, MM: massa molecular; cLogP: lipofilicidade; TPSA: área de superfície polar topológica. LIPINSKI – MM ≤ 500; Log P ≤ 5; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5, TPSA ≤ 140 Å² (LIPINSKI et al, 2001)⁸⁵

Os resultados da porcentagem de absorção, solubilidade, *drug-likeness* e drug-score, estão apresentados na Tabela 2. Os resultados indicam que os compostos intermediários apresentam uma alta porcentagem absorção por via oral (68,38 a 99,92%). A maioria dos medicamentos comerciais possuem LogS (mol.L⁻¹) maior que -4,00 (OSIRIS Property Explorer),⁸⁷ os resultados mostram que apenas os compostos intermediários **I-05**, **I-08**, **I-10**, **I-12** e **I-13** apresentaram Log S > -4.

Os compostos intermediários apresentaram valores de *drug-likeness* entre -24,71 e -6,52, esses valores negativos indicam que esses compostos não possuem similaridades com os fármacos comerciais presentes neste banco de dados. Em relação aos resultados encontrados no estudo de drug-score, todos os compostos tiveram valores positivos, que variaram de 0,07 a 0,13, sendo o maior valor para o composto **I-15**.

Tabela 2- Solubilidade, porcentagem de absorção, *drug-likeness* e drug-score dos compostos intermediários (I-01 a I-15).

Composto	%ABS	Log S	Druglikeness	Drug-Score
I-01	99,92	-1,83	-11,49	0,11
I-02	99,92	-3,00	-9,24	0,07
I-03	99,92	-3,73	-6,52	0,09
I-04	99,92	-3,83	-12,62	0,09
I-05	99,92	-6,08	-8,81	0,08
I-06	99,92	-3,34	-10,39	0,09
I-07	84,11	-3,46	-24,22	0,10
I-08	68,38	-5,98	-24,71	0,12
I-09	84,11	-4,19	-18,05	0,11
I-10	99,92	-5,43	-13,50	0,07
I-11	84,11	-3,83	-17,38	0,12
I-12	99,92	-4,15	-19,43	0,10
I-13	90,13	-5,44	-10,16	0,12
I-14	96,74	-2,98	-10,94	0,12
I-15	87,03	-2,77	-19,09	0,13

LogS: solubilidade aquosa; % ABS: porcentagem de absorção ZHAO et al (2002)⁸⁷ – % ABS (100-67% alta absorção; 66-33% média absorção; 33-0% baixa absorção)

Os riscos de toxicidade teórica alertam para a presença de alguns fragmentos que geralmente são responsáveis por efeitos mutagênicos, tumorigênicos, irritantes e efeitos sobre o sistema reprodutivo. De acordo com o programa Osiris, os riscos de toxicidade são classificados em alto risco, médio risco e baixo risco. Os resultados da toxicidade dos intermediários **I(01-15)** apresentados na Tabela 3 indicam que os compostos devem apresentar médio risco mutagênico, alto risco tumorigênico e risco reprodutivo, e os compostos **I-02** e **I-10** apresentaram alto risco de efeito irritante.

Tabela 3-Toxicidade teórica dos compostos intermediários (**I-01** a **I-15**).

Composto	Risco Mutagênico (RM)	Risco Tumorigênico (RT)	Risco Reprodutivo (RR)	Efeito Irritante (I)
I-01	MR	AR	AR	MR
I-02	MR	AR	AR	AR
I-03	MR	AR	AR	MR
I-04	MR	AR	AR	MR
I-05	MR	AR	AR	MR
I-06	MR	AR	AR	MR
I-07	MR	AR	AR	MR
I-08	MR	AR	AR	NR
I-09	MR	AR	AR	NR
I-10	MR	AR	AR	AR
I-11	MR	AR	AR	NR
I-12	MR	AR	AR	NR
I-13	MR	AR	AR	NR
I-14	MR	AR	AR	NR
I-15	MR	AR	AR	NR

NR: Nenhum risco, MR: Médio Risco, AR: Alto Risco.

5.4.1.2 Estudos *in silico* dos compostos finais – Série I – (DE-01 a DE-15)

Os resultados da avaliação dos parâmetros de Lipinski dos compostos **DE(01-15)** determinados no estudo *in silico* estão apresentados na Tabela 4. Os resultados mostram que os compostos **DE-03**, **DE-04**, **DE-06** e **DE-10** violaram um parâmetro da regra de Lipinski. No entanto, isso não interfere no resultado, pois os parâmetros de Lipinski admitem até uma violação, de forma que esses compostos devem apresentar boa permeabilidade na membrana celular e boa absorção após administração via oral. Os compostos **DE-05** e **DE-08** violaram dois parâmetros, o que sugere que os compostos não devem possuir uma boa biodisponibilidade via oral de acordo com esta regra.

De acordo com a avaliação do Osiris, para que as substâncias tenham uma probabilidade de serem bem absorvidas seus valores de lipofilicidade (cLogP) devem ser $\leq 5,00$. Os compostos analisados apresentaram valores de clogP entre 3,14 e 6,16.

Tabela 4- Propriedades físico-químicas dos compostos finais (DE-01 a DE-15).

Composto	ALH	DLH	MM	cLogP	TPSA (Å ²)	Violação
DE-01	6	0	332,35	3,54	71,06	0
DE-02	6	0	394,42	4,99	71,06	0
DE-03	6	0	428,87	5,59	71,06	1
DE-04	6	0	473,32	5,71	71,06	1
DE-05	6	0	520,32	5,42	71,06	2
DE-06	6	0	408,45	5,33	71,06	1
DE-07	9	0	439,42	4,06	116,80	0
DE-08	12	0	484,42	3,14	162,70	2
DE-09	9	0	473,87	4,67	116,80	0
DE-10	6	0	420,46	5,32	71,06	1
DE-11	9	0	465,46	4,39	116,8	0
DE-12	6	0	488,46	6,16	71,06	1
DE-13	6	0	426,46	5,18	99,30	1
DE-14	7	0	438,48	4,91	80,29	0
DE-15	9	0	477,47	3,97	108,4	0

ALD: aceptores de ligações de hidrogênio; DLH: doadores de ligações de hidrogênio, MM: massa molecular; cLogP: lipofilicidade; TPSA: área de superfície polar topológica, LIPINSKI – MM ≤ 500; Log P ≤ 5; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5, TPSA ≤ 140 Å² (LIPINSKI et al, 2001)⁸⁵

Os resultados de solubilidade, porcentagem de absorção, *drug-likeness* e drug-score, dos compostos **DE(01-15)** estão apresentados na Tabela 5. Os resultados mostram que todos compostos, com exceção do **DE-08**, apresentaram valores de TPSA entre 71,06 e 116,08 Å², o que resulta em uma alta porcentagem de absorção (68,70 – 84,48 %). O composto **DE-08** (TPSA= 162,7) foi classificado com uma média absorção (52,86 %). Os valores negativos de Log S indicam que a solubilidade em meio aquoso desses compostos deve ser baixa.

Os compostos apresentaram valores de *drug-likeness* entre -20,64 e -3,29, indicando que eles não possuem similaridades com os fármacos presentes neste banco de dados. Os resultados do potencial drug-score mostram que todos os compostos tiveram valores positivos, que variaram de 0,08 a 0,18, sendo o maior valor para o composto (**DE-01**).

Tabela 5- Solubilidade, porcentagem de absorção e *drug-likeness* e drug-score dos compostos finais (DE-01 a DE-15)

Composto	%ABS	Log S	Druglikeness	Drug-Score
DE-01	84,48	-3,89	-6,49	0,18
DE-02	84,48	-5,06	-5,59	0,09
DE-03	84,48	-5,80	-3,29	0,09
DE-04	84,48	-5,71	-8,95	0,08
DE-05	84,48	-6,08	-5,25	0,08
DE-06	84,48	-5,41	-6,78	0,1
DE-07	68,70	-5,52	-20,54	0,12
DE-08	52,86	-5,98	-20,64	0,14
DE-09	68,70	-6,26	-14,25	0,11
DE-10	84,48	-5,43	-7,86	0,08
DE-11	68,70	-5,89	-11,72	0,13
DE-12	84,48	-6,21	-13,84	0,09
DE-13	74,74	-5,44	-4,94	0,13
DE-14	81,30	-5,05	-7,20	0,14
DE-15	71,60	-4,83	-15,8	0,16

LogS: solubilidade aquosa; % ABS: porcentagem de absorção
ZHAO et al (2002)⁸⁷ – % ABS (100-67% alta absorção; 66-33% média absorção; 33-0% baixa absorção)

Os resultados da toxicidade dos diésteres **DE(01-15)** estão apresentados na Tabela 6. Observa-se que os compostos finais apresentam menor risco de toxicidade teórica que os seus respectivos intermediários **I(01-15)**. Em todos os candidatos observamos um alto risco reprodutivo proveniente das insaturações entre o anel aromático e a carbonila da piperina, efeito que se repete nos seus derivados. Em nenhum dos compostos se observou risco mutagênico e tumorigênico. Apenas os compostos **DE-02** e **DE-10** apresentaram alto risco de efeito irritante.

Tabela 6- Toxicidade teórica dos compostos finais (**DE-01** a **DE-15**)

Composto	Risco Mutagênico (RM)	Risco Tumorigênico (RT)	Risco Reprodutivo (RR)	Efeito Irritante (I)
Piperina	NR	NR	AR	NR
DE-01	NR	NR	AR	MR
DE-02	NR	NR	AR	AR
DE-03	NR	NR	AR	MR
DE-04	NR	NR	AR	MR
DE-05	NR	NR	AR	MR
DE-06	NR	NR	AR	MR
DE-07	NR	NR	AR	MR
DE-08	NR	NR	AR	NR
DE-09	NR	NR	AR	NR
DE-10	NR	NR	AR	AR
DE-11	NR	NR	AR	NR
DE-12	NR	NR	AR	NR
DE-13	NR	NR	AR	NR
DE-14	NR	NR	AR	NR
DE-15	NR	NR	AR	NR

NR: Nenhum risco, MR: Médio Risco, AR: Alto Risco

5.4.1.3 Estudos *in silico* dos compostos intermediários α -cloro-acetatos – (**I-01** a **I-15**)

Os resultados dos parâmetros de Lipinski determinados no estudo *in silico* para os compostos intermediários α -cloro-acetatos **IE(01-15)** são apresentadas na Tabela 7. Como pode ser observado, o composto **IE-12** viola levemente o parâmetro de lipofilicidade, onde o valor obtido é 5,31 e o valor de referência é $\leq 5,00$. Como os parâmetros de Lipinski admitem até uma violação esse composto deve apresentar boa absorção após administração via oral.

Tabela 7- Propriedades físico-químicas dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15).

Composto	ALH	DLH	MM	CLogP	TPSA (Å ²)	Violação
IE-01	2	0	108,52	0,36	26,3	0
IE-02	2	0	122,55	0,76	26,3	0
IE-03	2	0	136,58	1,22	26,3	0
IE-03i	2	0	136,58	1,12	26,3	0
IE-04	2	0	150,60	1,67	26,3	0
IE-04i	2	0	150,60	1,44	26,3	0
IE-05	2	0	164,63	2,13	26,3	0
IE-05i	2	0	164,63	1,89	26,3	0
IE-06	2	0	178,66	2,58	26,3	0
IE-06c	2	0	176,64	1,91	26,3	0
IE-08	2	0	206,71	3,49	26,3	0
IE-10	2	0	234,77	4,00	26,3	0
IE-12	2	0	262,82	5,31	26,3	1
IE-14	2	0	170,59	1,88	26,3	0
IE-15	2	0	210,66	2,54	26,3	0

ALD: aceptores de ligações de hidrogênio; DLH: doadores de ligações de hidrogênio, MM: massa molecular; cLogP: lipofilicidade; TPSA: área de superfície polar topológica. LIPINSKI – MM ≤ 500; Log P ≤ 5; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5, TPSA ≤ 140 Å² (LIPINSKI et al, 2001)⁸⁵

A Tabela 8 mostra os resultados de porcentagem de absorção, solubilidade, *drug-likeness* e drug-score para os compostos intermediários IE(01-15). Os resultados mostram que os compostos apresentam uma alta porcentagem de absorção (99,92%) e baixa solubilidade (valor negativo de Log S). Os valores de *drug-likeness* ficaram entre -24,26 e -1,99. Os valores de drug-score foram positivos para todos os compostos e variaram de 0,04 a 0,07.

Tabela 8- Solubilidade, porcentagem de absorção, *drug-likeness* e drug-score dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15)

Composto	%ABS	Log S	Druglikeness	Drug-Score
IE-01	99,926	-0,99	-5,15	0,06
IE-02	99,926	-1,29	-6,64	0,06
IE-03	99,926	-1,56	-2,86	0,07
IE-03i	99,926	-1,67	-5,35	0,06
IE-04	99,926	-1,83	-7,59	0,06
IE-04i	99,926	-1,72	-2,63	0,07
IE-05	99,926	-2,10	-11,83	0,06
IE-05i	99,926	-1,99	-1,99	0,07
IE-06	99,926	-2,37	-16,25	0,06
IE-06c	99,926	-2,56	-7,21	0,06
IE-08	99,926	-2,91	-24,26	0,05
IE-10	99,926	-3,45	-24,26	0,05
IE-12	99,926	-3,99	-24,26	0,04
IE-14	99,926	-2,32	-2,19	0,07
IE-15	99,926	-2,83	-3,33	0,06

LogS: solubilidade aquosa; % ABS: porcentagem de absorção
ZHAO et al (2002)⁸⁷ – % ABS (100-67% alta absorção; 66-33% média absorção; 33-0% baixa absorção)

Os resultados do risco de toxicidade calculados para os α-cloro-acetatos estão apresentados na Tabela 9. De acordo com o programa Osiris, esses compostos devem apresentar alguns fragmentos que geralmente são responsáveis por causarem alto risco reprodutivo, mutagênico, tumorigênico e alto efeito irritante.

Tabela 9- Toxicidade teórica dos compostos intermediários (IE-01 a IE-15)

Composto	Risco Mutagênico (RM)	Risco Tumorigênico (RT)	Risco Reprodutivo (RR)	Efeito Irritante (I)
IE-01	AR	AR	AR	AR
IE-02	AR	AR	AR	AR
IE-03	AR	AR	AR	AR
IE-03i	AR	AR	AR	AR
IE-04	AR	AR	AR	AR
IE-04i	AR	AR	AR	AR
IE-05	AR	AR	AR	AR
IE-05i	AR	AR	AR	AR
IE-06	AR	AR	AR	AR
IE-06c	AR	AR	AR	AR
IE-08	AR	AR	AR	AR
IE-10	AR	AR	AR	AR
IE-12	AR	AR	AR	AR
IE-14	AR	AR	AR	AR
IE-15	AR	AR	AR	AR

NR: Nenhum risco, MR: Médio Risco, AR: Alto Risco

Ressalta-se, no entanto, que alertas de risco de toxicidade são apenas uma indicação de que a estrutura pode ser prejudicial sobre a categoria de risco especificado. Logo, os alertas de risco de modo algum pretende ser uma previsão de toxicidade totalmente confiável, nem deve ser concluído pela ausência de alertas de risco que uma determinada substância seja completamente livre de qualquer efeito tóxico.

5.4.1.4 Estudos *in silico* dos compostos finais – Série II – (E-01 a E-15)

A Tabela 10 mostra os resultados da avaliação dos parâmetros de Lipinski, determinados no estudo *in silico*, para os diésteres E(01-15). Os resultados mostram que os compostos E-08, E-10, e E-12, violaram o parâmetro de Lipofilicidade. Mas como os parâmetros de Lipinski admitem até uma violação, esses compostos devem apresentar boa permeabilidade na membrana celular e boa absorção após administração via oral.

Tabela 10- Propriedades físico-químicas dos compostos finais (E-01 a E-15).

Composto	ALH	DLH	MM	CLogP	TPSA (Å ²)	Violação
E-01	6	0	290,27	2,23	71,06	0
E-02	6	0	304,30	2,63	71,06	0
E-03	6	0	318,32	3,09	71,06	0
E-03i	6	0	318,32	2,99	71,06	0
E-04	6	0	332,35	3,54	71,06	0
E-04i	6	0	332,35	3,31	71,06	0
E-05	6	0	346,38	4,00	71,06	0
E-05i	6	0	346,38	3,76	71,06	0
E-06	6	0	360,41	4,45	71,06	0
E-06c	6	0	358,39	3,78	71,06	0
E-08	6	0	388,46	5,36	71,06	1
E-10	6	0	416,51	6,27	71,06	1
E-12	6	0	444,57	7,18	71,06	1
E-14	6	0	352,34	3,75	71,06	0
E-15	6	0	392,41	4,41	71,06	0

ALD: aceptores de ligações de hidrogênio; DLH: doadores de ligações de hidrogênio, MM: massa molecular; cLogP: lipofilicidade; TPSA: área de superfície polar topológica.

LIPINSKI – MM ≤ 500; Log P ≤ 5; ALH ≤ 10; DLH ≤ 5, TPSA ≤ 140 Å² (LIPINSKI et al, 2001)⁸⁵

Com relação a solubilidade e porcentagem de absorção, cujo resultados estão apresentados na Tabela 11, todos os diésteres sintetizados devem apresentar alta absorção (84,48%) e uma baixa solubilidade (valor negativo de Log S). Os valores negativos do parâmetro *drug-likeness* indicam que nenhum dos compostos contém, predominantemente, fragmentos presentes em fármacos presentes neste banco de dados. Em relação aos resultados encontrados no estudo de drug-score, todos os compostos tiveram valores positivos, os valores variaram de 0,09 a 0,31, sendo o maior valor para o composto **E-03**.

Tabela 11- Solubilidade, porcentagem de absorção, drug-score e *drug-likeness* dos compostos finais **E(01-15)**.

Composto	%ABS	Log S	Druglikeness	Drug-Score
E-01	84,484	-3,05	-2,82	0,28
E-02	84,484	-3,35	-4,39	0,26
E-03	84,484	-3,62	-0,82	0,31
E-03i	84,484	-3,73	-3,16	0,25
E-04	84,484	-3,89	-5,58	0,13
E-04i	84,484	-3,78	-0,72	0,18
E-05	84,484	-4,16	-9,82	0,13
E-05i	84,484	-4,05	-0,31	0,24
E-06	84,484	-4,43	-14,24	0,11
E-06c	84,484	-4,63	-5,40	0,20
E-08	84,484	-4,97	-22,25	0,14
E-10	84,484	-5,51	-22,25	0,11
E-12	84,484	-6,05	-22,25	0,09
E-14	84,484	-4,38	-0,28	0,29
E-15	84,484	-4,89	-1,72	0,12

LogS: solubilidade aquosa; % ABS: porcentagem de absorção
ZHAO *et al* (2002)⁸⁷ – % ABS (100-67% alta absorção; 66-33% média absorção; 33-0% baixa absorção)

Na Tabela 12 temos o resultado dos testes de toxicidade teórica para os diésteres **E (01-15)**, observa-se que após a formação dos diésteres os compostos teoricamente não devem apresentar risco mutagênico, tumorgênico e apenas os compostos **E-04**, **E-04i**, **E-06** e **E-15** apresentaram alto efeito irritante. O alto risco reprodutivo apresentado pela piperina e seus derivados é proveniente das insaturações conjugadas com o anel aromático e a carbonila. Os resultados indicam que os diésteres são teoricamente menos tóxicos que seus compostos intermediários.

Tabela 12- Toxicidade teórica dos compostos (E-01 a E-12).

Composto	Risco Mutagênico (RM)	Risco Tumorigênico (RT)	Risco Reprodutivo (RR)	Efeito Irritante (I)
Piperina	NR	NR	AR	NR
E-01	NR	NR	AR	NR
E-02	NR	NR	AR	NR
E-03	NR	NR	AR	NR
E-03i	NR	NR	AR	NR
E-04	NR	NR	AR	AR
E-04i	NR	NR	AR	AR
E-05	MR	NR	AR	MR
E-05i	MR	NR	AR	MR
E-06	NR	NR	AR	AR
E-06c	NR	NR	AR	NR
E-08	NR	NR	AR	NR
E-10	NR	NR	AR	NR
E-12	NR	NR	AR	NR
E-14	NR	NR	AR	NR
E-15	NR	NR	AR	AR

NR: Nenhum risco, MR: Médio Risco, AR: Alto Risco

5.4.2 Estudos antimicrobianos

A concentração inibitória mínima (CIM) para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento fúngico e bacteriano 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 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL= fraca atividade ou produto inativo.^{96,97,98.}

Para os testes realizados, não foram avaliadas as atividades de todos os compostos sintetizados com todos os microorganismos, uma vez que os ensaios foram realizados de acordo com a disponibilidade dos laboratórios parceiros. Assim, muitas substâncias ainda não haviam sido sintetizadas e/ou caracterizadas, e por isso não foram enviadas para os estudos de atividade biológica.

5.4.2.1 Avaliação antimicrobiana dos compostos intermediários δ-cloro-ésteres – (I-01 a I-15)

Na Tabela 13, estão registrados os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos intermediários **I(01-15)**. É possível observar que todas as cepas testadas não apresentaram sensibilidade aos compostos testados nos ensaios biológicos, se mostrando resistentes aos produtos nas concentrações de 1024 a 64 µg/mL.

Tabela 13- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos intermediários (I-01 a I-15) contra cepas bacterianas e fúngicas.

Amostras	Bactérias			Leveduras				F. Filamentosos	
	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>S. aureus</i> LM-177	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-60193	<i>C. albicans</i> LM-38	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-18	<i>A. flavus</i> ATCC-13013	<i>A. fumigatus</i> ATCC-40640
Ac. Pipérico	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-01	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-02	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-03	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-05	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-06	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-07	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-08	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-09	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-13	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I-15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anfotericina B	x	x	x	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	-	-	-	x	x	x	x	x	x

(+):Crescimento do micro-organismo | (-):Não houve crescimento microbiano | (x):Não se aplica

5.4.2.2 Avaliação antimicrobiana dos diésteres finais – Série I – (DE-01 a DE-15)

Na Tabela 14, estão registrados os resultados da avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica dos diésteres derivados da piperina **DE(01-15)**. Os compostos **DE-02**, **DE-04**, **DE-05**, **DE-07**, **DE-08**, **DE-09** e **DE-12** não apresentaram atividade frente aos micro-organismos testados nas concentrações avaliadas. Todos os compostos que apresentaram atividade foram ativos frente a todas as leveduras do gênero *Candida* testadas. Para 50% das espécies testadas a substância **DE-15** apresentou CIM de 512 $\mu\text{g/mL}$. Os compostos **DE-01**, **DE-03** e **DE-13** apresentaram atividade inibitória contra 60% dos micro-organismos testados com uma CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$. As substâncias **DE-11** e **DE-14** apresentaram CIM de 1024 $\mu\text{g/mL}$ para 70% dos micro-organismos (fungos leveduriformes e filamentosos). A substância **DE-06** apresentou CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$ contra 80% das espécies testadas. Vale ressaltar que esta substância inibiu 100 % das espécies fúngicas testadas, atestando grande potencial antifúngico devido a sua ação abrangente.

Nenhuma substância foi capaz de inibir o crescimento microbiano das espécies bacterianas testadas. Contudo, o fato das substâncias não apresentarem atividade antibacteriana ainda pode ser considerado um aspecto positivo, visto que em um possível

tratamento antifúngico com estas moléculas, provavelmente não colocaria em risco a integridade da microbiota nativa, benéfica ao hospedeiro.⁹⁹

Tabela 14- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos diésteres derivados da piperina (**DE-01** a **DE-15**) contra cepas bacterianas e fúngicas.

Amostras	Bactérias		Leveduras				F. Filamentosos			
	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-60193	<i>C. albicans</i> LM-92	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-18	<i>A. flavus</i> LM - 714	<i>A. niger</i> LM-108	<i>A. fumigatus</i> ATCC-40640	<i>A. fumigatus</i> IPP-210
DE-01	+	+	256	256	1024	1024	+	256	256	+
DE-02	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-03	+	+	256	1024	1024	256	+	256	1024	+
DE-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-05	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-06	+	+	256	1024	1024	512	512	256	256	256
DE-07	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-09	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-10	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+	+	+
DE-11	+	+	1024	256	1024	1024	1024	512	512	+
DE-12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DE-13	+	+	1024	1024	256	256	+	256	256	+
DE-14	+	+	1024	1024	1024	1024	1024	256	256	+
DE-15	+	+	256	512	512	1024	+	+	1024	+
Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anfotericina B	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	-	-	x	x	x	x	x	x	x	x

(+):Crescimento do micro-organismo |(-):Não houve crescimento microbiano |(x):Não se aplica

Ao analisar a capacidade antimicrobiana dos compostos finais **DE(01-15)** e a inatividade dos seus respectivos intermediários **I(01-15)** podemos sugerir que o efeito antimicrobiano dos produtos finais se deve a inserção do segmento piperínico.

O resultado da atividade antimicrobiana dos compostos **DE(01-15)** mostrou que os compostos que possuíam grupos substituintes doadores de elétrons (**DE-03**, **DE-06** e **DE-14**) foram ativos frente grande parte dos micro-organismos testados. Os compostos **DE-04** e **DE-05** que apresentam grupos doadores, contudo volumosos, (Br e I respectivamente) foram inativos.

Os compostos que possuíam grupos substituintes retiradores de elétrons (**DE-07**, **DE-08** e **DE-09**) foram inativos frente aos micro-organismos testados nas concentrações avaliadas.

Com relação aos compostos **DE(10-13)**, que possuem em sua estrutura uma ligação α , β -insaturada adicional, todos os compostos, com exceção do composto **DE-12**, se mostraram ativos frente a maioria das cepas testadas.

Vale ressaltar que para compreender melhor a relação entre os resultados observados no estudo *in vitro* e as propriedades físico-químicas dos compostos sintetizados deverá ser realizado um estudo de relação estrutura-atividade (REA).

5.4.2.3 Avaliação antimicrobiana dos compostos intermediários α -cloro-acetatos-(IE-01 a IE-12)

Os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos intermediários **IE(01-12)** estão descritos na Tabela 15. As substâncias **IE-01**, **IE-03**, **IE-04** e **IE-04i** não foram capazes de inibir o crescimento microbiano de nenhum dos micro-organismos testados nas concentrações avaliadas. Contra todas as leveduras do gênero *Candida*, as substâncias **IE-05** e **IE-12** apresentaram uma CIM de 1024 $\mu\text{g/mL}$. Já as substâncias **IE-02**, **IE-03i** e **IE-06c**, apresentaram CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$ contra as cepas de *C. albicans* e 1024 $\mu\text{g/mL}$ contra as cepas de *C. tropicalis*. As substâncias **IE-06**, **IE-06c**, **IE-08** e **IE-10** inibiram o crescimento microbiano das cepas de *S. aureus*, *A. flavus* e *A. fumigatus* na concentração de 1024 $\mu\text{g/mL}$. A substância **IE-06c** inibiu 8 das 9 cepas microbianas testadas, apresentando uma CIM de 256 $\mu\text{g/mL}$ contra as cepas de *C. albicans* e 1024 $\mu\text{g/mL}$ para os demais micro-organismos que foram susceptíveis, mostrando o maior espectro de atividade dentre os intermediários testados. Contudo, nenhuma substância foi capaz de inibir a cepa de *P. aeruginosa*.

Tabela 15- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos intermediários (**I-01 a I-12**) contra cepas bacterianas e fúngicas.

Amostras	Bactérias			Leveduras				F. Filamentosos	
	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>S. aureus</i> LM-177	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-60193	<i>C. albicans</i> LM-38	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-18	<i>A. flavus</i> ATCC-13013	<i>A. fumigatus</i> ATCC-40640
Ac. Pipérico	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-01	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-02	+	+	+	256	256	1024	1024	+	+
IE-03	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-03i	+	+	+	256	256	1024	1024	+	+
IE-04	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-04i	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-05	+	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+
IE-05i	+	+	+	+	+	+	+	+	+
IE-06	1024	1024	+	+	+	+	+	1024	1024
IE-06c	1024	1024	+	256	256	1024	1024	1024	1024
IE-08	1024	1024	+	+	+	+	+	1024	1024
IE-10	1024	1024	+	+	+	+	+	1024	1024
IE-12	+	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+
Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anfotericina B	x	x	x	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	-	-	-	x	x	x	x	x	x

(+):Crescimento do micro-organismo | (-):Não houve crescimento microbiano | (x):Não se aplica

5.4.2.4 Avaliação antimicrobiana dos diésteres finais – Série II – (E-01 a E-12)

A Tabela 20 mostra os resultados da avaliação da atividade antimicrobiana dos diésteres derivados da piperina **E(01-12)**. Nenhuma substância foi capaz de inibir o crescimento microbiano das espécies bacterianas testadas. As substâncias **E-08**, **E-10** e **E-12** foram inativas para todos os micro-organismos testados nas concentrações avaliadas.

As substâncias **E(01-06c)** foram ativas frente a todas as leveduras do gênero *Candida* testadas, com uma atividade de moderada a forte com a CIM entre 1024 – 256 µg/mL. Os compostos **E(01-04)** apresentaram uma CIM de 256 µg/mL sendo considerados com uma ótima atividade frente aos fungos filamentosos do gênero *A. niger* (LM-108). Dos compostos testados, apenas o composto **E-04** foi ativo frente a cepa de *A. flavus* com CIM de 1024 µg/mL. A substância **E-05** foi eficaz com uma CIM de 1024 µg/mL apenas contra 40% dos micro-organismos testados, sendo esta porcentagem composta somente por leveduras. Para 50% das espécies testadas, a substância **E-03i** apresentou CIM de 512 µg/mL, composto **E-03** apresentou uma CIM de 256 µg/mL e as substâncias **E-04i** e **E-06c** apresentaram CIM de 1024 µg/mL. As substâncias **E-01**, **E-02** e **E-04** foram ativas frente a 70% dos micro-organismos testados, sendo a CIM= 1024 µg/mL para o composto **E-04** e CIM= 512 µg/mL para os compostos **E-01** e **E-02**.

Tabela 16- Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM (µg/mL) dos compostos finais (**E-01** a **E-12**) contra cepas bacterianas e fúngicas.

Compostos	Bactéria		Leveduras				F. Filamentosos			
	<i>S. aureus</i> ATCC-25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC-25853	<i>C. albicans</i> ATCC-60193	<i>C. albicans</i> LM-92	<i>C. tropicalis</i> ATCC-13803	<i>C. tropicalis</i> LM-18	<i>A. flavus</i> LM-714	<i>A. niger</i> LM-108	<i>A. fumigatus</i> ATCC-40640	<i>A. fumigatus</i> IPP-210
E-01	+	+	256	1024	1024	1024	+	256	256	256
E-02	+	+	256	1024	1024	1024	+	256	256	256
E-03	+	+	1024	256	1024	256	+	256	+	+
E-03i	+	+	1024	1024	512	512	+	256	+	+
E-04	+	+	1024	1024	1024	1024	1024	256	+	1024
E-04i	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+	+	512
E-05	+	+	1024	512	1024	1024	+	+	+	+
E-05i	+	+	256	**	1024	1024	+	+	256	+
E-06	+	+	256	1024	1024	1024	+	+	+	+
E-06c	+	+	1024	1024	1024	1024	+	+	+	1024
E-08	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E-12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Meio de cultura	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anfotericina B	x	x	-	-	-	-	-	-	-	-
Gentamicina	-	-	x	x	x	x	x	x	x	x

(+):Crescimento do micro-organismo |(-):Não houve crescimento microbiano |(x):Não se aplica | (**):Substância não testada

De maneira geral, os compostos finais **E(01-12)** se mostraram mais ativos frente a um maior número de cepas que seus respectivos intermediários **IE(01-12)**. A inatividade dos compostos **E-08**, **E-10** e **E-12** pode estar relacionada aos seus altos valores de lipofilicidade. Conforme visto no resultado do estudo *in silico* (Tabela 10, pág. 88), apenas esses diésteres apresentaram valores de lipofilicidade (clogP) superiores a 5. Se um fármaco é muito lipofílico ele pode se ligar muito fortemente às proteínas plasmáticas, ficando incapaz de alcançar o meio intracelular, e assim a concentração plasmática de fármaco livre diminui, o que pode reduzir a sua potência/eficácia.¹⁰⁰

Dentre todos os compostos testados, apenas os compostos **IE-06**, **IE-06c**, **IE-08** e **IE-10** apresentaram atividade bacteriana frente às cepas de *S. aureus* (ATCC-25293 e LM-177).

5.4.3 Estudos de toxicidade não clínica aguda e atividade antitumoral *in vivo* do DE-07

5.4.3.1 Resultados da toxicidade não clínica aguda em camundongos

O ensaio de toxicidade não clínica aguda em camundongos foi realizado de acordo com o “Guideline for testing of chemicals” nº 423 da OECD (Anexo III, pág 234). Camundongos, três fêmeas por grupo, foram submetidos a doses 2000 mg/kg e 300 mg/kg do **DE-07**, via intraperitoneal (i.p.), e ao grupo controle (n=3) foi administrado apenas o veículo (Tween 80 a 12%).

Na primeira etapa foi feita a administração de 2000 mg/kg do **DE-07**, o que causou a morte de dois dos três animais experimentais. Seguindo o guia nº 423 da OECD realizou-se a administração da dose de 300 mg/kg que não provocou morte de nenhum dos animais. Novamente, seguindo a referida guia da OECD, foi realizada a repetição da administração da dose de 300 mg/kg, em três outros animais experimentais, que novamente não causou morte de nenhum animal. Desta forma, a dose letal média (DL₅₀) do **DE-07** em camundongos albinos Swiss foi estimada em torno de 1000 mg/kg e, segundo o “Globally Harmonized Classification System” (GHS), essa molécula foi classificada na Categoria 4, podendo ser considerado como um composto de baixa toxicidade aguda. A Tabela 17 mostra os resultados do ensaio de toxicidade não clínica aguda *in vivo* do composto **DE-07**.

Tabela 17- Efeitos da administração i.p. de doses unicas de **DE-07** em camundongos

Grupos		Morte/Tratado
Controle		0/3
2000 mg/kg		2/3
Controle	Experimento 1	0/3
300 mg/kg		0/3
Controle	Experimento 2	0/3
300 mg/kg		0/3

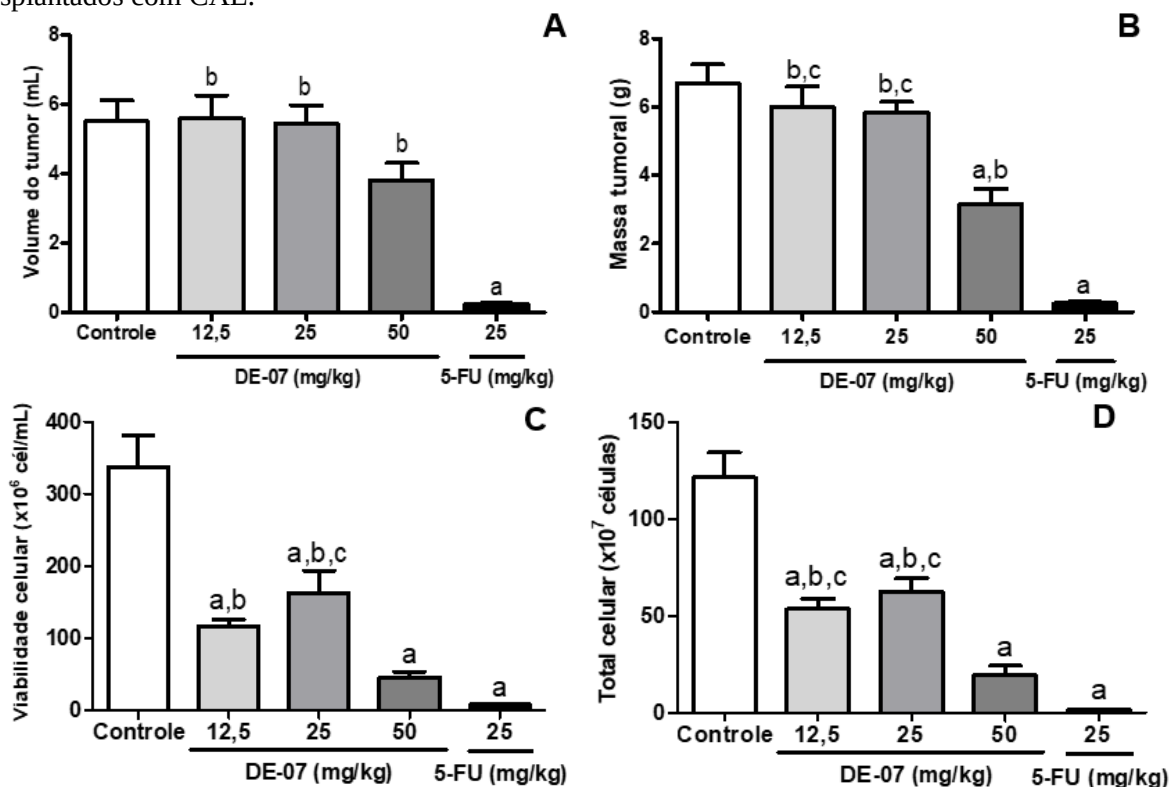
Esse resultado permite inferir que o composto **DE-07** é consideravelmente menos tóxico, em ensaio de toxicidade não clínica aguda em camundongos, do que seu precursor, nesse caso a piperina. A literatura relata que a dose letal média (DL_{50}) da piperina em fêmeas de camundongos albinos Swiss via intraperitoneal é $DL_{50} = 60 \text{ mg/kg}$,¹⁰¹ e o derivado **DE-07** apresentou $DL_{50} = 1000 \text{ mg/kg}$. Os resultados obtidos mostraram que a substituição do anel piperidina da piperina por um diéster produziu um composto com menor toxicidade.

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

Para avaliação do efeito antitumoral do composto **DE-07**, em modelo de Carcinoma Ascítico de Ehrlich, foram analisados os parâmetros de massa tumoral, volume do tumor, viabilidade celular e total celular. O **DE-07** foi utilizado nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg de animal, e como droga padrão foi utilizado o 5-fluorouracil (5-FU) na dose de 25 mg/kg de animal. A Figura 9 mostra os resultados dos parâmetros avaliados para o composto **DE-07**.

Em relação ao parâmetro volume tumoral, não foi observada diminuição significativa nos animais tratados com **DE-07** em nenhuma das doses avaliadas em comparação ao grupo controle. Contudo, apesar desse resultado, uma redução significativa do parâmetro massa tumoral foi observado no grupo tratado com 50 mg/kg de **DE-07**. Para os parâmetros viabilidade celular e total celular, foi observado diminuição significativa, em relação ao grupo controle, nos animais tratados com **DE-07** nas três doses avaliadas. Esses resultados permitem inferir que o **DE-07**, no modelo experimental avaliado, apresenta significativa atividade antitumoral *in vivo*.

Figura 9- Efeito do tratamento com **DE-07** (50 mg/kg) e 5-FU (25 mg/kg) em camundongos transplantados com CAE.



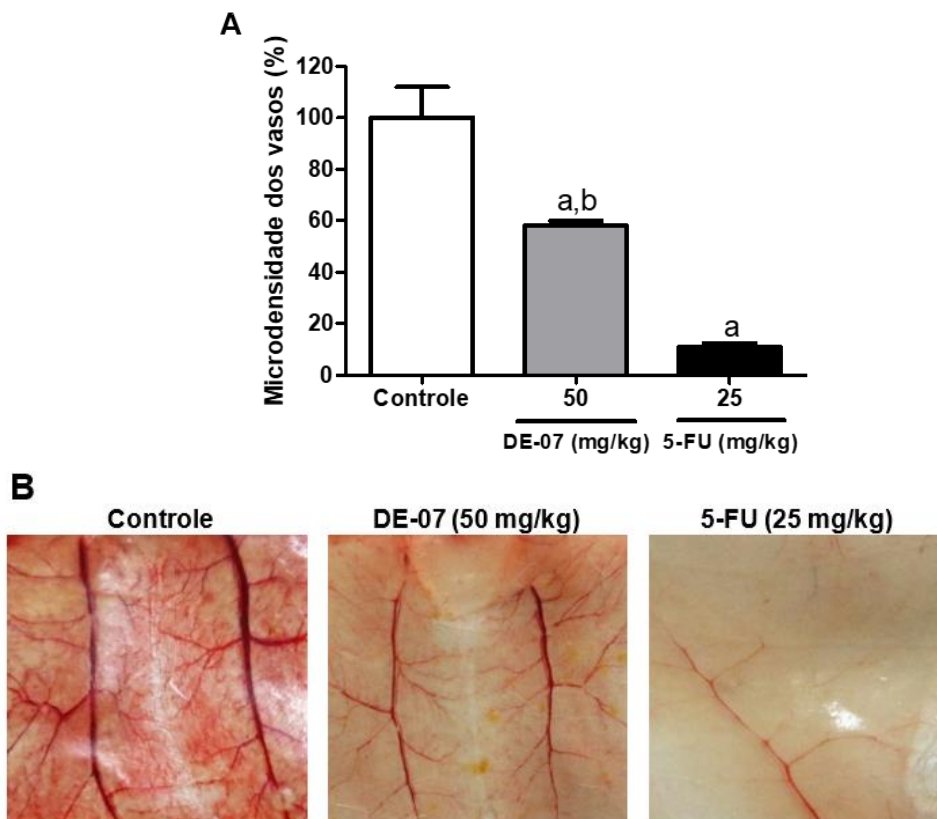
A: massa tumoral. B: volume tumoral. C: viabilidade celular. D: total celular. Dados apresentados como média $\pm$ erro padrão da média de seis animais analisados por ANOVA seguido de Tukey. ^a $p < 0,05$ comparado ao grupo controle; ^b $p < 0,05$ comparado ao grupo tratado com 5-FU; ^c $p < 0,05$ comparado ao grupo tratado com **DE-07** (50 mg/kg).

5.4.3.3 Atividade antiangiogênica do composto DE-07

A dose de 50 mg/kg foi selecionada para a investigação de um dos possíveis mecanismos de ação antitumoral do composto **DE-07** (inibição da angiogênese), considerando que essa foi a dose que apresentou efeito máximo.

Observou-se redução significativa na microdensidade dos vasos no grupo tratado com **DE-07**, quando comparado ao grupo controle. Os resultados apresentados na Figura 10 mostram que o **DE-07** apresenta ação antiangiogênica.

Figura 10- Efeito do tratamento com **DE-07** (50 mg/kg) e do **5-FU** (25 mg/kg) na microdensidade vascular peritoneal de camundongos transplantados com CAE.



A: A microdensidade vascular (%) foi determinada pela área ocupada por vasos sanguíneos dividido pela área total selecionada. As figuras foram cortadas em tamanho padrão (1 cm × 1 cm). **B:** Imagens representativas da inibição da angiogênese peritoneal após tratamento com **DE-07** e **5-FU**. Dados apresentados como média ± erro padrão da média de seis animais analisados por ANOVA seguido por Tukey. ^a $p < 0,05$ comparado ao controle.

Na investigação dos possíveis mecanismos de ação antitumoral do **DE-07**, foi evidenciado que a molécula teste induz inibição da angiogênese tumoral, o estresse oxidativo e modulação da resposta inflamatória no microambiente tumoral.¹⁰²

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1 Conclusões

Os objetivos propostos neste trabalho foram alcançados, assim podemos inferir que:

- ✓ A utilização da piperina, extraída da pimenta-do-reino, como precursor na síntese de novas moléculas, se mostrou altamente versátil e acessível, sendo possível a obtenção do ácido pipérico em bom rendimento;
- ✓ Os produtos intermediários e finais foram obtidos com rendimentos entre 50 e 93%, e a rota sintética utilizada se mostrou simples e eficaz;
- ✓ Foram sintetizados 30 cloro-ésteres intermediários, sendo destes, 7 moléculas inéditas;
- ✓ Foram sintetizados 30 diésteres derivados da piperina, sendo todas estruturas inéditas na literatura;
- ✓ As estruturas químicas dos compostos sintetizados foram elucidadas por meio de técnicas espectroscópicas de infravermelho, RMN (^1H e ^{13}C) e RMN 2D (COSY, HSQC e HMBC);
- ✓ Os resultados dos estudos *in silico* mostraram que a maioria dos compostos satisfazem os parâmetros da regra dos cinco de Lipinski, tendo teoricamente boa biodisponibilidade oral;
- ✓ A avaliação antimicrobiana dos compostos intermediários mostrou que, apesar de grande parte das substâncias se mostrarem ineficaz, algumas se mostraram ativas contra boa parte dos micro-organismos testados, das quais a substância **IE-06c** mostrou maior espectro de atividade com uma CIM considerada moderada;
- ✓ Os resultados da avaliação antimicrobiana dos compostos finais mostrou que 18 dos 28 compostos avaliados apresentaram atividade, inibindo o crescimento de 40 a 80% das cepas testadas, com uma CIM variando de 1024 a 256 $\mu\text{g/mL}$. Boa parte destas substâncias foram ativas principalmente contra os fungos leveduriformes. Contudo, nenhum dos compostos finais apresentou atividade frente as cepas bacterianas testadas;
- ✓ O composto **DE-06** apresentou ação antimicrobiana mais abrangente, inibindo 80% dos micro-organismos testados com uma CIM considerada ótima. Ressalta-se que essa substância inibiu 100% das espécies fúngicas avaliadas, atestando grande potencial antifúngico;
- ✓ O composto **DE-07** teve a dose letal média (DL_{50}) estimada em 1000 mg/kg, sendo considerado um composto de baixa toxicidade aguda;
- ✓ O resultado da avaliação do efeito antitumoral *in vivo* do composto **DE-07**, em modelo de carcinoma ascítico de Ehrlich (CAE), mostrou uma redução significativa da massa tumoral e dos parâmetros viabilidade e total celular; tais resultados permitem inferir que o composto, no modelo experimental avaliado, apresenta significativa atividade antitumoral *in vivo*, com mecanismos antiangiogênicos, imunomoduladores e de indução do estresse oxidativo.

6.2 Perspectivas

- ✓ Realizar estudos de Relação Estrutura Atividade (REA) dos compostos sintetizados;
- ✓ Disponibilizar os novos compostos sintetizados para grupos de pesquisa na área farmacológica, com o intuito de avaliar novas atividades biológicas para estes compostos;
- ✓ Investigar a atividade antileishmania *in vitro* dos diésteres sintetizados;
- ✓ Investigar a atividade anticâncer *in vitro* dos diésteres sintetizados;
- ✓ Submeter os compostos finais a estudos de toxicidade *in vivo*;

CAPÍTULO 7

METODOLOGIA

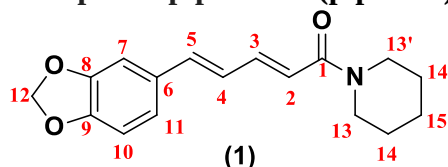
7. METODOLOGIA

7.1 Equipamentos

Todas as sínteses para obtenção dos compostos foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Bioenergia e Síntese Orgânica (LPBS – UFPB). Os espectros na região de infravermelho (IV) foram realizados no Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM – UFPB) utilizando um espectrômetro marca Shimadzu, modelo IR Prestige-21, com um acessório ATR (reflexão total atenuada). Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C e RMN 2D (COSY, HSQC e HMBC) foram realizados no LMCA (Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise da UFPB) utilizando o espectrômetro de marca Varian, modelo Mercury (400 MHz e 500 MHz para ^1H e 101 e 126 MHz para ^{13}C). Para a solubilização das amostras foram utilizados os solventes clorofórmio deuterado (CDCl_3) e dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$).

7.2 Obtenção dos compostos intermediários

7.2.1 Isolamento da amida 1-Piperoil-piperidina (piperina) (1)



Numa aparelhagem de Soxhlet foram adicionados 100 g de pimenta-do-reino e 1000 mL de etanol 95%. O sistema foi mantido em refluxo por aproximadamente 10 horas. Após concentrar o extrato no rotaevaporador, foi adicionado ao mesmo 100 mL de uma solução alcoólica de KOH 10% e em seguida filtrou-se o material precipitado. Foi adicionada à solução alcoólica uma pequena quantidade de água até 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 e lavado com uma pequena quantidade de água gelada e éter etílico gelado. Foram obtidos 3,5g de piperina com rendimento de 3,5%. P.F: 126-128°C (Lit.⁶⁶: 125-127°C).

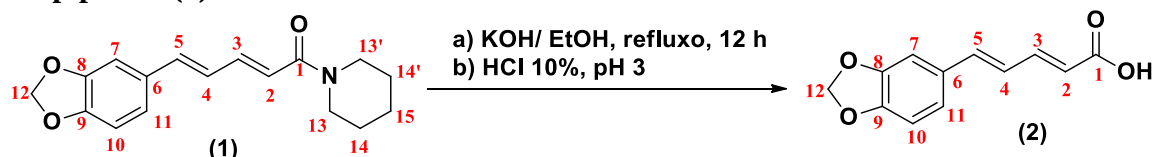
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 2939 ($\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$); 1631 ($\text{C}=\text{O}$); 1581-1442 ($\text{C}=\text{C}_{\text{Ar}}$); 1249 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$); 930 ($\text{C}-\text{H}_{\text{Ar}}$).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,40 (ddd, $J = 14,7, 8,9, 1,2$ Hz, 1H, H-3), 6,95 (s, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-7), 6,86 (dd, $J = 8,1, 1,7$ Hz, 1H, H-11), 6,76 – 6,66 (m, 3H, H-4, H-5, H-10), 6,41 (d, $J = 14,6$ Hz, 1H, H-2), 5,94 (s, 2H, H-2), 3,60 – 3,48 (m, 4H, H-13, H-13'), 1,64 (m, 2H, H-15), 1,59 – 1,53 (m, 4H, H-14, H-14').

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): 165,5 (C-1), 148,2 (C-9), 148,1 (C-8), 142,8 (C-3), 138,4 (C-5), 130,9 (C-6), 125,3 (C-4), 122,5 (C-11), 119,7 (C-2), 108,4 (C-10), 105,6 (C-7), 101,3 (C-12), 46,3 (C-13, C-13'), 26,1 (C-14, C-14'), (C-15) 24,6.

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



Em um balão de 50 mL adicionou-se de 2,20 g (7,72 mmol) de piperina e 22 mL de solução etanólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida sob refluxo e agitação por 20 horas. Após o término da reação, a mistura foi filtrada, lavada com etanol e seca. O precipitado formado foi solubilizado em água e acidificado com solução de HCl 10% até o pH 3. O precipitado formado com a uma coloração amarelada foi filtrado, lavado com água, seco e recristalizado em etanol. Desta forma foram obtidos 1,67g com 94,5% de rendimento. P.F: 217-218°C (Lit.:³⁰ 216-217 °C)

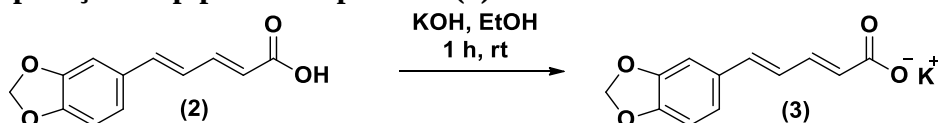
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3448 (O-H), 2922 (C-H_{Alif.}), 1676 (C=O), 1604 – 1419 (C=C_{Ar.}), 1255 (O-CH₂-O), 927 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): δ 12,20 (s, 1H, O-H), 7,36 – 7,26 (m, 1H, H-3), 7,23 (s, 1H, H-7), 7,03 – 6,89 (m, 4H, H-4, H-5, H-11, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,93 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2).

RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz, δ ppm): 168,1 (C-1), 148,5 (C-9), 148,4 (C-8), 145,1 (C-3), 140,2 (C-5), 130,9 (C-6), 125,3 (C-4), 123,5 (C-11), 121,5 (C-2), 108,4 (C-10), 106,1 (C-7), 101,8 (C-12).

7.2.3 Preparação do piperato de potássio (3)

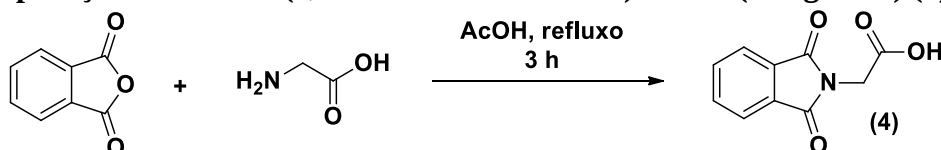


Uma solução etanólica de hidróxido de potássio (10 mmol) foi adicionada lentamente em uma solução etanólica de ácido pipérico (10 mmol). A mistura reacional ficou sob agitação constante em temperatura ambiente por 1h. O sólido obtido foi filtrado e seco. Rendimento: 93%.

Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3022 (C-H_{Ar.}), 2908 (C-H_{Alif.}), 1550 (C=O), 1500 – 1448 (C=C_{Ar.}), 1255 (C-O).

7.2.4 Preparação do ácido 2-(1,3-dioxisoindolin-2-ila)acético (Ftalglicina) (4)



Uma solução de anidrido ftálico (5 mmol) e glicina (5 mmol) em ácido acético glacial foi agitada sob refluxo por 6h. Após esse tempo o solvente foi evaporado a pressão reduzida e

o resíduo sólido foi lavado com água destilada, filtrado, seco e recristalizado em etanol:água (1:1). Rendimento: 80%, P.F: 189-190°C.

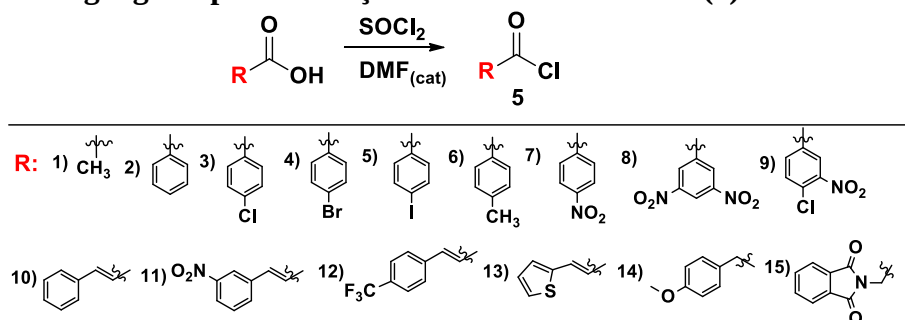
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3475 (OH), 3099 – 3051 ($\text{C-H}_{\text{Ar.}}$), 2985 – 2872 ($\text{C-H}_{\text{Alif.}}$), 1770 – 1718 (C=O), 1612 – 1467 ($\text{C=C}_{\text{Ar.}}$).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): δ 13,25 (s, 1H), 7,92 (dt, $J = 7,1, 3,7$ Hz, 2H), 7,89 – 7,85 (m, 2H), 4,32 (s, 2H).

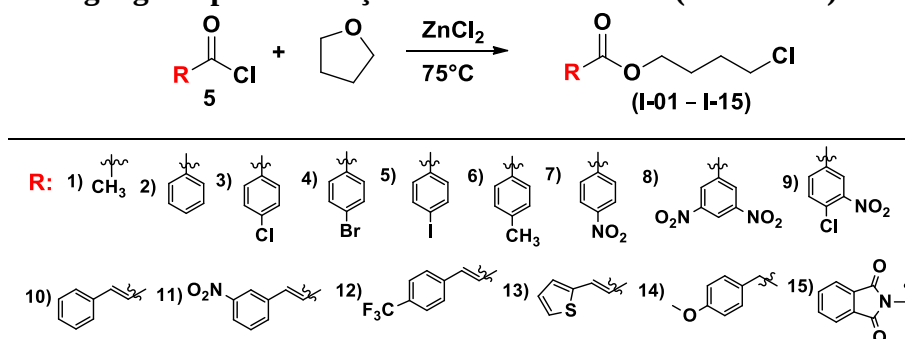
RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz, δ ppm): δ 168,9, 167,2, 134,8, 131,4, 123,4, 38,9.

7.2.5 Metodologia geral para obtenção dos cloretos de ácido (5)



Em um balão de 50 mL acoplado com condensador e tubo secante (CaCl_2), adicionou-se rapidamente 2,0 mL de cloreto de tionila a 15 mmols do ácido carboxílico correspondente e DMF catalítico. A mistura foi mantida em refluxo e agitação, o tempo de reação variou de 2 a 6 horas. Em seguida o excesso de SOCl_2 foi rotoevaporado e lavado com diclorometano. Obtendo-se os cloretos de ácido correspondentes que foram utilizados *in situ* na próxima etapa da síntese.

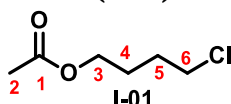
7.2.6 Metodologia geral para obtenção dos δ -cloro-ésteres (I-01 – I-15)



A metodologia para obtenção dos δ -cloro-ésteres foi baseada na literatura de Enthaler & Weidauer⁷⁷. Em um balão de 25 mL foi adicionado 10 mL de THF, 0,0136 g de ZnCl_2 (0,1 mmol) e 10 mmol dos respectivos cloretos de ácidos (5). A mistura foi agitada e aquecida a temperatura de 75 °C e acompanhada por CCD. Em seguida a mistura foi esfriada e o solvente rotoevaporado. O resíduo foi dissolvido em diclorometano (30 mL) e transferido para um funil de separação, lavado com água destilada (3 x 30 mL), a fase orgânica foi separada e

lavada com solução saturada de NaHCO_3 (3 x 30 mL), água destilada (3 x 30 mL), solução de NaCl (3 x 30 mL), alternando-as durante o processo. Até obtenção de pH próximo de 7 para certificar a ausência de ácido ou base. A fase orgânica foi tratada com Na_2SO_4 anidro para eliminar resquícios de água, então o solvente foi rotaevaporado. O produto foi purificado em coluna cromatográfica utilizando como eluente: hexano/diclorometano.

➤ **Síntese do acetato de 4-cloro butila (I-01).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 30 mL de THF, 0,041 g (0,3 mmol) de ZnCl_2 e 3,39 g de cloreto de acetila (30 mmol). Obtendo um líquido incolor (4,1 g) com 90,5 % de rendimento.

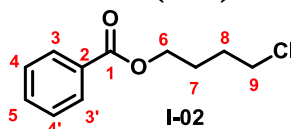
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1735 (C=O), 1234, 1041 (C-O), 1365, 650 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,07 (t, 2H, H-3), 3,54 (t, 2H, H-6), 2,02 (s, 3H, H-2), 1,90 – 1,71 (m, 4H, H-4, H-5).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 171,1 (C-1), 63,6 (C-3), 44,5 (C-6), 29,2 (C-5), 26,1 (C-4), 20,9 (C-2).

➤ **Síntese do benzoato de 4-cloro-butila (I-02).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 2,8 g de cloreto de benzoíla (20 mmol). Obtendo um líquido incolor (3,92 g) com 92,3 % de rendimento.

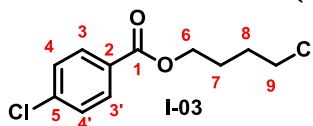
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1716 (C=O), 1271, 1070 (C-O), 1112, 709 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 8,03 (dd, $J = 8,4, 1,3$ Hz, 2H, H-3, H-3'), 7,55 (t, $J = 7,4$ Hz, 1H, H-5), 7,43 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, H-4, H-4'), 4,35 (t, 2H, H-6), 3,60 (t, 2H, H-9), 2,00 – 1,87 (m, 4H, H-4, H-5).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,5 (C-1), 133,0 (C-5), 130,2 (C-2), 129,5 (C-3, C-3'), 128,4 (C-4, C-4'), 64,1 (C-6), 44,5 (C-9), 29,3 (C-8), 26,2 (C-7).

➤ **Síntese do (4-cloro)-benzoato de 4-cloro-butila (I-03).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 3,48 g de cloreto de 4-cloro benzoíla (20 mmol). Obtendo um líquido incolor (4,2 g) com 85,5 % de rendimento.

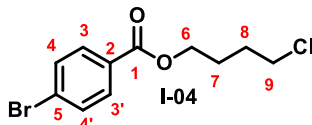
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1718(C=O), 1269, 1014(C-O), 1116, 759(C-Cl), 1089(C_{Ar}-Cl).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): δ 7,94 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-3, H-3'), 7,38 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-4, H-4'), 4,33 (t, 2H, H-6), 3,58 (t, 2H, H-9), 2,00 – 1,78 (m, 4H, H-8, H-7).

RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz, δ ppm): δ 165,6 (C-1), 139,4 (C-5), 130,9 (C-3, C-3'), 128,7 (C-4, C-4'), 128,7 (C-2), 64,4 (C-6), 44,4 (C-9), 29,2 (C-8), 26,1 (C-7).

➤ **Síntese do (4-bromo)-benzoato de 4-cloro-butila (I-04).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl₂ e 4,35 g de cloreto de 4-bromo benzoíla (20 mmol). Obtendo um líquido incolor (4,71 g) com 80,8 % de rendimento.

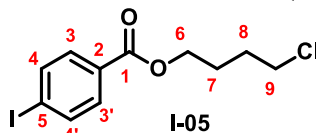
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1718(C=O), 1267, 1010(C-O), 1114, 756(C-Cl), 1010(C_{Ar}-Br).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): δ 7,88 (d, J = 8,7 Hz, 2H, H-4, H-4'), 7,56 (d, J = 10,9 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4,34 (t, 2H, H-6), 3,59 (t, 2H, H-9), 1,96 – 1,89 (m, 4H, H-8, H-7).

RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz, δ ppm): δ 165,8 (C-1), 131,8 (C-3, C-3'), 131,1 (C-4, C-4'), 129,2 (C-2), 128,1 (C-5), 64,4 (C-6), 44,5 (C-9), 29,3 (C-8), 26,2 (C-7).

➤ **Síntese do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro-butila (I-05).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de THF, 0,0136 g (0,1 mmol) de ZnCl₂ e 2,66 g de cloreto de 4-iodo benzoíla (10 mmol). Obtendo um líquido incolor (2,52 g) com 74,5 % de rendimento.

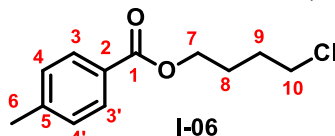
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1716 (C=O), 1265, 1101 (C-O), 1114, 752 (C-Cl).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): δ 7,80 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-4, H-4'), 7,73 (d, J = 8,6 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4,34 (t, 2H, H-6), 3,60 (t, 2H, H-9), 2,00 – 1,84 (m, 4H, H-8, H-7).

RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz, δ ppm): δ 166,1 (C-1), 137,8 (C-4, C-4'), 131,1 (C-3, C-3'), 129,7 (C-2), 100,8 (C-5), 64,5 (C-6), 44,5 (C-9), 29,3 (C-8), 26,2 (C-7).

➤ **Síntese do (4-metil)-benzoato de 4-cloro-butila (I-06).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl₂ e 3,08 g de

cloreto de 4-metil benzoíla (20 mmol). Obtendo um líquido incolor (3,79 g) com 83,8 % de rendimento.

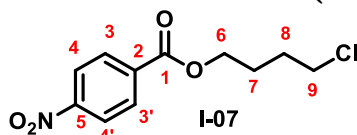
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1712 (C=O), 1271, 1107 (C-O), 1176, 752 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,92 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H-3, H-3'), 7,23 (d, J = 8,0 Hz, 2H, H-4, H-4'), 4,34 (t, 2H, H-7), 3,61 (t, 2H, H-10), 2,40 (s, 3H, H-6), 1,94 (m, 4H, H-9, H-8).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,7 (C-1), 143,7 (C-5), 129,6 (C-3, C-3'), 129,2 (C-4, C-4'), 127,5 (C-2), 64,0 (C-7), 44,6 (C-10), 29,4 (C-9), 26,3 (C-8), 21,7 (C-6).

➤ **Síntese do (4-nitro)-benzoato de 4-cloro-butila (I-07).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 30 mL de THF, 0,0408 g (0,3 mmol) de ZnCl_2 e 5,55 g de cloreto de 4-nitro benzoíla (30 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (6,95 g) com 90 % de rendimento.

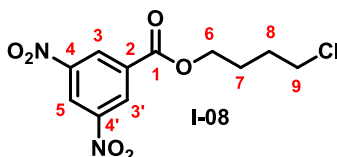
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1720 (C=O), 1269, 1103 (C-O), 1525, 1348 (N=O), 1118, 717 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 8,26 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-4, H-4'), 8,18 (d, J = 9,0 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4,40 (t, 2H, H-6), 3,60 (t, 2H, H-9), 2,06 – 1,82 (m, 4H, H-8, H-7).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz, δ ppm): 164,6 (C-1), 150,6 (C-5), 135,6 (C-2), 130,7 (C-3, C-3'), 123,6 (C-4, C-4'), 65,1 (C-6), 44,4 (C-9), 29,2 (C-8), 26,1 (C-7).

➤ **Síntese do (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro-butila (I-08).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 4,61 g de cloreto de 3,5-dinitro benzoíla (20 mmol). Obtendo um sólido amarelo pálido (5,6 g) com 92,4 % de rendimento. P.F (39-40°C).

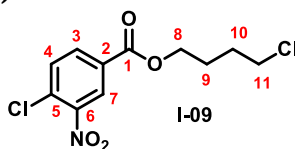
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1724 (C=O), 1271, 1076 (C-O), 1548, 1340 (N=O), 1164, 717 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 9,20 (s, J = 2,2 Hz, 1H, H-5), 9,13 (d, J = 1,7 Hz, 2H, H-3, H-3'), 4,50 (t, 2H, H-6), 3,63 (t, 2H, H-9), 1,99 (m, 4H, H-8, H-7).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 162,5 (C-1), 148,7 (C-4, C-4'), 133,9 (C-2), 129,4 (C-3, C-3'), 122,5 (C-5), 66,2 (C-6), 44,3 (C-9), 29,0 (C-8), 26,0 (C-7).

➤ **Síntese do (4-cloro-3-nitro)-benzoato de 4-cloro-butila (I-09).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 4,4 g de cloreto de 4-cloro-3-nitro benzoíla (20 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (4,65 g) com 79,5 % de rendimento.

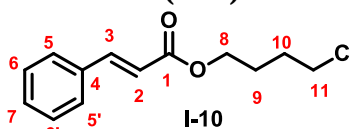
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1722 (C=O), 1280, 1111 (C-O), 1537, 1352 (N=O), 1153, 746 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 8,47 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-7), 8,15 (dd, $J = 8,4$, 2,0 Hz, 1H, H-3), 7,64 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-4), 4,40 (t, 2H, H-8), 3,60 (t, 2H, H-11), 2,03 – 1,83 (m, 4H, H-10, H-9).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 163,7 (C-1), 148,0 (C-6), 133,6 (C-3), 132,2 (C-7) 131,7 (C-5), 130,2 (C-4), 126,6 (C-2), 65,4 (C-8), 44,4 (C-11), 29,1 (C-10), 26,1 (C-9).

➤ **Síntese do cinamato de 4-cloro-butila (I-10).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 3,3 g de cloreto de cinamoíla (20 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (2,90 g) com 60,8 % de rendimento.

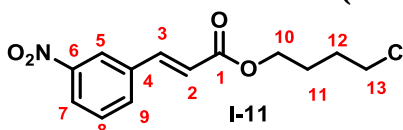
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1706 (C=O), 1309, 1165 (C-O), 1278, 767 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7,69 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-3), 7,52 (dd, $J = 6,6$, 3,0 Hz, 2H, H-5, H-5'), 7,43 – 7,35 (m, 3H, H-6, H-6', H-7), 6,43 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-2), 4,24 (t, 2H, H-8), 3,59 (t, 2H, H-12), 1,97–1,82 (m, 4H, H-10, H-9).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,9 (C-1), 144,9 (C-3), 134,4 (C-4), 130,4 (C-7) 128,9 (C-6, C-6'), 128,1 (C-5, C-5'), 118,0 (C-2), 63,7 (C-8), 44,5 (C-11), 29,2 (C-10), 26,2 (C-9).

➤ **Síntese do (3-nitro)-cinamato de 4-cloro-butila (I-11).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 4,22 g de cloreto de (3-nitro)-cinamoíla (20 mmol). Obtendo um sólido de coloração amarela (3,64 g) com 64,2 % de rendimento. P.F. (41-43 °C).

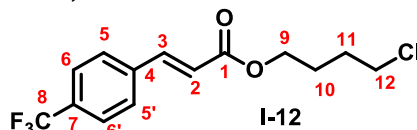
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1708 (C=O), 1323, 1176 (C-O), 1529, 1350 (N=O), 1205, 744 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 8,33 (t, $J = 1,9$ Hz, 1H, H-5), 8,18 (dd, $J = 7,8$, 1,8 Hz, 1H, H-7), 7,80 (d, $J = 7,7$ Hz, 1H, H-9), 7,67 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-3), 7,56 (t, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-8), 6,52 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-2), 4,23 (t, 2H, H-10), 3,57 (t, 2H, H-13), 1,94 – 1,81 (m, 4H, H-12, H-11).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz, δ ppm): δ 166,0 (C-1), 148,6 (C-6), 141,9 (C-3), 136,1 (C-4), 133,6 (C-9), 130,0 (C-8), 124,5 (C-7), 122,4 (C-5), 121,1 (C-2), 64,0 (C-10), 44,5 (C-13), 29,1 (C-11), 26,1 (C-12).

➤ **Síntese do (4-triflour-metil) cinamato de 4-cloro-butila (I-12).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 5 mL de THF, 0,007 g (0,05 mmol) de ZnCl_2 e 1,2 g de cloreto de (4-triflourmetil)-cinamoíla (5 mmol). Obtendo um líquido incolor (0,85 g) com 55,7 % de rendimento.

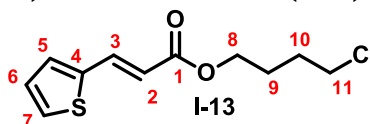
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1714 (C=O), 1166, 1066 (C-O), 1321 (C-F), 1282, 831 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,68 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-3), 7,65 – 7,57 (m, 4H, H-5, H-5', H-6, H-6'), 6,50 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, H-2), 4,25 (t, 2H, H-9), 3,59 (t, 2H, H-12), 2,02 – 1,77 (m, 4H, H-11, H-10).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz, δ ppm): δ 166,4 (C-1), 143,0 (C-3), 137,8 (C-4), 131,8 (C-7), 128,2 (C-5, C-5'), 125,9 (C-6, C-6'), 125,0 (C-8), 122,8 (C-2), 120,6 (C-2), 64,0 (C-9), 44,5 (C-12), 29,2 (C-11), 26,2 (C-10).

➤ **Síntese do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro-butila (I-13).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 3,3 g de cloreto de 3-(2-tienil-acritila) (20 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (2,90 g) com 60,8 % de rendimento.

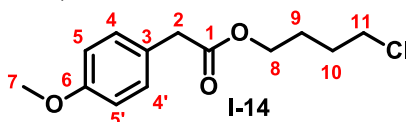
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1705 (C=O), 1157, 1043 (C-O), 1201, 704 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,78 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H, H-3), 7,37 (d, $J = 5,1$ Hz, 1H, H-7), 7,25 (d, $J = 3,6$ Hz, 1H, H-5), 7,05 (dd, $J = 5,1$, 3,6 Hz, 1H, H-6), 6,23 (d, $J = 15,7$ Hz, 1H, H-2), 4,22 (t, 2H, H-8), 3,59 (t, 2H, H-11), 2,00 – 1,79 (m, 4H, H-10, H-9).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,8 (C-1), 139,5 (C-4), 137,4 (C-3), 131,0 (C-7), 128,6 (C-5), 128,1 (C-6), 116,7 (C-2), 63,7 (C-8), 44,5 (C-11), 29,2 (C-10), 26,2 (C-9).

➤ Síntese do 2-(4-metóxfenil)-acetato de 4-cloro-butila (I-14).



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 3,7 g de cloreto de 4-metóxi-fenil acetila (20 mmol). Obtendo um líquido de coloração laranja (3,35 g) com 65,3 % de rendimento.

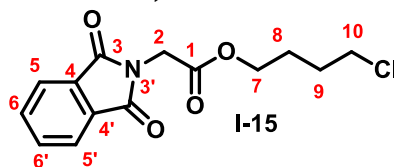
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1732 (C=O), 1246, 1031 (C-O), 1152, 819 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,19 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-5, H-5'), 6,85 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-4', H-4'), 4,11 (t, 2H, H-8), 3,78 (s, 3H, H-7), 3,55 (s, 2H, H-2), 3,50 (t, 2H, H-11), 1,81 – 1,74 (m, 4H, H-10, H-9).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz, δ ppm): δ 171,8 (C-1), 158,7 (C-6), 130,2 (C-4, C-4'), 126,1 (C-3) 114,0 (C-5, C-5'), 63,9 (C-8), 55,2 (C-7), 44,4 (C-11), 29,1 (C-10), 26,0 (C-9).

➤ Síntese do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro-butila (I-15).



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 20 mL de THF, 0,027 g (0,2 mmol) de ZnCl_2 e 4,5 g de cloreto de 2-(1,3-dioxoisindolinil) acetila (20 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarelo claro (4,0 g) com 67,6 % de rendimento.

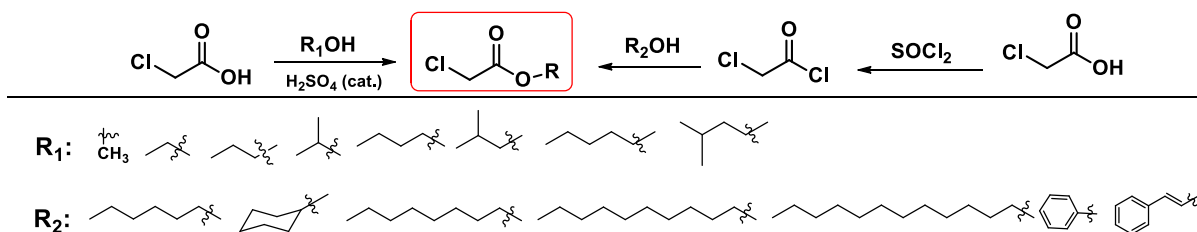
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1749, 1718 (C=O), 1193, 1112 (C-O), 1392, 713 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,92 – 7,81 (m, 2H, H-5, H-5'), 7,78 – 7,65 (m, 2H, H-6, H-6'), 4,42 (s, 2H, H-2), 4,18 (t, 2H, H-7), 3,52 (t, 2H, H-10), 1,90 – 1,74 (m, 4H, H-8, H-9).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 167,3 (C-3, C-3'), 134,4 (C-6, C-6'), 132,0 (C-4, C-4'), 123,7 (C-5, C-5'), 66,0 (C-7), 44,3 (C-10), 38,9 (C-2), 28,9 (C-9), 25,9 (C-8).

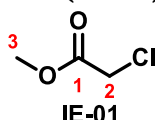
7.2.7 Metodologia para obtenção dos α -cloro acetatos substituídos (IE-01 a IE-15)



7.2.7.1 Obtenção dos α -cloro acetatos utilizando esterificação de Fisher

Metodologia geral: A mistura de ácido cloroacético (20 mmol), 60 mL do respectivo álcool (metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, isobutanol, pentanol e isopentanol) e 1 mL de ácido sulfúrico concentrado foi submetida a refluxo por 6 horas. Após este tempo, o excesso de solvente foi rota-evaporado e o resíduo vertido em água gelada. O resíduo foi transferido para um funil de separação contendo 250 mL de água e em seguida adicionou-se 100 mL de éter etílico. A fase orgânica foi separada e lavada repetidas vezes com uma solução de NaHCO_3 (10 %) até pH neutro e em seguida seca com NaSO_4 anidro. O éter foi rotaevaporado, obtendo os respectivos ésteres.

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de metila (IE-01).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e metanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (1,95 g) com 89,5 % de rendimento.

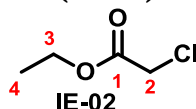
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1753 (C=O), 1317, 1199 (C-O), 1172, 788 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,05 (s, 2H, H-2), 3,78 (s, 3H, H-3).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,8 (C-1), 53,1 (C-3), 40,7 (C-2).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de etila (IE-02).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e etanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,3 g) com 93,2 % de rendimento.

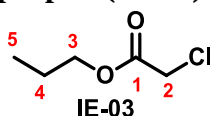
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1753 (C=O), 1311, 1166 (C-O), 1266, 761 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,22 (q, 2H, H-3), 4,03 (s, 2H, H-2), 1,27 (t, 3H, H-4).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,4 (C-1), 62,3 (C-3), 41,0 (C-2), 14,1 (C-4).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de propila (IE-03).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e propanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,52 g) com 92,5 % de rendimento.

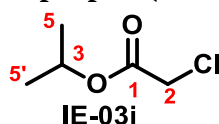
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1755 (C=O), 1359, 1184 (C-O), 1290, 788 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,12 (t, 2H, H-3), 4,04 (s, 2H, H-2), 1,73 – 1,62 (hex, 2H, H-4), 0,93 (t, 3H, H-5).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,4 (C-1), 67,8 (C-3), 41,0 (C-2), 21,9 (C-4), 10,2 (C-5).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de isopropila (IE-03i).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e isopropanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,32 g) com 85 % de rendimento.

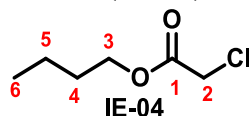
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1751 (C=O), 1307, 1103 (C-O), 1184, 840 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 5,07 (hept, 1H, H-3), 4,00 (s, 2H, H-2), 1,26 (d, 6H, H-4, H-4').

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,9 (C-1), 70,2 (C-3), 41,3 (C-2), 21,7 (C-5, C-5').

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de butila (IE-04).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e butanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,46 g) com 81,6 % de rendimento.

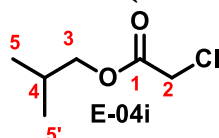
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1757 (C=O), 1309, 1182 (C-O), 1288, 785 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,17 (t, 2H, H-3), 4,04 (s, 2H, H-2), 1,67 – 1,59 (qt, 2H, H-4), 1,37 (sext, 2H, H-5), 0,92 (t, 3H, H-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 66,2 (C-3), 41,0 (C-2), 30,5 (C-4), 19,0 (C-5), 13,7 (C-6).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de isobutila (IE-04i).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e isobutanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,28 g) com 75,5 % de rendimento.

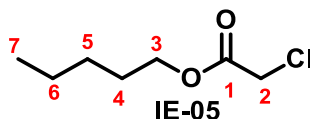
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1757 (C=O), 1311, 1188 (C-O), 1290, 766 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,05 (s, 2H, H-3), 3,95 (d, 2H, H-2), 1,96 (hept, 1H, H-4), 0,93 (d, 6H, H-5, H-5').

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 72,2 (C-3), 41,0 (C-2), 27,7 (C-4), 19,0 (C-5, C-5').

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de pentila (IE-05).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e 1-pentanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (3,1 g) com 84 % de rendimento.

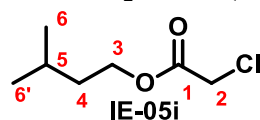
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1753 (C=O), 1317, 1199 (C-O), 1172, 788 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,17 (t, 2H, H-3), 4,04 (s, 2H, H-2), 1,70 – 1,59 (qt, 2H, H-4), 1,38 – 1,28 (m, 4H, H-5, H-6), 0,89 (t, 3H, H-7).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 66,5 (C-3), 41,0 (C-2), 28,2 (C-4), 27,9 (C-5), 22,3 (C-6), 14,0 (C-7).

➤ **Preparação do 2-cloro-acetato de isopentila (IE-05i).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,9 g de ácido cloro acético (20 mmol) e isopentanol (60 mL). Obtendo um líquido incolor (2,58 g) com 78,2 % de rendimento.

Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1757 (C=O), 1309, 1184 (C-O), 1290, 758 (C-Cl).

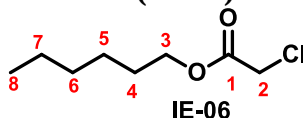
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,20 (t, 2H, H-3), 4,03 (s, 2H, H-2), 1,72 – 1,60 (hept, 1H, H-5), 1,54 (q, 2H, H-4), 0,91 (d, 6H, H-6, H-6').

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,4 (C-1), 65,0 (C-3), 41,0 (C-2), 37,1 (C-4), 25,0 (C-5), 22,4 (C-6, C-6').

7.2.7.2 Síntese dos α -cloro acetatos substituídos via cloreto de ácido.

Metodologia geral: O respectivo álcool (1-hexanol, cicloexanol, 1-octanol, 1-decanol, 1-dodecanol, cinâmico) ou fenol (10 mmol), foi solubilizado, juntamente com a trietilamina (11 mmol), em diclorometano a 0 °C. Em seguida adicionou-se lentamente o cloreto de 2-cloroacetila (11 mmol) e a mistura reacional foi deixada em agitação vigorosa por 20 horas a temperatura ambiente. Após este tempo a mistura foi vertida em água, lavada com bicarbonato de sódio e extraída com acetato de etila. A fase orgânica foi separada, seca com Na_2SO_4 e o solvente foi removido.

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de hexila (IE-06).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,05 g de 1-hexanol (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarelo claro (2,85 g) com 79,8 % de rendimento.

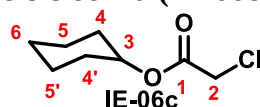
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1757 (C=O), 1309, 1180 (C-O), 1288, 758 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,17 (t, 2H, H-3), 4,04 (s, 2H, H-2), 1,68 – 1,61 (m, 2H, H-4), 1,32 – 1,27 (m, 6H, H-5, H-6, H-7), 0,89 (t, 9H, H-8).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,4 (C-1), 66,4 (C-3), 40,9 (C-2), 31,3 (C-4), 28,4 (C-5), 25,4 (C-6), 22,4 (C-7), 13,9 (C-8).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de cicloexila (IE-06c).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,0 g de ciclohexanol (10 mmol). Obtendo um líquido amarelo claro (2,31 g) com 65,3 % de rendimento.

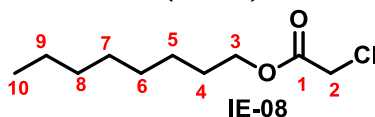
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1751 (C=O), 1303, 1184 (C-O), 1288, 763 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): 4,84 (qt, 1H, H-3), 4,02 (s, 2H, H-2), 1,88 – 1,82 (m, 2H, H-4), 1,75 – 1,68 (m, 2H, H-4'), 1,53 – 1,25 (m, 6H, H-5, H-5', H-6).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,8 (C-1), 74,9 (C-3), 41,3 (C-2), 31,4 (C-4, C-4'), 25,3 (C-5, C-5'), 23,6 (C-6).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de octila (IE-08).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,3 g de 1-octanol (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarelo claro (2,78 g) com 67,3 % de rendimento.

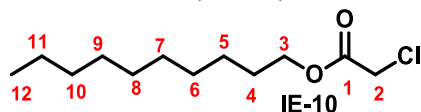
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1759 (C=O), 1307, 1174 (C-O), 1288, 788 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,17 (t, 2H, H-3), 4,05 (s, 2H, H-2), 1,72 – 1,61 (m, 2H, H-4), 1,30 (m, 10H, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9), 0,87 (t, 3H, H-10).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 66,5 (C-3), 41,0 (C-2), 31,8 (C-4), 29,2 (C-5, C-6), 28,5 (C-7), 25,8 (C-8), 22,7 (C-9), 14,1 (C-10).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de decila (IE-10).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,58 g de 1-decanol (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (3,0 g) com 64,5 % de rendimento.

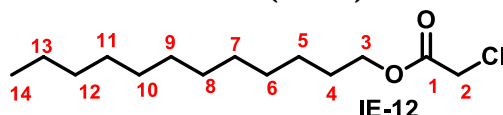
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1761 (C=O), 1307, 1174 (C-O), 1288, 790 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,17 (t, 2H, H-3), 4,04 (s, 2H, H-2), 1,64 (m, 2H, H-4), 1,25 (m, 14H, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11), 0,85 (t, 3H, H-12).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 66,5 (C-3), 41,0 (C-2), 31,9 (C-4), 29,6 (C-5), 29,5 (C-6), 29,3 (C-7), 29,2 (C-8), 28,5 (C-9), 25,8 (C-10), 22,7 (C-11), 14,2 (C-12).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de dodecila (IE-12).**



O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,88 g de 1-dodecanol (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (3,35 g) com 63,8 % de rendimento.

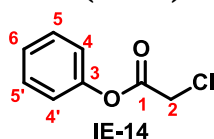
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 1761 (C=O), 1307, 1172 (C-O), 1288, 790 (C-Cl).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 4,18 (t, 2H, H-3), 4,05 (s, 2H, H-2), 1,73 – 1,58 (m, 2H, H-4), 1,41 – 1,19 (m, 18H, H-5, H-6, H-7, H-8, H-9, H-10, H-11, H-12, H-13), 0,88 (t, 3H, H-14).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,5 (C-1), 66,5 (C-3), 41,0 (C-2), 32,0 (C-4), 29,7 (C-5), 29,7 (C-6), 29,6 (C-7), 29,6 (C-8), 29,4 (C-9), 29,3 (C-10), 28,5 (C-11), 25,8 (C-12), 22,8 (C-13), 14,2 (C-14).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de fenila (IE-14).**



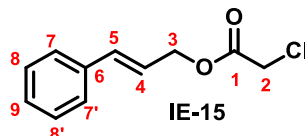
O procedimento abordou as etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 0,95 g de fenol (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (1,7 g) com 50,5 % de rendimento.

Caracterização:

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,40 (t, 2H, H-5, H-5'), 7,26 (t, 1H, H-6), 7,14 (d, 2H, H-4, H-4'), 4,04 (s, 2H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 165,8 (C-1), 150,6 (C-3), 129,6 (C-5, C-5'), 126,4 (C-6), 121,1 (C-4, C-4'), 25,5 (C-2).

➤ **Síntese do 2-cloro-acetato de cinamila (IE-15).**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 1,25 g de cloreto de cloro acetila (11 mmol), 1,11 g de trietilamina (11 mmol) e 1,35 g de álcool cinâmico (10 mmol). Obtendo um líquido de coloração amarela (2,18 g) com 51,9 % de rendimento.

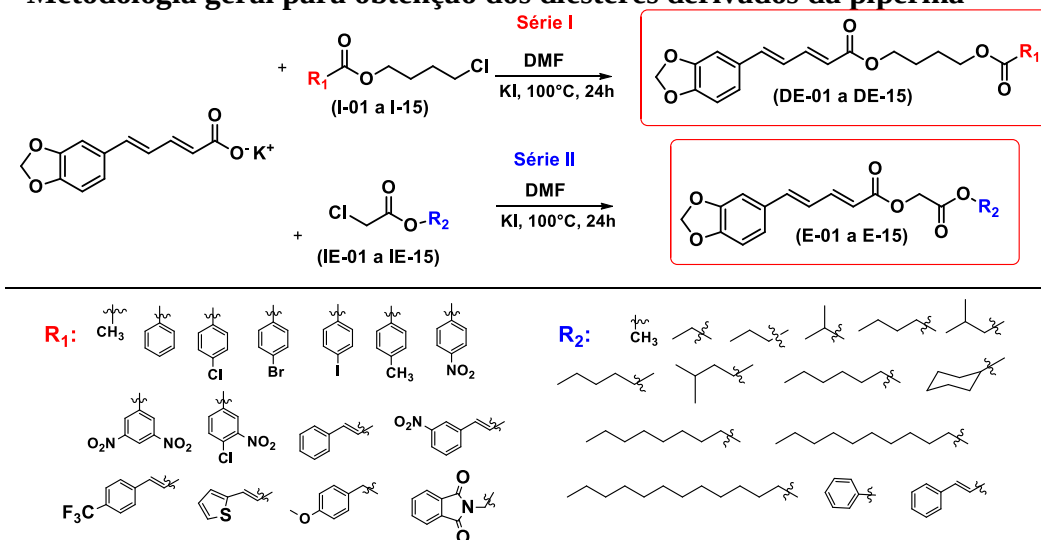
Caracterização:

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,46 – 7,37 (t, 2H, H-7, H-7'), 7,37 – 7,30 (m, 2H, H-8, H-8'), 7,27 (t, $J = 12,6, 5,2$ Hz, 1H, H-9), 6,70 (d, $J = 15,9$ Hz, 1H, H-5), 6,36 – 6,25 (m, 1H, H-4), 4,86 (t, $J = 12,4$ Hz, 1H, H-3), 4,11 (s, 2H, H-2).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz, δ ppm): δ 167,2 (C-1), 135,9 (C-6), 135,4 (C-5), 128,7 (C-8, C-8'), 128,4 (C-9), 126,8 (C-7, C-7'), 122,0 (C-4), 66,8 (C-3), 41,0 (C-2).

7.3 Síntese dos compostos finais

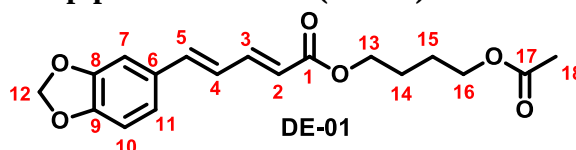
7.3.1 Metodologia geral para obtenção dos diésteres derivados da piperina



Em um balão de contendo 10 mL de DMF, foi adicionado 2,0 mmol do respectivo cloro-éster [**I(01-15)** ou **IE(01-15)**], e 2,0 mmol de iodeto de potássio. Em seguida foi adicionado 2,2 mmol de piperato de potássio, a mistura reacional foi aquecida a 100 °C e mantida sob agitação por 24 h. Após o término, a mistura reacional foi esfriada e adicionado água destilada gelada. O precipitado formado foi filtrado a vácuo, lavado com água e recristalizado em etanol.

7.3.1.1 Obtenção dos diésteres derivados dos δ -cloro-ésteres (Diésteres Série I)

➤ Síntese do 4-acetato-piperato de butila (DE-01)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,3 g (2 mmol) de acetato de 4-cloro butila (**I-01**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,46 g) com 70,5 % de rendimento. P.F: 76-78 °C.

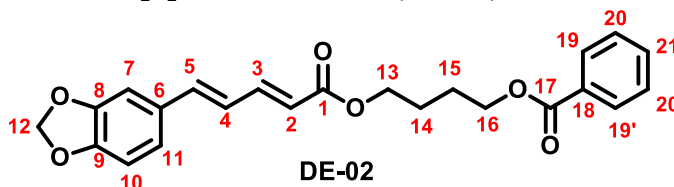
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3057 (C-H_{Ar}), 2958, 2899 (C-H), 1722, 1707 (C=O), 1620, 1490 (C=C_{Ar}), 1251 (O-CH₂-O), 1142, 1035 (C-O), 813 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,38 (ddd, J = 15,2, 8,5, 1,8 Hz, 1H, H-3), 7,24 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H-7), 7,06 – 6,99 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,06 (s, 2H, H-12), 6,00 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,12 (t, 2H, H-16), 4,04 (t, 2H, H-13), 2,01 (s, 3H, H-18), 1,77–1,61 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 101 MHz, δ ppm): δ 170,4 (C-17), 166,2 (C-1), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 130,4 (C-6), 124,6 (C-4), 123,2 (C-2), 119,7 (C-11), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 63,4 (C-13), 63,3 (C-16), 24,9 (C-14), 24,8 (C-15), 20,7 (C-18).

➤ Síntese do 4-benzoato-piperato de butila (DE-02)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,43 g (2 mmol) de benzoato de 4-cloro butila (**I-02**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,58 g) com 74,3 % de rendimento. P.F: 92-93°C.

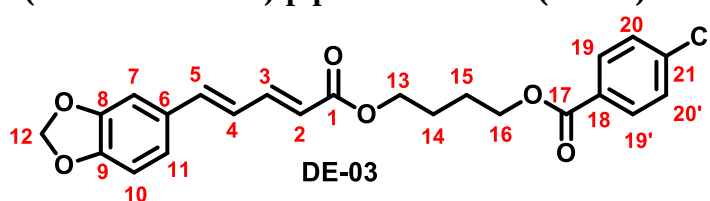
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3059 (C-H_{Ar}), 2958, 2885 (C-H), 1708, 1697 (C=O), 1604, 1444 (C=C_{Ar}), 1249 (O-CH₂-O), 1132, 1018 (C-O), 702 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,97 (dd, J = 8,4, 1,3 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,69 – 7,62 (m, 1H, H-21), 7,53 (t, J = 7,6 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,36 (ddd, J = 15,2, 7,3, 3,0 Hz, 1H, H-3), 7,22 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,03 – 6,96 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,93 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 6,00 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,32 (t, 2H, H-16), 4,17 (t, 2H, H-13), 1,95 – 1,68 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 101 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 165,7 (C-1), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 133,2 (C-21), 130,4 (C-6), 129,8 (C-18), 129,2 (C-19, C-19'), 128,6 (C-20, C-20'), 124,6 (C-4), 123,3 (C-11), 119,8 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 64,3 (C-16), 63,4 (C-13), 25,0 (C-15), 24,9 (C-14).

➤ Síntese do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,49 g (2 mmol) de (4-cloro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-03**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,61 g) com 71,5 % de rendimento. P.F: 124-125 °C.

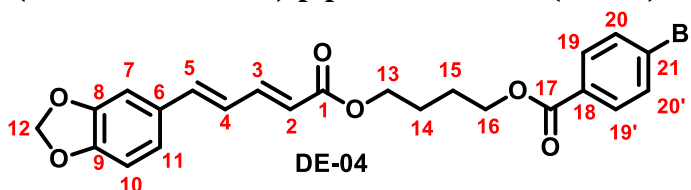
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3068 (C-H_{Ar}), 2960, 2897 (C-H), 1708, 1697 (C=O), 1595, 1444 (C=C_{Ar}), 1249 (O-CH₂-O), 1134, 1020 (C-O), 1282 (C_{Ar}-Cl) 754 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 500 MHz, δ ppm): δ 7,96 (d, J = 8,5 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,59 (d, J = 8,4 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,35 (ddd, J = 15,3, 8,2, 1,6 Hz, 1H, H-3), 7,21 (s, 1H, H-7), 7,02 – 6,94 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,31 (t, 2H, H-16), 4,16 (t, 2H, H-13), 1,83 – 1,74 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 126 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 164,9 (C-17), 148,2 (C-9), 147,9 (C-8), 145,1 (C-3), 140,4 (C-5), 138,2 (C-21), 130,9 (C-19, C-19'), 130,4 (C-6), 128,9 (C-20, C-20'), 128,6 (C-18), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,3 (C-12), 65,5 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-15), 24,8 (C-14).

➤ Síntese do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (DE-04)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,58 g (2 mmol) de (4-bromo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-04**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido marrom claro (0,65 g) com 69,7 % de rendimento. P.F: 127-129°C.

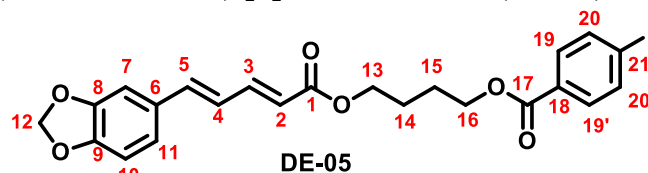
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3062 (C-H_{Ar}), 2949, 2897 (C-H), 1710, 1697 (C=O), 1604, 1442 (C=C_{Ar}), 1249 (O-CH₂-O), 1117, 1134, 1099 (C-O), 842 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,89 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,74 (d, J = 8,8 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,36 (ddd, J = 15,2, 7,5, 2,9 Hz, 1H, H-3), 7,22 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,03 – 6,97 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,93 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,31 (t, 2H, H-16), 4,16 (t, 2H, H-13), 1,87 – 1,65 (m, 4H, H-15, H-14).

¹³C (DMSO-*d*₆, 101 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 165,0 (C-17), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 131,9 (C-19, C-19'), 131,1 (C-20, C-20'), 130,4 (C-6), 128,9 (C-18), 127,3 (C-21), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 64,6 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-15), 24,8 (C-14).

➤ Síntese do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10mL de DMF, 0,68 g (2 mmol) de (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-05**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido marrom claro (0,67 g) com 64,3 % de rendimento. P.F: 162-163 °C.

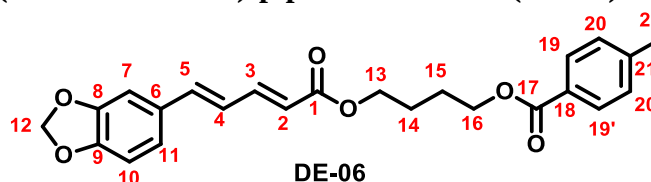
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3066 (C-H_{Ar}), 2958, 2895 (C-H), 1708, 1697 (C=O), 1618, 1444 (C=C_{Ar}), 1249 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1174, 1134, 1037 (C-O), 748 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,91 (d, J = 8,5 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,71 (d, J = 8,5 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,35 (ddd, J = 15,2, 8,1, 2,2 Hz, 1H, H-3), 7,22 (d, J = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,02 – 6,96 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,30 (t, 2H, H-16), 4,16 (t, 2H, H-13), 1,82 – 1,73 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz, δ ppm): δ 166, 2 (C-1), 165,4 (C-17), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 137,7 (C-20, C-20'), 130,8 (C-19, C-19'), 130,4 (C-6), 129,2 (C-18), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,7 (C-21), 101,4 (C-12), 64,5 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-15), 24,9 (C-14).

➤ Síntese do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (DE-06)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,45 g (2 mmol) de (4-metil)-benzoato de 4-cloro butila (**I-06**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,62 g) com 76,4 % de rendimento. P.F: 124-125°C.

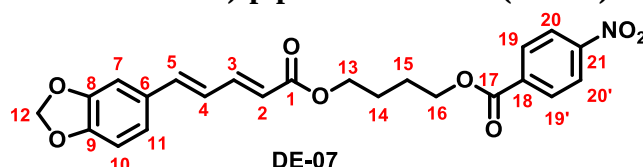
Caracterização:

Infravermelho (ATR) ν/cm^{-1} : 3068 (C-H_{Ar}), 2964, 2899 (C-H), 1703 (C=O), 1606, 1452 (C=C_{Ar}), 1267 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1236, 1134, 1014 (C-O), 850 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,85 (d, J = 8,2 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,40 – 7,33 (m, 1H, H-3), 7,32 (d, J = 7,9 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,22 (d, J = 1,5 Hz, 1H, H-7), 7,02 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,28 (t, 2H, H-16), 4,16 (t, 2H, H-13), 2,36 (s, 3H, H-22), 1,86 – 1,75 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz, δ ppm): δ 166,3 (C-1), 165,7 (C-17), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 143,6 (C-21), 140,5 (C-5), 130,4 (C-6), 129,3 (C-19, C-19'), 129,1 (C-20, C-20'), 127,1 (C-18), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,8 (C-2), 108,5 (C-10), 105,6 (C-7), 101,4 (C-12), 64,1 (C-16), 63,4 (C-13), 25,0 (C-15), 25,0 (C-14), 21,1 (C-22).

➤ **Síntese do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,52 g (2 mmol) de (4-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-07**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,68 g) com 78 % de rendimento. P.F: 128-129 °C.

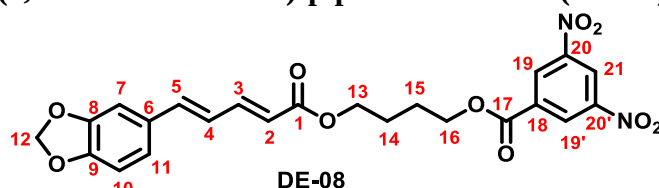
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3016 (C-H_{Ar.}), 2947, 2900 (C-H), 1712,1695 (C=O), 1523, 1315 (N=O), 1604,1444 (C=C_{Ar.}), 1249 (O-CH₂-O), 1136,1020 (C-O), 840 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 8,33 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-20, H-20'), 8,19 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,35 (ddd, *J* = 15,2, 7,7, 2,6 Hz, 1H, H-3), 7,21 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,10 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,98 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,37 (t, 2H, H-16), 4,17 (t, 2H, H-13), 2,03 – 1,43 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 100 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 164,3 (C-17), 150,2 (C-21), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 135,2 (C-18), 130,6 (C-6), 130,4 (C-19, C-19'), 124,6 (C-4), 123,8 (C-20, C-20'), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 65,2 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-15), 24,8 (C-14).

➤ **Síntese do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (DE-08)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,61 g (2 mmol) de (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-08**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,81 g) com 84,6 % de rendimento. P.F: 175-176°C.

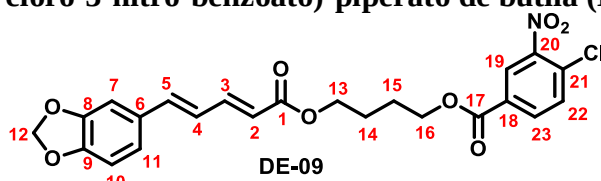
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3103, 3016 (C-H_{Ar.}), 2949 (C-H), 1730, 1701 (C=O), 1550, 1342 (N=O), 1618, 1448 (C=C_{Ar.}), 1253 (O-CH₂-O), 1139,1033 (C-O), 717 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 9,03 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H, H-21), 8,91 (d, *J* = 2,1 Hz, 2H, H-19, H-19'), 7,33 (dd, *J* = 15,3, 9,7 Hz, 1H, H-3), 7,17 (s, 1H, H-7), 7,03 – 6,93 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,90 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,04 (s, 2H, H-12), 5,98 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,46 (t, 2H, H-16), 4,19 (t, 2H, H-13), 1,93 – 1,85 (m, 2H, H-15), 1,85 – 1,76 (m, 2H, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 162,5 (C-17), 148,3 (C-9), 148,1 (C-8), 147,9 (C-20, C-20'), 145,0 (C-3), 140,4 (C-5), 132,8 (C-18), 130,4 (C-6), 128,7 (C-19, C-19'), 124,6 (C-4), 123,0 (C-11), 122,4 (C-21), 119,8 (C-2), 108,4 (C-10), 105,7 (C-7), 101,3 (C-12), 65,9 (C-16), 63,3 (C-13), 24,9 (C-14), 24,7 (C-15).

➤ **Síntese do 4-(4-cloro-3-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-09)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,58 g (2 mmol) de (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-09**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,63 g) com 66,8 % de rendimento. P.F: 102-104 °C.

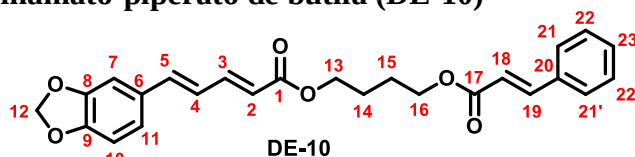
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1}) (ATR): 3070 (C-H_{Ar}), 2958, 2899 (C-H), 1712, 1697 (C=O), 1604, 1447 (C=C_{Ar}), 1541, 1313 (N=O), 1242 (C-Cl), 1251 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1240, 1132, 1043 (C-O), 806 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm): δ 8,52 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-19), 8,20 (dd, $J = 8,4$, 2,1 Hz, 1H, H-23), 7,93 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-22), 7,34 (ddd, $J = 15,2$, 8,7, 1,6 Hz, 1H, H-3), 7,21 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-7), 7,02 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H-10), 6,05 (s, 2H, H-12), 5,98 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, H-2), 4,36 (t, 2H, H-16), 4,16 (t, 2H, H-13), 1,87 – 1,69 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 163,4 (C-17), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 147,9 (C-20), 145,1 (C-3), 140,5 (C-5), 133,8 (C-23), 132,4 (C-22), 130,4 (C-21), 130,0 (C-6), 129,8 (C-18), 126,0 (C-19), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 65,3 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-14), 24,8 (C-15).

➤ **Síntese do 4-cinamato-piperato de butila (DE-10)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,48 g (2 mmol) de cinamato de 4-cloro butila (**I-10**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido marrom (0,51 g) com 60,5 % de rendimento. P.F: 86-88°C.

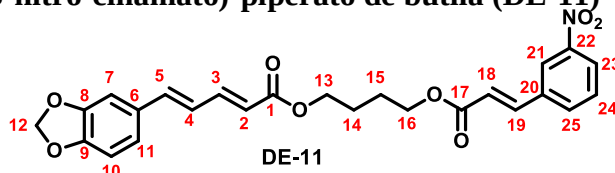
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1}) (ATR): 3034 (C-H_{Ar}), 2960, 2897 (C-H), 1705 (C=O), 1608, 1450 (C=C_{Ar}), 1267 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1172, 1136 (C-O), 765 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz, δ ppm): δ 7,71 (dd, $J = 6,8$, 2,9 Hz, 2H, H-21, H-21'), 7,66 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H, H-19), 7,42 (d, $J = 2,5$ Hz, 3H, H-22, H-22', H-23), 7,37 (ddd, $J = 15,2$, 8,4, 1,9 Hz, 1H, H-3), 7,22 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-7), 7,04 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,92 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-10), 6,63 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-18), 6,05 (s, 2H, H-12), 6,00 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, H-2), 4,19 (t, 2H, H-13), 4,15 (t, 2H, H-16), 1,79 – 1,69 (m, 4H, H-15, H-16).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 166,2 (C-17), 148,2 (C-9), 147,9 (C-8), 145,1 (C-3), 144,4 (C-19), 140,4 (C-5), 133,9 (C-20), 130,4 (C-6), 130,3 (C-23), 128,8 (C-22, C-22'), 128,3 (C-21, C-21'), 124,6 (C-4), 123,2 (C-11), 119,7 (C-2), 118,0 (C-18), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,3 (C-12), 63,6 (C-13), 63,4 (C-16), 24,9 (C-14), 24,9 (C-15).

➤ **Síntese do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,57 g (2 mmol) de (3-nitro)-cinamato de 4-cloro butila (**I-09**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,58 g) com 63,1 % de rendimento. P.F: 102-104°C.

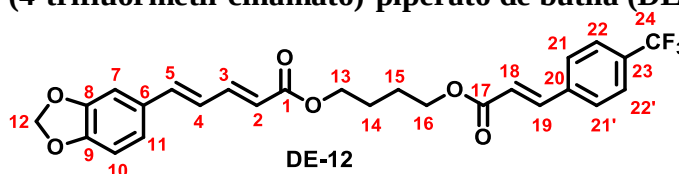
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3072 (C-H_{Ar.}), 2945 (C-H), 1705, 1695 (C=O), 1529, 1352 (N=O), 1604, 1446 (C=C_{Ar.}), 1253 (O-CH₂-O), 1176, 1026 (C-O), 862 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 500 MHz, δ ppm): δ 8,54 (s, 1H, H-21), 8,23 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-23), 8,19 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H, H-25), 7,78 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, H-19), 7,69 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-24), 7,36 (ddd, *J* = 15,3, 8,0, 1,9 Hz, 1H, H-3), 7,19 (s, 1H, H-7), 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,84 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, H-18), 6,04 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,21 (t, 2H, H-16), 4,16 (s, 2H, H-13), 1,84 – 1,68 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 126 MHz, δ ppm): δ 166,2 (C-1), 165,8 (C-17), 148,3 (C-22), 148,2 (C-9), 147,9 (C-8), 145,1 (C-3), 142,0 (C-19), 140,5 (C-5), 135,9 (C-20), 134,1 (C-25), 130,3 (C-6), 130,3 (C-24), 124,5 (C-4), 124,6 (C-23), 123,2 (C-11), 123,0 (C-21), 121,0 (C-18), 119,7 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 63,9 (C-16), 63,4 (C-13), 24,9 (C-14), 24,9 (C-15).

➤ **Síntese do 4-(4-trifluormetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,61 g (2 mmol) de (4-trifluor-metil)-cinamato de 4-cloro butila (**I-12**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo escuro (0,54 g) com 55,3 % de rendimento. P.F: 123-124 °C.

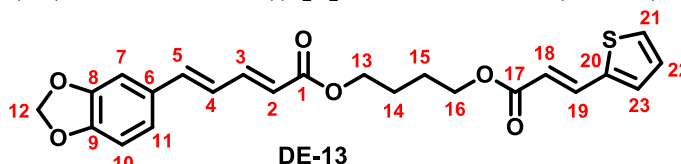
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3007 (C-H_{Ar.}), 2964, 2893 (C-H), 1714, 1701 (C=O), 1610, 1442 (C=C_{Ar.}), 1249 (O-CH₂-O), 1165, 1066 (C-O), 1111 (C-F), 844 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm): δ 7,93 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-21, H-21'), 7,73 (dd, *J* = 15,7, 9,6 Hz, 3H, H-22, H-22', H-19), 7,36 (ddd, *J* = 15,3, 7,4, 3,0 Hz, 1H, H-3), 7,21 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, H-7), 7,02 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,78 (d, *J* = 16,1 Hz, 1H, H-18), 6,04 (s, 1H, H-12), 6,00 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,21 (t, 2H, H-16), 4,15 (t, 2H, H-13), 1,81 – 1,62 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz, δ ppm): δ 166,3 (C-1), 165,9 (C-17), 148,2 (C-9), 148,0 (C-8), 145,2 (C-3), 142,6 (C-19), 140,5 (C-5), 138,0 (C-20), 130,4 (C-6), 129,9 (C-23), 129,0 (C-21, C-21'), 125,7 (C-22, C-22'), 125,8 (C-22, C-22'), 125,3 (C-24), 124,6 (C-4), 123,3 (C-11), 121,0 (C-18), 119,8 (C-2), 108,5 (C-10), 105,7 (C-7), 101,4 (C-12), 63,9 (C-13), 63,4 (C-16), 25,0 (C-14), 24,9 (C-15).

➤ **Síntese do 4-(3-(2-tienil-acrilato))-piperato de butila (DE-13)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,49 g (2 mmol) de 3-(2-tienil)-acrilato de 4-cloro butila (**I-13**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo escuro (0,44 g) com 52 % de rendimento. P.F: 87-88 °C.

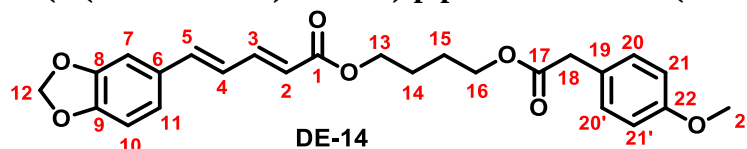
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹)(ATR): 3020 (C-H_{Ar.}), 2897 (C-H), 1703 (C=O), 1618, 1452 (C=C_{Ar.}), 1267 (O-CH₂-O), 1163, 1136 (C-O), 835 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,80 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-21), 7,71 (d, *J* = 5,1 Hz, 1H, H-23), 7,54 (d, *J* = 3,5 Hz, 1H, H-19), 7,36 (ddd, *J* = 15,2, 7,8, 2,5 Hz, 1H, H-3), 7,21 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, H-7), 7,14 (dd, *J* = 5,0, 3,6 Hz, 1H, H-22), 7,04 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,26 (d, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-18), 6,04 (s, 2H, H-12), 5,99 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,23–4,05 (m, 4H, H-16, H-13), 1,82–1,63 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 101 MHz, δ ppm): δ 166,7 (C-1), 166,4 (C-17), 148,7 (C-9), 148,4 (C-8), 145,6 (C-3), 140,9 (C-5), 139,1 (C-20), 137,6 (C-19), 132,5 (C-21), 130,8 (C-6), 130,3 (C-23), 129,0 (C-22), 125,1 (C-4), 123,7 (C-11), 120,2 (C-2), 116,6 (C-18), 108,9 (C-10), 106,2 (C-7), 101,8 (C-12), 64,1 (C-13), 63,8 (C-16), 25,4 (C-14), 25,4 (C-15).

➤ **Síntese do 4-(2-(4-metóxfenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,51 g (2 mmol) de 2-(4-metóxfenil)-acetato de 4-cloro butila (**I-14**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um líquido viscoso de coloração amarelo (0,44 g) com 50,6 % de rendimento.

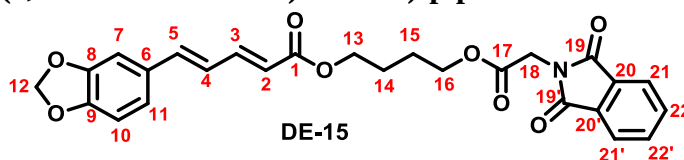
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹)(ATR): 3030 (C-H_{Ar.}), 2956, 2900 (C-H), 1730, 1705 (C=O), 1608, 1446 (C=C_{Ar.}), 1246 (O-CH₂-O), 1168, 1132, 1033 (C-O), 808 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 – 7,36 (m, 1H, H-3), 7,19 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-20, H-20'), 6,98 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 6,92 – 6,76 (m, 5H, H-5, H-11, H-21, H-21', H-10), 6,69 (dd, *J* = 15,5, 10,8 Hz, 1H, H-4), 5,97 (s, 2H, H-12), 5,92 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 4,28 – 4,05 (m, 4H, H-13, H-16), 3,77 (s, 3H, H-23), 3,55 (s, 2H, H-18), 1,86 – 1,61 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 101 MHz, δ ppm): δ 171,9 (C-17), 167,0 (C-1), 158,6 (C-22), 148,5 (C-9), 148,2 (C-8), 144,9 (C-3), 140,3 (C-19), 130,5 (C-6), 130,2 (C-20, C-20'), 126,1 (C-19), 124,4 (C-4), 122,9 (C-11), 120,1 (C-2), 113,9 (C-21, C-21'), 108,5 (C-10), 105,8 (C-7), 101,4 (C-12), 64,3 (C-16), 63,7 (C-13), 55,2 (C-23), 40,4 (C-18), 25,3 (C-15), 25,3 (C-14).

➤ Síntese do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)-piperato de butila (DE-15)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação e purificação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,59 g (2 mmol) de 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (**I-15**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido marrom (0,55 g) com 58,3 % de rendimento. P.F: 97-99 °C.

Caracterização:

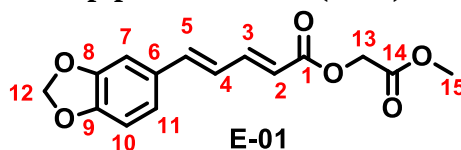
Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3014 (C-H_{Ar.}), 2947, 2889 (C-H), 1745, 1707 (C=O), 1618, 1492 (C=C_{Ar.}), 1255 (O-CH₂-O), 1138, 1031 (C-O), 711 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,94 – 7,89 (m, 2H, H-22, H-22'), 7,89 – 7,85 (m, 2H, H-21, H-21'), 7,34 (ddd, *J* = 15,3, 8,5, 1,7 Hz, 1H, H-3), 7,20 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H, H-7), 7,02 – 6,95 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,90 (d, *J* 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,02 (s, 2H, H-12), 5,98 (dd, *J* = 15,2, 5,9 Hz, 1H, H-2), 4,43 (s, 2H, H-18), 4,14 (t, 2H, H-16), 4,08 (t, 2H, H-13), 1,74 – 1,49 (m, 4H, H-15, H-14).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 167,7 (C-17), 167,2 (C-1), 166,3 (C-19, C-19'), 148,3 (C-9), 148,1 (C-8), 145,2 (C-3), 140,6 (C-5), 135,0 (C-22, C-22'), 131,4 (C-20, C-20'), 130,5 (C-6), 124,7 (C-4), 123,5 (C-21, C-21'), 123,3 (C-11), 119,8 (C-2), 108,6 (C-10), 105,8 (C-7), 101,5 (C-12), 65,0 (C-16), 63,4 (C-13), 38,9 (C-18), 24,8 (C-15), 24,8 (C-14).

7.3.1.2 Obtenção dos diésteres derivados dos α-cloro-acetatos (Diésteres Série II)

➤ Síntese do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (E-01)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,22 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de metila (**IE-01**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,45 g) com 79,2 % de rendimento. P.F: 85-86 °C.

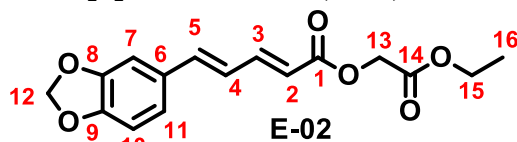
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3074, 3024 (C-H_{Ar.}), 2943 (C-H), 1761, 1712 (C=O), 1610, 1440 (C=C_{Ar.}), 1255 (O-CH₂-O), 1220, 1033 (C-O), 846 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 8,9, 1,4 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, 1H, *J* = 1,6 Hz, H-7), 7,07 – 7,01 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, *J* = 16,3 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,75 (s, 2H, H-13), 3,69 (s, 3H, H-15).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,8 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,9 (C-3), 141,8 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 60,9 (C-13), 52,3 (C-15).

➤ **Síntese do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10mL de DMF, 0,25 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de etila (**IE-02**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,44 g) com 72,6% de rendimento. P.F: 77-78 °C.

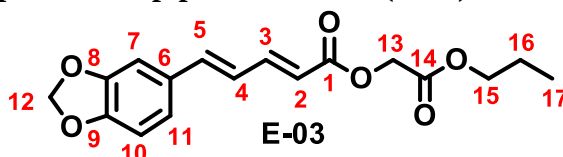
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3080 (C-H_{Ar.}), 2976, 2893, 2787 (C-H), 1759, 1707 (C=O), 1618, 1442 (C=C_{Ar.}), 1247 (O-CH₂-O), 1134, 1016 (C-O), 856 (C-H_{Ar.}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, $J = 15,2, 8,8, 1,5$ Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-7), 7,11 – 7,00 (m, 3H, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,95 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, $J = 15,1$ Hz, 3H, H-2, H-12), 4,73 (s, 2H, H-13), 4,15 (q, 2H, H-15), 1,21 (t, 3H, H-16).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz, δ ppm): δ 168,3 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,9 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 119,0 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 61,2 (C-13), 61,0 (C-15), 14,4 (C-16).

➤ **Síntese do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,27 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de propila (**IE-03**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,52 g) com 74,2 % de rendimento. P.F: 78-79 °C.

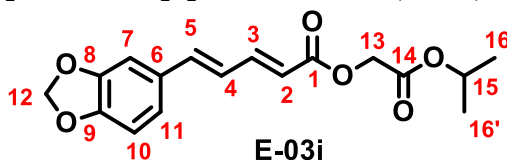
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3062 (C-H_{Ar}), 2970, 2899 (C-H), 1745, 1714 (C=O), 1608, 1448 (C=C_{Ar}), 1255 (O-CH₂-O), 1211, 1132, 1035 (C-O), 852 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,49 (dd, $J = 15,2, 10,8$ Hz, 1H, H-3), 6,99 (s, 1H, H-7), 6,91 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H, H-10), 6,85 – 6,65 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,02 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, H-2), 5,98 (s, 2H, H-12), 4,69 (s, 2H, H-13), 4,14 (t, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-15), 1,88 – 1,49 (m, 3H, H-16), 0,94 (t, 3H, H-17).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz, δ ppm): δ 168,1 (C-14), 166,4 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,4 (C-3), 141,1 (C-5), 130,8 (C-6), 124,4 (C-4), 123,2 (C-11), 118,9 (C-2), 108,6 (C-10), 106,0 (C-7), 101,5 (C-12), 66,9 (C-15), 60,8 (C-13), 22,0 (C-16), 10,3 (C-17).

➤ Síntese do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03i)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,27 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de isopropila (**IE-03i**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,45 g) com 70,6 % de rendimento. P.F: 84-85 °C.

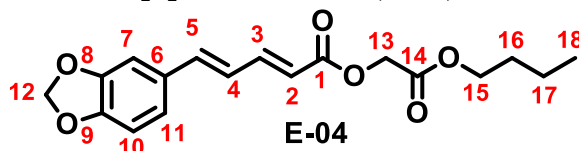
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3070, 3012 (C-H_{Ar}), 2981, 2910 (C-H), 1737, 1714 (C=O), 1610, 1450 (C=C_{Ar}), 1257 (O-CH₂-O), 1217, 1139, 1035 (C-O), 850 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 8,6, 1,7 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,11 – 6,99 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, *J* = 20,8 Hz, 3H, H-2, H-12), 5,07 – 4,89 (m, 1H, H-15), 4,69 (s, 2H, H-13), 1,21 (d, 6H, H-16, H-16').

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 167,8 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 119,0 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 68,9 (C-15), 61,0 (C-13), 21,9 (C-16, C-16').

➤ Síntese do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,27 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de butila (**IE-04**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,56 g) com 84 % de rendimento. P.F: 70-71 °C.

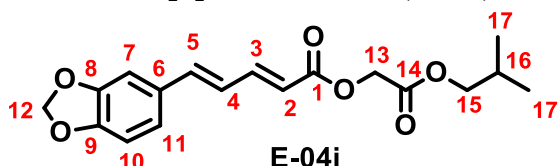
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3026 (C-H_{Ar}), 2960, 2872 (C-H), 1745, 1718 (C=O), 1618, 1444 (C=C_{Ar}), 1256 (O-CH₂-O), 1211, 1128, 1035 (C-O), 848 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 8,6, 1,8 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,10 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, *J* = 15,2 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,74 (s, 2H, H-13), 4,11 (t, 2H, H-15), 1,64 – 1,46 (m, 2H, H-16), 1,33 (m, 2H, H-17), 0,89 (t, 3H, H-18).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,4 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,02 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,2 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 64,8 (C-15), 61,05 (C-13), 30,5 (C-16), 18,9 (C-17), 13,9 (C-18).

➤ **Síntese do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04i)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10mL de DMF, 0,3 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de isobutila (**IE-04i**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,43 g) com 65,5 % de rendimento. P.F: 67-68 °C.

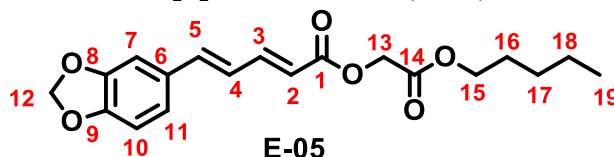
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3062 (C-H_{Ar.}), 2980, 2924, 2972 (C-H), 1753, 1697 (C=O), 1612, 1435 (C=C_{Ar.}), 1251 (O-CH₂-O), 1203, 1124, 1033 (C-O), 867 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 8,6, 1,8 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,12 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, *J* = 16,0 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,76 (s, 2H, H-13), 3,91 (d, 2H, H-15), 1,88 (m, 1H, H-16), 0,89 (d, 6H, H-17, H-17').

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,4 (C-14), 166,2 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,9 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 70,7 (C-15), 61,0 (C-13), 27,7 (C-16), 19,1 (C-17, C-17').

➤ **Síntese do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05)**



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,33 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de pentila (**IE-05**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,41 g) com 60 % de rendimento. P.F: 57-58 °C.

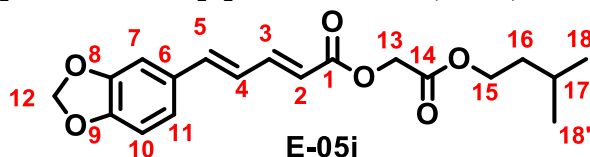
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3026 (C-H_{Ar.}), 2953, 2866 (C-H), 1747, 1712 (C=O), 1612, 1448 (C=C_{Ar.}), 1257 (O-CH₂-O), 1217, 1130, 1041 (C-O), 835 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 8,3, 2,0 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H, H-7), 7,10 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,09 (d, *J* = 15,8 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,74 (s, 2H, H-13), 4,10 (t, 2H, H-15), 1,58 (q, 2H, H-16), 1,34 – 1,17 (m, 4H, H-17, H-18), 0,86 (t, 3H, H-19).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,4 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 65,1 (C-15), 61,0 (C-13), 28,1 (C-16), 27,8 (C-17), 22,1 (C-18), 14,2 (C-19).

➤ Síntese do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05i)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,33 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de isopentila (**IE-05i**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo escuro (0,38 g) com 55,2 % de rendimento. P.F: 83-84 °C.

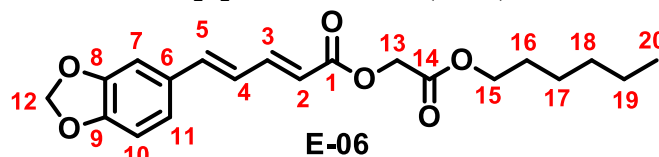
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1})(ATR): 3026 (C-H_{Ar.}), 2951, 2904 (C-H), 1753, 1714 (C=O), 1604, 1446 (C=C_{Ar.}), 1257 (O-CH₂-O), 1217, 1128, 1010 (C-O), 835 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm): δ 7,49 (dd, J = 15,1, 11,0 Hz, 1H, H-3), 6,99 (s, 1H, H-7), 6,92 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-11), 6,86 – 6,68 (m, 3H, H-4, H-5, H-10), 6,02 (d, J = 15,3 Hz, 1H, H-2), 5,98 (s, 2H, H-12), 4,68 (s, 2H, H-13), 4,21 (t, 2H, H-15), 1,69 (m, 1H, H-17), 1,55 (q, 2H, H-16), 0,92 (d, 6H, H-18, H-18').

RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz, δ ppm): δ 168,2 (C-14), 166,4 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,4 (C-3), 141,1 (C-5), 130,5 (C-6), 124,4 (C-4), 123,2 (C-11), 118,9 (C-2), 108,6 (C-10), 106,0 (C-7), 101,5 (C-12), 64,1 (C-15), 60,8 (C-13), 37,3 (C-16), 25,1 (C-17), 22,5 (C-18, C-18').

➤ Síntese do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,36 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de hexila (**IE-06**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,38 g) com 52,3 % de rendimento. P.F: 40-42 °C.

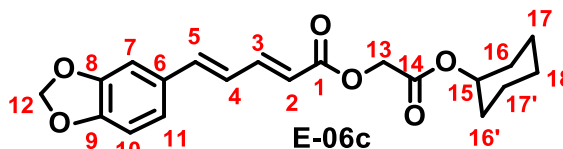
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1}) (ATR): 3028 (C-H_{Ar.}), 2956, 2929 (C-H), 1757, 1716 (C=O), 1608, 1446 (C=C_{Ar.}), 1251 (O-CH₂-O), 1197, 1126, 1035 (C-O), 856 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz, δ ppm): δ 7,49 (dd, J = 15,3, 10,8 Hz, 1H, H-3), 6,98 (s, 1H, H-7), 6,91 (d, J = 8,1 Hz, 1H, H-10), 6,75 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,01 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 5,97 (s, 2H, H-12), 4,69 (s, 2H, H-13), 4,17 (t, 2H, H-15), 1,64 (dt, 2H, H-16), 1,32 (dt, 4H, H-17, H-18), 0,95 – 0,80 (m, 5H, H-19, H-20).

RMN ¹³C (CDCl₃, 101 MHz, δ ppm): δ 168,1 (C-14), 166,3 (C-1), 148,7 (C-9), 148,3 (C-8), 146,3 (C-3), 141,0 (C-5), 130,4 (C-6), 124,3 (C-4), 123,2 (C-11), 118,8 (C-2), 108,5 (C-10), 105,9 (C-7), 101,4 (C-12), 65,5 (C-15), 60,7 (C-13), 31,4 (C-16), 28,5 (C-17), 25,4 (C-18), 22,5 (C-19), 14,0 (C-20).

➤ Síntese do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06c)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,35 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de cicloexila (**IE-06c**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,57 g) com 80,5% de rendimento. P.F: 112-114 °C.

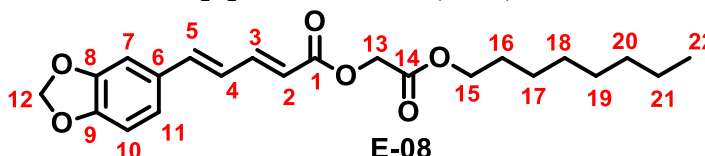
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1}) (ATR): 3022 (C-H_{Ar}), 2929, 2858 (C-H), 1753, 1716 (C=O), 1606, 1446 (C=C_{Ar}), 1257 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1215, 1132, 1043 (C-O), 806 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, $J = 15,2, 8,5, 1,8$ Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, H-7), 7,11 – 6,97 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz, H-10), 6,09 (d, 3H, $J = 16,1$ Hz, H-2, H-12), 4,84 – 4,65 (m, 3H, H-15, H-13), 1,85 – 1,72 (m, 2H, H-16), 1,71 – 1,57 (m, 2H, H-16'), 1,56 – 1,16 (m, 6H, H-17, H-17', H-18).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz, δ ppm): δ 167,7 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 125,0 (C-4), 123,9 (C-11), 119,0 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 73,3 (C-15), 61,2 (C-13), 31,5 (C-16, C-16'), 25,2 (C-17, C-17'), 23,3 (C-18, C-18').

➤ Síntese do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (E-08)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,41 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de octila (**IE-08**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido amarelo (0,57 g) com 73,5 % de rendimento. P.F: 69-70 °C.

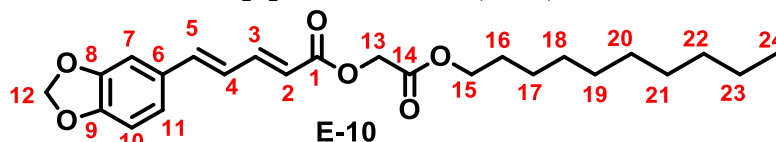
Caracterização:

Infravermelho (cm^{-1}) (ATR): 3014 (C-H_{Ar}), 2951, 2927, 2858 (C-H), 1749, 1716 (C=O), 1608, 1452 (C=C_{Ar}), 1257 ($\text{O-CH}_2\text{-O}$), 1134, 1035 (C-O), 852 (C-H_{Ar}).

RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, $J = 15,2, 7,9, 2,4$ Hz, 1H, H-3), 7,24 (d, $J = 1,5$ Hz, 1H, H-7), 7,10 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-10), 6,08 (d, $J = 15,2$ Hz, 3H, H-2, H-12), 4,73 (s, 2H, H-13), 4,09 (t, 2H, H-15), 1,56 (m, 2H, H-16), 1,25 (m, 10H, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21), 0,84 (t, 3H, H-22).

RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz, δ ppm): δ 168,3 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,5 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 124,9 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 65,1 (C-15), 61,0 (C-13), 31,6 (C-16), 29,1 (C-17), 29,0 (C-18), 28,5 (C-19), 25,7 (C-20), 22,5 (C-21), 14,3 (C-22).

➤ Síntese do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (E-10)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,47 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de pentila (**IE-10**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,53 g) com 64,3 % de rendimento. P.F: 73-74 °C.

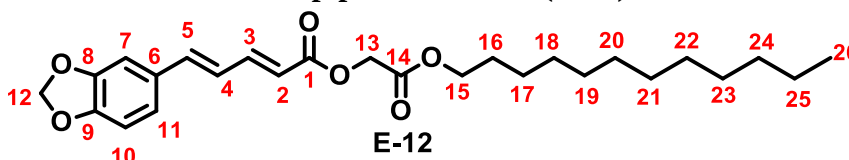
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3018 (C-H_{Ar}), 2918, 2846 (C-H), 1739, 1722 (C=O), 1602, 1450 (C=C_{Ar}), 1253 (O-CH₂-O), 1201, 1085, 1031 (C-O), 852 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,45 (ddd, *J* = 15,2, 7,8, 2,5 Hz, 1H, H-3), 7,25 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H, H-7), 7,10 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,94 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,08 (d, *J* = 15,6 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,73 (s, 2H, H-13), 4,09 (t, 2H, H-15), 1,66 – 1,50 (m, 2H, H-16), 1,22 (m, 14H, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23), 0,84 (t, 4H, H-24).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,3 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,4 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 124,9 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 109,0 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 65,1 (C-15), 61,0 (C-13), 31,7 (C-16), 29,4 (C-17), 29,4 (C-18), 29,2 (C-19), 29,1 (C-20), 28,5 (C-21), 25,7 (C-22), 22,5 (C-23), 14,3 (C-24).

➤ Síntese do 2-dodecóxi-2-oxo-piperato de etila (E-12)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,53 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de dodecóxila (**IE-12**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,56 g) com 63,8 % de rendimento. P.F: 65-66 °C.

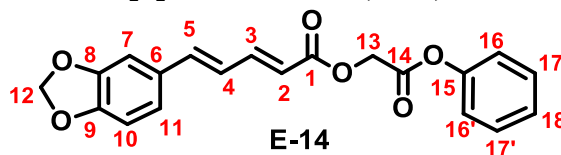
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3024 (C-H_{Ar}), 2953, 2920, 2852 (C-H), 1749, 1712 (C=O), 1606, 1446 (C=C_{Ar}), 1251 (O-CH₂-O), 1134, 1035 (C-O), 850 (C-H_{Ar}).

RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz, δ ppm): δ 7,44 (ddd, *J* = 15,2, 7,7, 2,6 Hz, 1H, H-3), 7,24 (s, 1H, H-7), 7,09 – 6,98 (m, 3H, H-4, H-5, H-11), 6,93 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,08 (d, *J* = 15,4 Hz, 3H, H-2, H-12), 4,73 (s, 2H, H-13), 4,09 (t, 2H, H-15), 1,67 – 1,48 (m, 2H, H-16), 1,41 – 1,13 (m, 18H, H-17, H-18, H-19, H-20, H-21, H-22, H-23, H-24, H-25), 0,84 (t, 3H, H-26).

RMN ¹³C (DMSO-d₆, 101 MHz, δ ppm): δ 168,3 (C-14), 166,1 (C-1), 148,8 (C-9), 148,4 (C-8), 146,8 (C-3), 141,7 (C-5), 130,8 (C-6), 124,9 (C-4), 123,9 (C-11), 118,9 (C-2), 108,9 (C-10), 106,2 (C-7), 101,9 (C-12), 65,0 (C-15), 61,0 (C-13), 31,7 (C-16), 29,5 (C-17), 29,5 (C-18), 29,4 (C-19, C-20), 29,2 (C-21), 29,1 (C-22), 28,5 (C-23), 25,7 (C-24), 22,5 (C-25), 14,3 (C-26).

➤ Síntese do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (E-14)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10mL de DMF, 0,34g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de fenila (**IE-14**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,42 g) com 58,3 % de rendimento. P.F: 112-113 °C.

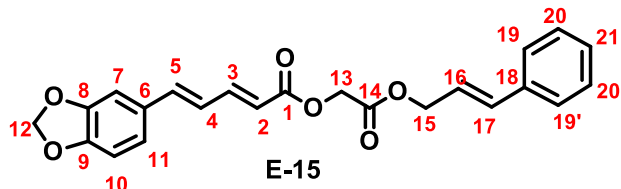
Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3028 (C-H_{Ar.}), 2908 (C-H), 1776, 1697 (C=O), 1614, 1485 (C=C_{Ar.}), 1251 (O-CH₂-O), 1230, 1193, 1124, 1035 (C-O), 867 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm): δ 7,53 (dd, *J* = 15,2, 11,0 Hz, 1H, H-3), 7,39 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-17, H-17'), 7,27 – 7,20 (t, 1H, H-5), 7,14 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H, H-16, H-16'), 7,00 (s, 1H, H-7), 6,92 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H, H-4), 6,85 (d, *J* = 15,4 Hz, 1H, H-10), 6,05 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H, H-2), 5,98 (s, 2H, H-12), 4,94 (s, 2H, H-13).

RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz, δ ppm): δ 166,5 (C-1), 166,1 (C-14), 150,2 (C-15), 148,7 (C-9), 148,3 (C-8), 146,5 (C-3), 141,1 (C-5), 130,4 (C-6), 129,4 (C-17, C-17'), 126,0 (C-18), 124,3 (C-4), 123,1 (C-11), 121,2 (C-16, C-16'), 118,6(C-2), 108,5(C-10), 105,9 (C-7), 101,3(C-12), 60,6 (C-13).

➤ Síntese do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (E-15)



O procedimento abordou as mesmas etapas de preparação descritas na metodologia geral. Utilizando 10 mL de DMF, 0,42 g (2 mmol) de 2-cloro-acetato de cinamila (**IE-10**), 0,33 g de KI (2 mmol) e 0,56 g de piperato de potássio (2,2 mmol). Obtendo um sólido bege (0,45 g) com 58,3 % de rendimento. P.F: 93-94 °C.

Caracterização:

Infravermelho (cm⁻¹) (ATR): 3018 (C-H_{Ar.}), 2953, 2918, 2852 (C-H), 1751, 1703 (C=O), 1600, 1450 (C=C_{Ar.}), 1257 (O-CH₂-O), 1192, 1099, 1035 (C-O), 850 (C-H_{Ar.}).

RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz, δ ppm): δ 7,51 (dd, *J* = 15,3, 10,9 Hz, 1H, H-3), 7,39 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H, H-20, H-20'), 7,32 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H, H-19, H19'), 7,26 (t, *J* = 7,3 Hz, 1H, H-21), 6,99 (s, 1H, H-7), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-11), 6,83 – 6,76 (m, 2H, H-10), 6,76 – 6,61 (m, 2H, H-17), 6,28 (dt, *J* = 15,9, 6,4 Hz, 1H, H-16), 6,03 (d, *J* = 15,3 Hz, 1H, H-2), 5,97 (s, 2H, H-12), 4,84 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H, H-15), 4,75 (s, 2H, H-13).

RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz, δ ppm): δ 167,8 (C-14), 166,1 (C-1), 148,7 (C-9), 148,3 (C-8), 146,3 (C-3), 141,0 (C-5), 136,0 (C-18), 134,8 (C-17), 130,4 (C-6), 128,5 (C-20, C-20'), 128,1 (C-21), 126,6 (C-19, C-19'), 124,3 (C-4), 123,0 (C-11), 122,3 (C-16), 118,8 (C-2), 108,5 (C-10), 105,9 (C-7), 101,3 (C-12), 65,7 (C-15), 60,8 (C-13).

7.4 Estudos biológicos

7.4.1. Estudos *in silico*

Os parâmetros da regra dos cinco de Lipinski (cLogP, massa molecular, número de aceptores e doadores de ligações de hidrogênio) e área de superfície polar topológica (TPSA) foram calculados utilizando o programa on-line “Molinspiration” (<http://www.molinspiration.com>).

Os parâmetros solubilidade aquosa (LogS), *druglikeness*, drug-score, riscos de toxicidade (relacionado aos efeitos irritantes, risco mutagênico, risco tumorigênico e efeito sobre o sistema reprodutivo) foram calculados utilizando o programa on-line “Osiris Property Explorer” (<http://www.organic-chemistry.org.prog.peo/>). A porcentagem de absorção teórica dos compostos (% ABS) de foi calculada utilizando a equação (% ABS = $109 - 0,345 \text{ TPSA}$).⁸⁷

7.4.2 Atividade Antimicrobiana

Os estudos para avaliação da atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Atividade Antibacteriana e Antifúngica de Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Departamento de Ciências Farmacêuticas (Centro de Ciências da Saúde) da Universidade Federal da Paraíba pela Prof. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima e pelo doutorando Hermes Diniz Neto.

Os produtos submetidos aos ensaios biológicos foram os compostos intermediários: **I(01-15)** e **IE(01-12)**; e os compostos finais: **DE(01-15)** e **E(01-12)**. Tais amostras foram submetidas aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias, fungos leveduriformes e fungos filamentosos. Os produtos foram pesados e devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) a 5% e tween 80 a 2%, completando-se o volume final com água destilada esterilizada de forma a se obter uma emulsão dos produtos na concentração inicial de 1024 µg/mL.^{103,104,105}

7.4.2.1 Meios de Cultura

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

7.4.2.2 Micro-organismos

Para os ensaios da atividade antimicrobiana dos compostos, foram utilizadas as seguintes cepas:

- **Bactérias:** *Staphylococcus aureus* ATCC-25923; *Staphylococcus aureus* LM-177; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-25853;
- **Fungos Leveduriformes:** *Candida albicans* ATCC-60193; *Candida albicans* LM-92; *Candida albicans* LM-38; *Candida tropicalis* ATCC-13803; *Candida tropicalis* LM-18;
- **Fungos Filamentosos:** *Aspergillus fumigatus* ATCC-40640; *Aspergillus fumigatus* IPP-210; *Aspergillus flavus* LM-714; *Aspergillus flavus* ATCC-13013; *Aspergillus niger* LM-108.

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 ± 2 °C e repiques de 7 - 14 dias em ASD para fungos filamentosos, incubados a 28 ± 2 °C.

7.4.3 Ensaios de toxicidade não clínica aguda e atividade antitumoral *in vivo* do DE-07

Os ensaios de toxicidade não clínica aguda e de atividade antitumoral *in vivo* do composto **DE-07** foram realizados no Laboratório de Oncofarmacologia (OncoFar), localizado no Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM) da UFPB, pela Prof. Dra. Marianna Vieira Sobral e pelo Mestre Rafael Carlos Ferreira, este defendeu sua dissertação de mestrado no Programa de Pós Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da UFPB (PPgPNSB/UFPB), na área de farmacologia, com os estudos toxicológicos e atividade antitumoral *in vivo* do **DE-07**, uma das moléculas inéditas oriundas desta tese.¹⁰⁶

Para os ensaios *in vivo*, foram utilizados fêmeas de camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*) pesando entre 28 e 32 g, com faixa etária próxima de 60 dias, obtidos do biotério Prof. Thomas George (IPeFarM/UFPB). Todos os procedimentos experimentais foram analisados e previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFPB), sob a certidão nº 110/2017 (Anexo II, Pág. 233).

7.4.3.1 Avaliação de toxicidade não clínica aguda

O ensaio de toxicidade não clínica aguda em camundongos foi realizado de acordo com o “Guideline for testing of chemicals” nº 423 da OECD (OECD, 2001) (Anexo III, Pág. 232). Camundongos, três fêmeas por grupo, foram submetidos a doses de 300 mg/kg e 2000 mg/kg do **DE-07**, via intraperitoneal (i.p.), e ao grupo controle (n=3) foi administrado apenas o veículo (Tween 80 a 12% em salina), todos os animais foram observados por 14 dias.

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

Foi realizada a avaliação da atividade antitumoral *in vivo* do **DE-07** em modelo de carcinoma ascítico de Ehrlich (CAE). Para isso células de CAE com cinco dias de crescimento foram aspiradas da cavidade peritoneal de camundongos e implantadas por via intraperitoneal (i.p.) (0,5 mL – 4×10^6 células/mL) nos animais experimentais. Vinte e quatro horas após o implante, o **DE-07** foi solubilizado em tween 80 a 12% em solução salina e administrado diariamente via i.p. a grupos de seis animais, nas doses de 12,5, 25 e 50 mg/kg, por sete dias consecutivos. O grupo controle foi tratado com uma solução de tween 80 a 12% em solução salina (n=6) e um quinto grupo de animais foi tratado com 5-fluorouracil (5-FU), 25 mg/kg (n=6), como droga padrão.

Para a avaliação do efeito antitumoral do **DE-07**, um dia após a última administração do tratamento descrito anteriormente, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (100 mg/kg, via intramuscular) e cloridrato de xilazina (16 mg/kg, i.p.), e eutanasiados por deslocamento cervical. Então, 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. Para tanto, foram incubados volumes semelhantes de líquido ascítico e de uma solução de 0,4% do corante, seguido de análise das células em câmara de Neubauer. Este ensaio avalia a habilidade de células viáveis, com membrana plasmática intacta, excluírem o corante azul de tripan, permitindo assim, a quantificação dessas células.¹⁰⁷ A massa do tumor foi determinada pela diferença dos pesos dos camundongos antes e depois da retirada do líquido ascítico, e foi expressa em gramas (g). A quantidade total de células viáveis no peritônio dos animais foi expressa como total celular ($\times 10^7$ células), que foi obtido como o produto do volume do tumor, expresso em mL, pela viabilidade celular, expressa como a quantidade de células $\times 10^6$ /mL.

7.4.3.3 Avaliação dos efeitos antiangiogênicos do DE-07

Para a investigação do efeito antiangiogênico os animais foram tratados e eutanasiados conforme descrito anteriormente. Após a coleta do líquido ascítico, o peritônio foi cortado e o revestimento interior da cavidade peritoneal dos animais tratados com **DE-07** (50 mg/kg), com veículo (Tween 80 a 12%) e com 5-FU (25 mg/kg) foram examinados e fotografados para investigação da microdensidade vascular peritoneal, com o auxílio do software AVSOFT®. A microdensidade vascular peritoneal foi determinada como a razão entre a área ocupada por vasos sanguíneos e a área total selecionada.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Reshmi, S.K., Sathya, E., and Devi, P.S. (2010). Isolation of piperidine from *Piper nigrum* and its antiproliferative activity. **African J. Pharm. Pharmacol.** 4, 562–573.
2. Schnabel, A., Athmer, B., Manke, K., Schumacher, F., Cotinguiba, F., and Vogt, T. (2021). Identification and characterization of piperine synthase from black pepper, *Piper nigrum* L. **Commun. Biol.** 4, 1–10.
3. Filgueira, O., Tremalcodi, C., and Costa, M. (2014). Boas práticas agrícolas para aumento da produtividade e qualidade da pimenta-do-reino no Estado do Pará. 1ª ed.; **Embrapa**, Brasília, Brazil, 2014.
4. Chuchawankul, S., Khorana, N., and Poovorawan, Y. (2012). Piperine inhibits cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells. **Genet. Mol. Res.** 11, 617–627.
5. EMBRAPA 2020. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/51935109/todospeloagro-mostra-a-producao-de-pimenta-do-reino-na-agricultura-familiar>. acesso 14 de setembro de 2021.
6. Meghwal, M., and Goswami, T.K. (2013). *Piper nigrum* and piperine: An update. **Phyther. Res.** 27, 1121–1130.
7. Ashokkumar, K., Murugan, M., Dhanya, M.K., Pandian, A., and Warkentin, T.D. (2021). Phytochemistry and therapeutic potential of black pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil and piperine: a review. **Clin. Phytoscience** 7.
8. Smilkov, K., Ackova, D.G., Cvetkovski, A., Ruskovska, T., Vidovic, B., and Atalay, M. (2019). Piperine: Old Spice and New Nutraceutical?. **Curr. Pharm. Des.** 25, 1729–1739.
9. Chinta, G., Syed, S.B., C, M.S.C., and Periyasamy, L. (2015). Piperine : A Comprehensive Review of Pre-Clinical and Clinical Investigations. **Curr. Bioact. Compd.** 11, 156–169.
10. Siddiqui, S., Ahamad, M.S., Jafri, A., Afzal, M., and Arshad, M. (2017). Piperine Triggers Apoptosis of Human Oral Squamous Carcinoma Through Cell Cycle Arrest and Mitochondrial Oxidative Stress. **Nutr. Cancer** 69, 791–799.
11. Rather, R.A., and Bhagat, M. (2018). Cancer Chemoprevention and Piperine: Molecular Mechanisms and Therapeutic Opportunities. **Front. Cell Dev. Biol.** 6, 1–12.
12. Figueredo, A. S.; Oliveira, M. G.; Safadi, G. M. V. V.; Silva, C., and H. T. P.; Silva, V. B.; Taft, C. A.; Aquino, G.L.B.. (2015). The Natural Alkaloid Piperine and its Acid and Ester Synthetic Derivatives are Acetylcholinesterase Inhibitors. **Curr. Phys. Chem.** 5, 294.
13. Ali, Y., Alam, M.S., Hamid, H., Husain, A., Bano, S., Dhulap, A., Kharbanda, C., Nazreen, S., and Haider, S. (2015). Design, Synthesis and Biological Evaluation of Piperic Acid Triazolyl Derivates as Potent Anti-inflammatory Agentes. **Eur. J. Med. Chem.** 92, 490.
14. Tantawy, A.H., Meng, X.G., Marzouk, A.A., Fouad, A., Abdelazeem, A.H., Youssif, B.G.M., Jiang, H., and Wang, M.Q. (2021). Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of novel piperine-resveratrol hybrids as antiproliferative agents targeting SIRT-2. **RSC Adv.** 11, 25738–25751.
15. Rao, K., Kottakki, A., and Kumar, N. (2018). Synthesis and in vitro and in silico antimicrobial studies of novel piperine – pyridine analogs. **Res. Chem. Intermed.** 44, 3549–3564.

16. Kharbanda, C., Alam, M.S., Hamid, H., Javed, K., Bano, S., Ali, Y., Dhulap, A., Alam, P., and Pasha, M.A.Q. (2016). Novel Piperine Derivatives with Antidiabetic Effect as PPAR- γ Agonists. **Chem. Biol. Drug Des.**, 354–362.
17. Franklin, T. N.; Freire-de-Lima, L.; Chaves, O. A.; LaRocque-de-Freitas, I. F.; da Silva-Trindade, J.D.; Netto-Ferreira, J. D.; Freire-de-Lima, C. G.; Decoté-Ricardo, D.; Previato, J. O.; Mendonça-Previato, L.; Lima, M.E.F. (2019). Design, Synthesis, Trypanocidal Activity, and Studies on Human Albumin Interaction of Novel S-Alkyl-1,2,4-triazoles. **J. Braz. Chem. Soc.**, 30, 1378–1394.
18. Venkatasamy, R., Faas, L., Young, A.R., Raman, A., and Hider, R.C. (2004). Effects of piperine analogues on stimulation of melanocyte proliferation and melanocyte differentiation. **Bioorganic Med. Chem.** 12, 1905–1920.
19. Atanasov, A.G., Zotchev, S.B., Dirsch, V.M., Orhan, I.E., Banach, M., Rollinger, J.M., Barreca, D., Weckwerth, W., Bauer, R., Bayer, E.A., *et al.* (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. **Nat. Rev. Drug Discov.** 20, 200–216.
20. World Health Organization 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. acesso em: 14 de setembro de 2021.
21. World Health Organization (2020). WHO report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
22. Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B.H., Farooq, S., Ali, M., and Khan, M.A. (2012). Biological role of Piper nigrum L. (Black pepper): A review. **Asian Pac. J. Trop. Biomed.** 2, S1945–S1953.
23. Wadhwa, S., Singhal, S., and Rawat, S. (2014). Bioavailability Enhancement by Piperine: A Review. **Asian J. Biomed. Pharm. Sci.** 4, 1–8.
24. Damanhour, Z.A.; Ahmad, A. (2014). A Review on Therapeutic Potential of Piper nigrum L. (Black Pepper): The King of Spices. **Med. Aromat. Plants**, 3, 3.
25. Carnevali, D. B.; Araújo, A. P. S. (2013). Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper nigrum* L.): Revisão de Literatura. **Uniciências** 17, 41–46.
26. Singh, V. K.; Singh, P. ; Mishra, A.; Patel, A., and Yadav, K. (2014). Piperine : Delightful Surprise To the Biological World , Made By Plant “ Pepper ” and a Great Bioavailability Enhancer for Our **Drugs and. World J. Pharm. Res.** 3, 2084–2098.
27. Bauer, A.; Nam, J.; Maulide, N. (2019). A Short , Efficient , and Stereoselective Synthesis of Piperine and its Analogues. Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York — **Synlett**, 30, A–D,
28. Ferreira, W.S., Franklim, T.N., Lopes, N.D., and Lima, M.E.F. de (2012). Piperine, its Analogues and Derivatives: Potencial as Antiparasitic Drugs. **Rev. Virtual Química** 4, 208–224.
29. Gorgani, L., Mohammadi, M., Najafpour, G.D., and Nikzad, M. (2017). Piperine—The Bioactive Compound of Black Pepper: From Isolation to Medicinal Formulations. **Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.** 16, 124–140.
30. IKAN, R. Natural Products: A Laboratory Guide. 2nd Ed. SanDiego: **Academic Press**, 360p, 1991.

31. Aziz, D.M., Hama, J.R., and Alam, S.M. (2015). Synthesising a novel derivatives of piperine from black pepper (*Piper nigrum* L.). **J. Food Meas. Charact.** 9, 324–331.
32. Finar, I.L. (1959). **Organic Chemistry**. Vol 2. Stereochemistry and the Chemistry of Natural Products. Northern Polytechinc, Holloway, London.
33. Okwute, S.K., and Egharevba, H.O. (2013). Piperine-Type Amides: Review of the Chemical and Biological Characteristics. **Int. J. Chem.** 5, 99–122.
34. Sloop, J.C., Zipp, P. (1995) The microscale laboratory. **Jor. Chem. Education**. V 72, N° 2.
35. Chavarria, D., Silva, T., Magalhães e Silva, D., Remião, F., and Borges, F. (2016). Lessons from black pepper: piperine and derivatives thereof. **Expert Opin. Ther. Pat.** 26, 245–264.
36. Quijia, C.R., Chorilli, M., and Quijia, C.R. (2020). Characteristics, Biological Properties and Analytical Methods of Piperine : A Review. **Crit. Rev. Anal. Chem.** 50, 62–77.
37. Wojtowicz, K., Sterzyńska, K., Świerczewska, M., Nowicki, M., Zabel, M., and Januchowski, R. (2021). Piperine targets different drug resistance mechanisms in human ovarian cancer cell lines leading to increased sensitivity to cytotoxic drugs. **Int. J. Mol. Sci.** 22.
38. Housman, G., Byler, S., Heerboth, S., Lapinska, K., Longacre, M., Snyder, N., and Sarkar, S. (2014). Drug resistance in cancer: An overview. **Cancers** (Basel). 6, 1769–1792.
39. Si, L., Yang, R., Lin, R., and Yang, S. (2018). Piperine functions as a tumor suppressor for human ovarian tumor growth via activation of JNK / p38 MAPK-mediated intrinsic apoptotic pathway. **Biosci. Rep.** 38 BSR20180503.
40. Lee, S.H., Kim, H.Y., Back, S.Y., and Han, H.K. (2018). Piperine-mediated drug interactions and formulation strategy for piperine: recent advances and future perspectives. **Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.** 14, 43–57.
41. Li, H., Krstin, S., Wang, S., and Wink, M. (2018). Capsaicin and piperine can overcome multidrug resistance in cancer cells to doxorubicin. **Molecules** 23, 1–11.
42. Yaffe, P.B., Power Coombs, M.R., Doucette, C.D., Walsh, M., and Hoskin, D.W. (2015). Piperine, an alkaloid from black pepper, inhibits growth of human colon cancer cells via G1 arrest and apoptosis triggered by endoplasmic reticulum stress. **Mol. Carcinog.** 54, 1070–1085.
43. Lai, L.H., Fu, Q.H., Liu, Y., Jiang, K., Guo, Q.M., Chen, Q.Y., Yan, B., Wang, Q.Q., and Shen, J.G. (2012). Piperine suppresses tumor growth and metastasis in vitro and in vivo in a 4T1 murine breast cancer model. **Acta Pharmacol. Sin.** 33, 523–530.
44. Shankar, S., Faheem, M.M., Nayak, D., Wani, N.A., Farooq, S., Koul, S., Goswami, A., and Rai, R. (2018). Cyclodipeptide c(Orn-Pro) Conjugate with 4-Ethylpiperic Acid Abrogates Cancer Cell Metastasis through Modulating MDM2. **Bioconjug. Chem.** 29, 164–175.
45. Ventola, C.L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis Part 1 : Causes and Threats. **Pharm. Ther.** 40, 277–283.
46. Almeida, F., Rodrigues, M.L., and Coelho, C. (2019). The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide. **Front. Microbiol.** 10, 214.
47. World Health Organization 2020. Disponível em: <https://www.who.int/campaigns/world-antimicrobial-awareness-week/2020>. acesso em: 20 de setembro de 2021.

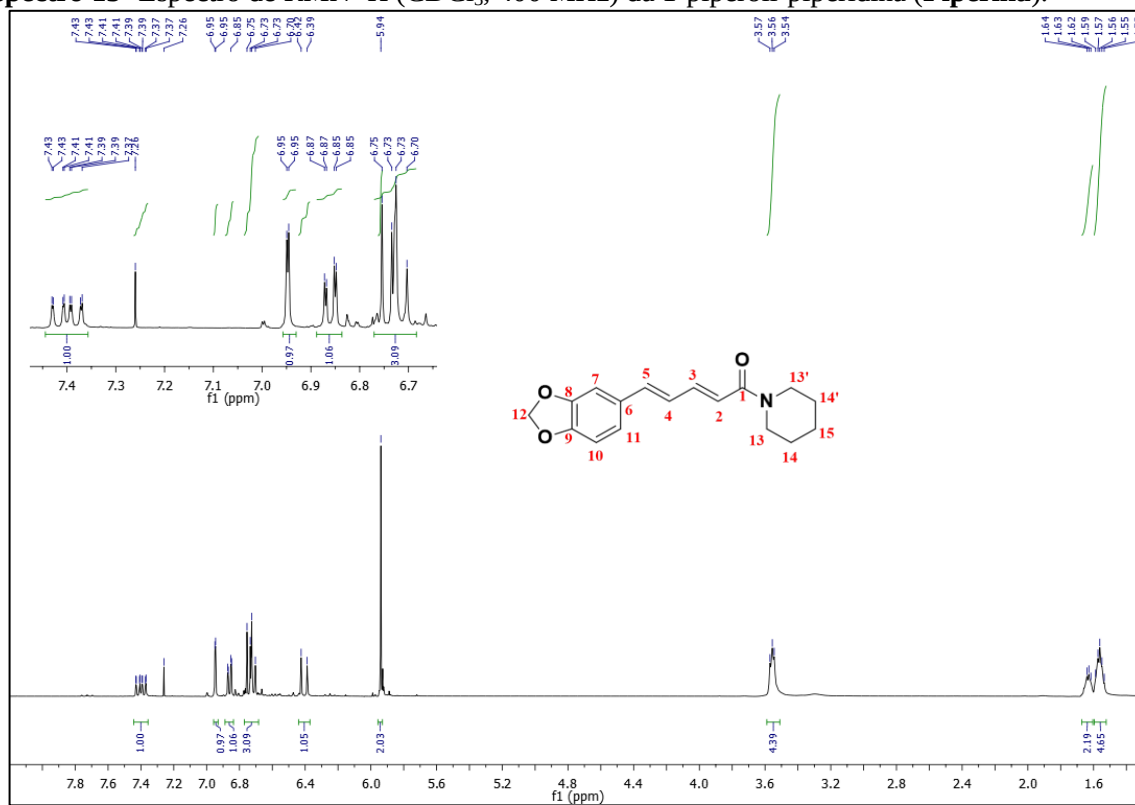
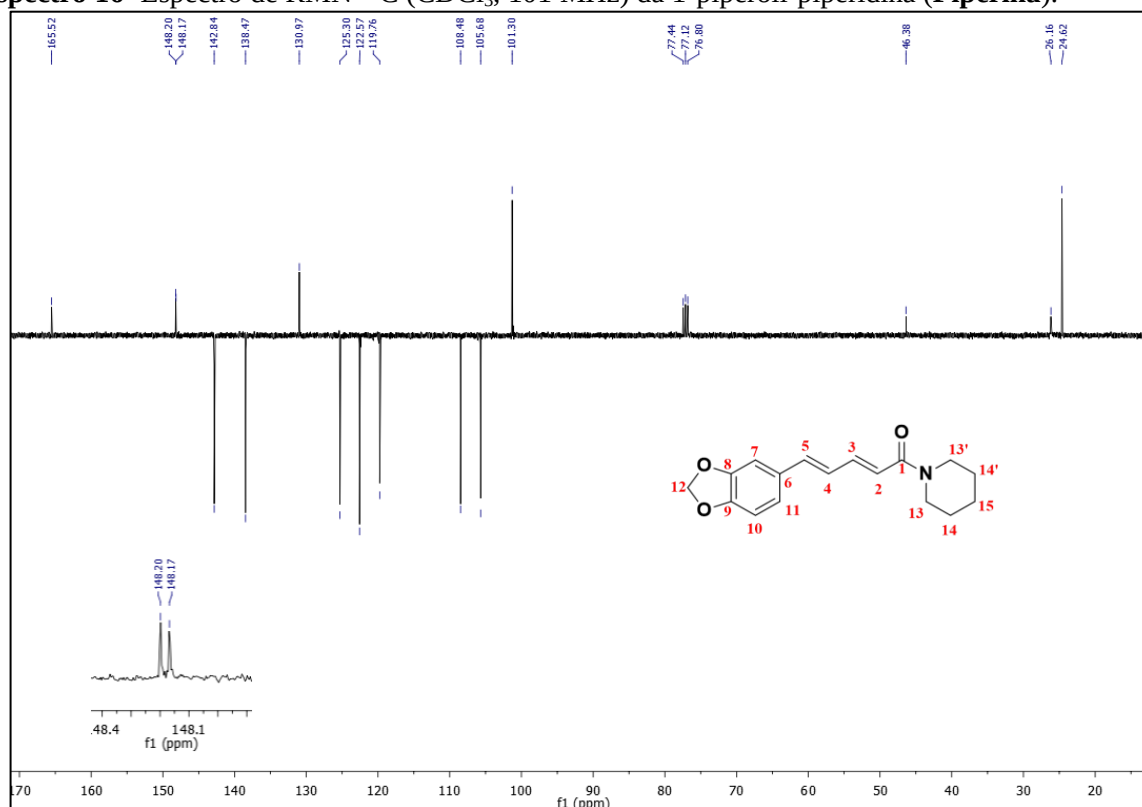
48. Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C., Silva, G.L. (2000). Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Braz. Jour. Microb.** 247–256.
49. Sangwan, P.L., Koul, J.L., Koul, S., Reddy, M. V., Thota, N., Khan, I.A., Kumar, A., Kalia, N.P., and Qazi, G.N. (2008). Piperine analogs as potent *Staphylococcus aureus* NorA efflux pump inhibitors. **Bioorganic Med. Chem.** 16, 9847–9857.
50. Ferreira, W., Freire-de-Lima, L., Saraiva, V.B., Alisson-Silva, F., Mendonça-Previato, L., Previato, J.O., Echevarria, A., and de Lima, M.E.F. (2008). Novel 1,3,4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: Chemical and biological studies. **Bioorganic Med. Chem.** 16, 2984–2991.
51. Franklim, T.N., Freire-De-Lima, L., De Nazareth Sá Diniz, J., Previato, J.O., Castro, R.N., Mendonça-Previato, L., and De Lima, M.E.F. (2013). Design, synthesis and trypanocidal evaluation of novel 1,2,4-triazoles-3- thiones derived from natural piperine. **Molecules** 18, 6366–6382.
52. Singh, I., and Choudhary, A. (2015). Piperine and Derivatives: Trends in Structure-Activity Relationships. **Curr. Top. Med. Chem.** 15, 1722–1734.
53. Mu, L.H., Wang, B., Ren, H.Y., Liu, P., Guo, D.H., Wang, F.M., Bai, L., and Guo, Y.S. (2012). Synthesis and inhibitory effect of piperine derivates on monoamine oxidase. **Bioorganic Med. Chem. Lett.** 22, 3343–3348.
54. Qu, H., Lv, M., Yu, X., Lian, X., and Xu, H. (2015). Discovery of Some Piperine-Based Phenylsulfonylhydrazone Derivatives as Potent Botanically Narcotic Agents. **Sci. Rep.** 5, 1–7.
55. Ebraheem, H.A., and Ebraheem, H. (2014). AL-Qadisiyha Journal For Science Vol . 19 No . 3 Year 2014 Isolation of Piperine compound from Black Pepper Seeds and Synthesis of it some new derivatives. **AL-Qadisiyha Jour. For Sci.** Vol . 19 N° 3, 19, 128–139.
56. Soares, B.A. (2009). Síntese e avaliação de atividade tripanocida de novos heterociclos da classe dos 1,2,4-oxadiazóis, derivados e análogos da amida natural piperina. Programa de Pós-Graduação em Química - UFRRJ, Dissertação de Mestrado, 183 p.
57. Eduardo, L., Dorneles, G., Edilson, M., and Lima, F. De (2006). Utilização da piperina na síntese de novos derivados 1,3,4-oxadiazólicos com potencial atividade tripanocida. 31 **Reun. Anu. da Soc. Bras. Química**, 3555.
58. Ferreira, W.S., Souza, A.X., Decoté-ricardo, D., and Freire-, C.G. (2012). Síntese e avaliação da atividade antifúngica de novas 1,3,4-oxadiazol-2-2tionas N -substituídas, obtidas a partir da piperina. **Soc. Bras. Química** 36, 1991.
59. Rahman Khan, Z., Moni, F., Sharmin, S., Al-Mansur, M.A., Gafur, A., Rahman, O., and Afroz, F. (2017). Isolation of Bulk Amount of Piperine as Active Pharmaceutical Ingredient (API) from Black Pepper and White Pepper (*Piper nigrum L.*). **Pharmacol. Pharm.** 08, 253–262.
60. Pal, I., Kumar, S., Kaur, A., Singh, S., Kumar, R., Garg, P., Sundar, S., and Kumar, S. (2010). European Journal of Medicinal Chemistry Synthesis and Antileishmanial activity of Piperoyl-Amino Acid Conjugates. **Eur. J. Med. Chem.** 45, 3439–3445.
61. Rao, V.R.S., Suresh, G., Rao, R.R., Babu, K.S., Chashoo, G., Saxena, A.K., and Rao, J.M. (2012). Synthesis of piperine-amino acid ester conjugates and study of their cytotoxic activities against human cancer cell lines. **Med. Chem. Res.** 21, 38–46.

62. Tang, P., Acid, B., and Amidation, C. (2012). Discussion Addendum for: boric acid catalyzed amide formation from carboxylic acids and amines: n-benzyl-4-phenylbutyramide. **Org. Synth.** 89, 432.
63. Santos, J., Brito, M., Ferreira, R., Moura, A., Sousa, T., Batista, T., Manguiera, V., Leite, F., Cruz, R., Vieira, G., *et al.* (2018). Th1-Biased Immunomodulation and In Vivo Antitumor Effect of a Novel Piperine Analogue. **Int. J. Mol. Sci.** 19, 2594.
64. Shankar, S., Faheem, M.M., Nayak, D., Wani, N.A., Farooq, S., Koul, S., Goswami, A., and Rai, R. (2018). Cyclodipeptide c(Orn-Pro) Conjugate with 4 - Ethylpiperic Acid Abrogates Cancer Cell Metastasis through Modulating MDM2. **Bioconjugate Cham.** 29, 164-175.
65. Venugopal, D.V.R. (2014). Synthesis, of Novel Piperine Analogs of Dipeptidyl Boronic Acid as Antimicrobial and Anticancer Agents. **Med. Chem.** (Los. Angeles). 4, 606–610.
66. Choochana, P., Moungjaroen, J., Jongkon, N., Gritsanapan, W., and Tangyuenyongwatana, P. (2015). Development of piperic acid derivatives from Piper nigrum as UV protection agents. **Pharm. Biol.** 53, 477–482.
67. Paengsri, W., and Baramée, A. (2013). Synthesis and evaluation of anti-tuberculosis and anti-cancer activities of hydroxynaphthoquinone derivatives. **Chiang Mai J. Sci.** 40, 70–76.
68. Han, J., Borjihan, G., Bai, R., Chen, X., and Jing, X. (2008). Synthesis and Characterization of Starch Piperinic Ester and Its Self-Assembly of Nanospheres. **Jour. Appl. Polym. Sci.** V. 108, 523-528.
69. Sivashanmugam, A., and Velmathi, S. (2021). Synthesis, *in vitro* and *in silico* anti-bacterial analysis of piperine and piperic ester analogues. **Chem. Biol. Drug Des.** 98, 19–29.
70. Wang, J., Wang, W., Xiong, H., Song, D., and Cao, X. (2020). Natural phenolic derivatives based on piperine scaffold as potential antifungal agents. **BMC Chem.** 14, 1–12.
71. Chavarria, D., Cagide, F., Pinto, M., Gomes, L.R., Low, J.N., and Borges, F. (2019). Development of piperic acid-based monoamine oxidase inhibitors: Synthesis, structural characterization and biological evaluation. **J. Mol. Struct.** 1182, 298-307.
72. Sakagami, H., Uesawa, Y., Masuda, Y., Tomomura, M., Yokose, S., Miyashiro, T., Murai, J., Takao, K., and Kanamoto, T. (2017). Quantitative Structure – Cytotoxicity Relationship of Newly Synthesized Piperic Acid Esters. **Anticancer Res.** 37: 6161–6168.
73. Suresh, V., Suryakiran, N., Rajesh, K., Selvam, J.J.P., Srinivasulu, M., and Venkateswarlu, Y. (2008). Synthesis of Chloroesters by the Cleavage of Cyclic and Acyclic Ethers using La(NO₃)₃.6H₂O as a Mild and Efficient Catalyst under Solvent-Free Conditions. **Syn. Commun.** 38, 92–99.
74. Guo, Q., Miyaji, T., Gao, G., Hara, R., Takahashi, T., Science, P., and Corporation, T. (2001). Catalytic C–O bond cleavage of ethers using group 5 or 6 metal halide/acid chloride systems. **Chem. Commun.**, 1018–1019.
75. Pasha, M.A., and Manjula, K. (2011). Use of Magnesium (Turnings) as a Powerful Catalyst for the O -Acylation Cleavage of Tetrahydrofuran. **Syn. Commun.** 41: 2309-2314.
76. Pasha, M.A. (2006). Ultrasound assisted synthesis of d -chloroesters from tetrahydrofuran and acyl chlorides in the presence of catalytic zinc dust. **Ultras. Sonochemistry** 13, 175–179.
77. Enthaler, S., and Weidauer, M. (2012). Synthesis of δ- And ε-cyanoesters by zinc-catalyzed

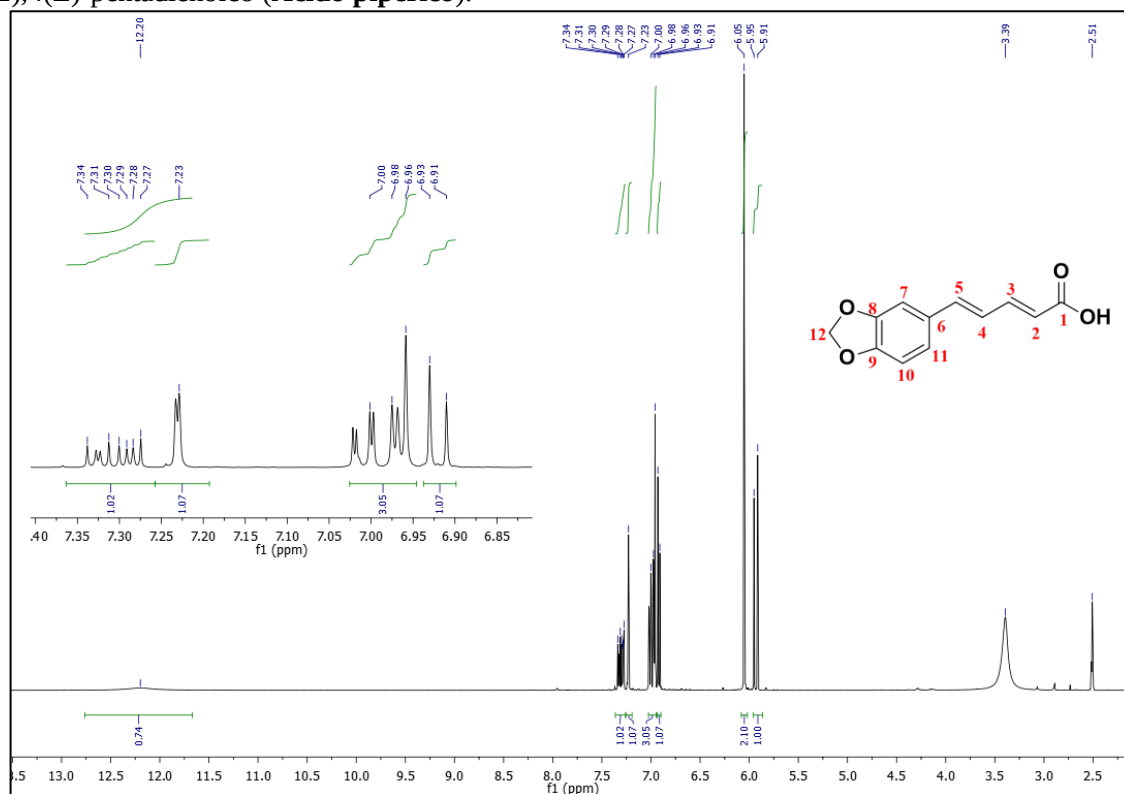
- ring-opening of cyclic ethers with acid chlorides and subsequent cyanation. **Catal. Letters** 142, 168–175.
78. Tang, Y., Feng, C., Yang, W., Ji, M., Wang, W., and Chen, J. (2021). Synthesis of chloroesters by the reaction of ethers with acyl chlorides catalyzed by ZnO. **Chem. Pap.** 75, 1–8.
79. Schimmittinger, P. et al. Chlorine. **Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry**, V.8 p. 531-621, 2012.
80. Agoram, B., Woltosz, W.S., and Bolger, M.B. (2001). Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. **Adv. Drug. Deliv. Rev.** V 50, p. S41-S67.
81. Jia, C.Y., Li, J.Y., Hao, G.F., and Yang, G.F. (2020). A drug-likeness toolbox facilitates ADMET study in drug discovery. **Drug Discov.** 25, 248–258.
82. Rashid, U., Hassan, S. F., Nazir, S., Wadood, A., Wassem, M., and Ansari, F.L. (2014). Synthesis, docking studies, and in silico ADMET predictions of some new derivatives of pyrimidine as potential KSP inhibitors. **Med. Chem. Res.** 24, 1.
83. Lipinski, A., Lombardo, F., Paul, D., and Feeney, P.J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Deliv. Rev.** 23, 3.
84. Doak, B.C., Over, B., Giordanetto, F., and Kihlberg, J. (2014). Oral druggable space beyond the rule of 5: Insights from drugs and clinical candidates. **Chem. Biol.** 21, 1115–1142.
85. Lipinski, C. A. (2004). Lead profiling Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technol.** 1, 337–341.
86. WERMUTH, C. G. The Practice of Medicinal Chemistry, 3 ed., **Academic Press**: London, 2008.
87. Zhao, Y.H., Abraham, M.H., Le, J., Hersey, A., Luscombe, C.N., Beck, G., Sherborne, B., and Cooper, I. (2002). Rate-Limited Steps of Human Oral Absorption and QSAR Studies. **Pharm. Res.** V.19, 1446.
88. OSIRIS property explorer. Disponível em: <https://www.organic-chemistry.org/prog/peo/>, acesso em 14 de Setembro de 2021.
89. Wei, W., Cherukupalli, S., Jing, L., Liu, X., and Zhan, P. (2020). Fsp3: A new parameter for drug-likeness. **Drug Discov. Today**, 25, 1839–1845.
90. Ribeiro, T. S. (2004). Transformações químicas no alcaloide natural piperina e avaliação da atividade teórica sobre *Trypanosoma cruzi*. Programa de Pós Graduação em Química, UFRRJ. Dissertação de Mestrado, 168p.
91. Ferreira, W. S. (2006). Utilização da piperina como protótipo na síntese de novos anti-chagásicos da classe das 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilaminas. Programa de Pós Graduação em Química, UFRRJ. Dissertação de Mestrado, 197p.
92. Gupta, R., Kumar, P., and Narasimhan, B. (2017). Synthesis , antimicrobial evaluation and QSAR studies of monochloroacetic acid derivatives. **Arab. J. Chem.** 10, S909–S920.
93. Oblak, E., Piecuch, A., Krasowska, A., and Łuczyński, J. (2013). Antifungal activity of gemini quaternary ammonium salts. **Microbiol. Res.** 168, 630–638.

94. Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., Vyvyan, J. R. Introdução à Espectroscopia, 4 Ed. (tradução). São Paulo, **Cengage Learning**, 2010.
95. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., and Feeney, P.J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Adv. Drug Delivery Rev.** 46, 3–26.
96. 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.
97. Sartoratto, A.; Machado, A. L. M.; Delarmelina, C.; Figueira, G. M.; Duarte, M. C. T.; Rehder, V. L. G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Braz. J. Microbiol.** v. 35, p. 275-280.
98. Houghton, P. J.; Howes, M. J.; Lee, C. C.; Steventon, G. (2007). Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **J. Etnopharmacol.** v.110, p.391-400, 2007.
99. Graf, K., Last, A., Gratz, R., Allert, S., Linde, S., Westermann, M., Gröger, M., Mosig, A.S., Gresnigt, M.S., and Hube, B. (2019). Keeping Candida commensal: How lactobacilli antagonize pathogenicity of Candida albicans in an *in vitro* gut model. **Dis. Model. Mech.** 12, dmm039719.
100. Emery, F. S. Propriedades Físico-Químicas de Fármacos. (2016). Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/804016/mod_resource/content/1/Propriedades%20f%C3%ADsico-qu%C3%ADmicas.pdf. acesso em 14 de setembro de 2021.
101. Piyachaturawat, P., Glinsukon, T., and Toskulkao, C. (1983). Acute and subacute toxicity of piperine in mice, rats and hamsters. **Toxicol. Lett.** 16, 351–359.
102. Ferreira, R.C., Batista, T.M., Duarte, S.S., Silva, D.K.F., Lisboa, T.M.H., Cavalcanti, R.F.P., Leite, F.C., Manguiera, V.M., Sousa, T.K.G. de, Abrantes, R.A. de, *et al.* (2020). A novel piperine analogue exerts *in vivo* antitumor effect by inducing oxidative, antiangiogenic and immunomodulatory actions. **Biomed. Pharmacother.** v. 128, p. 110247, 2020.
103. Cleeland, R., Squires, E. (1991). Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections. In: Lorian, V. Antibiotics in laboratory medicine. 3a Ed. Baltimore: **Williams & Wilkins**; p. 739-787.
104. Nascimento, P. F. C., Nascimento, A. C., Rodrigues, C. S., Antonioli, A. R., Santos, M. P. O., Júnior, A. M. B., Trindade, R. C. (2007). Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v. 17, n. 1, p. 108-113.
105. Pereira, F. O., Mendes, J. M., Lima, I. O., Mota, K. S. L., Oliveira, W. A., Lima, E. O. (2015). Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharm. Biol.**, v. 53, 228.
106. Ferreira, R. C. (2019). Toxicidade e ação antitumoral *in vivo* do 4-(4-nitrobenzoato)-piperinoato de butila, um novo derivado da piperina. Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UFPB, Dissertação de Mestrado, 148 p.
107. Renzi, D., Valtolina, M., Foster, R. (1993). The evaluation of a multi-endpoint cytotoxicity assay system. **Atla**, V. 21, p. 89-96.

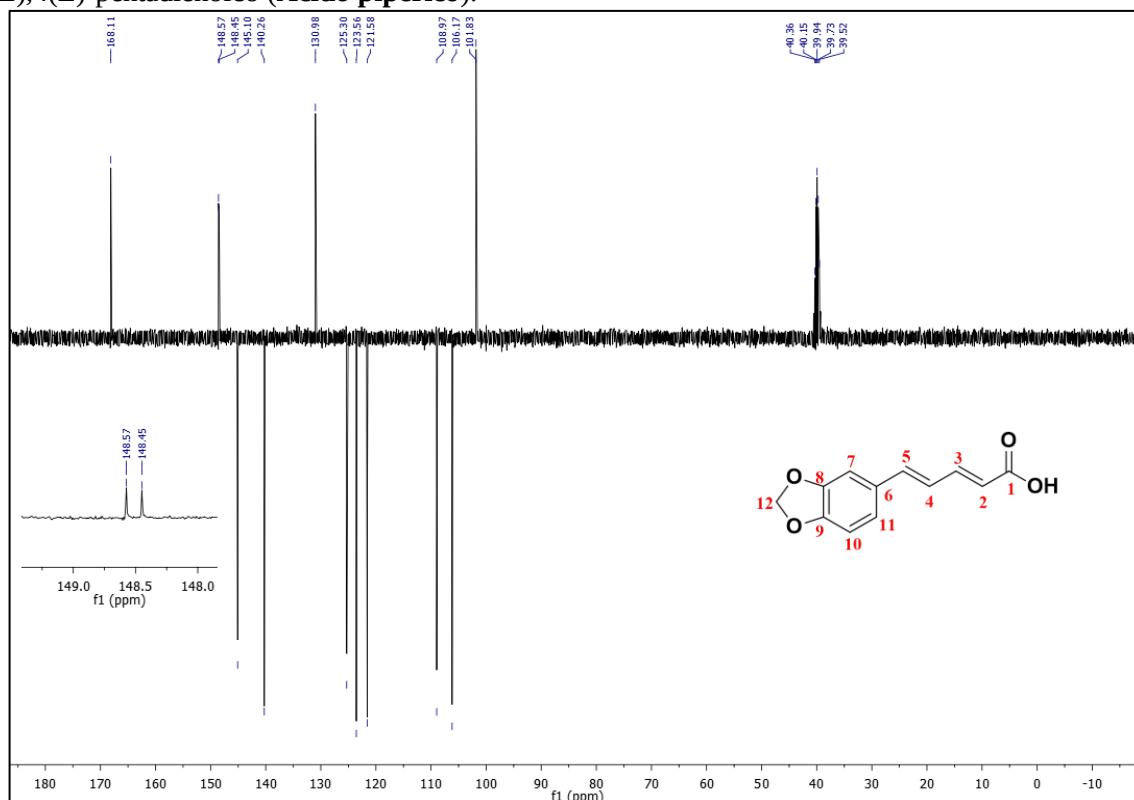
ANEXOS

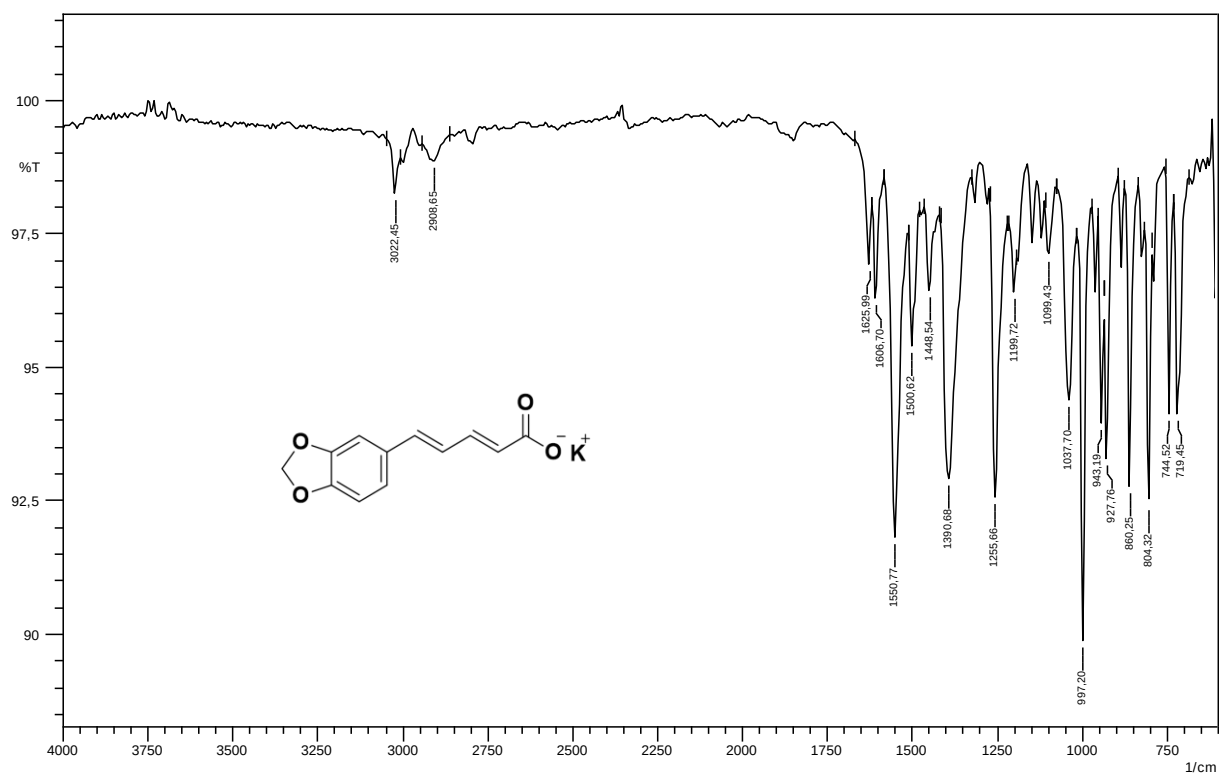
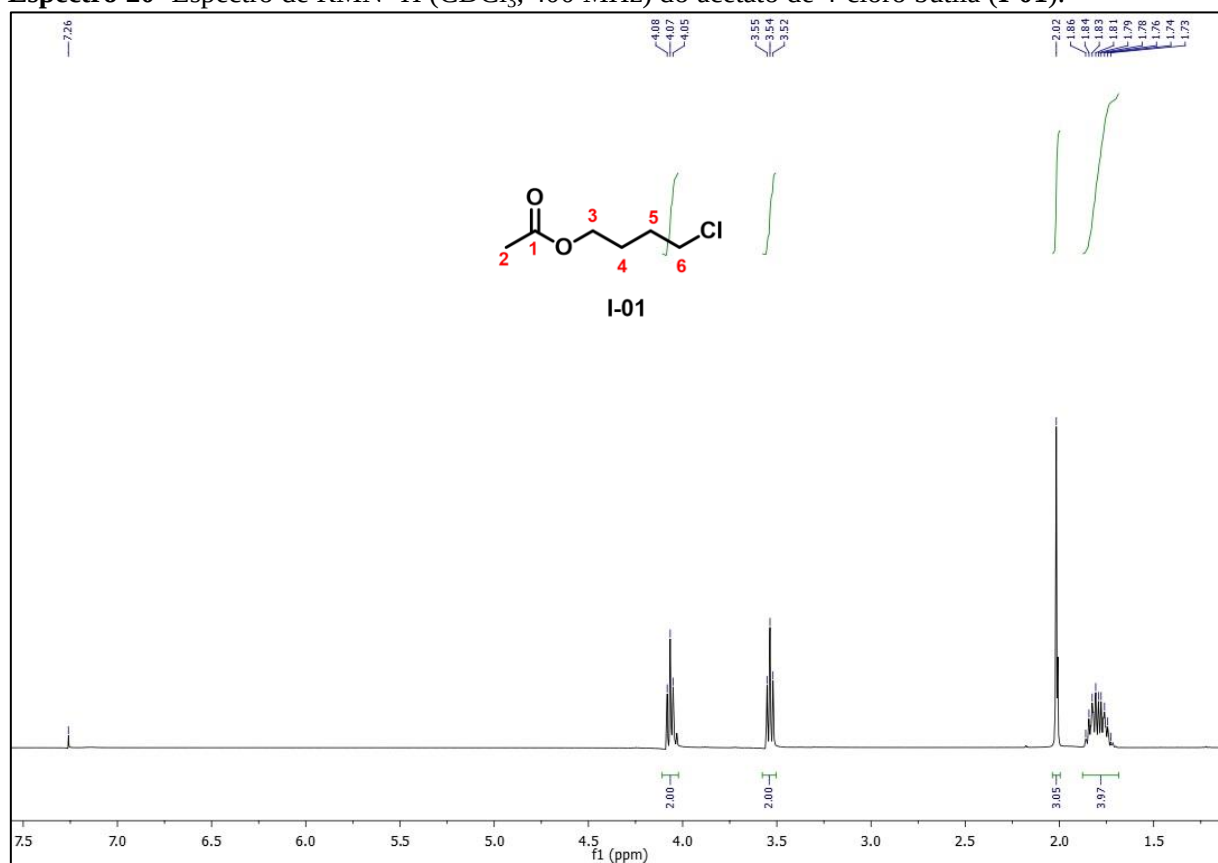
ANEXOS I: Espectros de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e RMN 2D (COSY, HSQC, HMBC)Espectro 15- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) da 1-piperoil-piperidina (**Piperina**).Espectro 16- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) da 1-piperoil-piperidina (**Piperina**).

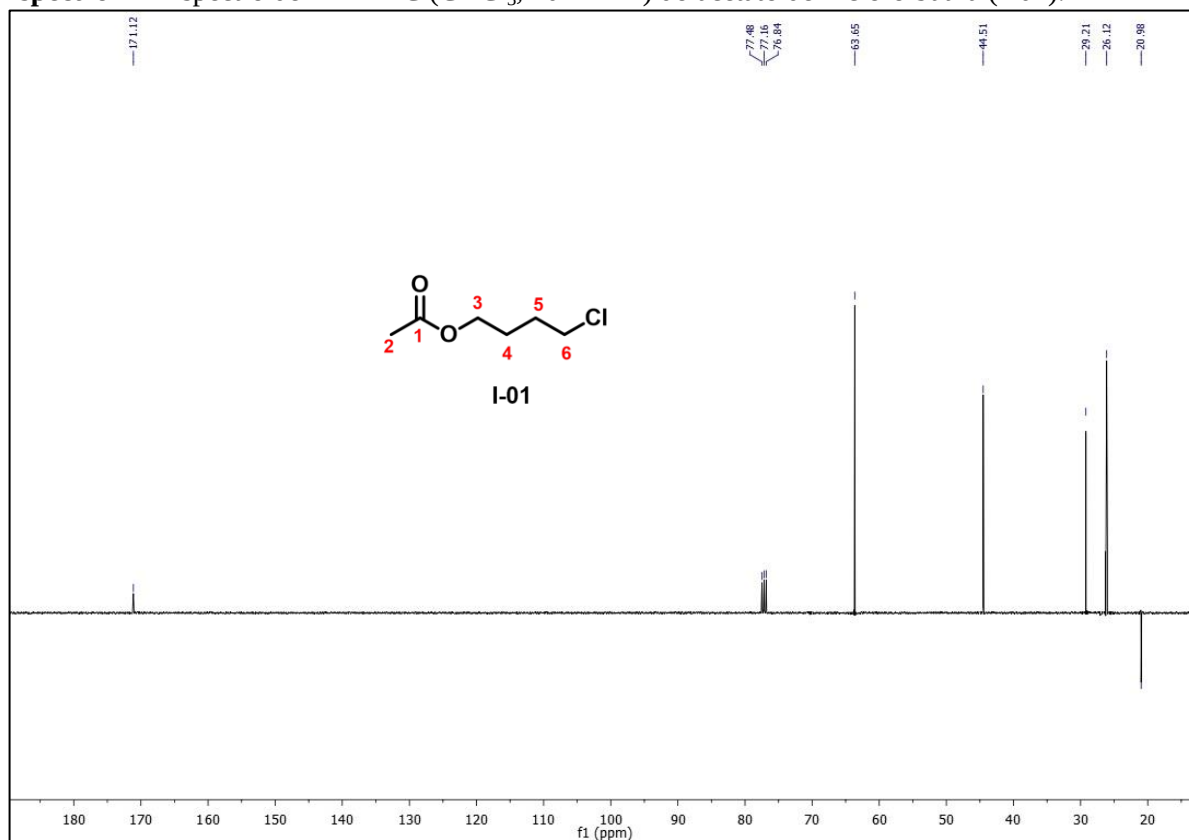
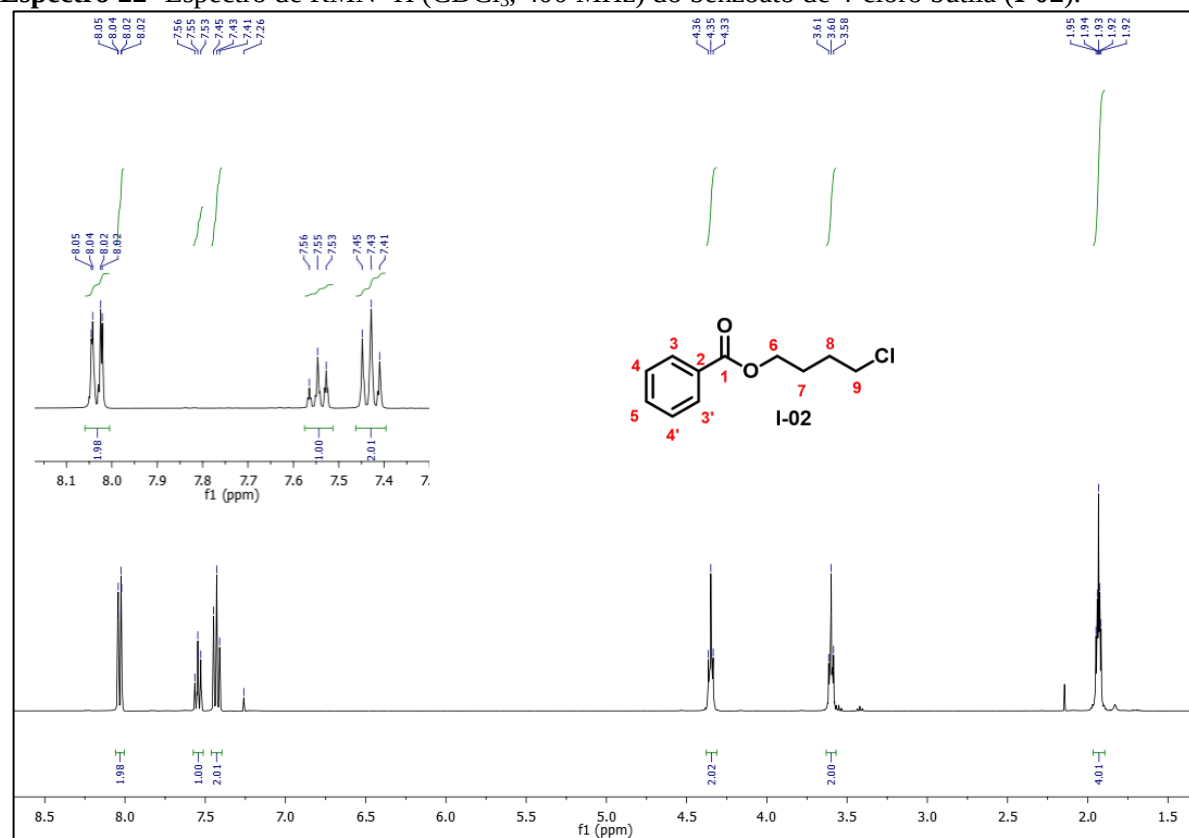
Espectro 17- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (**Ácido pipérico**).

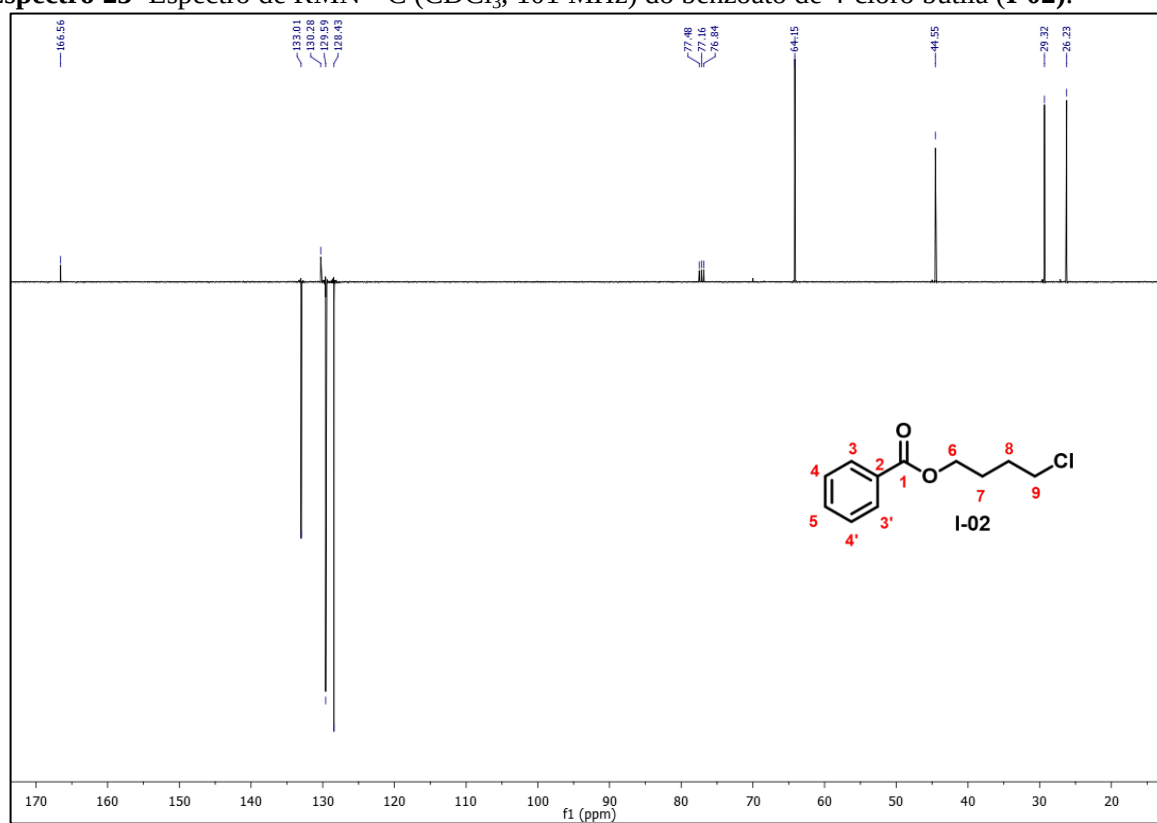
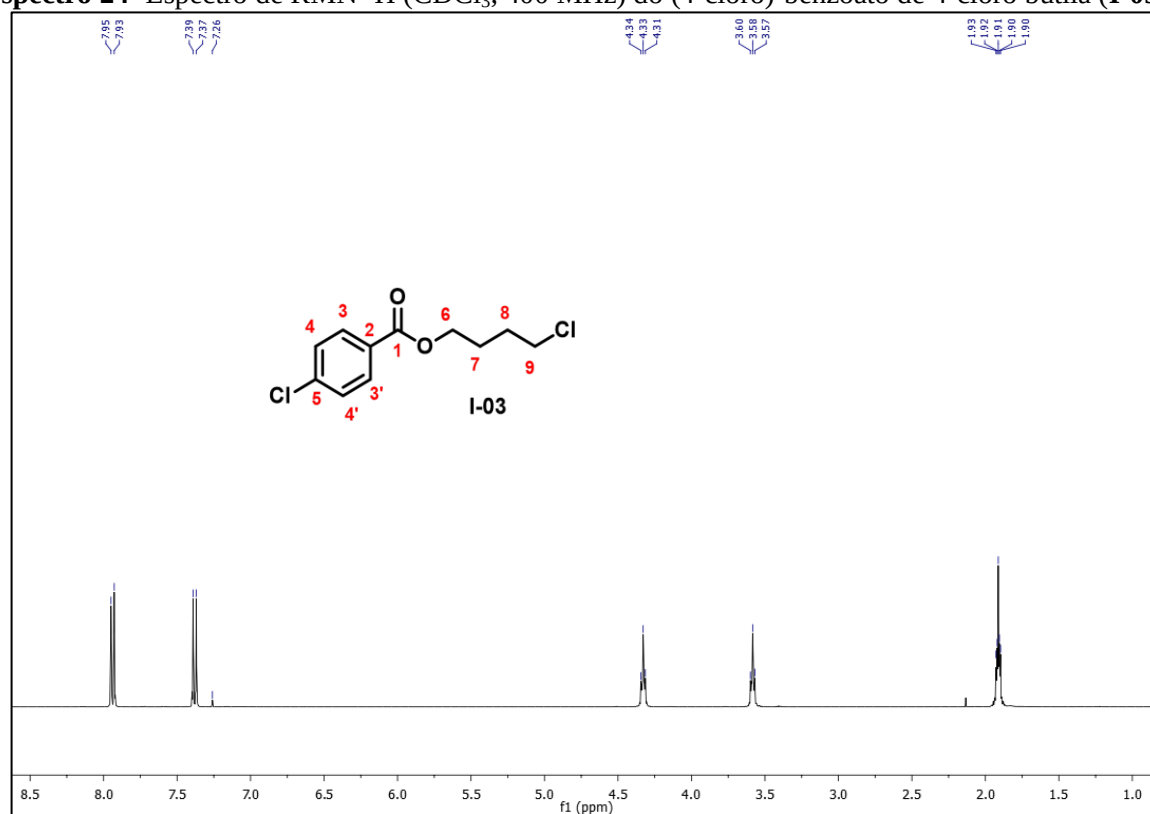


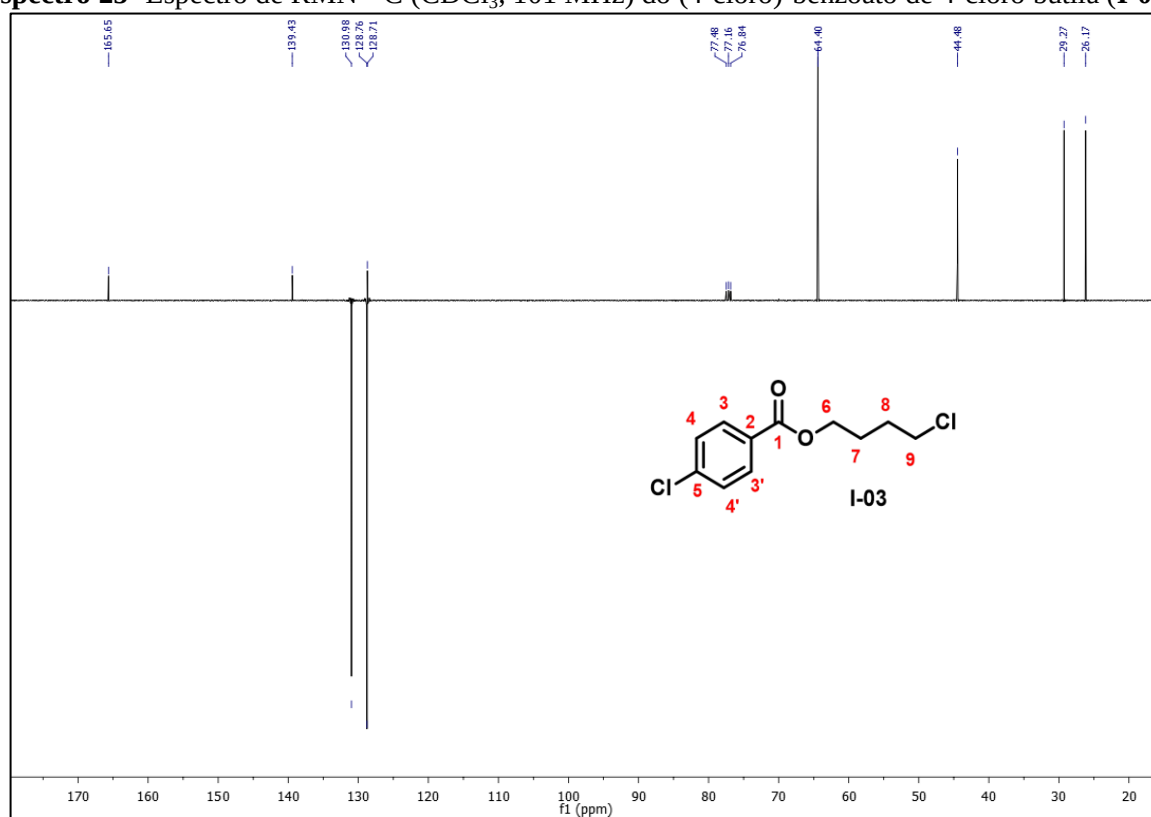
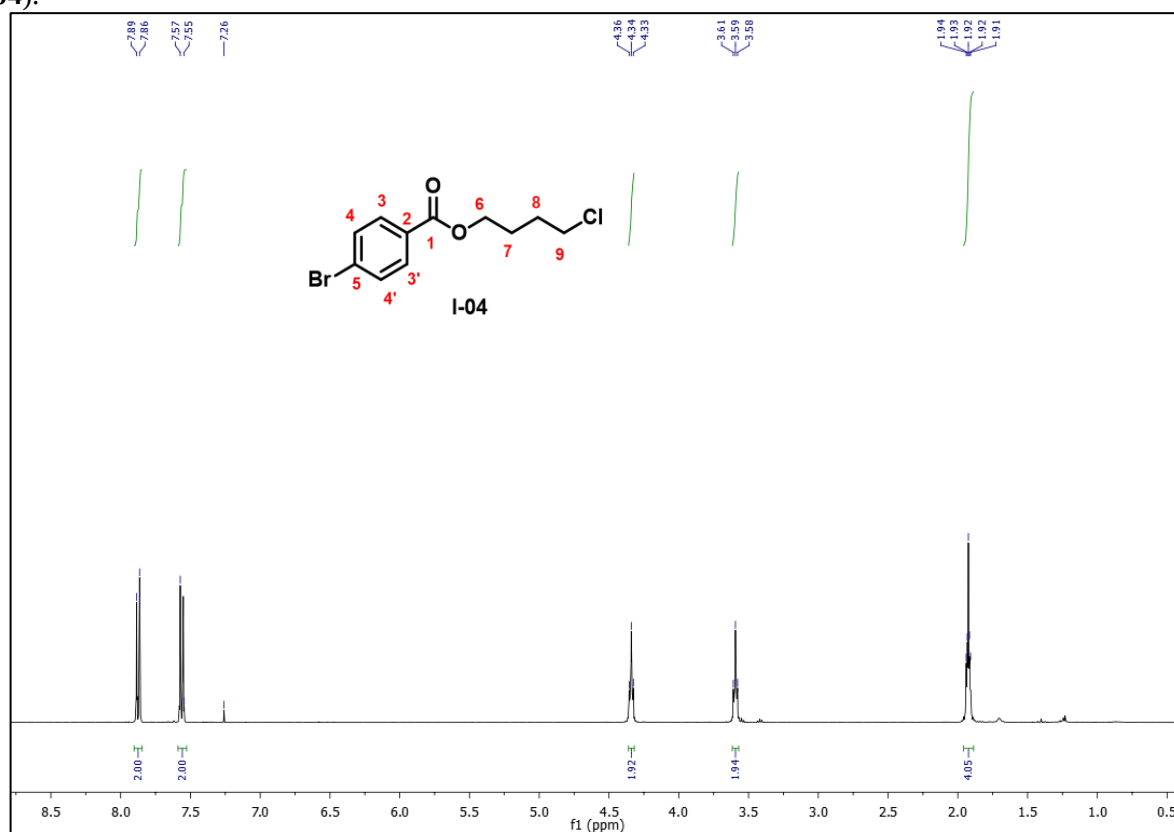
Espectro 18- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 400 MHz) do ácido 5-(3,4-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-pentadienóico (**Ácido pipérico**).



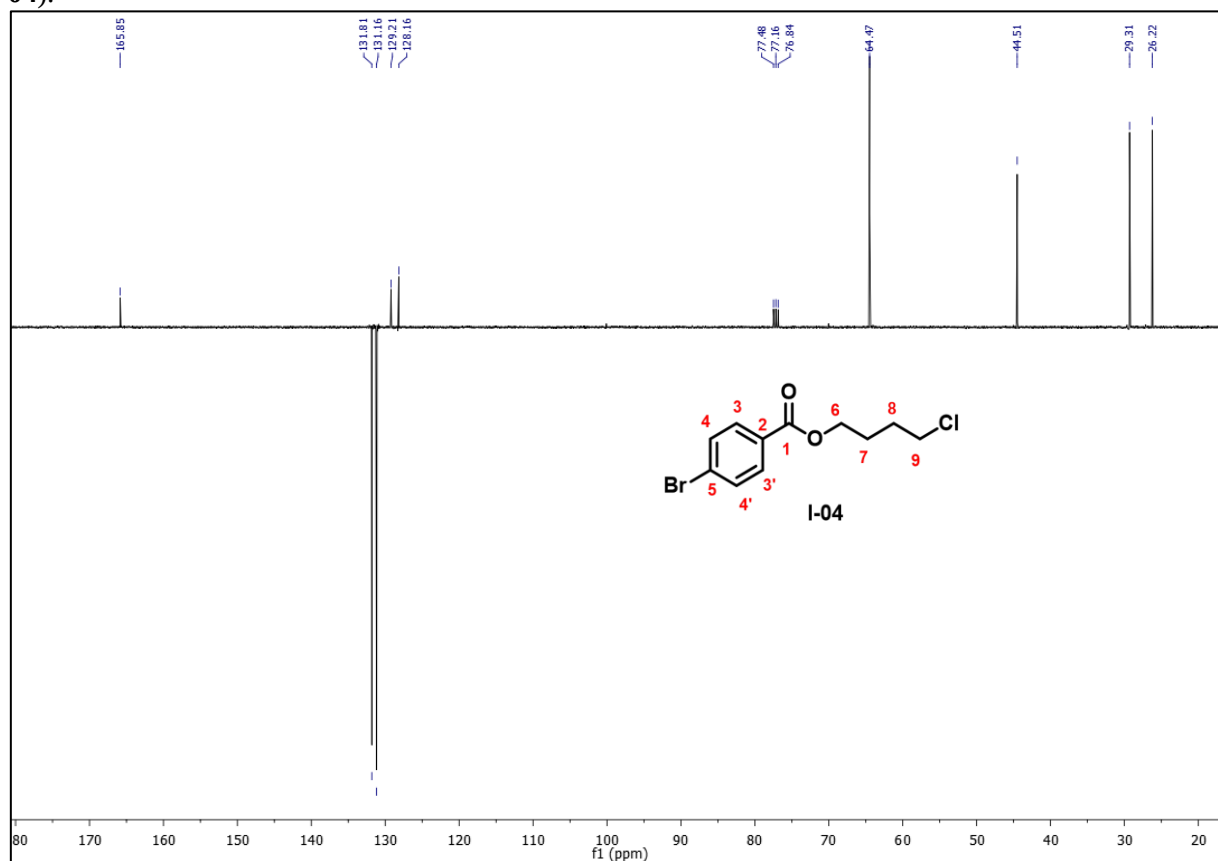
Espectro 19- Espectro de Infravermelho (ATR) do piperato de potássio**Espectro 20-** Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do acetato de 4-cloro butila (**I-01**).

Espectro 21- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do acetato de 4-cloro butila (**I-01**).**Espectro 22-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do benzoato de 4-cloro butila (**I-02**).

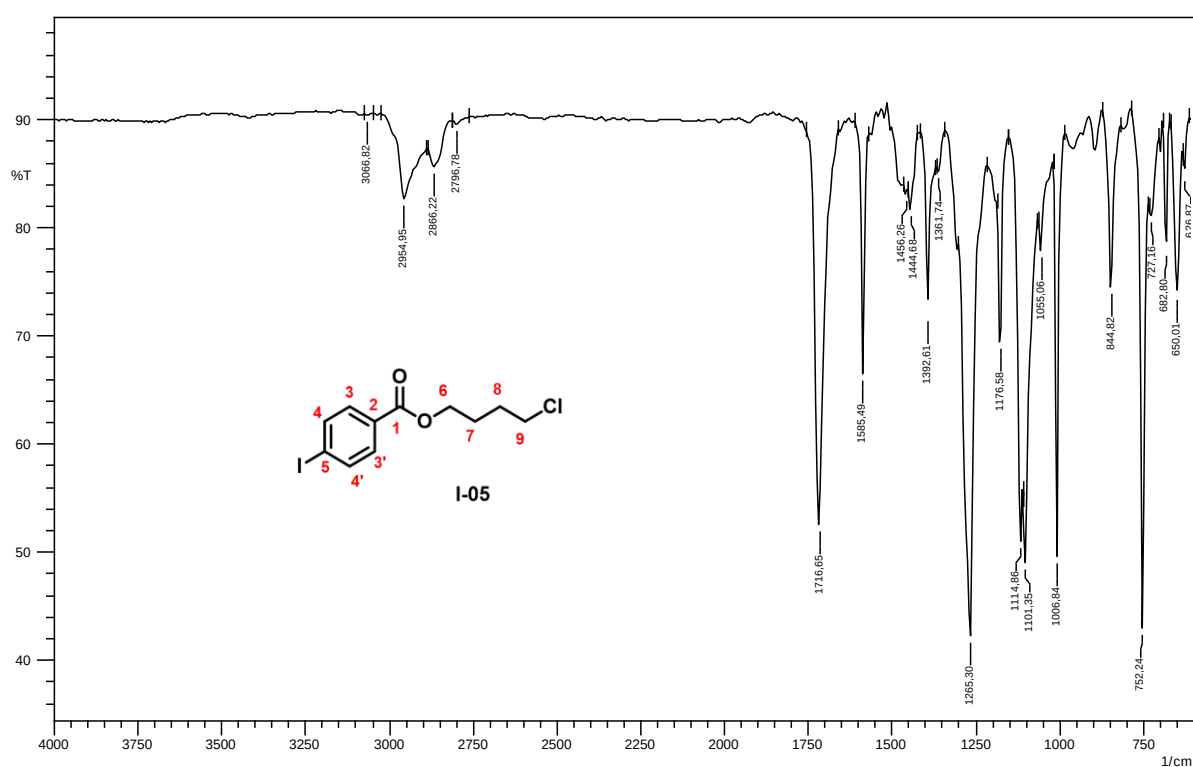
Espectro 23- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do benzoato de 4-cloro butila (**I-02**).**Espectro 24-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-cloro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-03**).

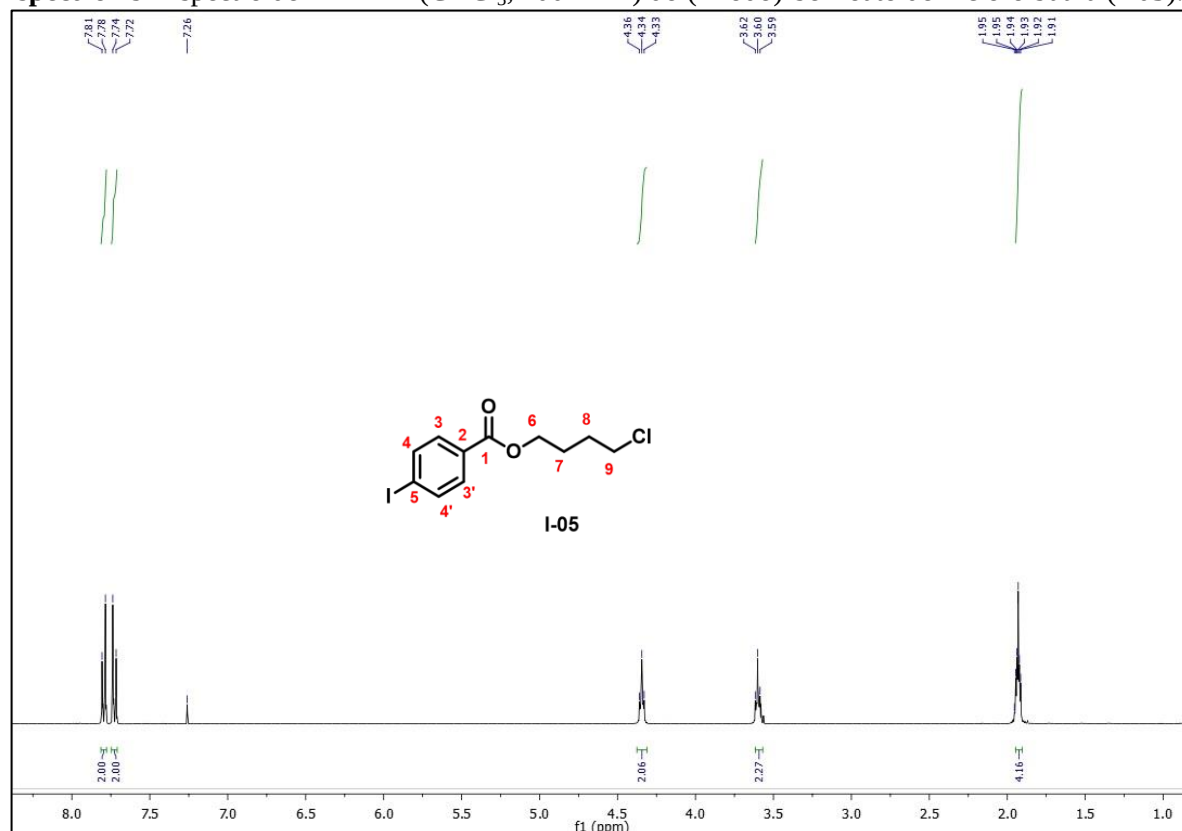
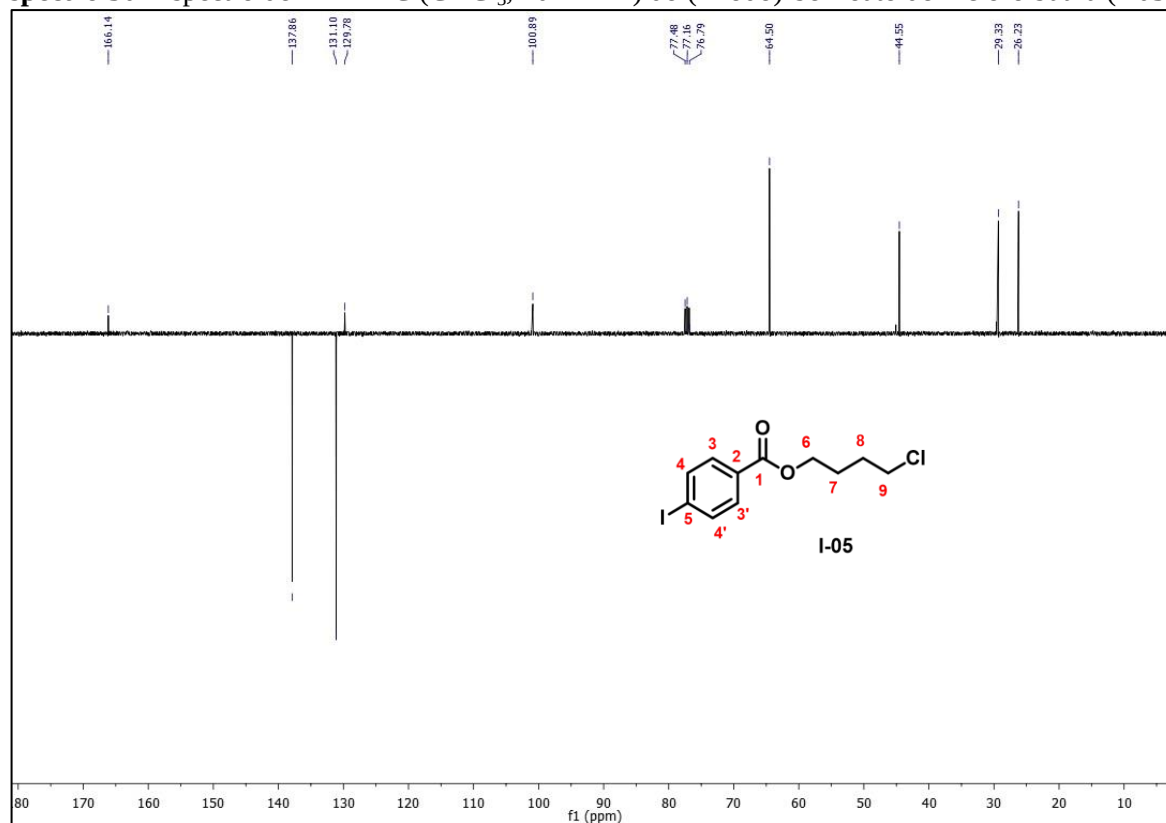
Espectro 25- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-cloro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-03**).**Espectro 26-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-bromo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-04**).

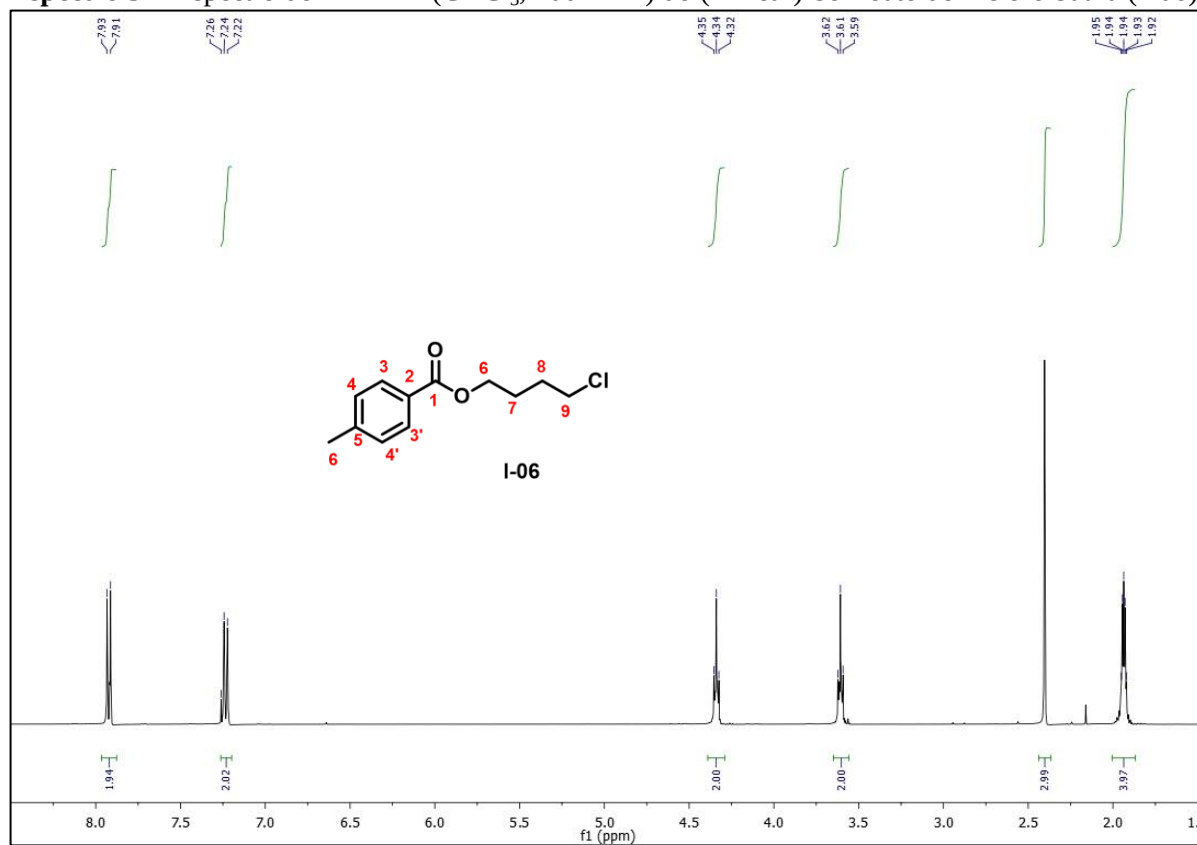
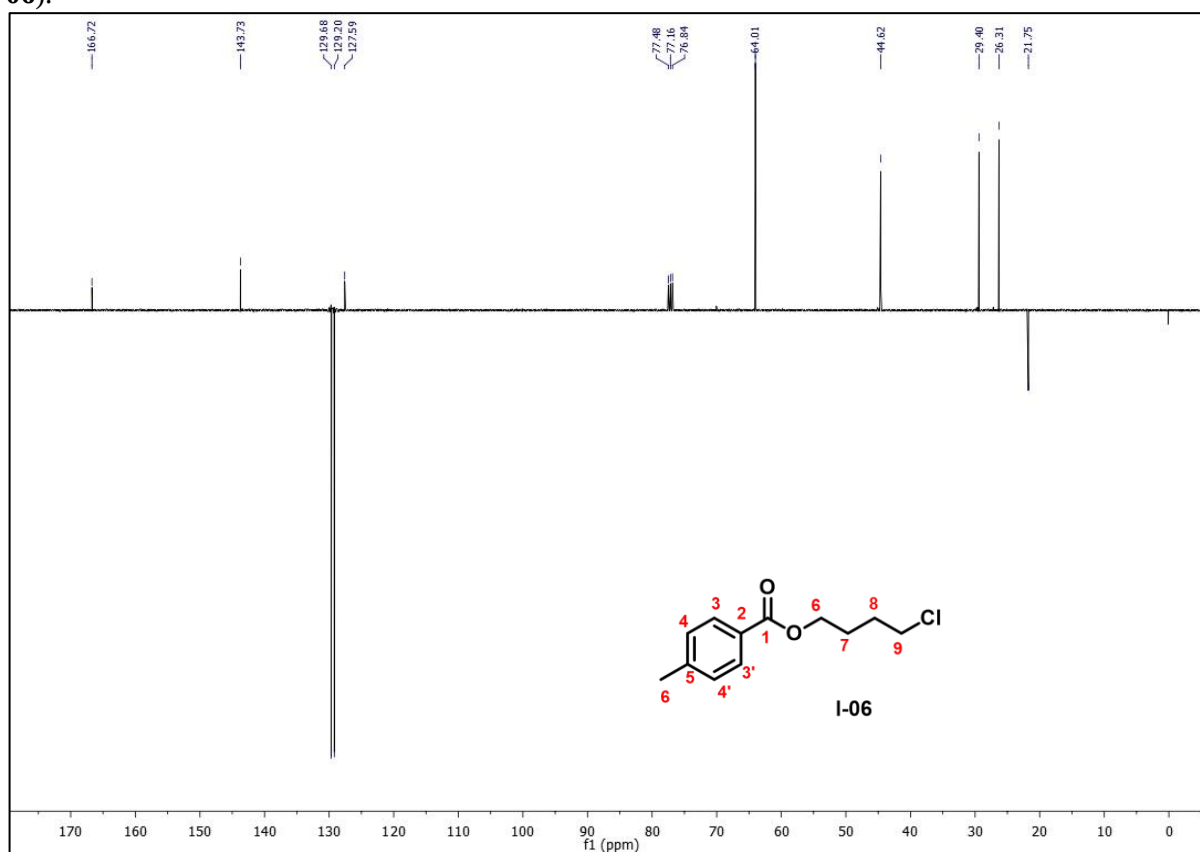
Espectro 27- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-bromo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-04**).



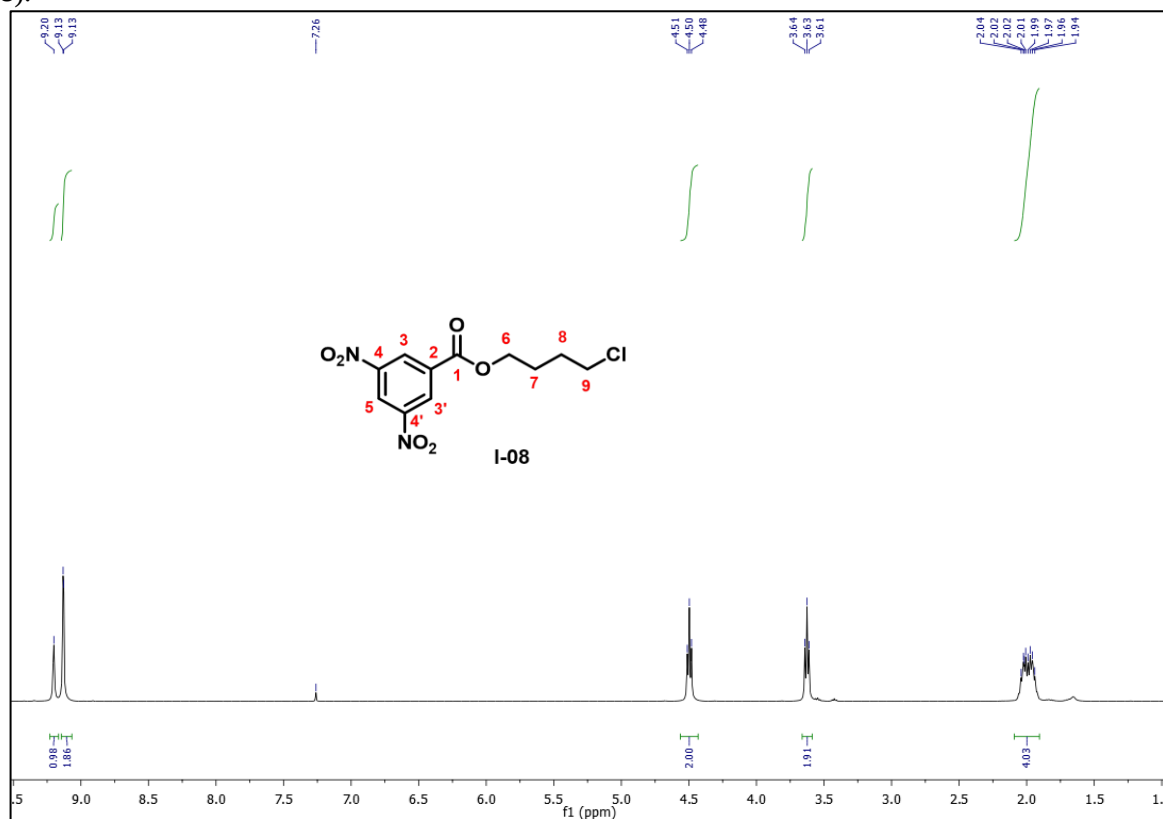
Espectro 28- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-05**).



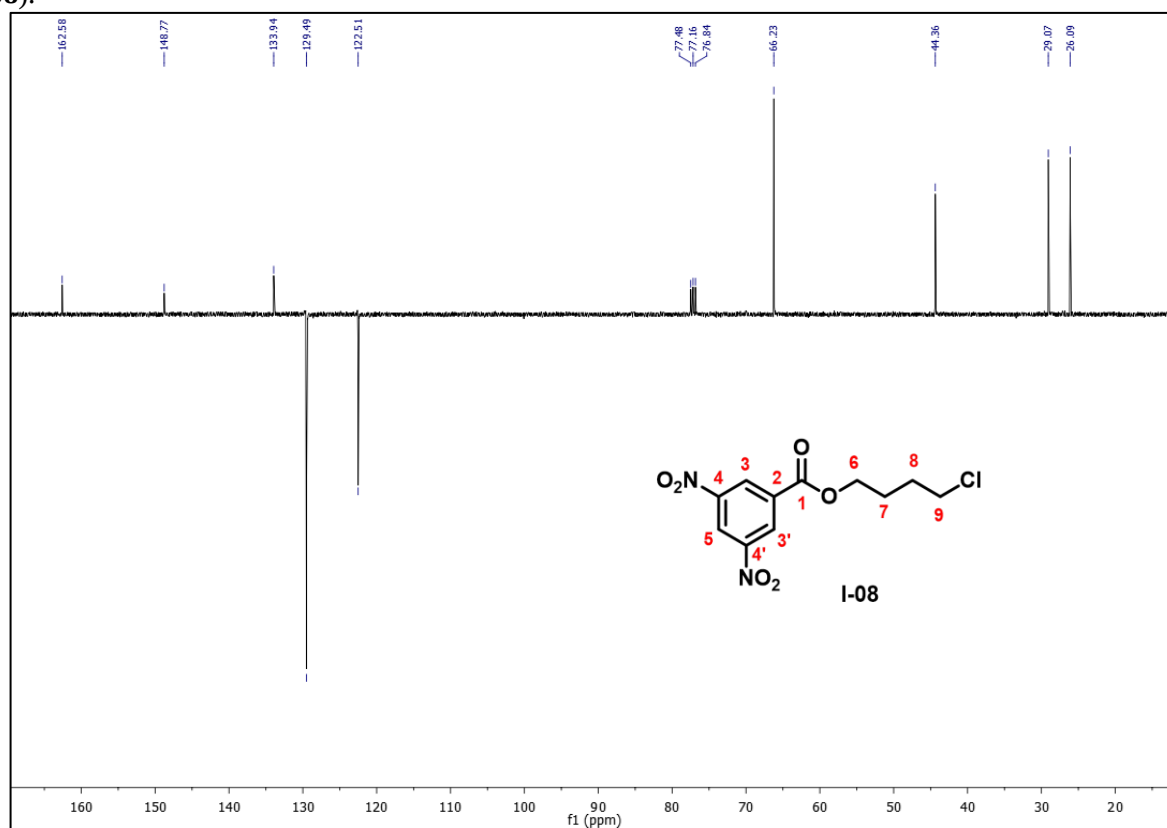
Espectro 29- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-05**).**Espectro 30-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-iodo)-benzoato de 4-cloro butila (**I-05**).

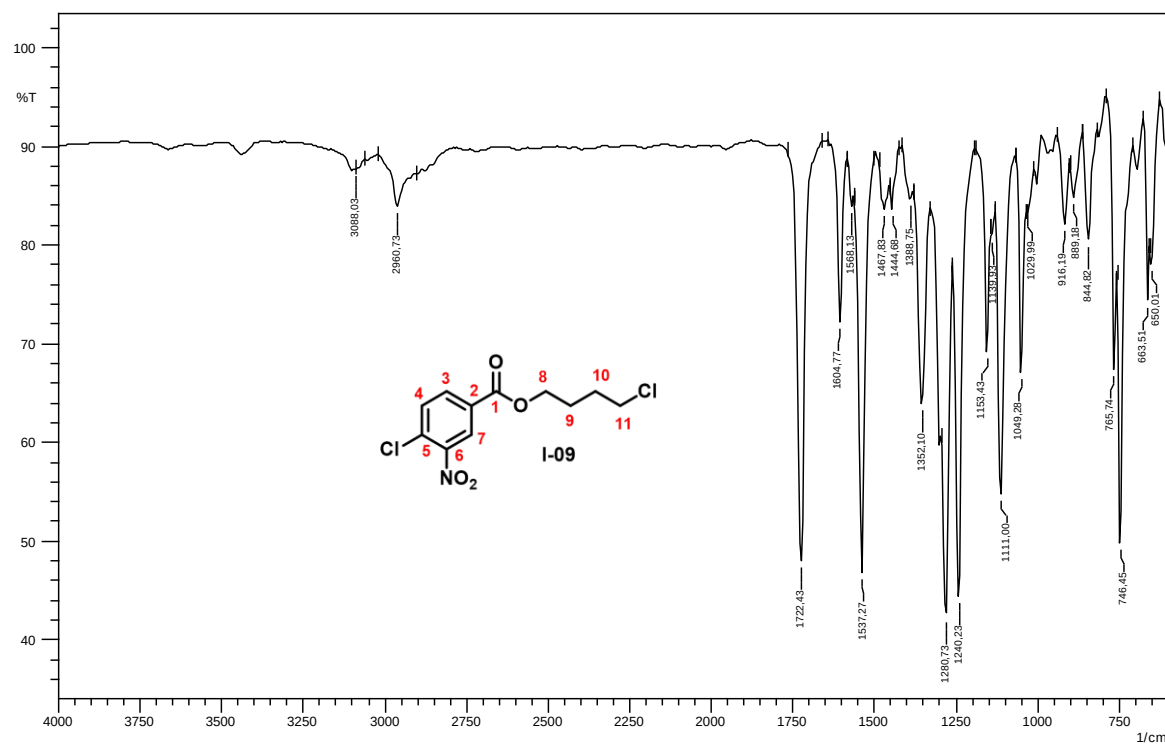
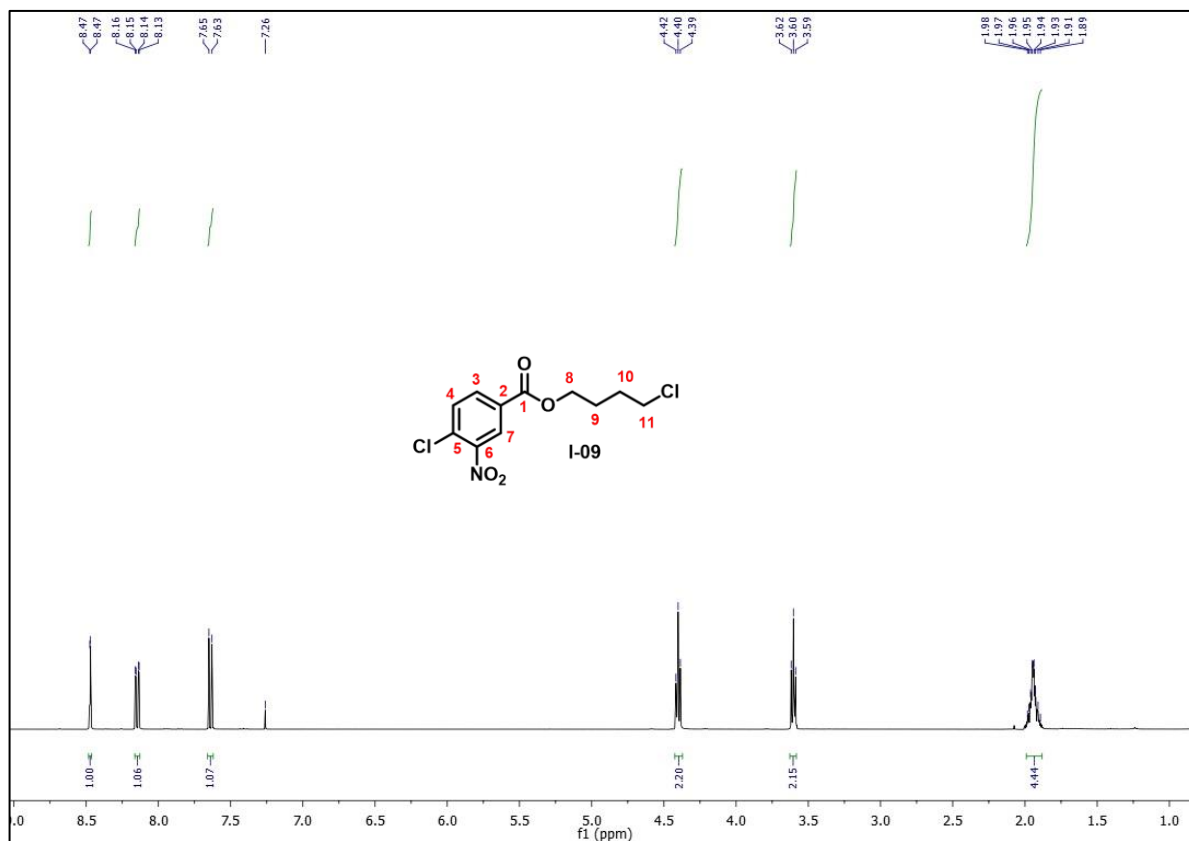
Espectro 31- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-metil)-benzoato de 4-cloro butila (**I-06**).**Espectro 32-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-metil)-benzoato de 4-cloro butila (**I-06**).

Espectro 33- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-08**).

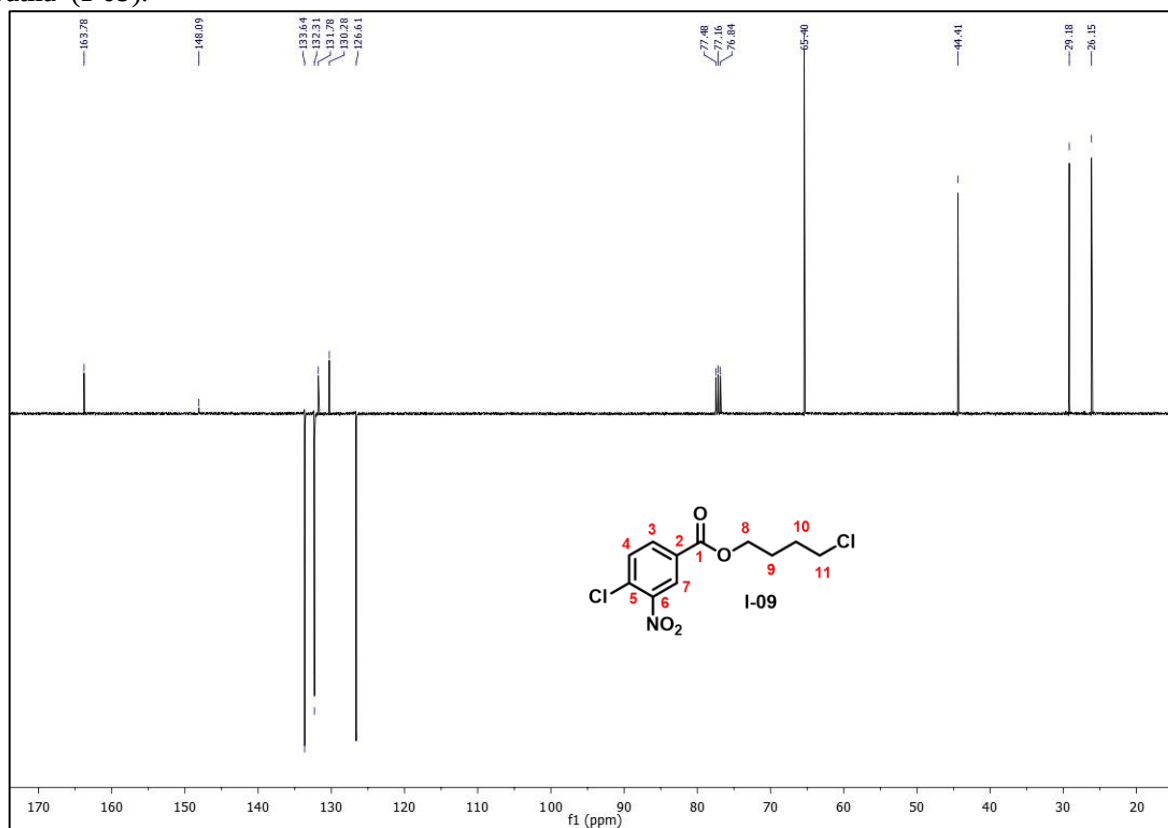


Espectro 34- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (3,5-dinitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-08**).

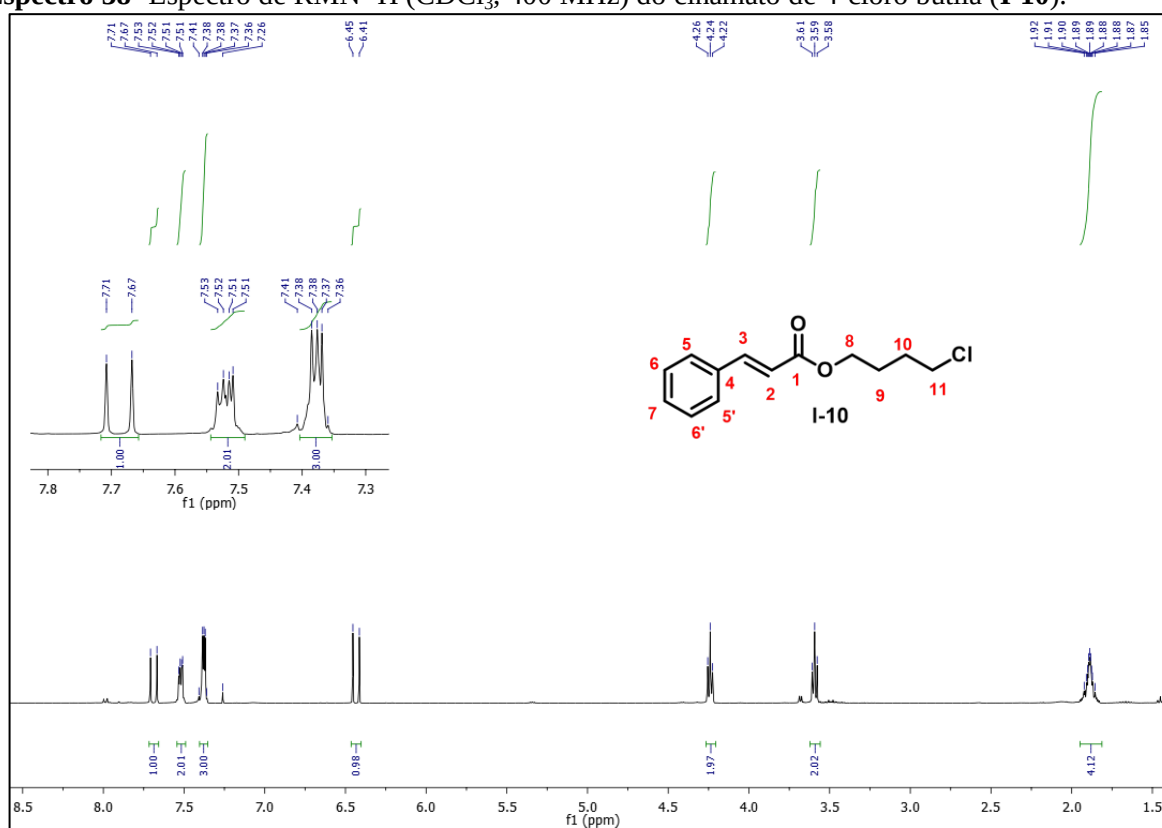


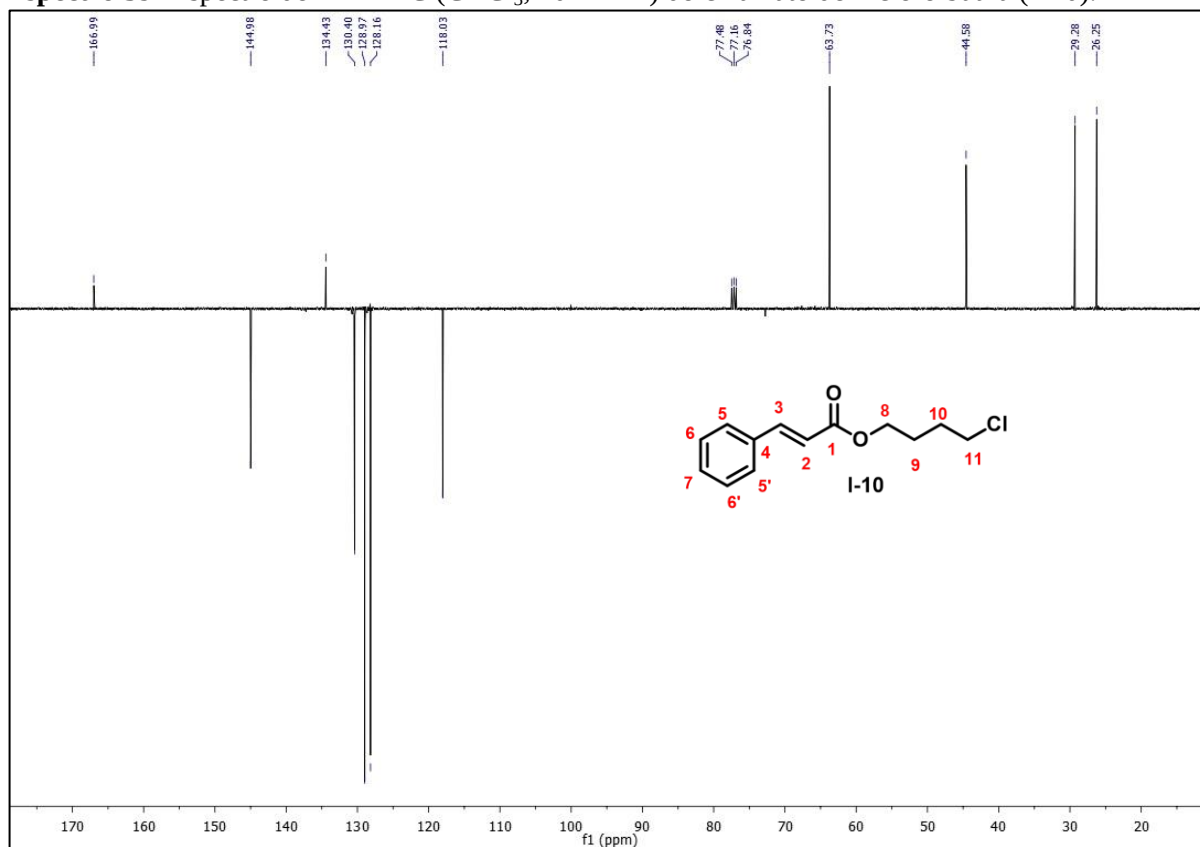
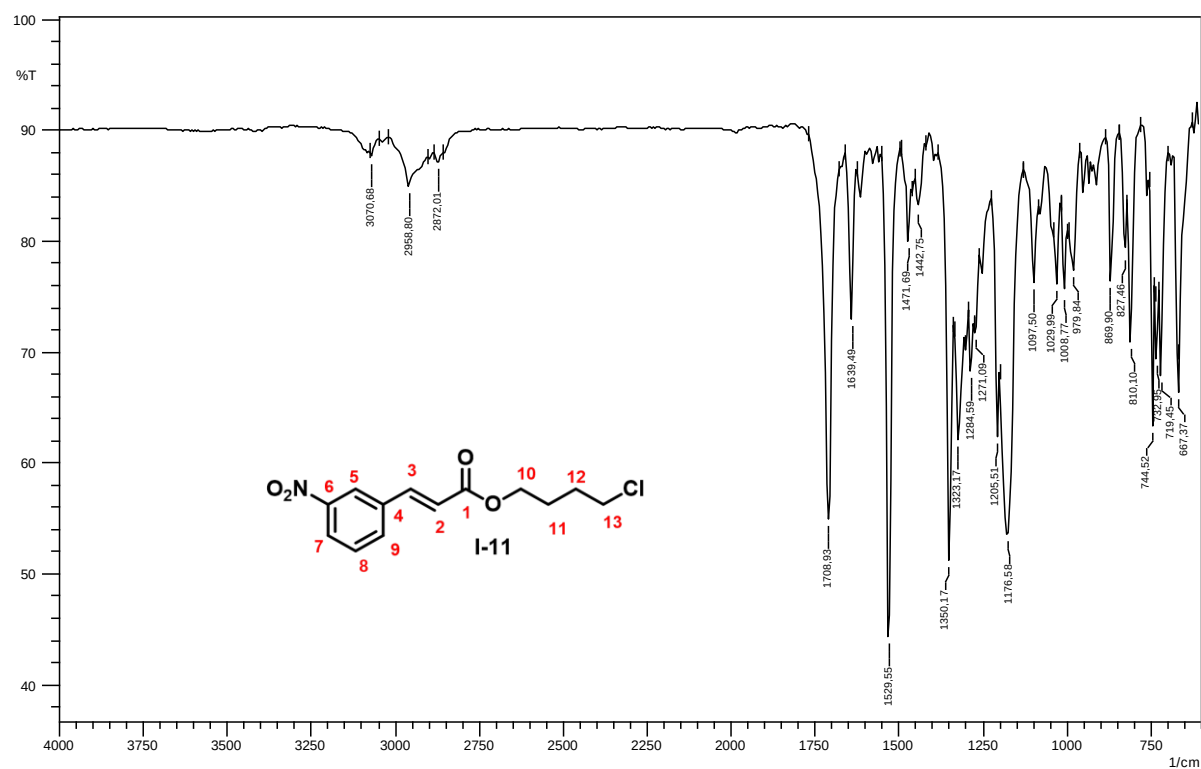
Espectro 35- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-09**).**Espectro 36-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-09**).

Espectro 37- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do (4-cloro, 3-nitro)-benzoato de 4-cloro butila (**I-09**).

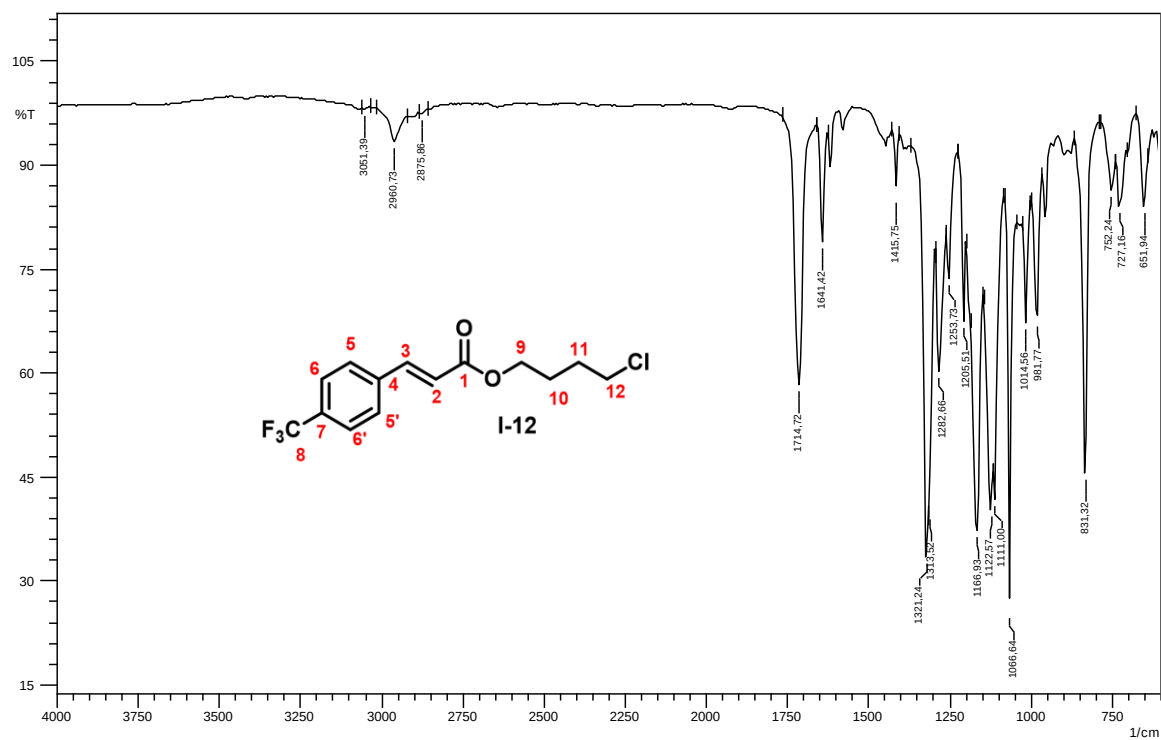
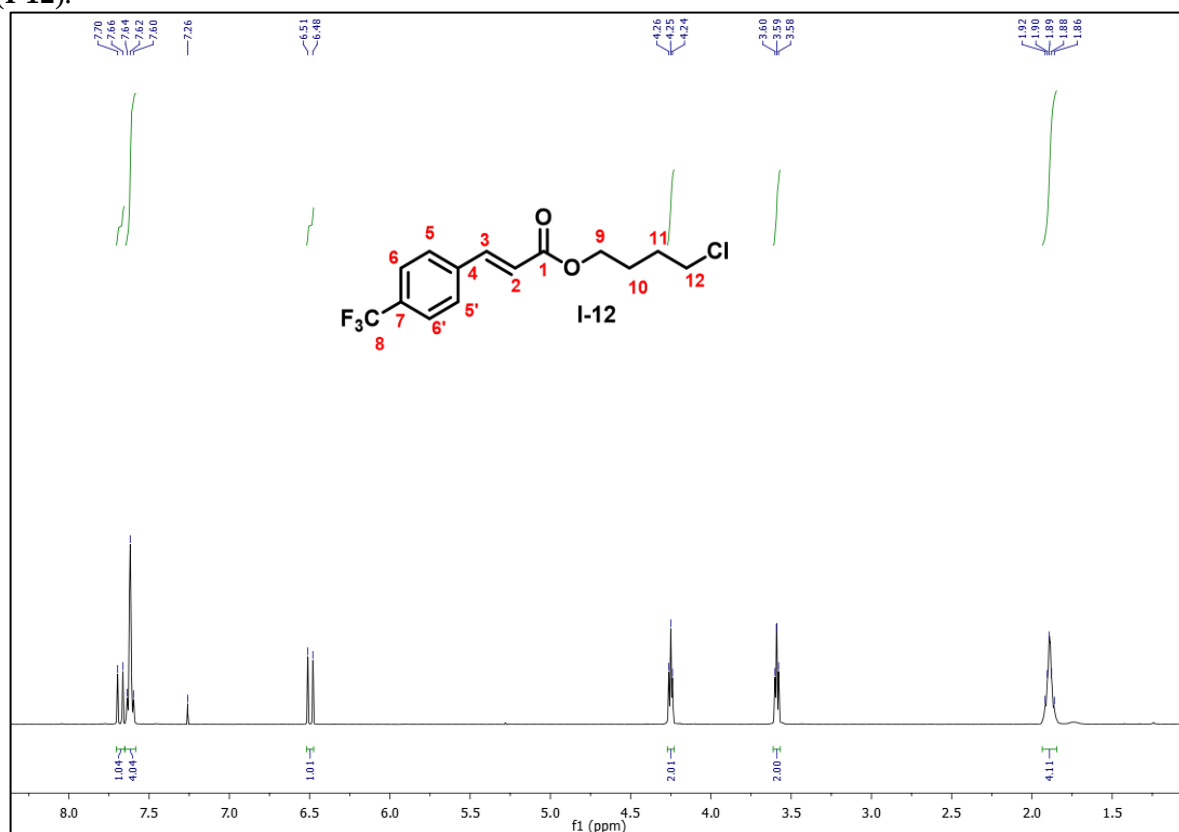


Espectro 38- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do cinamato de 4-cloro butila (**I-10**).

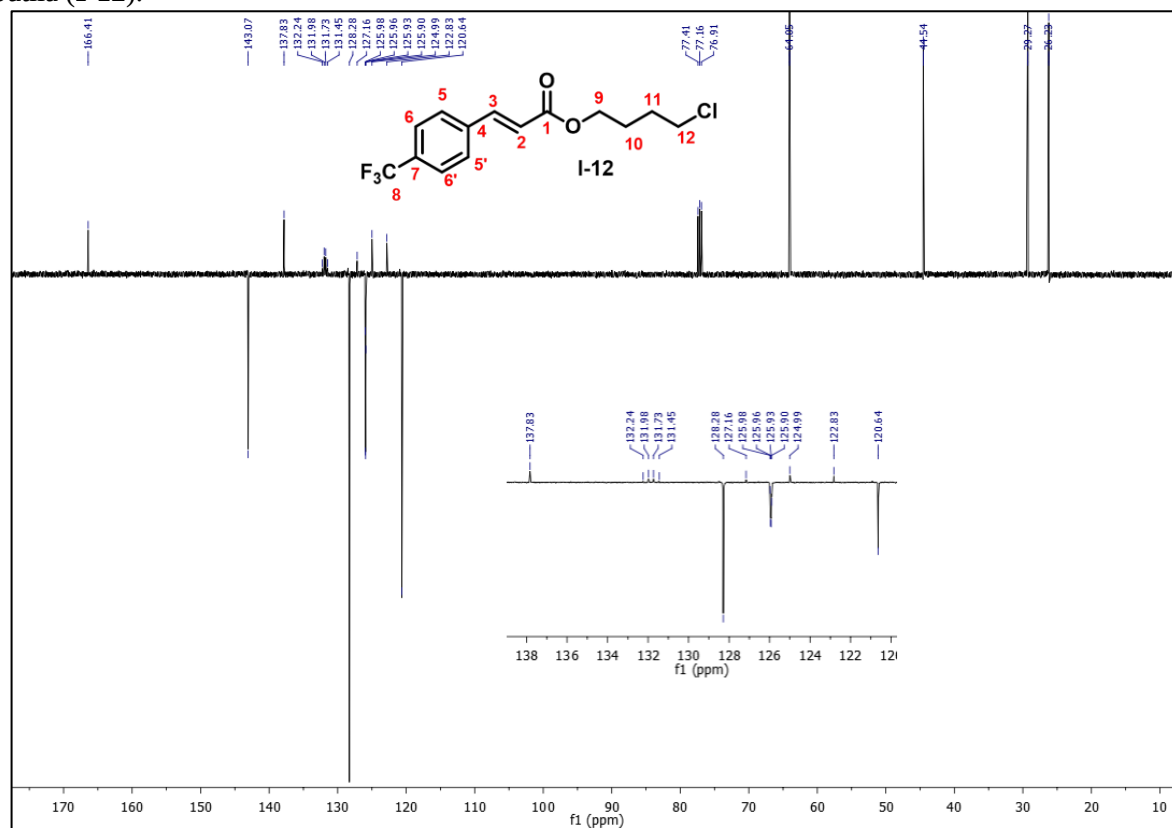


Espectro 39- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do cinamato de 4-cloro butila (**I-10**).**Espectro 40-** Espectro de Infravermelho (ATR) do (3-nitro)-cinamato de 4-cloro butila (**I-11**).

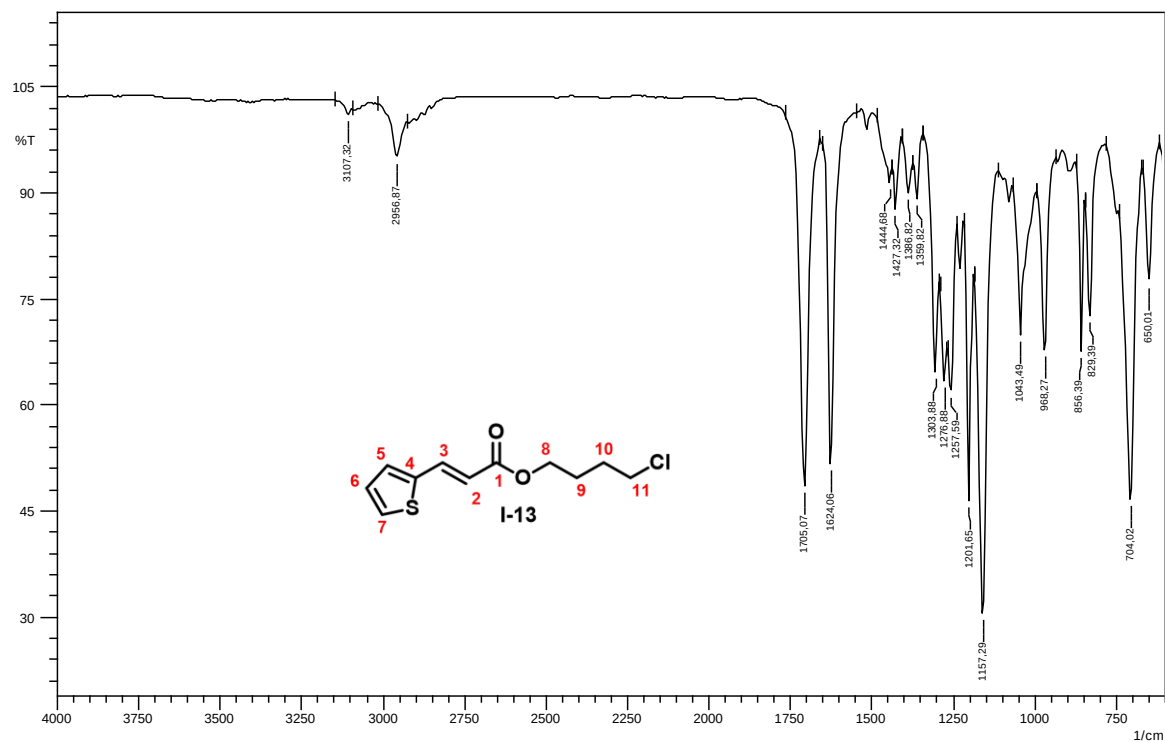


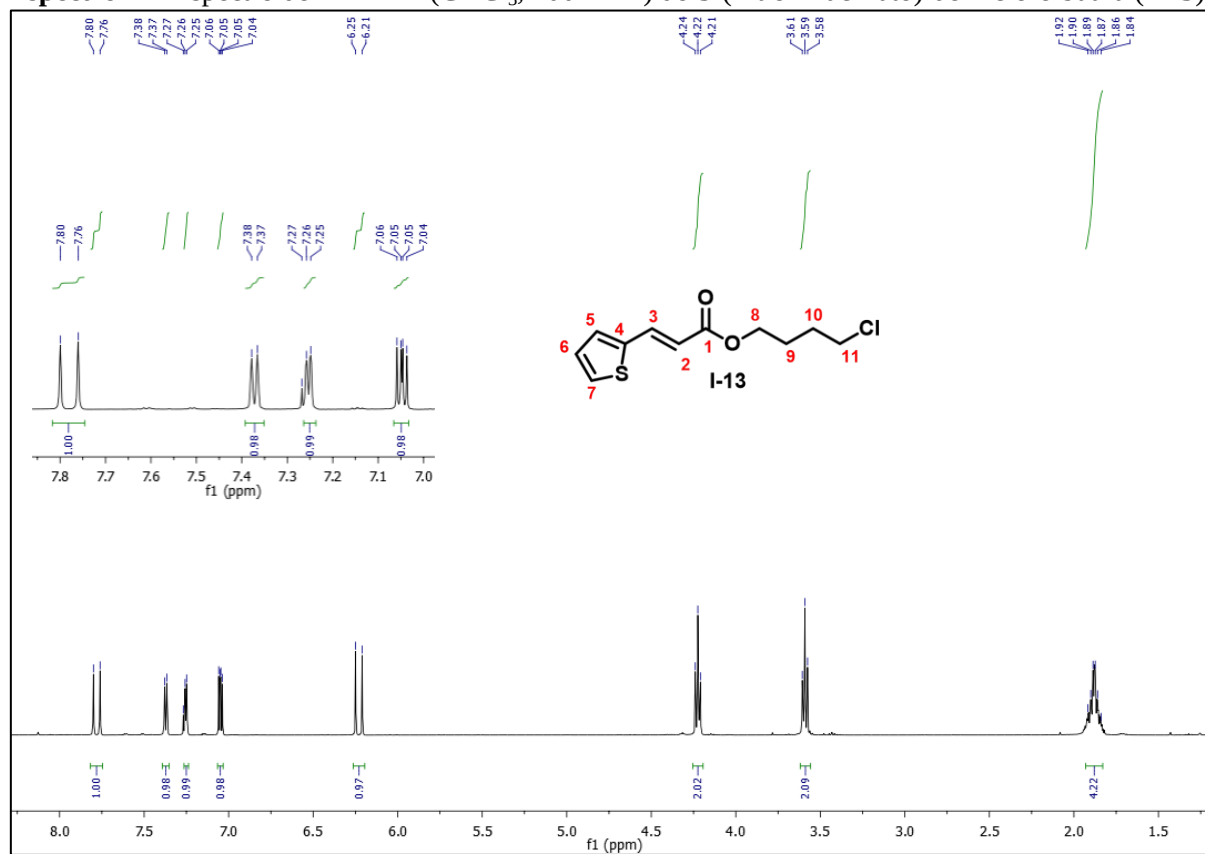
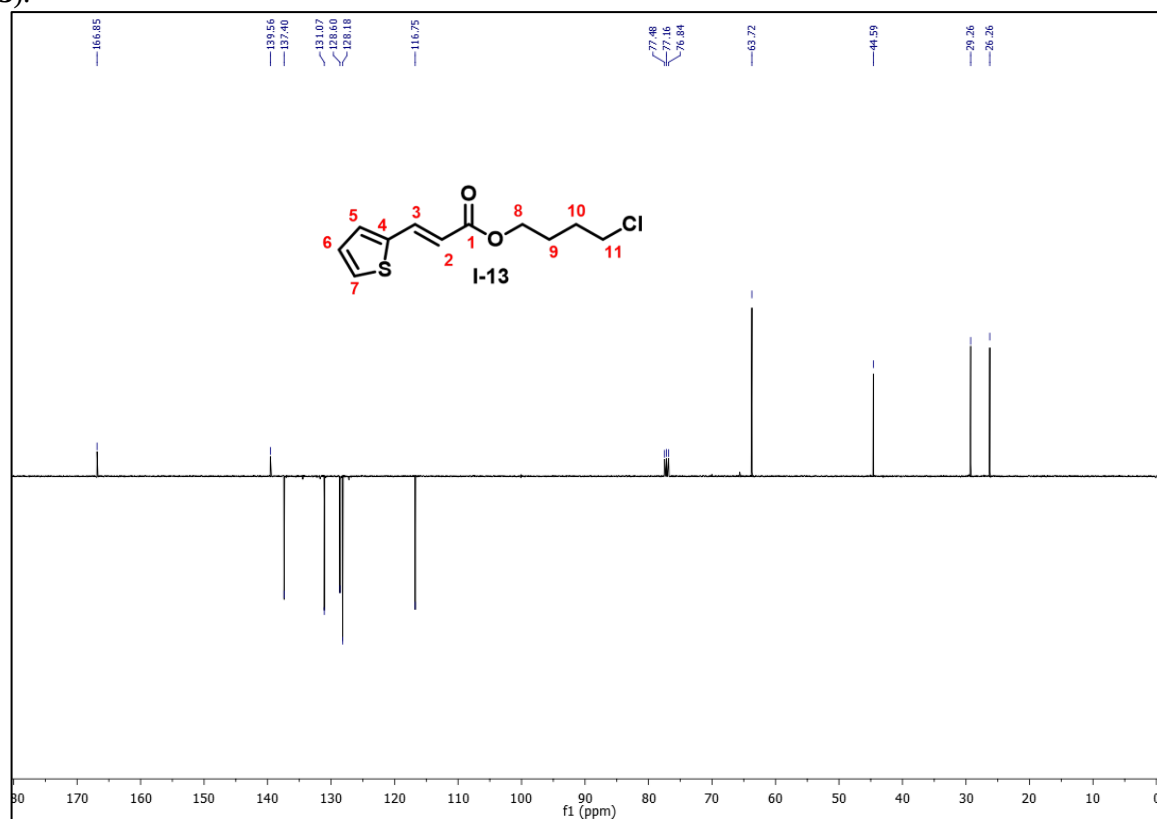
Espectro 43- Espectro de Infravermelho (ATR) do (4-trifluor-metil)-cinamato de 4-cloro butila (**I-12**).**Espectro 44-** Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do (4-trifluor-metil)-cinamato de 4-cloro butila (**I-12**).

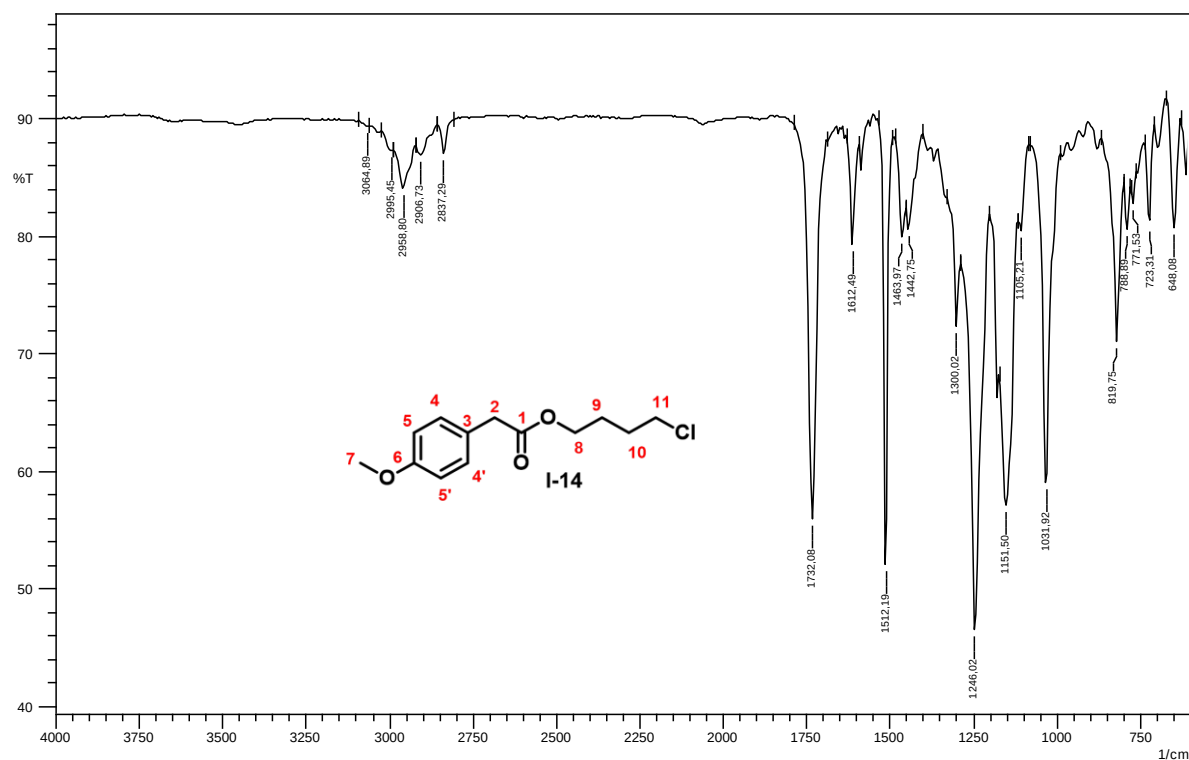
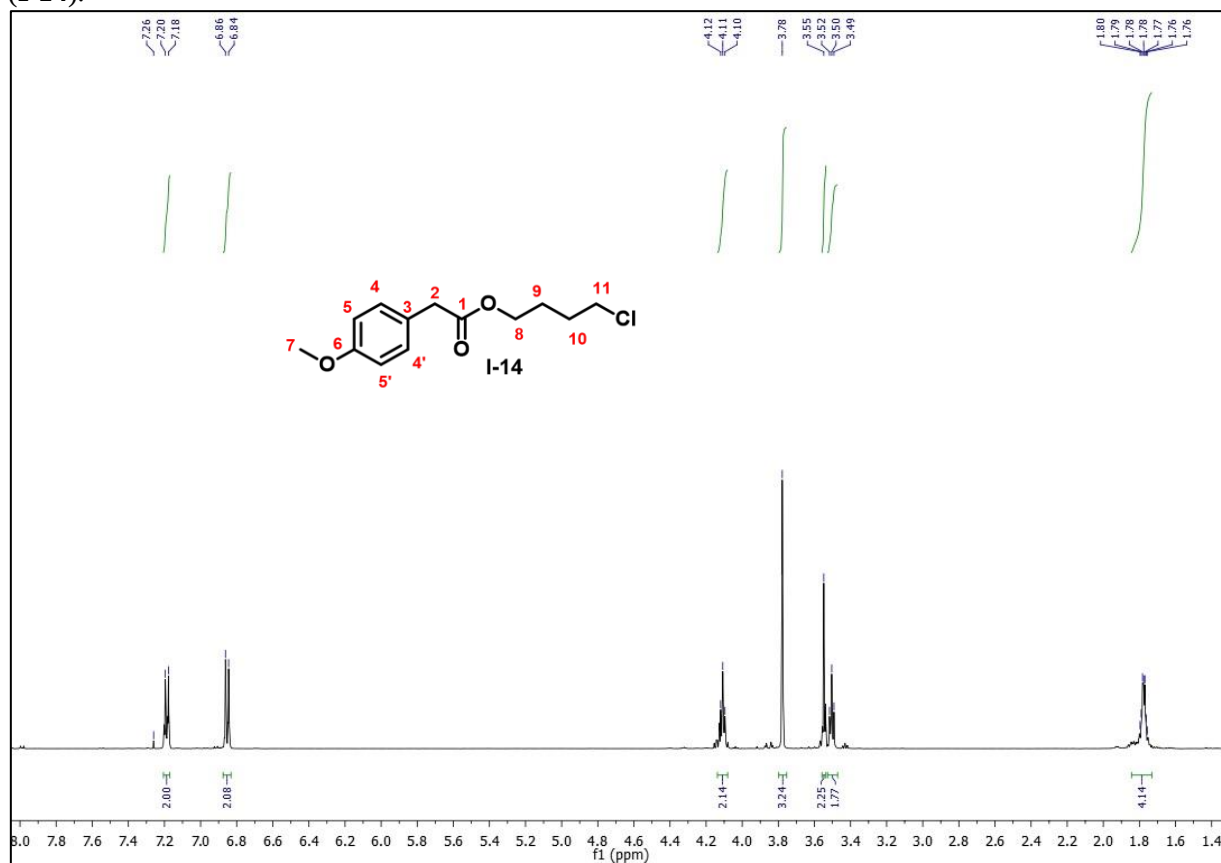
Espectro 45- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz) do (4-trifluor-metil)-cinamato de 4-cloro butila (**I-12**).



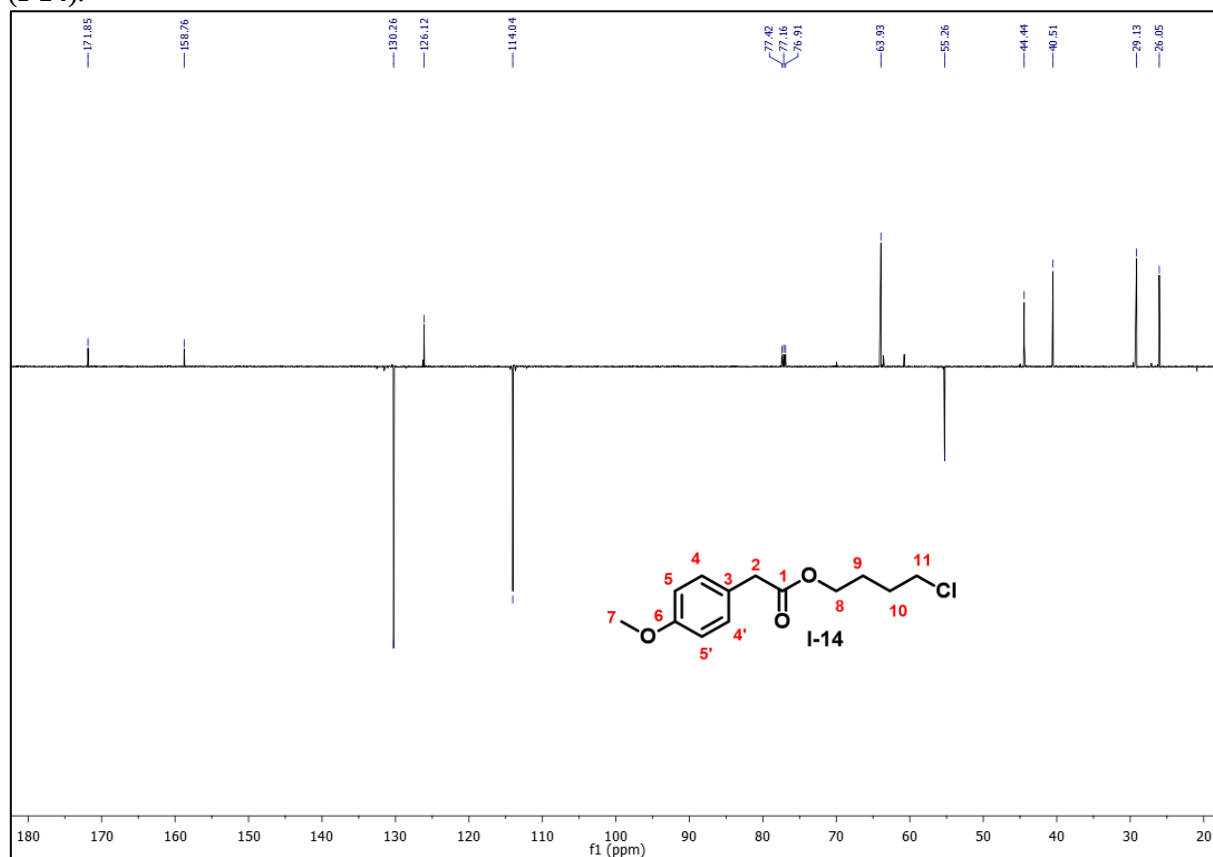
Espectro 46- Espectro de Infravermelho do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (**I-13**).



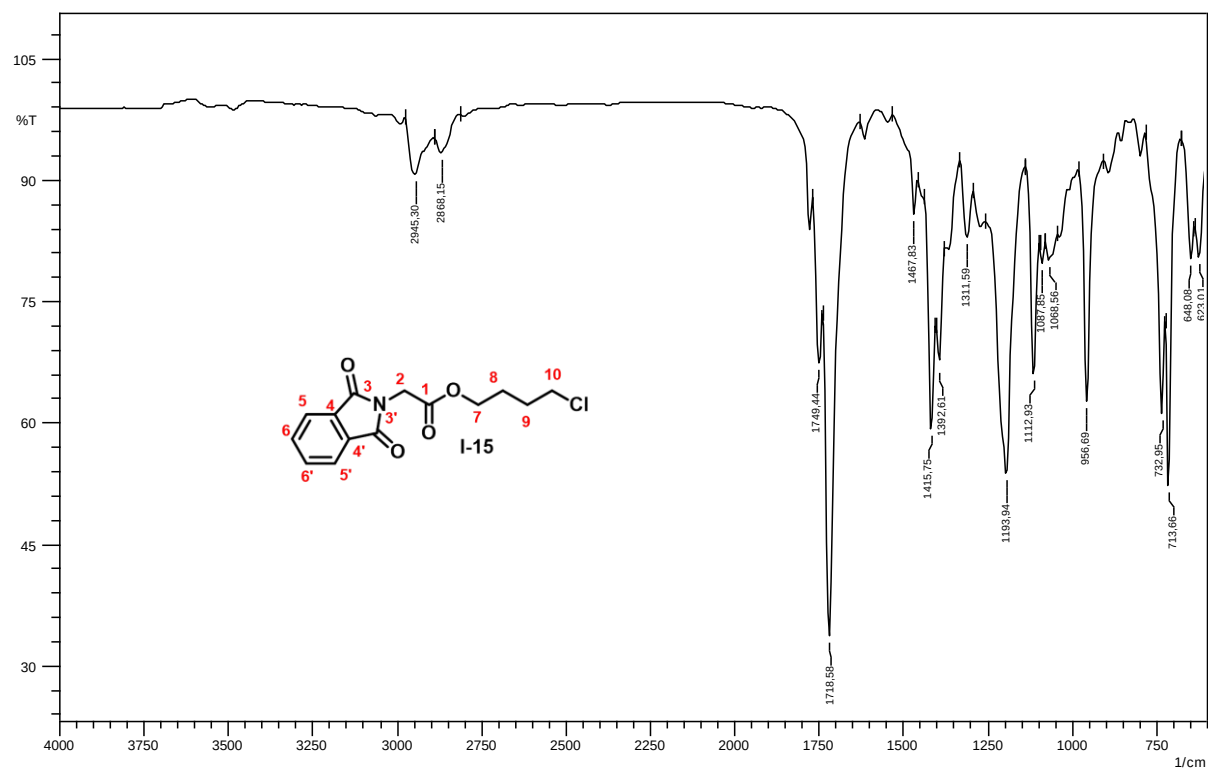
Espectro 47- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (**I-13**).**Espectro 48-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 3-(2-tienil-acrilato)-de 4-cloro butila (**I-13**).

Espectro 49- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (**I-14**).**Espectro 50-** Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (**I-14**).

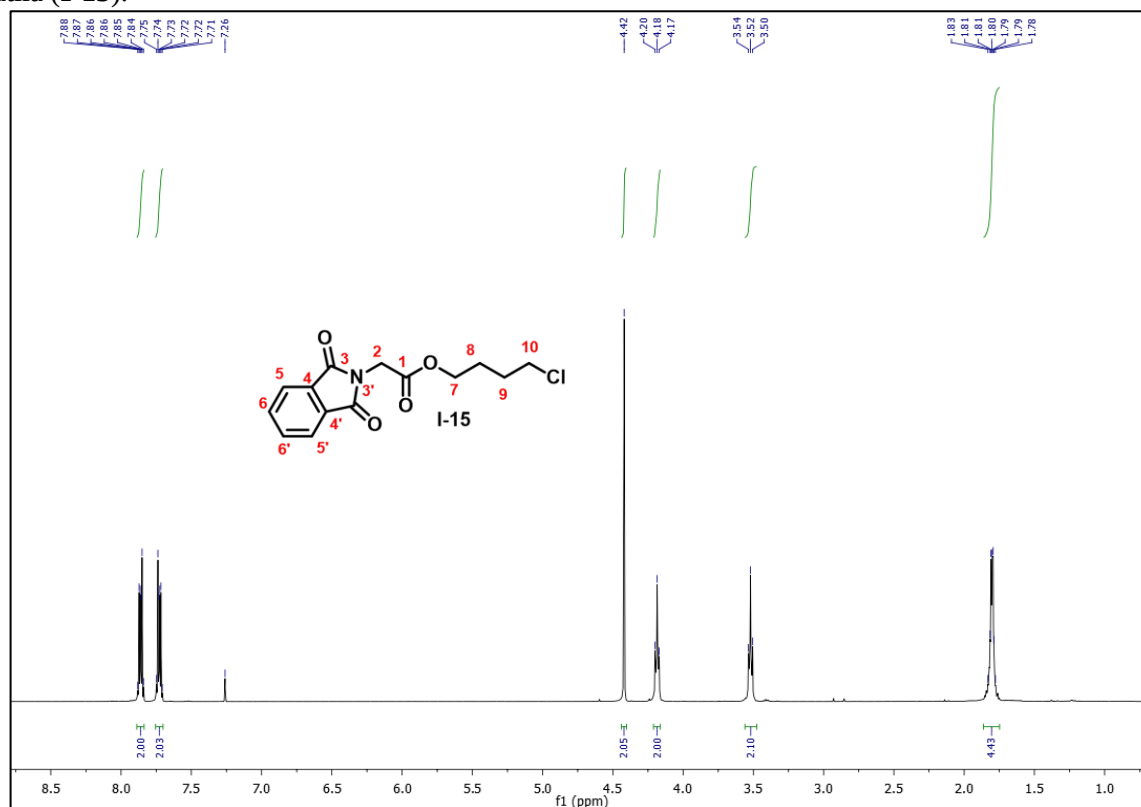
Espectro 51- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-(4-metóxfenil)- acetato-de 4-cloro butila (**I-14**).



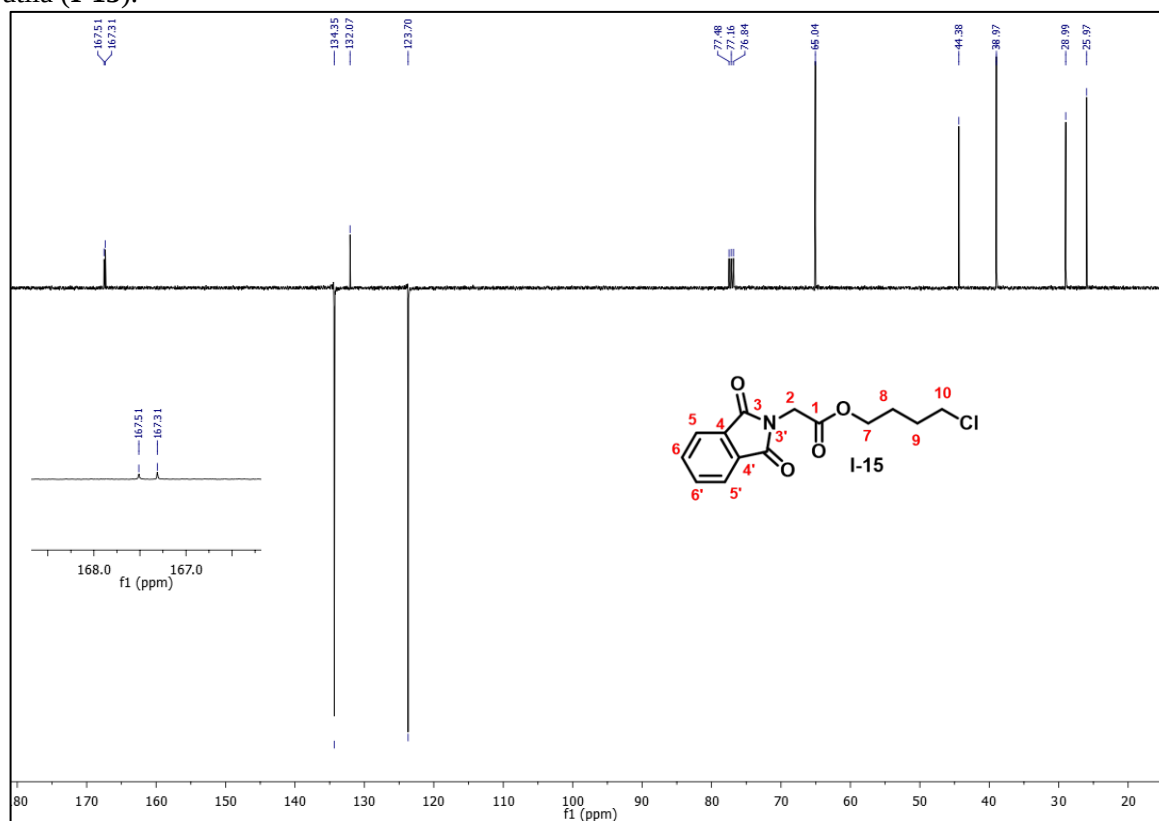
Espectro 52- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (**I-15**).

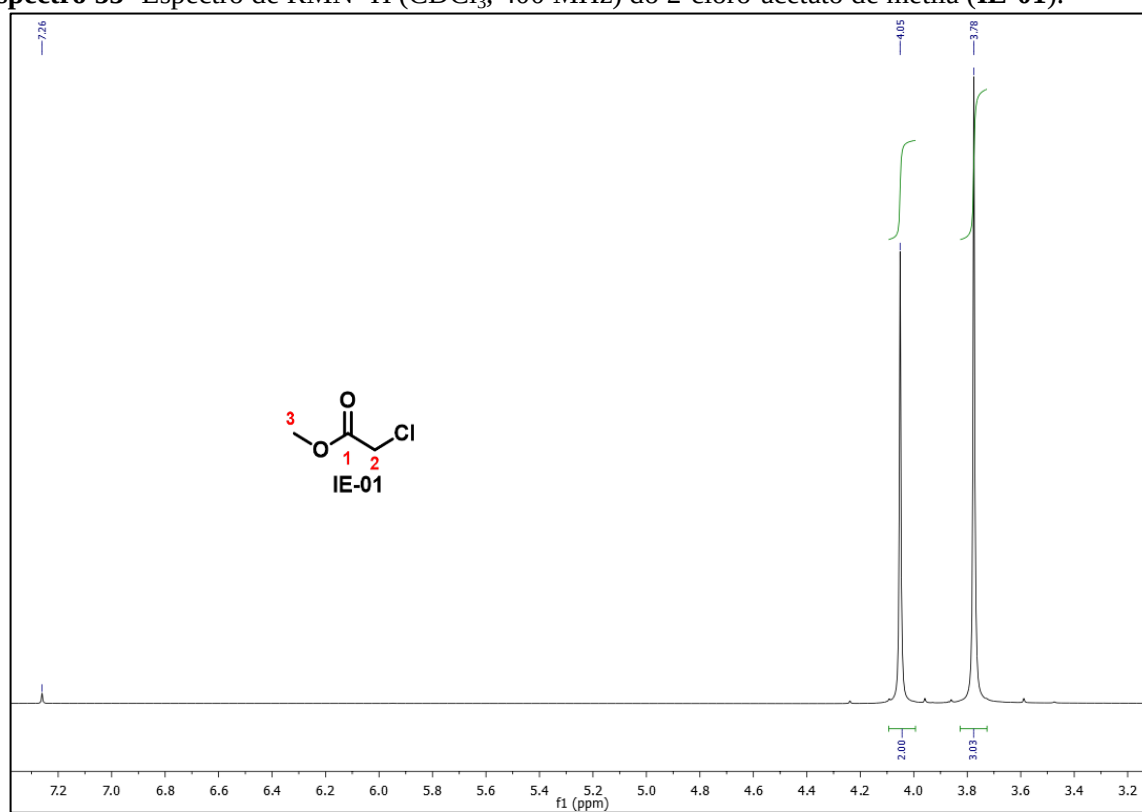
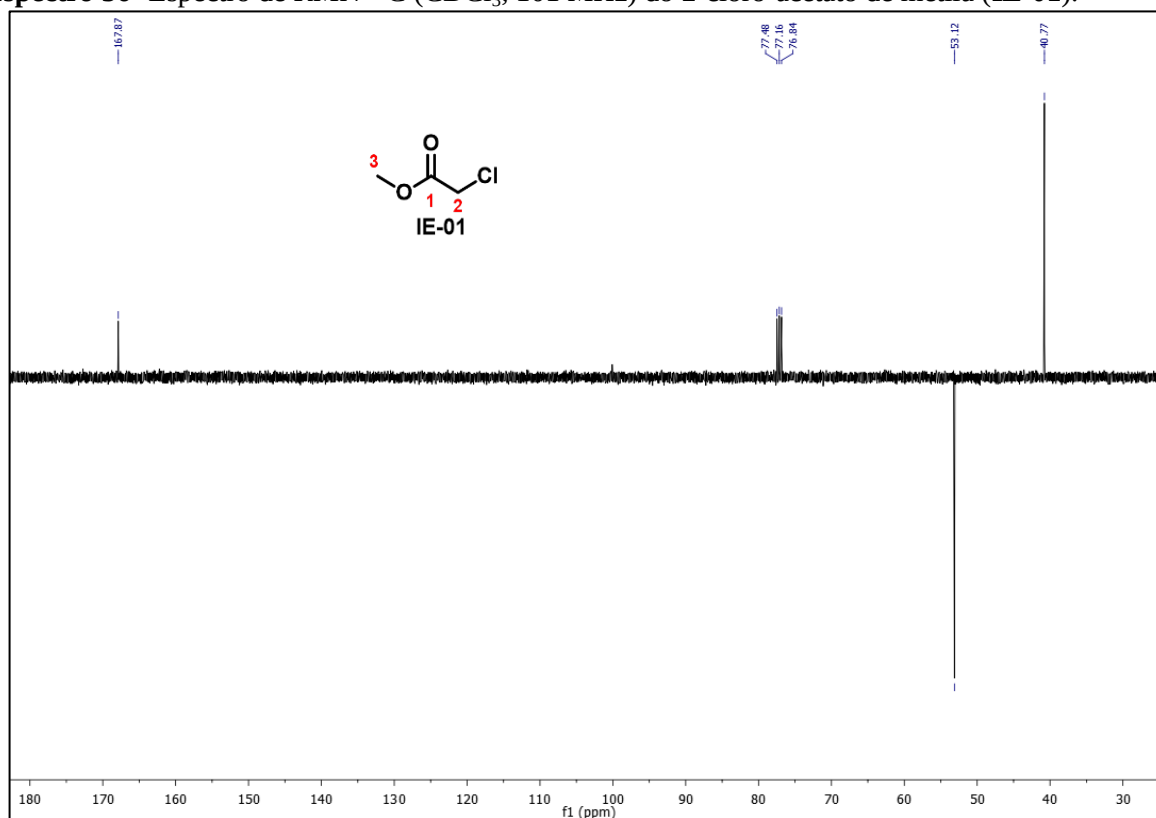


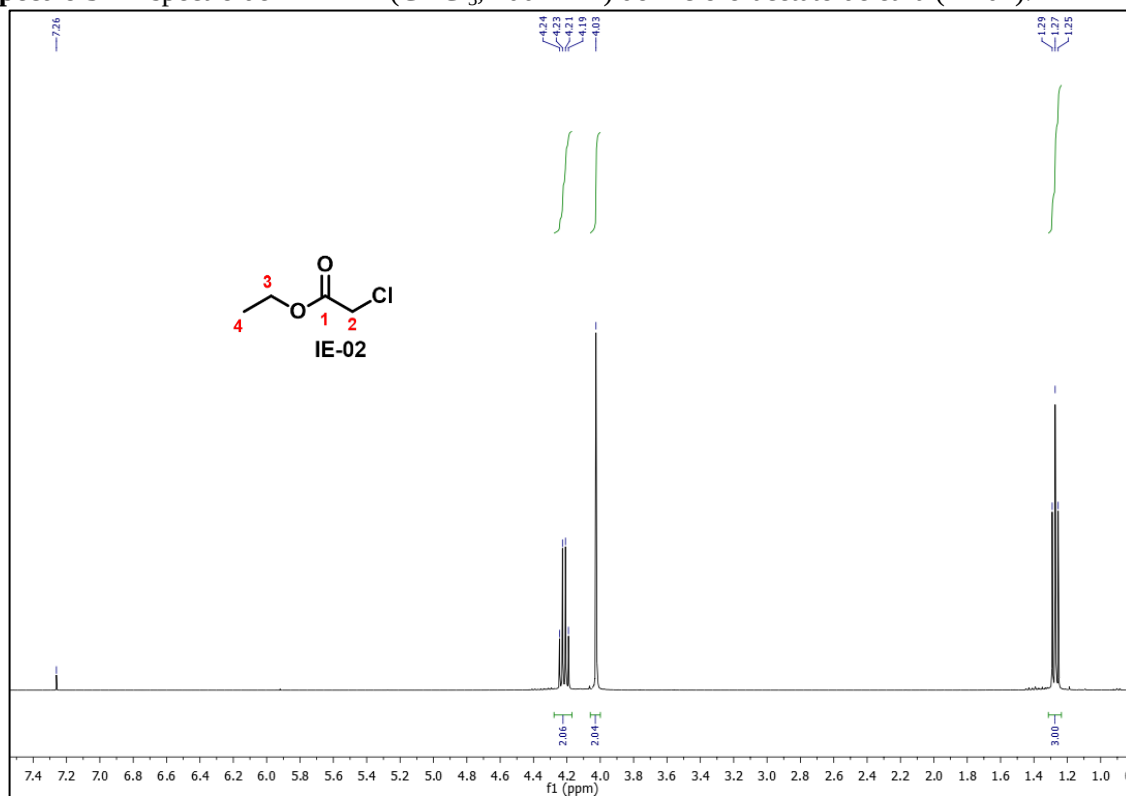
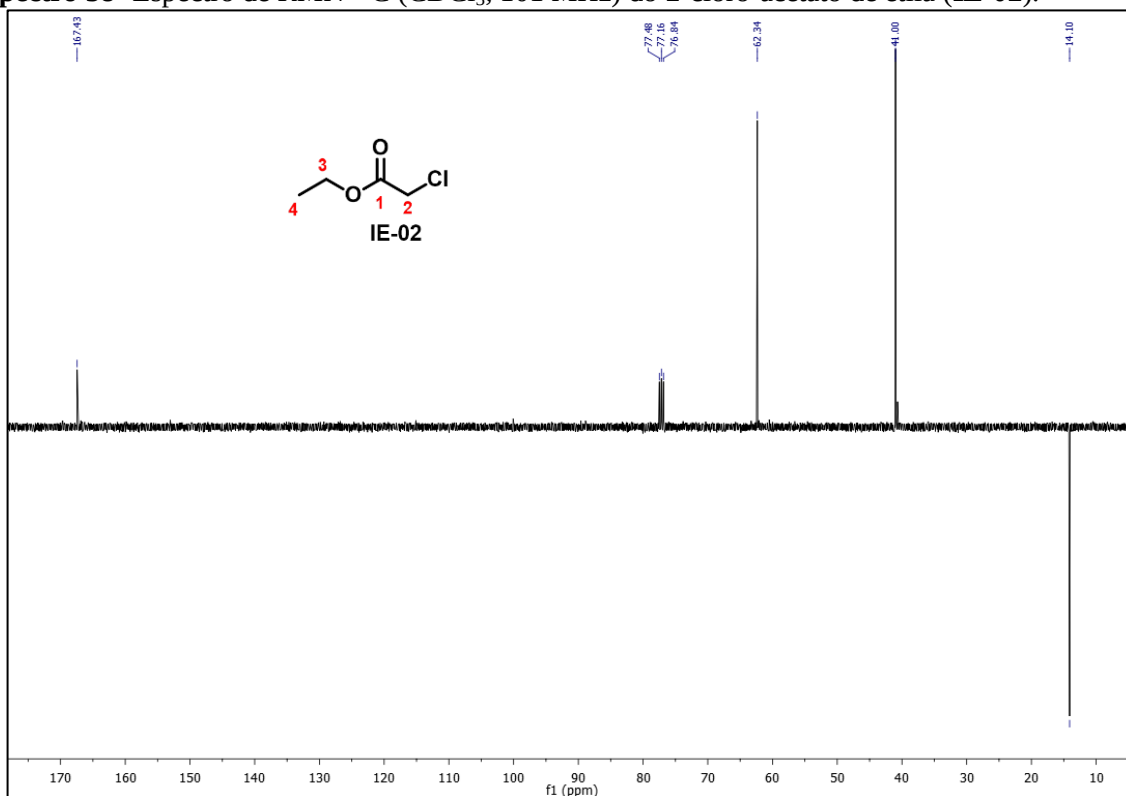
Espectro 53- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (**I-15**).

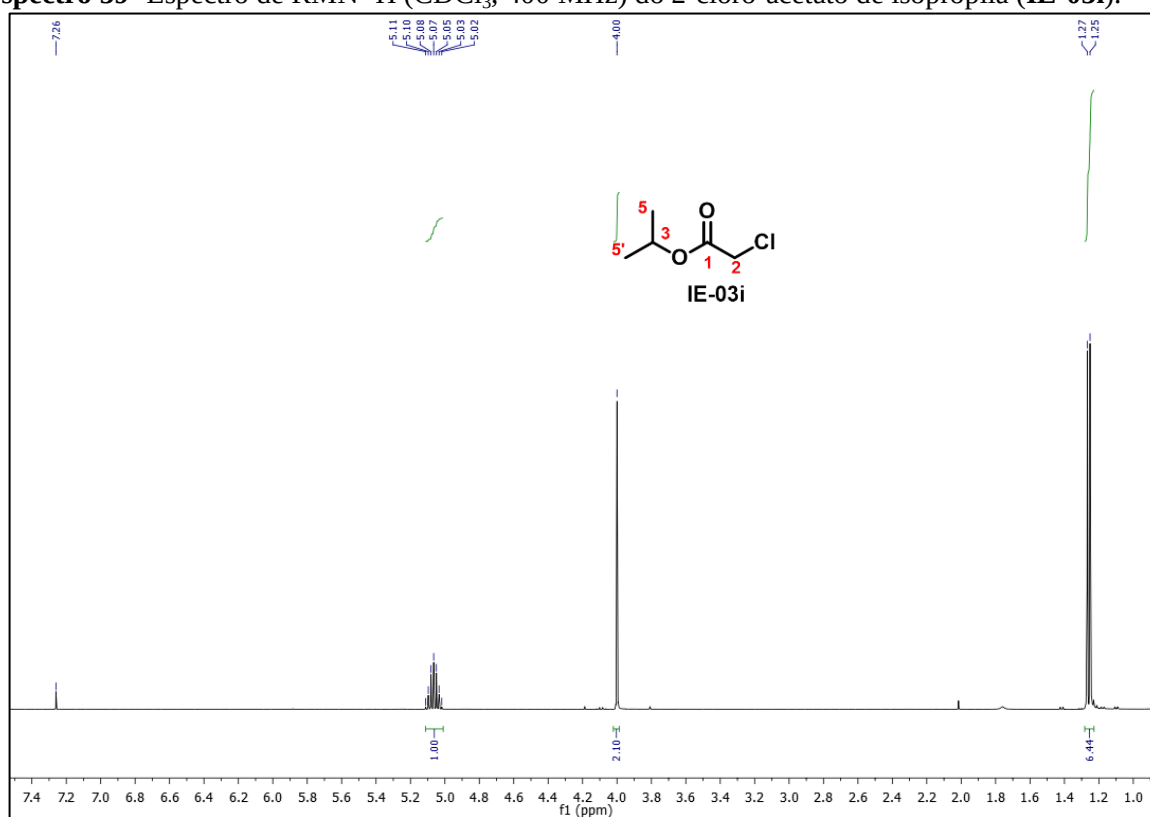
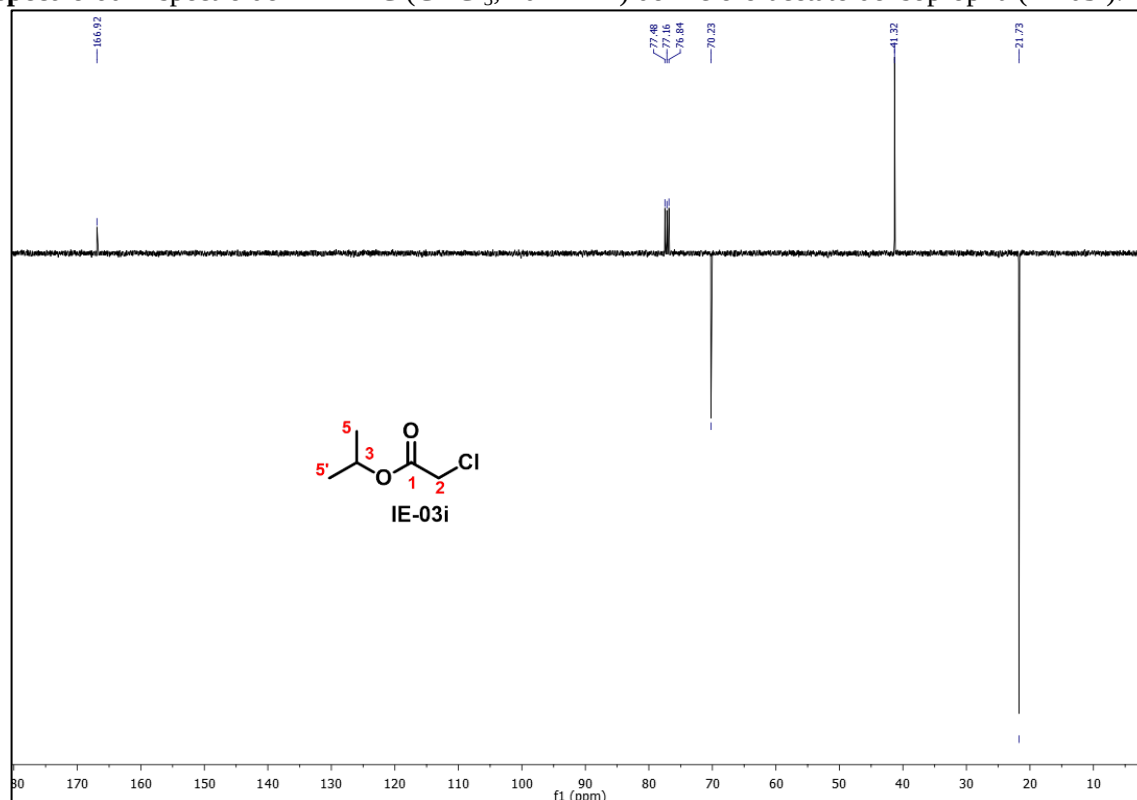


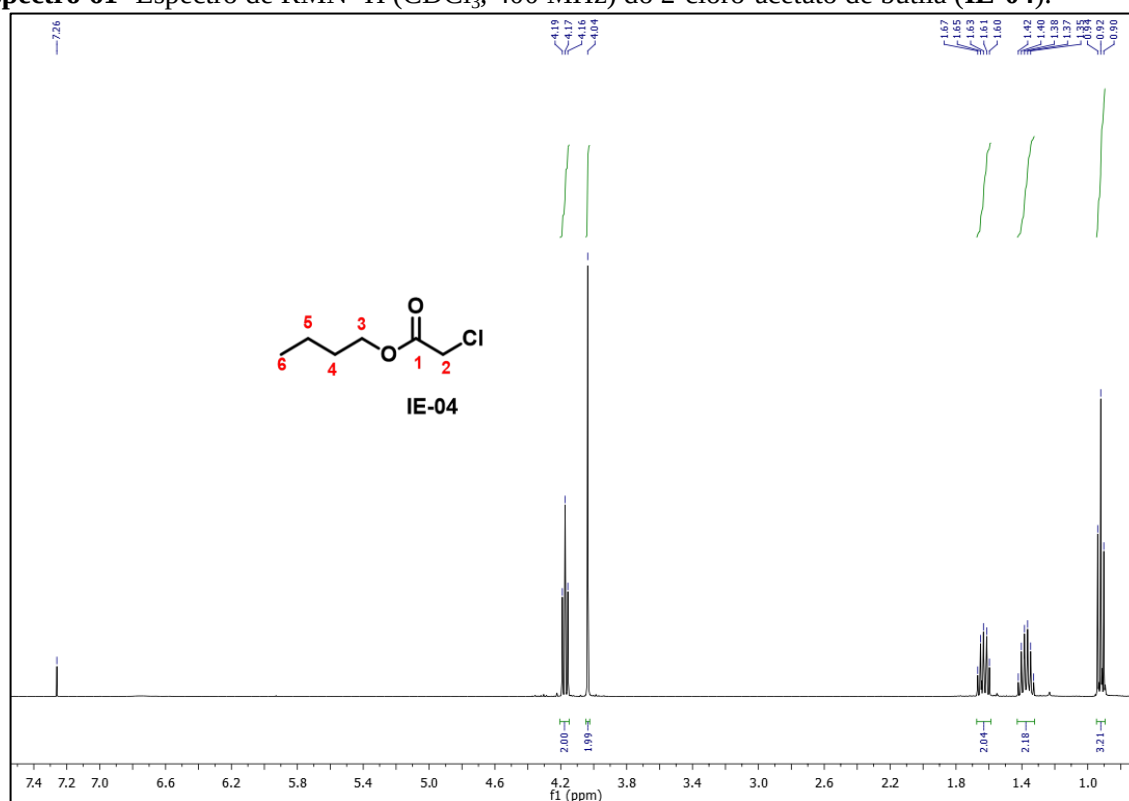
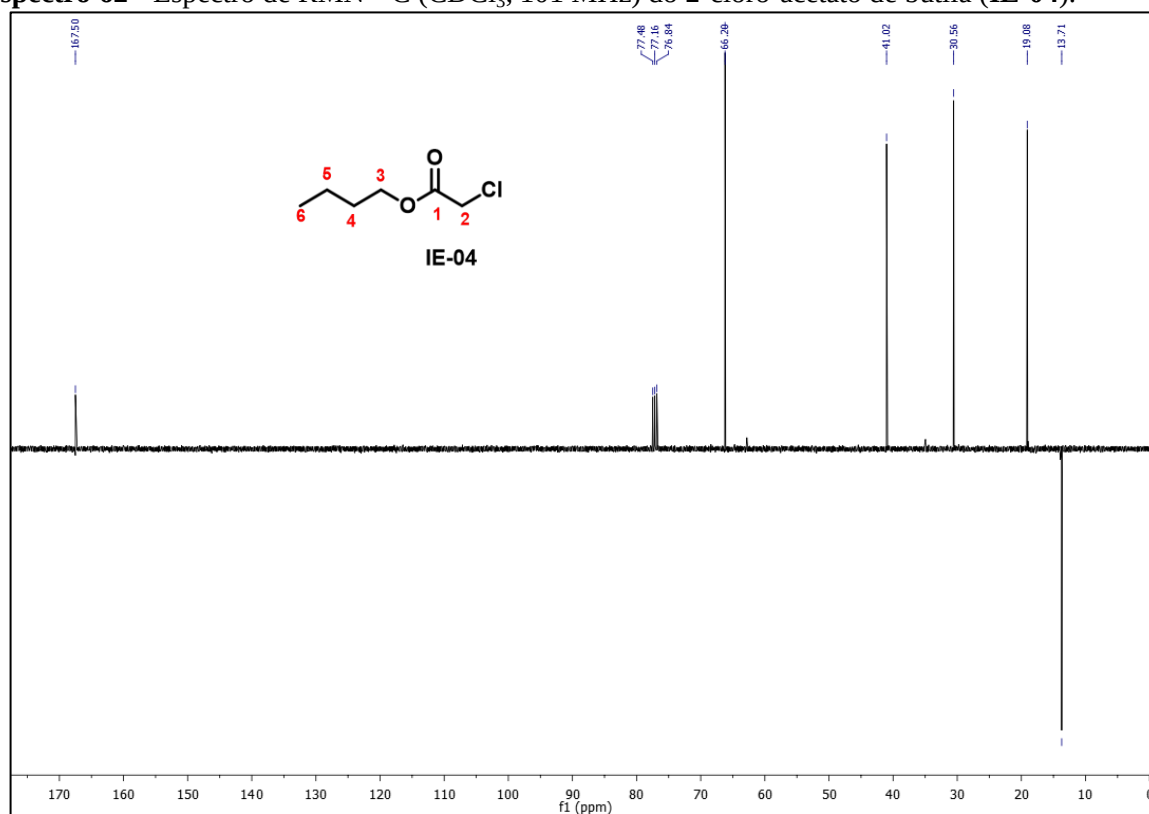
Espectro 54- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato de 4-cloro butila (**I-15**).

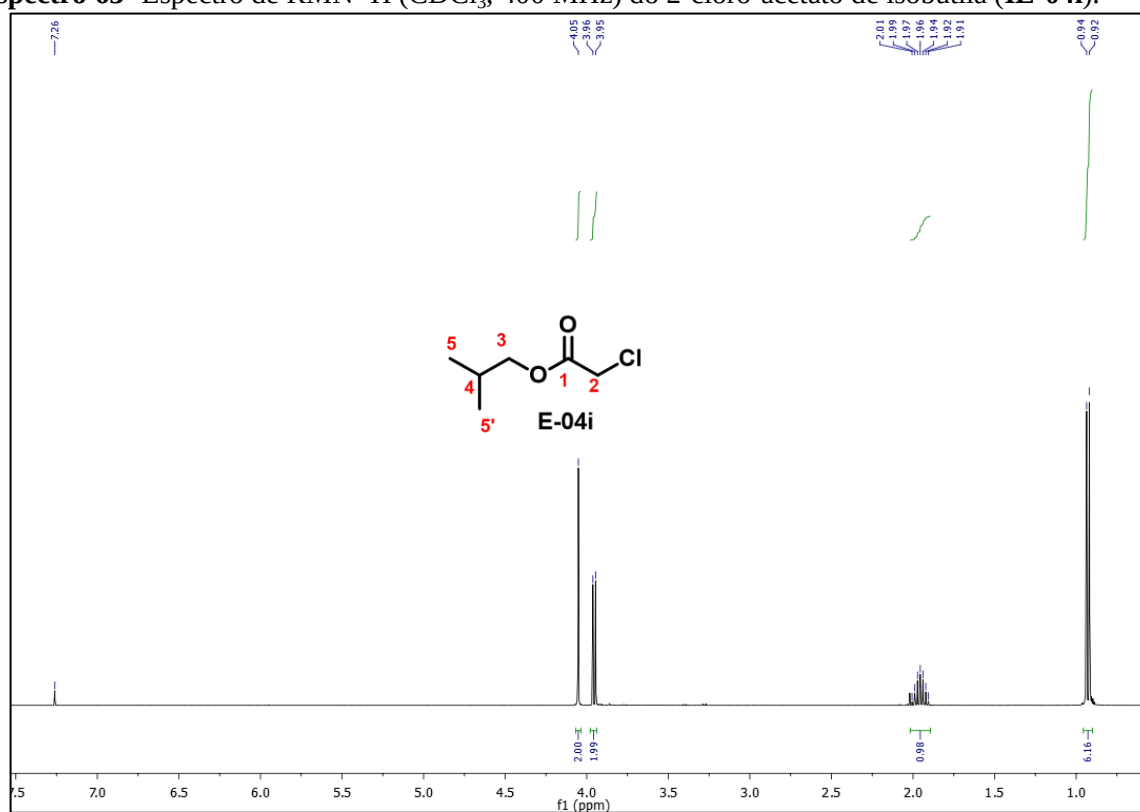
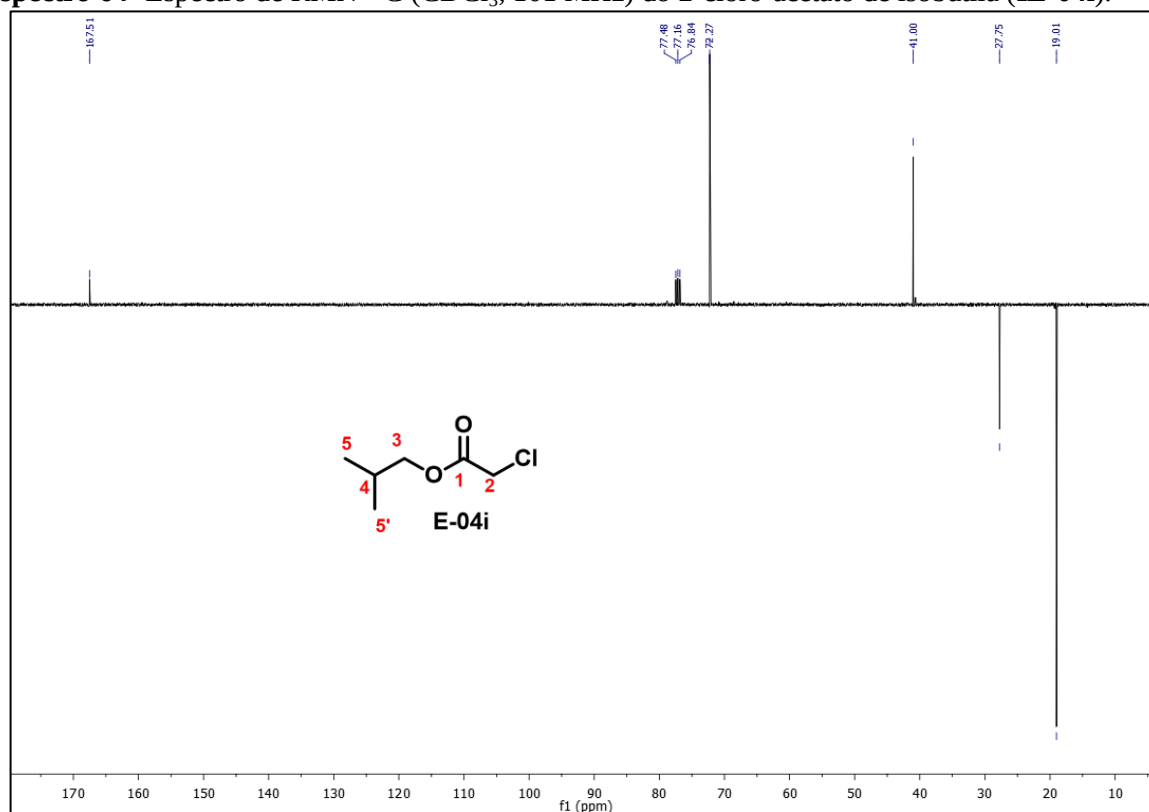


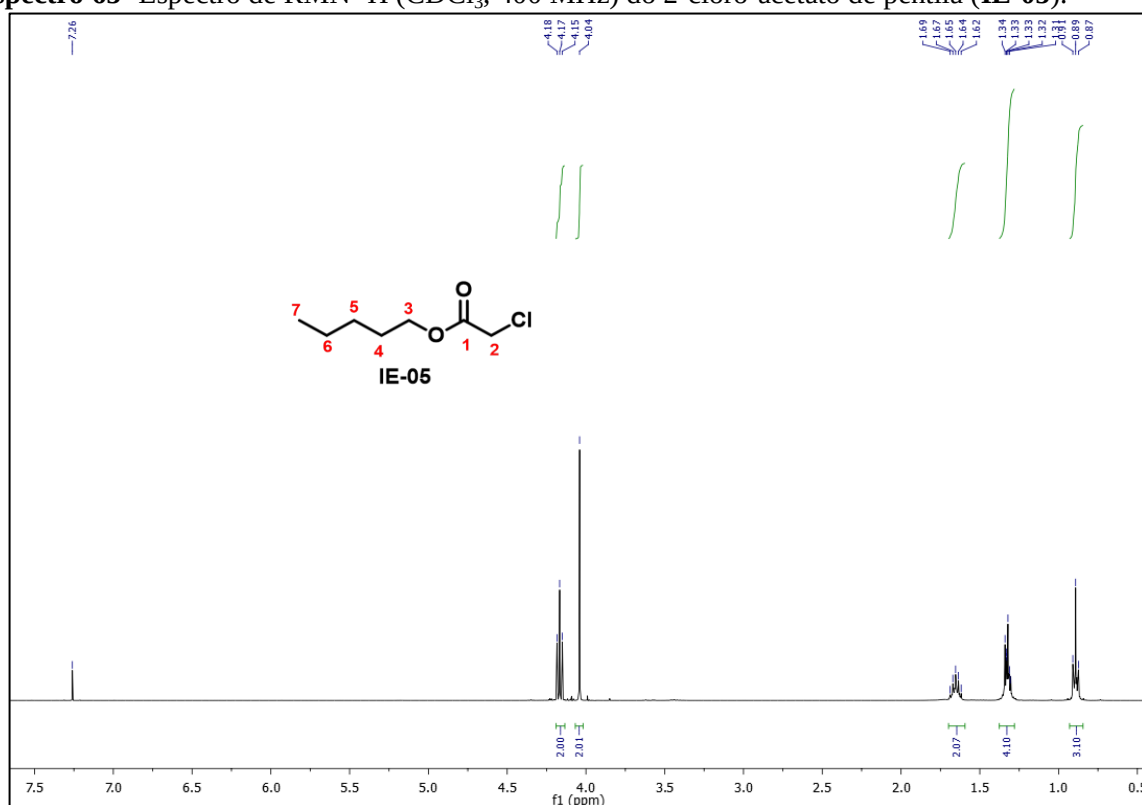
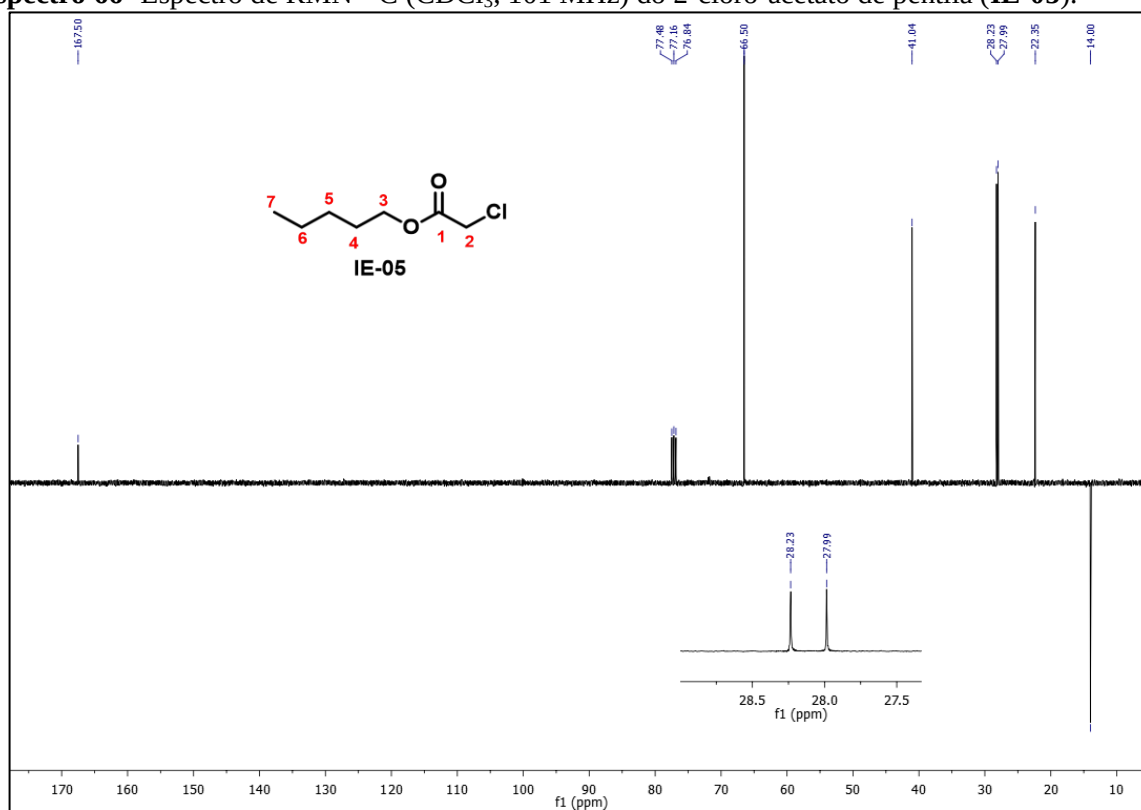
Espectro 55- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de metila (**IE-01**).**Espectro 56-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de metila (**IE-01**).

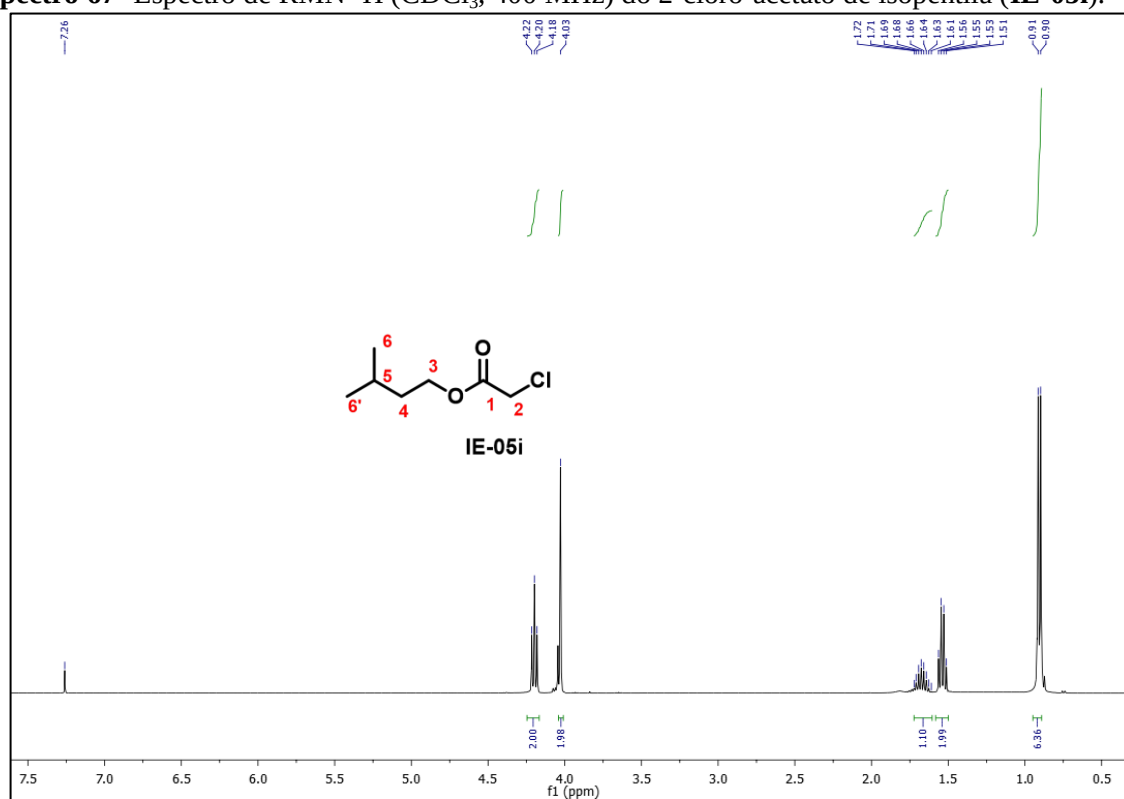
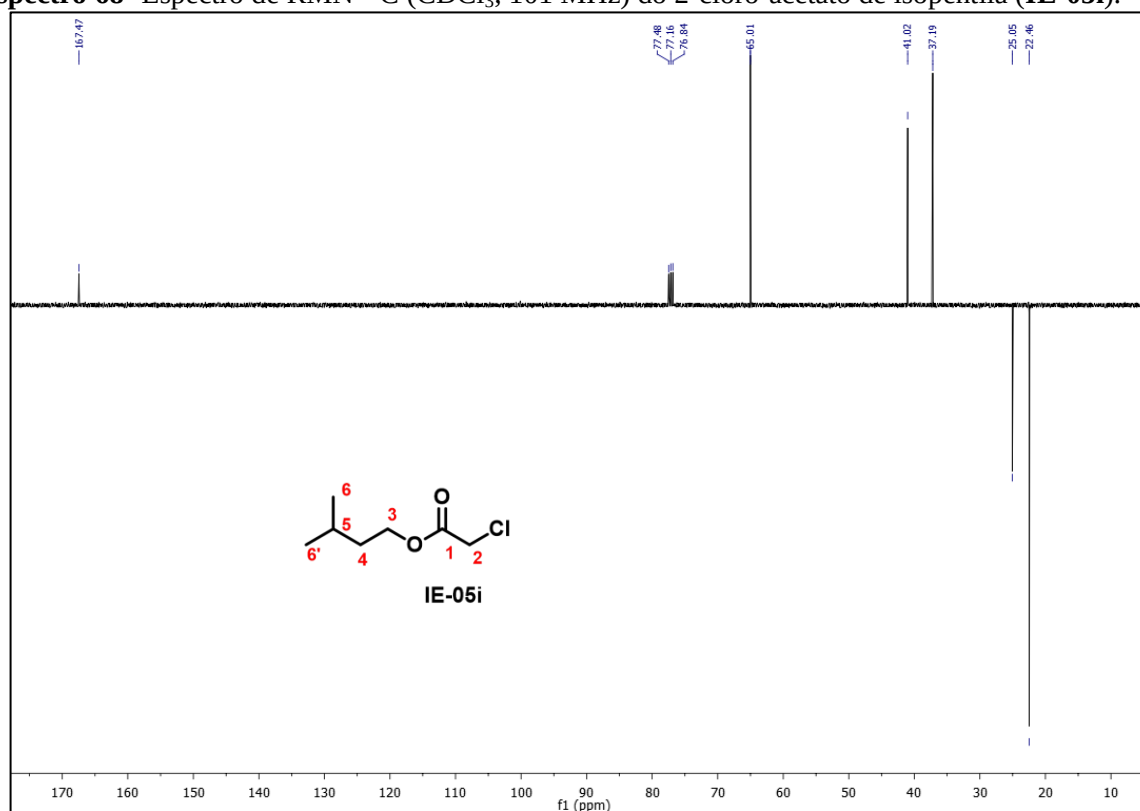
Espectro 57- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de etila (**IE-02**).**Espectro 58-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de etila (**IE-02**).

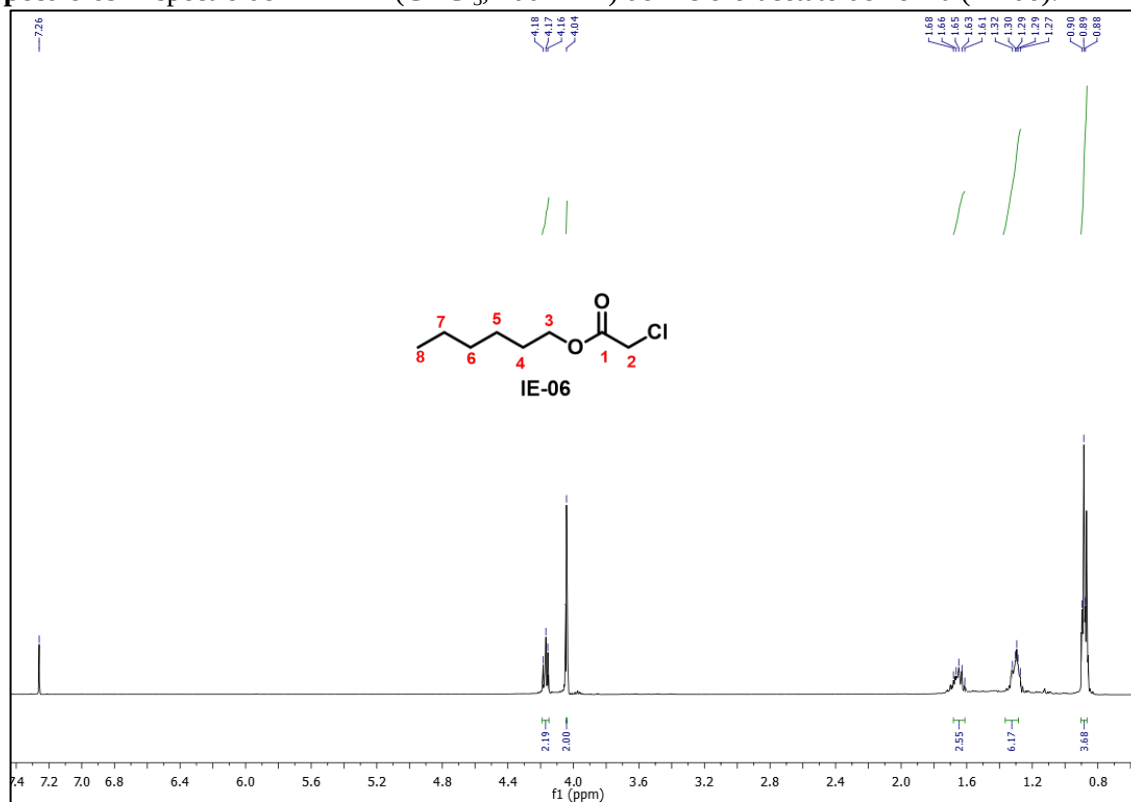
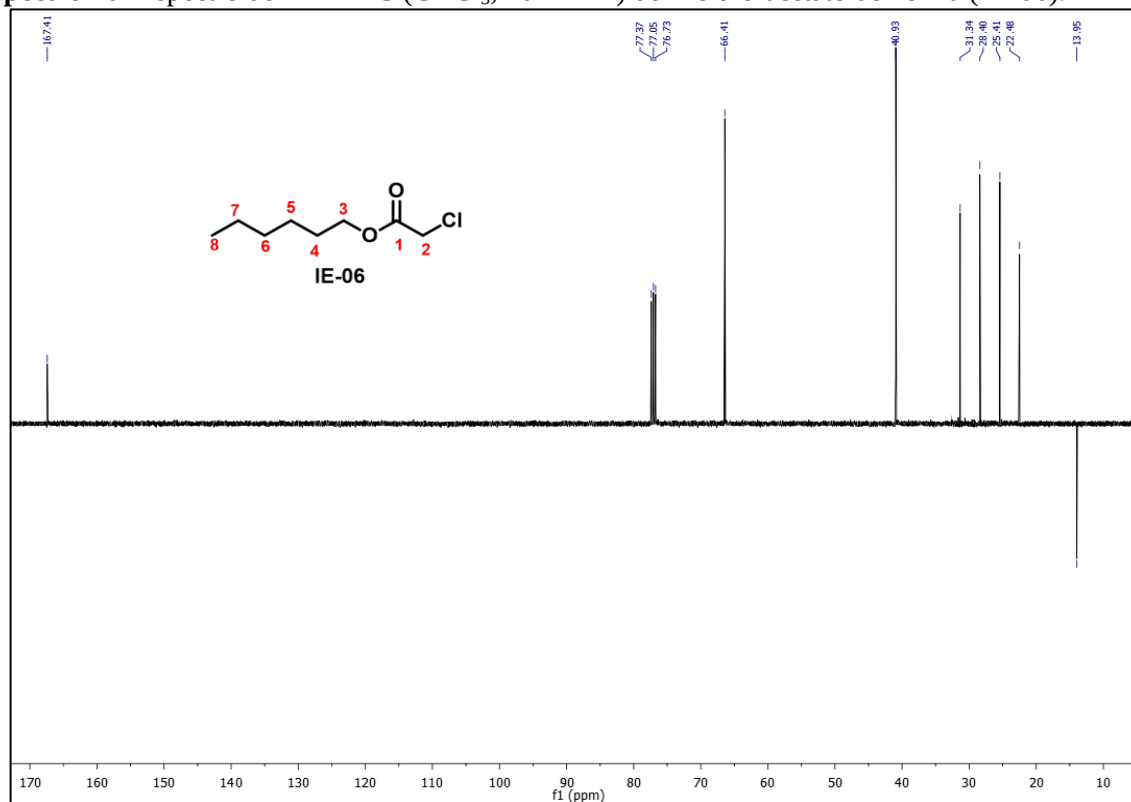
Espectro 59- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isopropila (**IE-03i**).**Espectro 60-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isopropila (**IE-03i**).

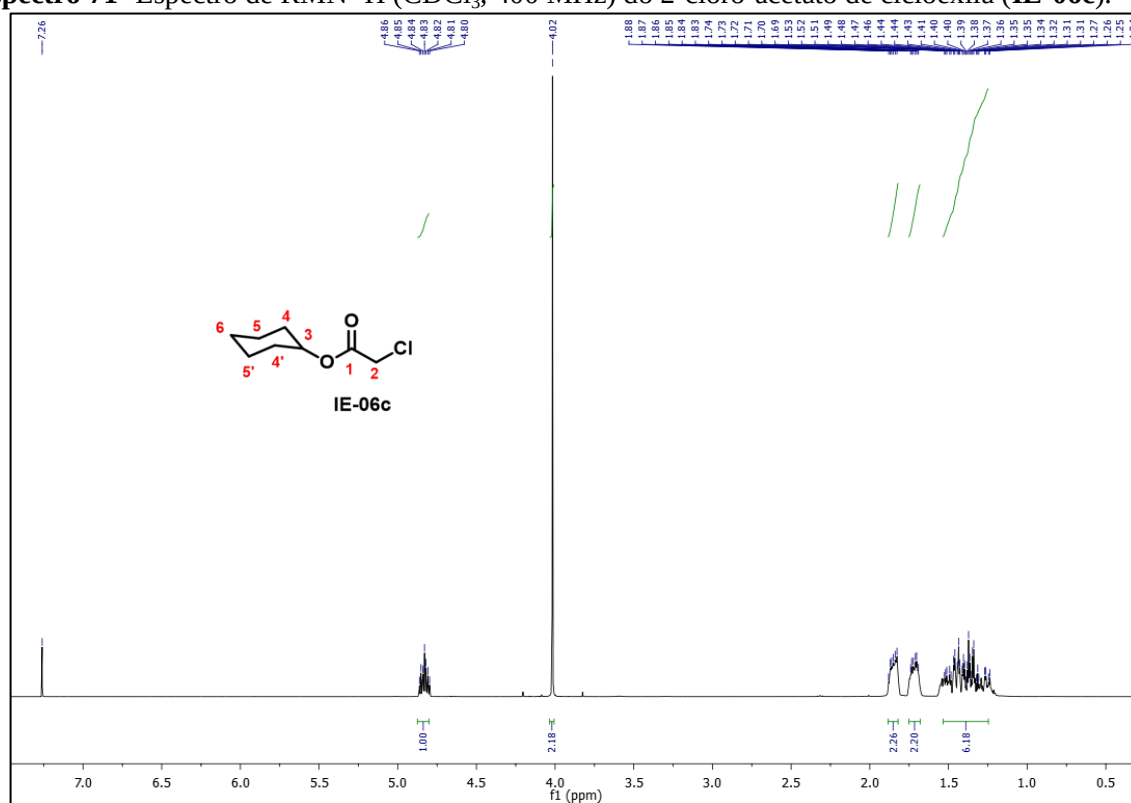
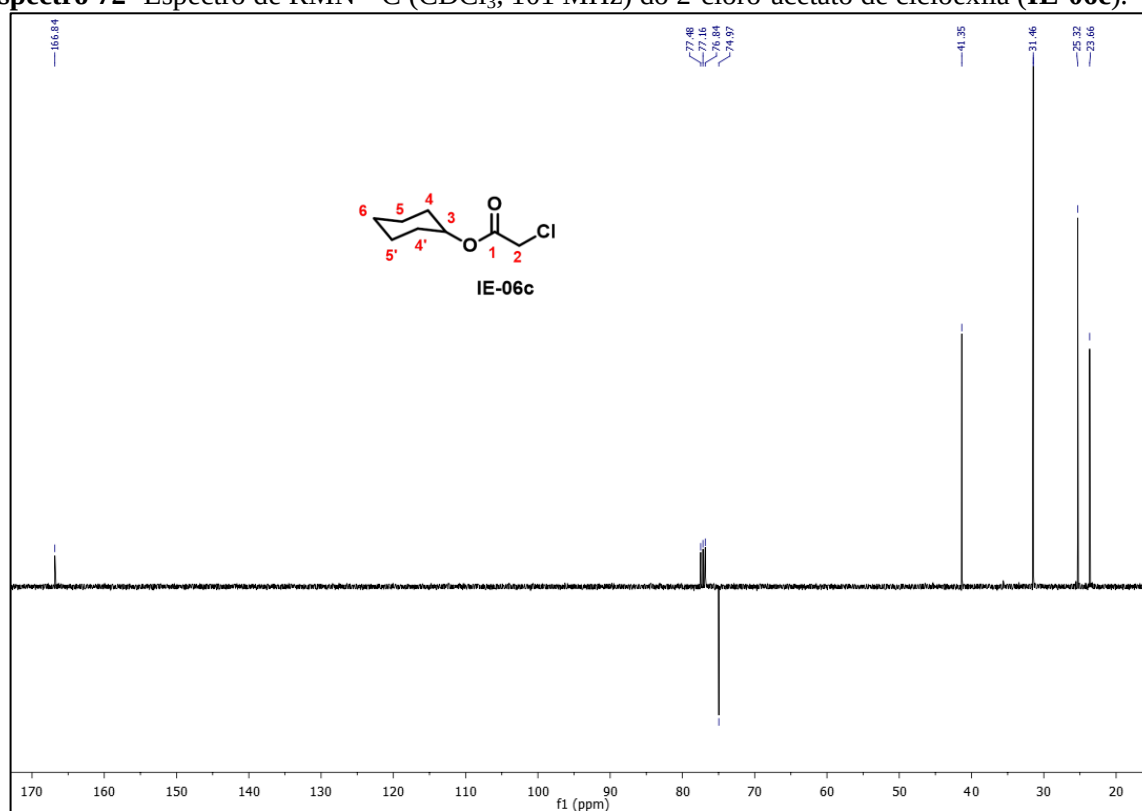
Espectro 61- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de butila (**IE-04**).**Espectro 62-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de butila (**IE-04**).

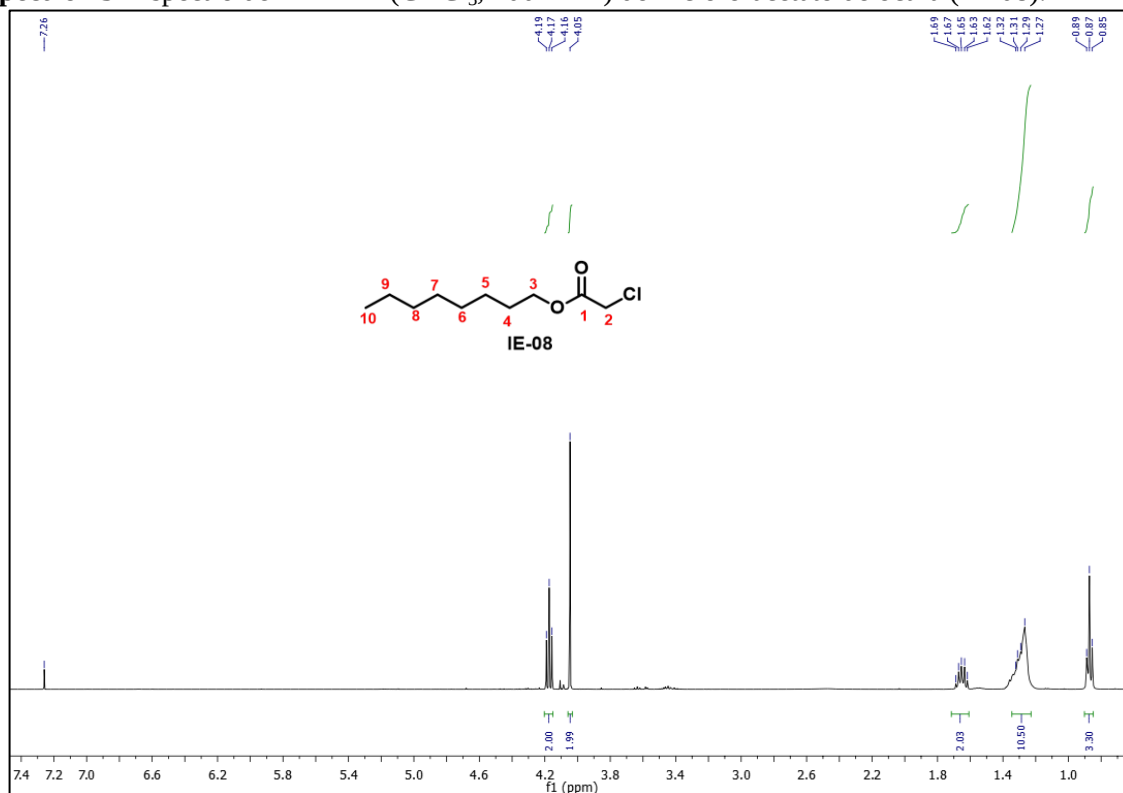
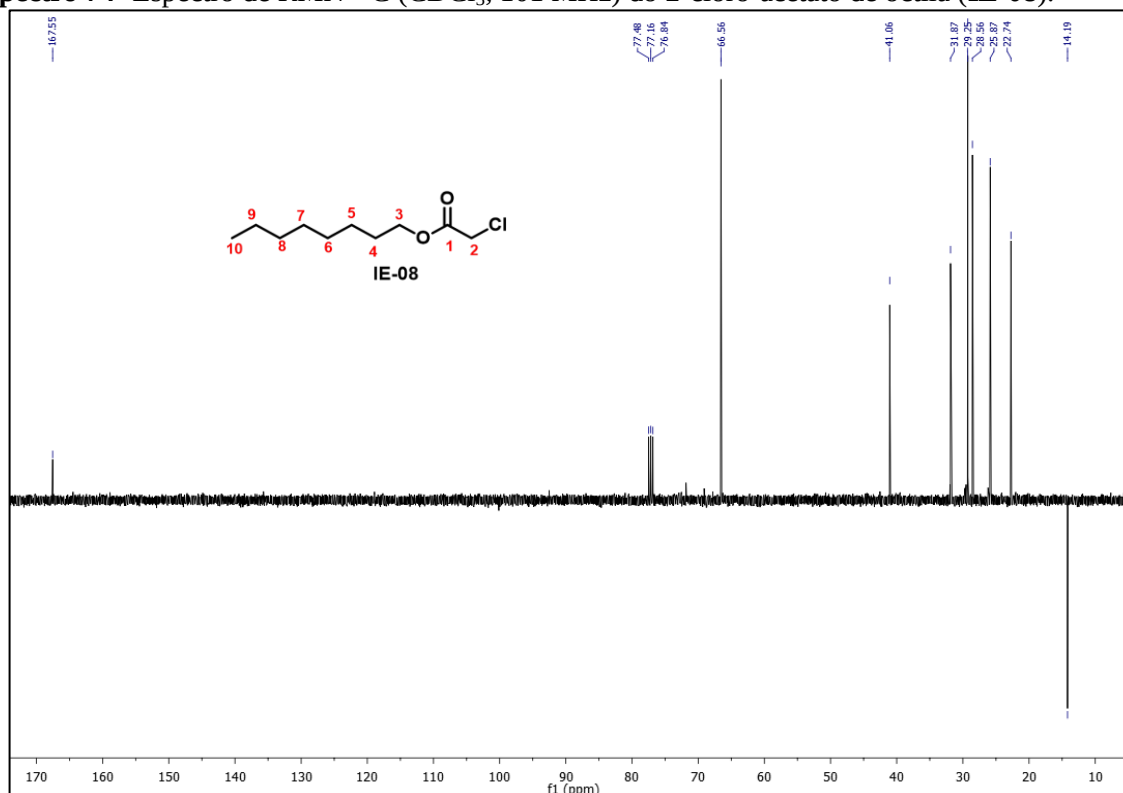
Espectro 63- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isobutila (**IE-04i**).**Espectro 64-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isobutila (**IE-04i**).

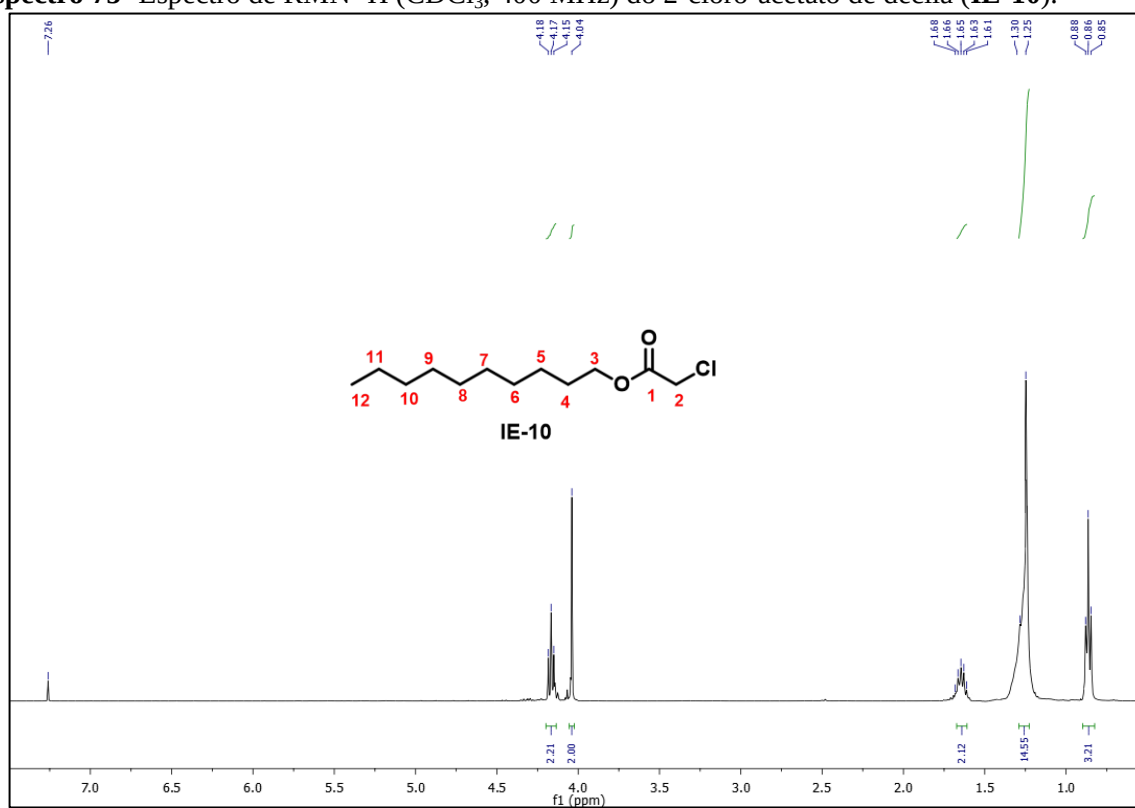
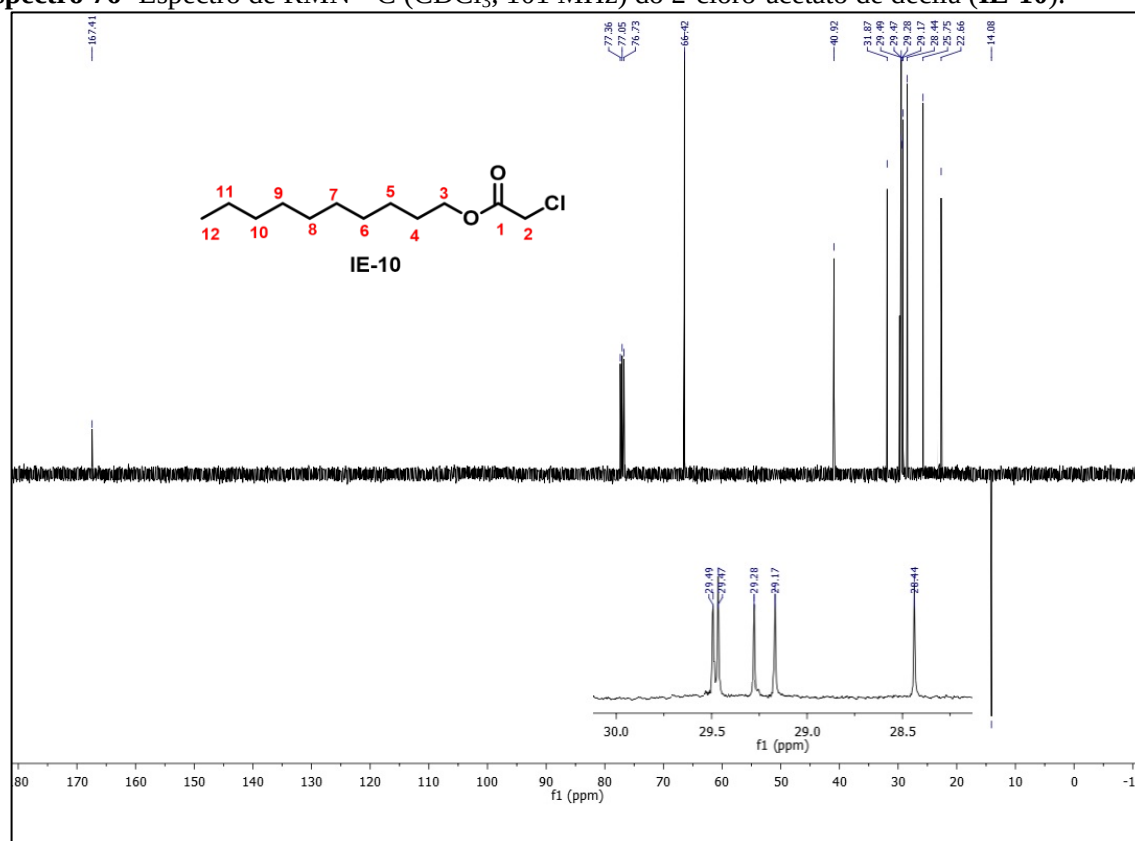
Espectro 65- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de pentila (**IE-05**).**Espectro 66-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de pentila (**IE-05**).

Espectro 67- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de isopentila (**IE-05i**).**Espectro 68-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de isopentila (**IE-05i**).

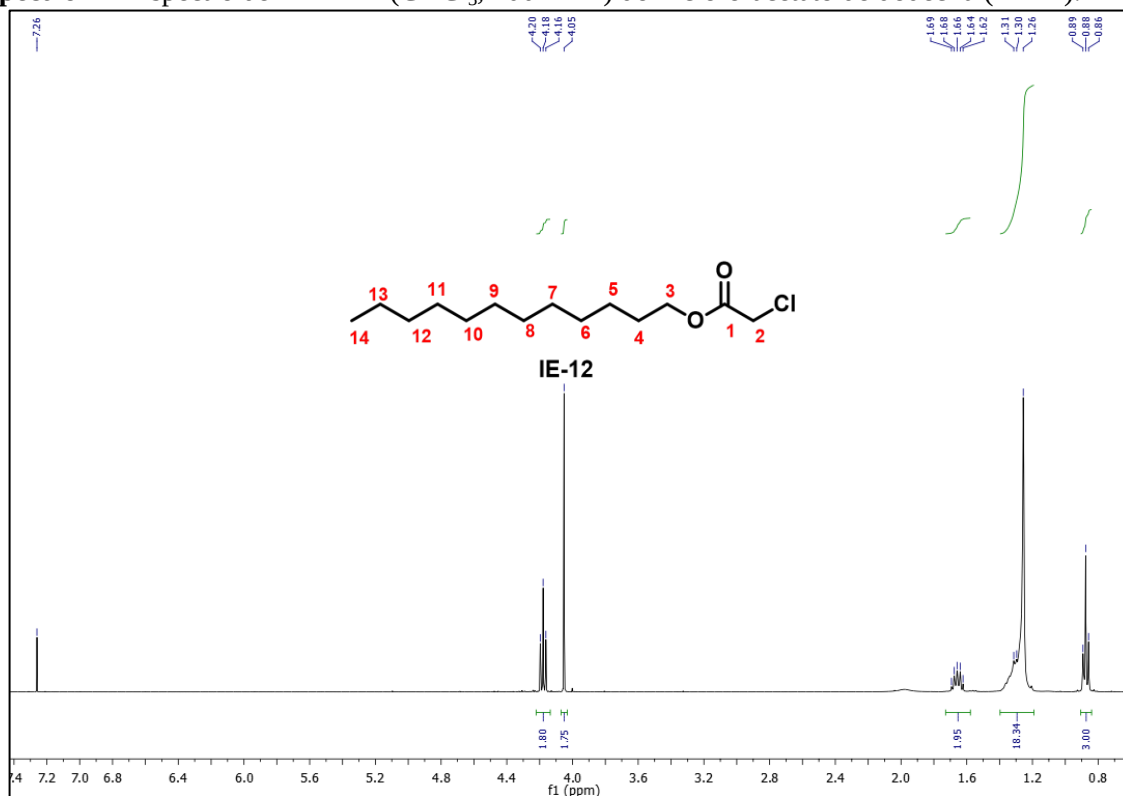
Espectro 69- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de hexila (**IE-06**).**Espectro 70-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de hexila (**IE-06**).

Espectro 71- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de cicloexila (**IE-06c**).**Espectro 72-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de cicloexila (**IE-06c**).

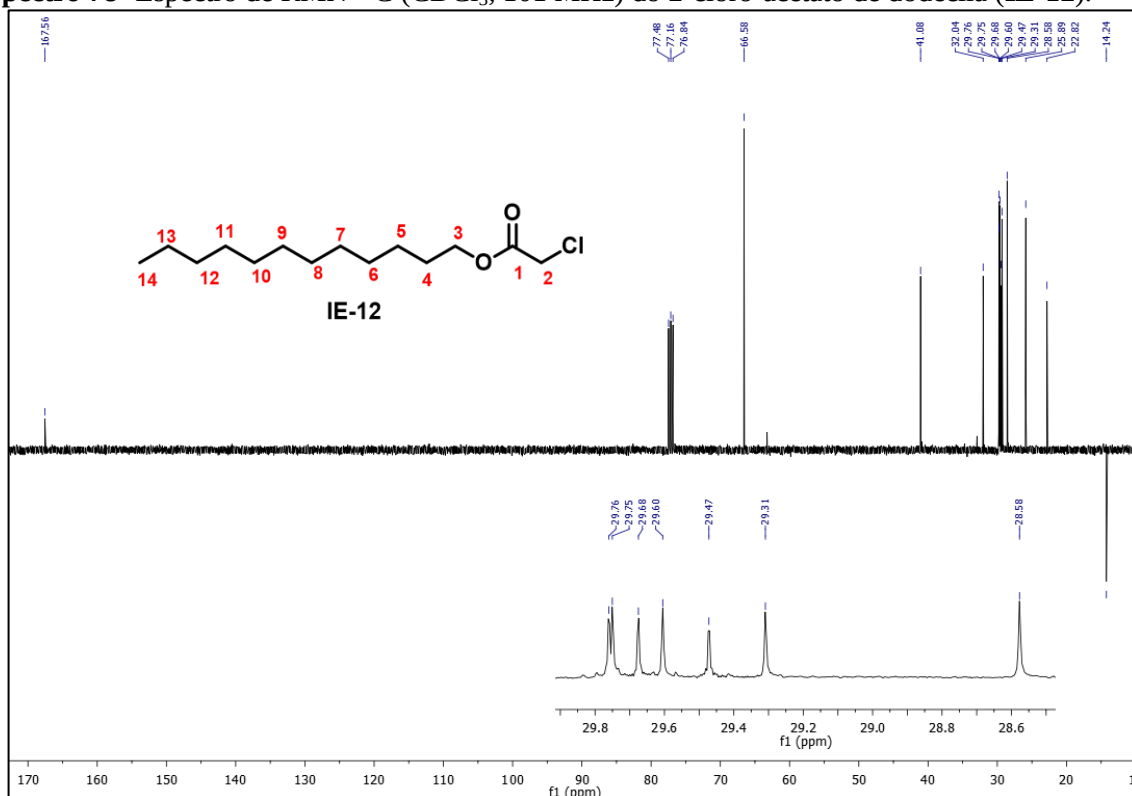
Espectro 73- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de octila (**IE-08**).**Espectro 74-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de octila (**IE-08**).

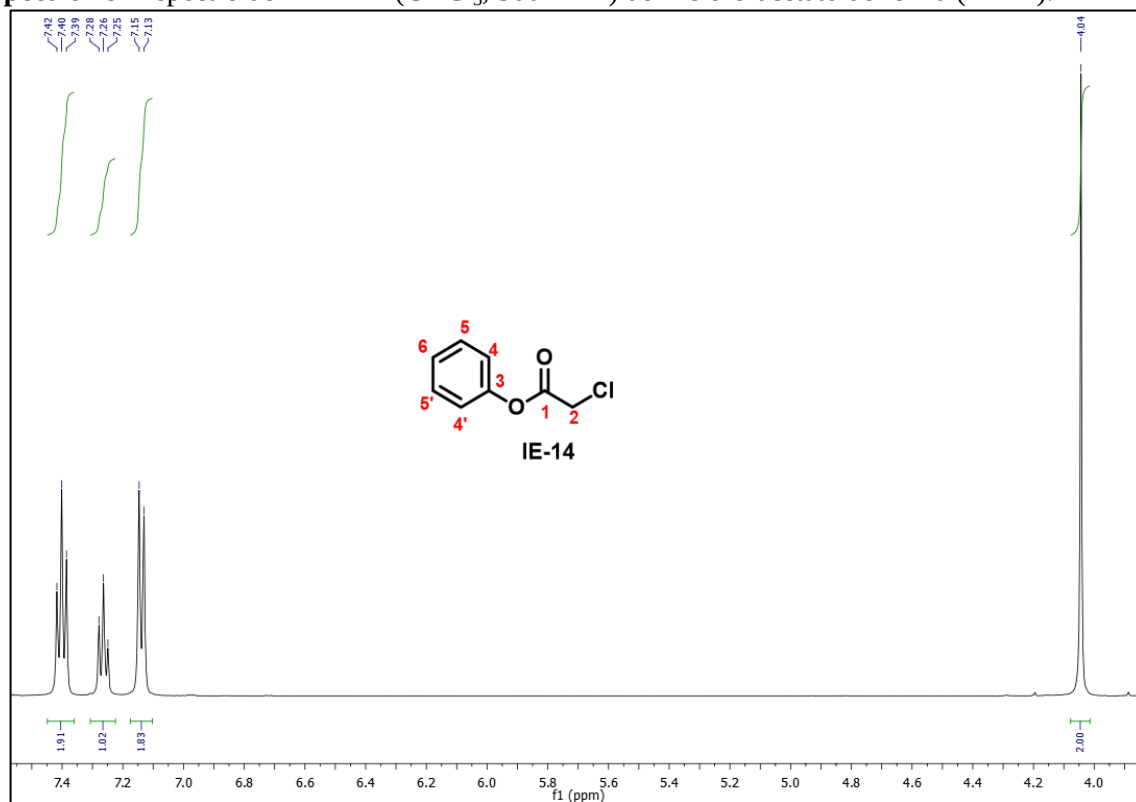
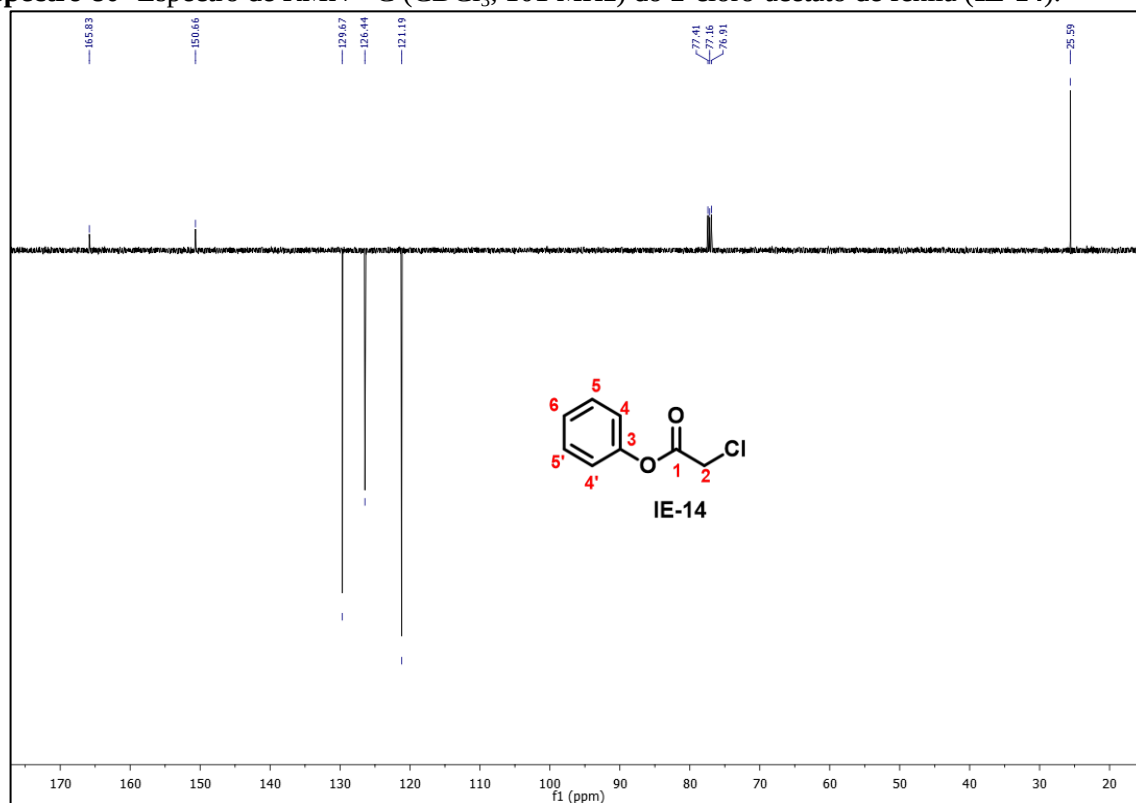
Espectro 75- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de decila (**IE-10**).**Espectro 76-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de decila (**IE-10**).

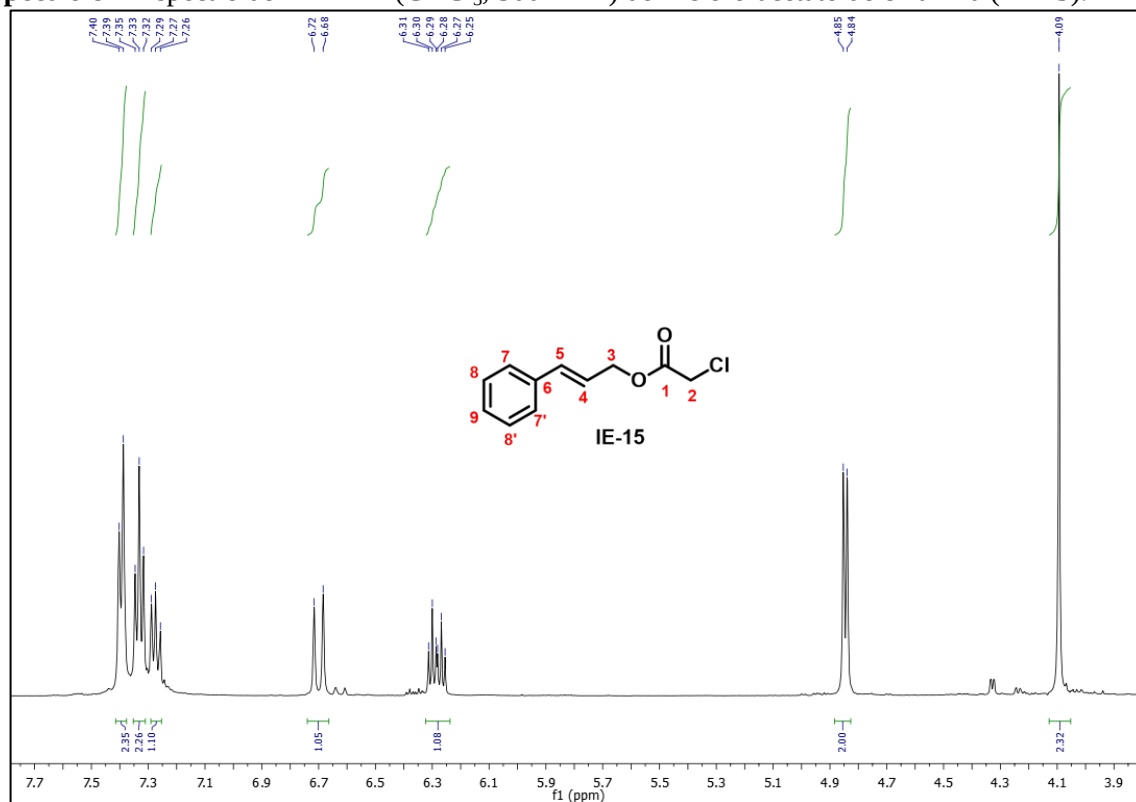
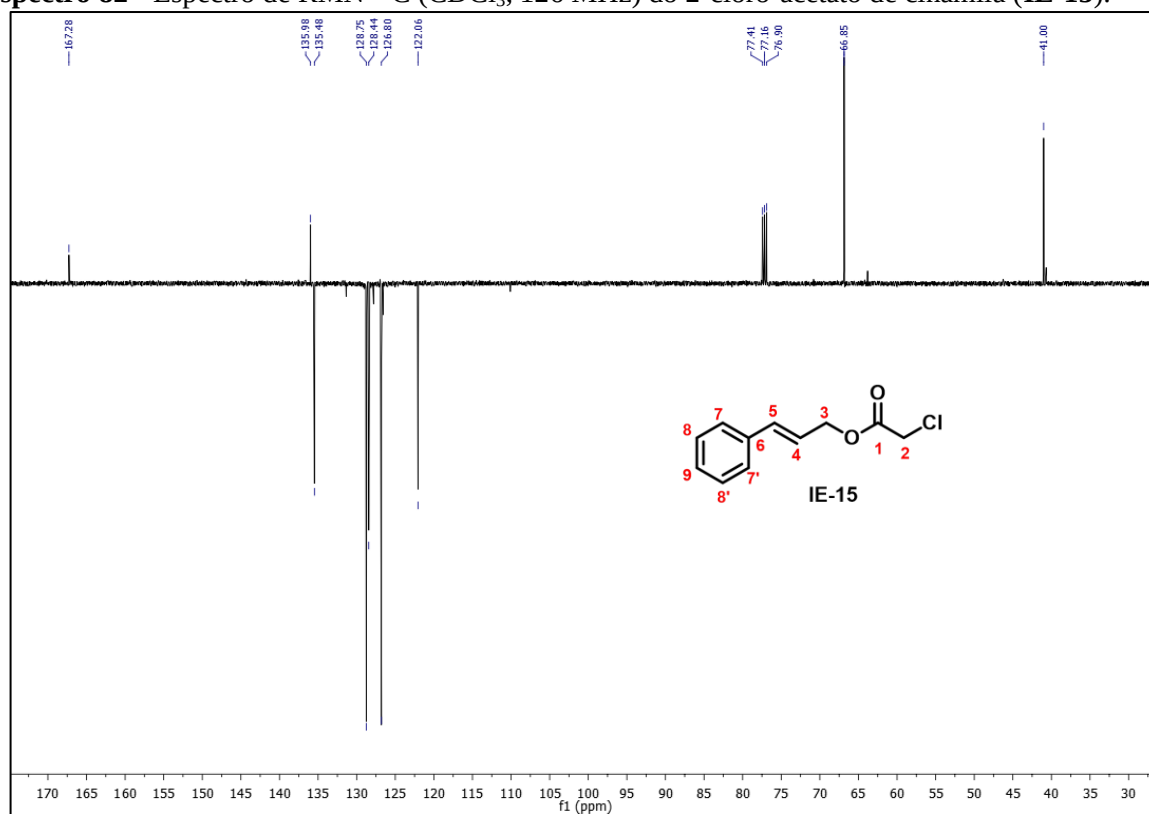
Espectro 77- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-cloro-acetato de dodecila (**IE-12**).

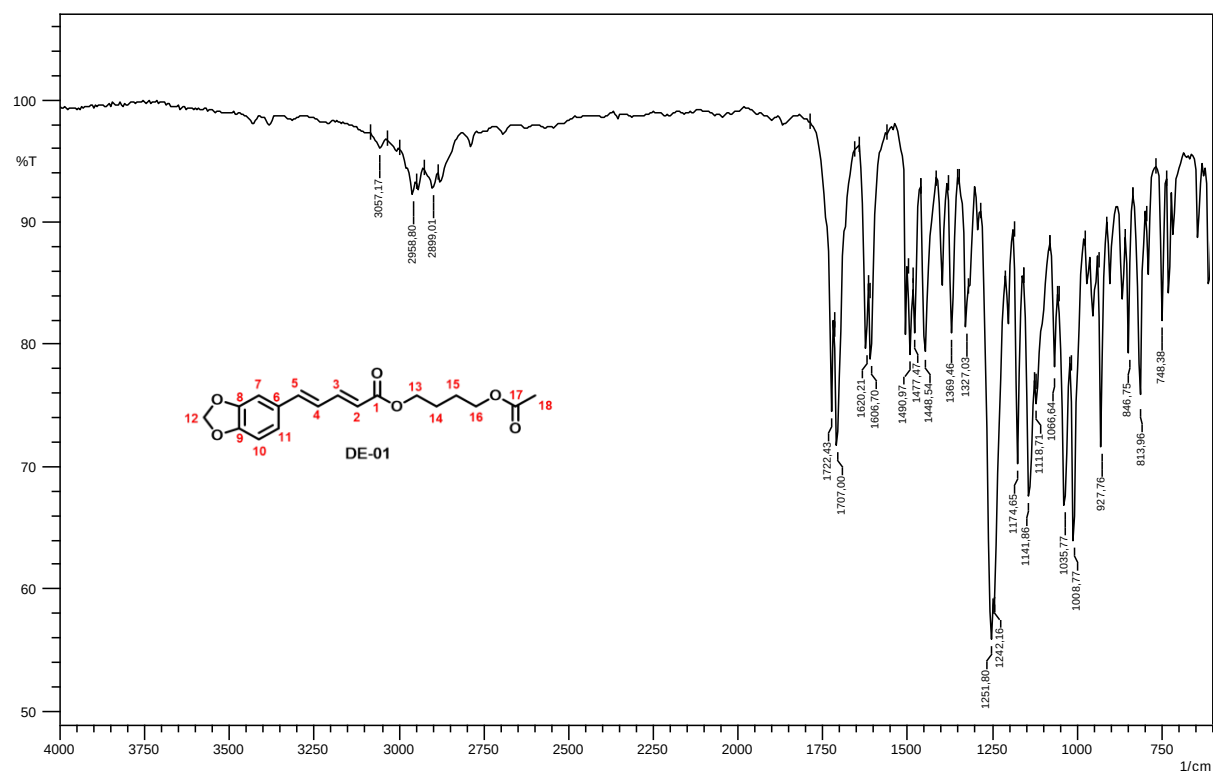
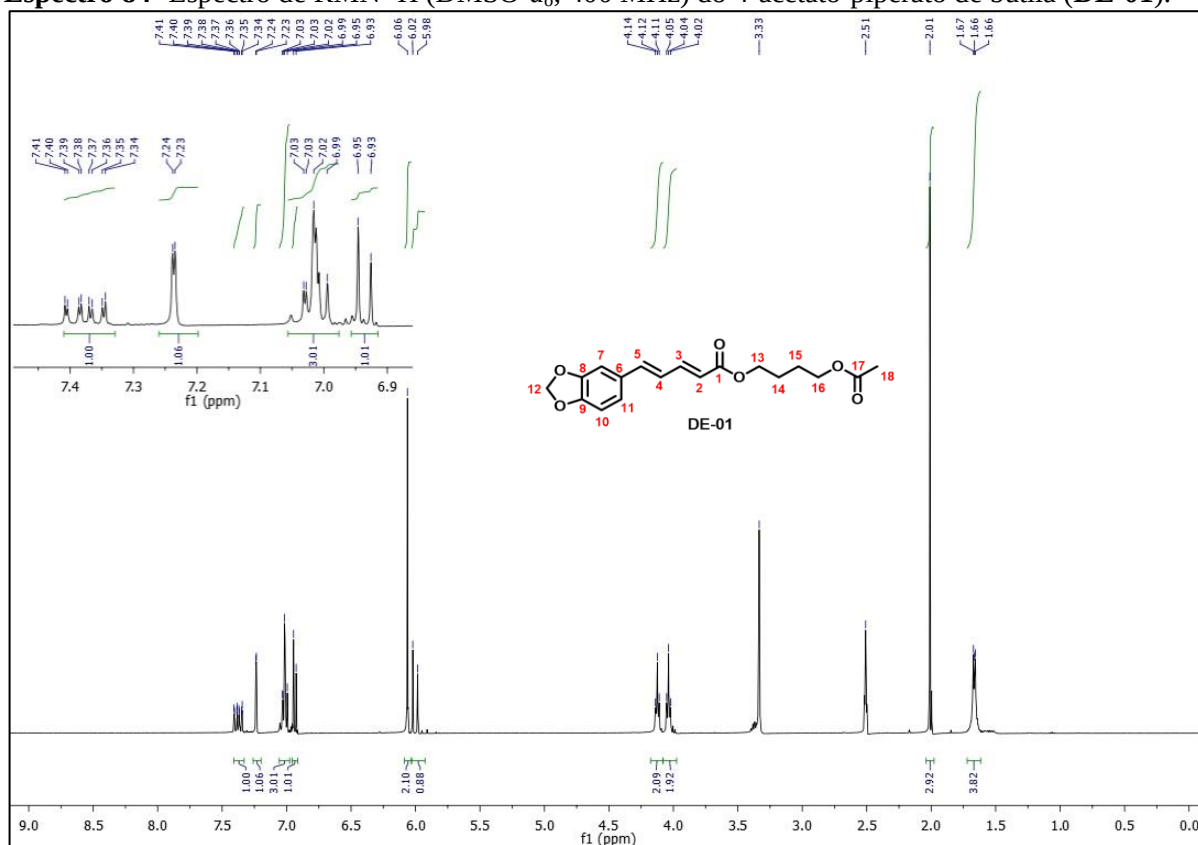


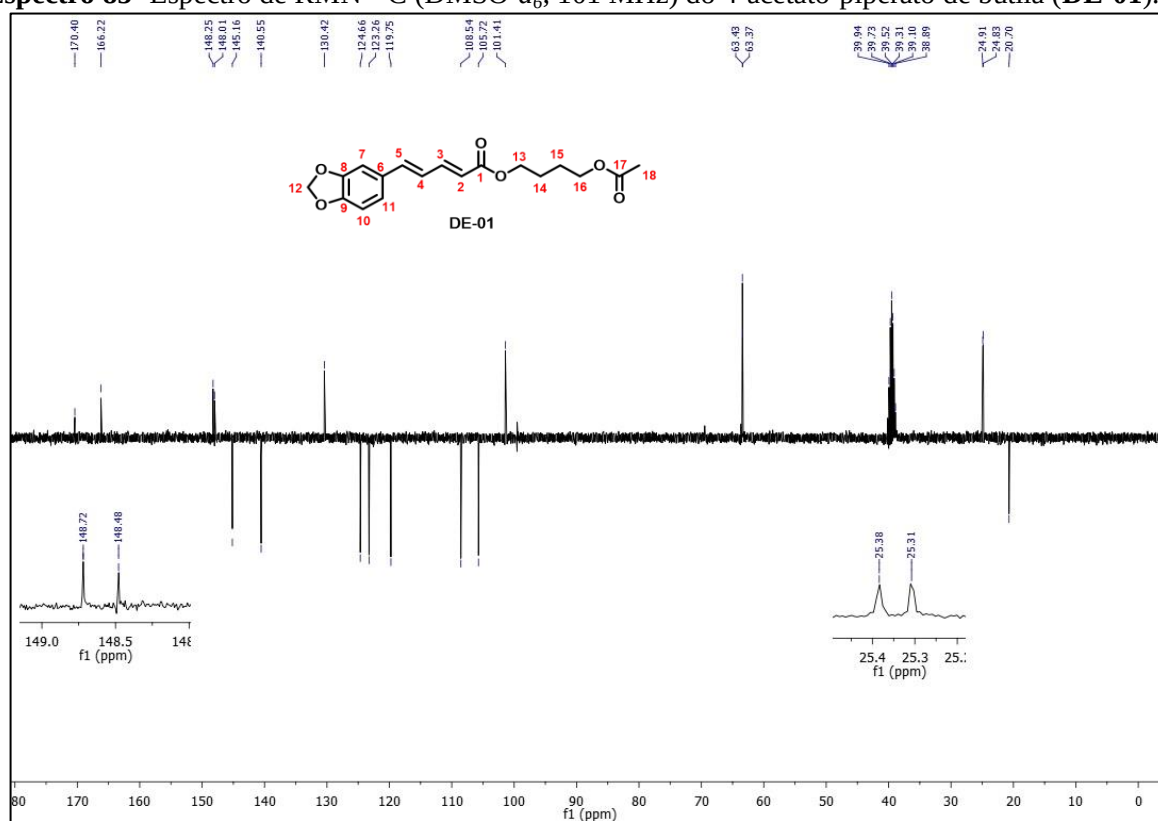
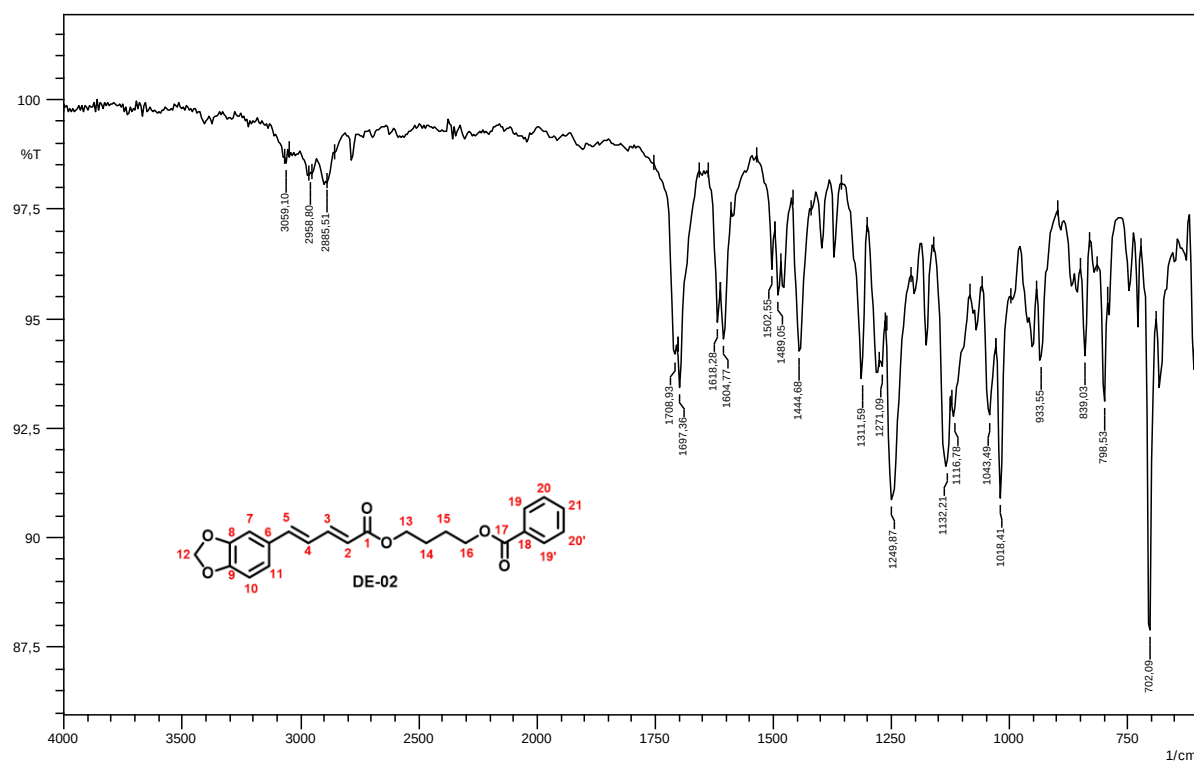
Espectro 78- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de dodecila (**IE-12**).

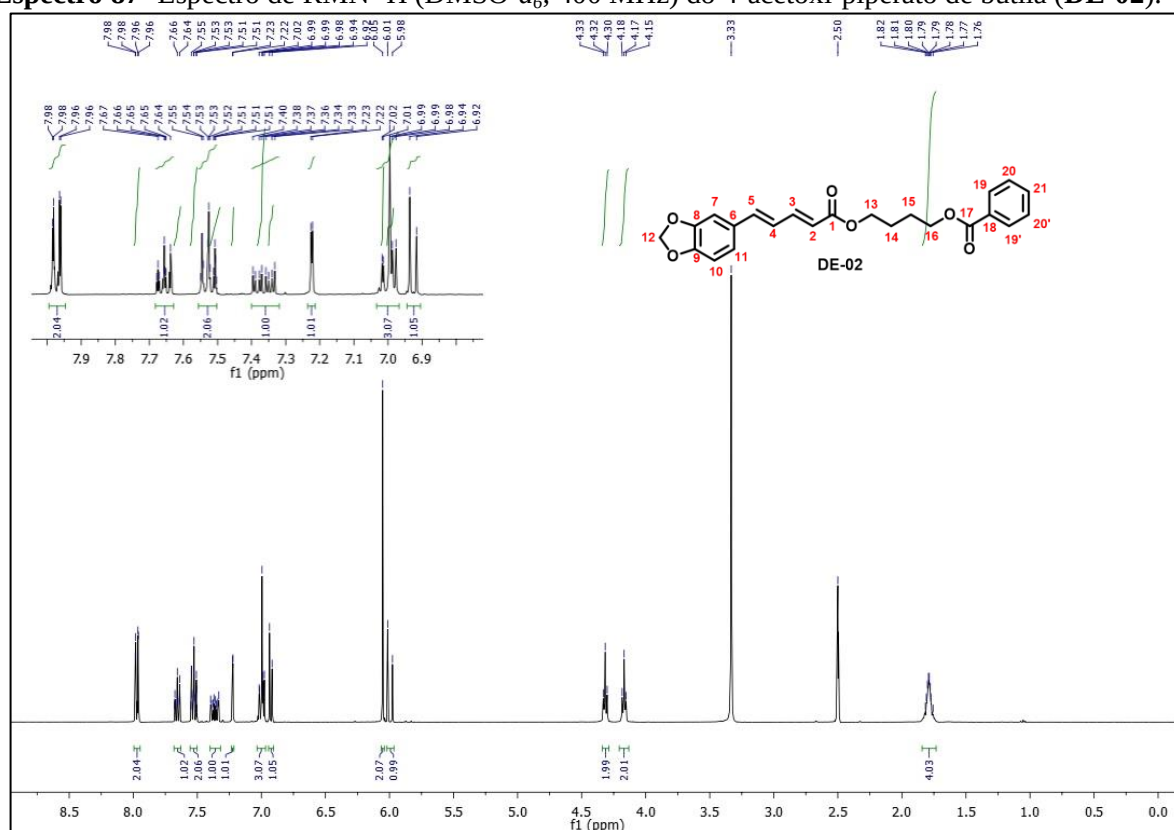
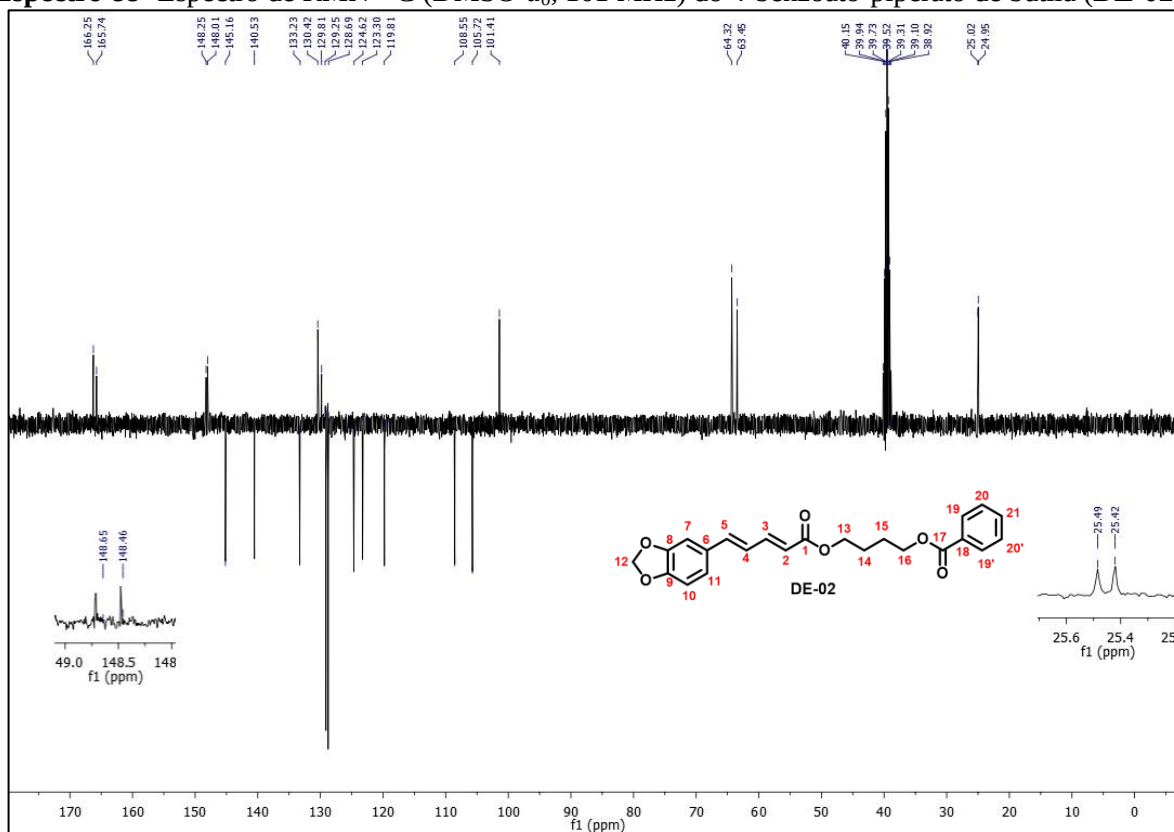


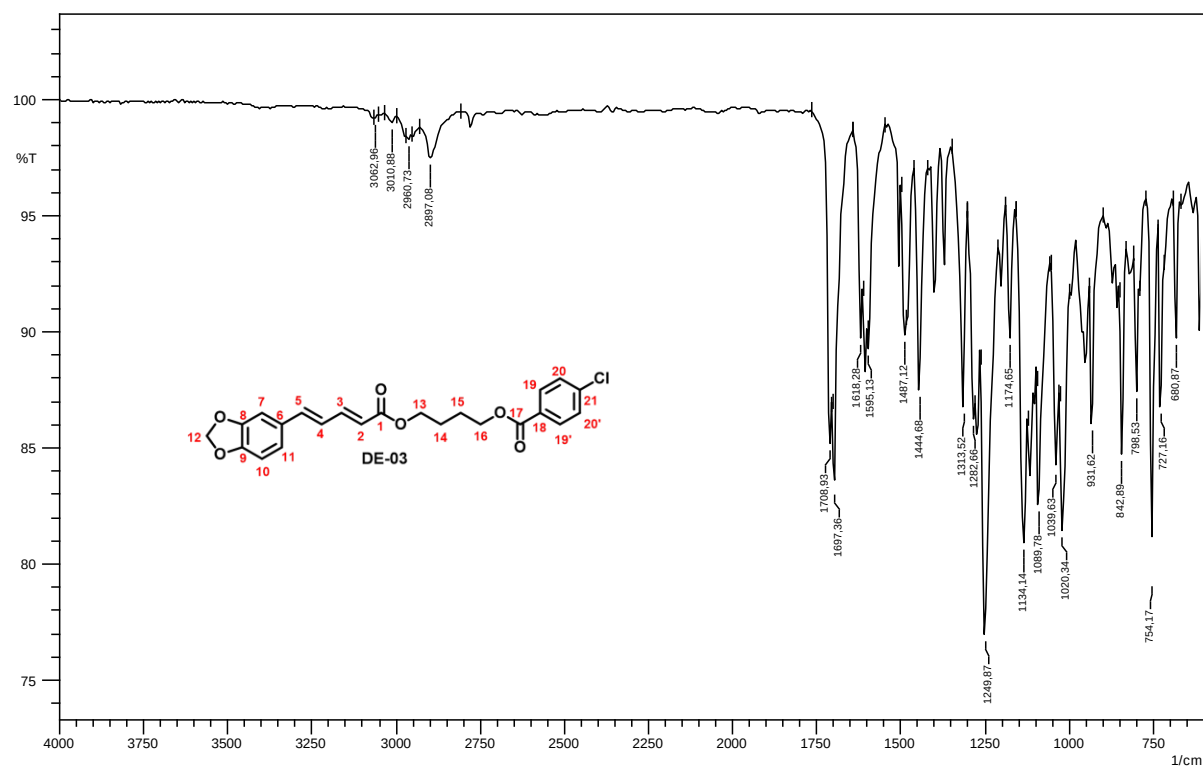
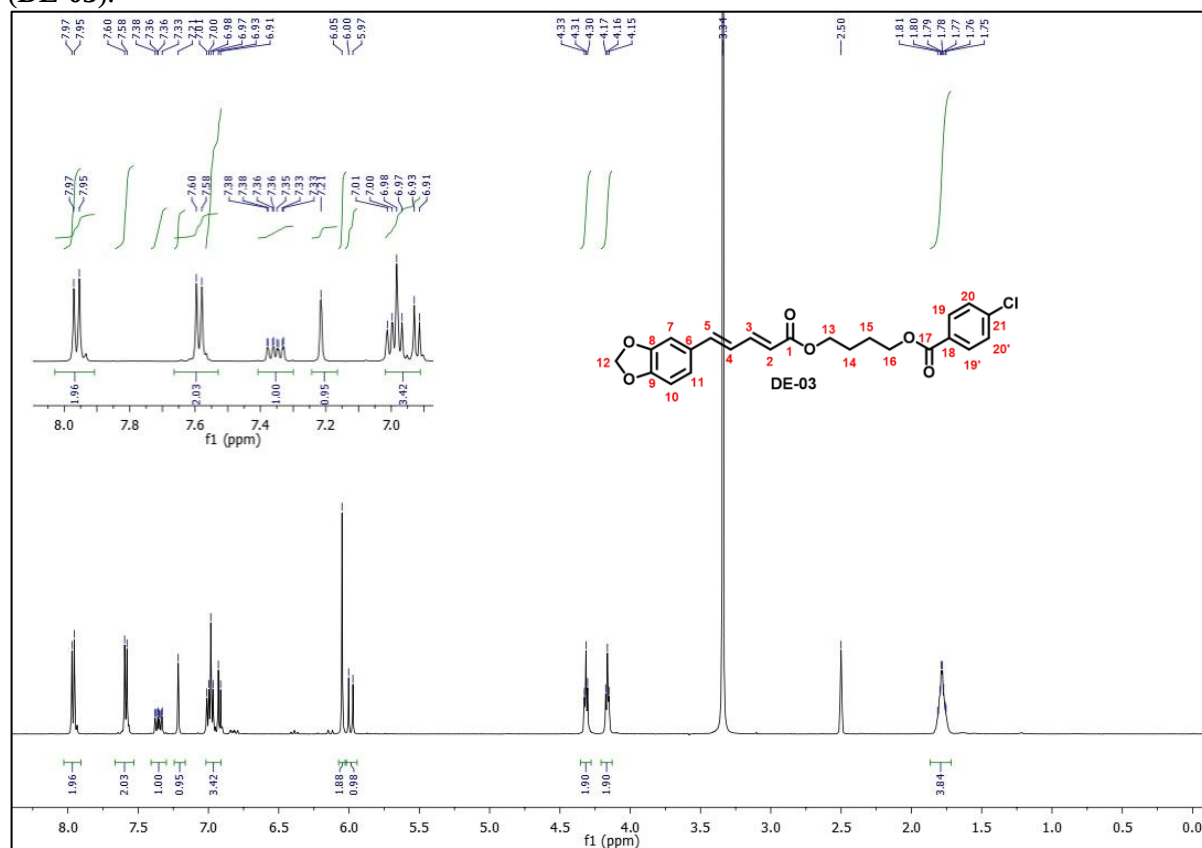
Espectro 79- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cloro-acetato de fenila (**IE-14**).**Espectro 80-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-cloro-acetato de fenila (**IE-14**).

Espectro 81- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cloro-acetato de cinamila (**IE-15**).**Espectro 82-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-cloro-acetato de cinamila (**IE-15**).

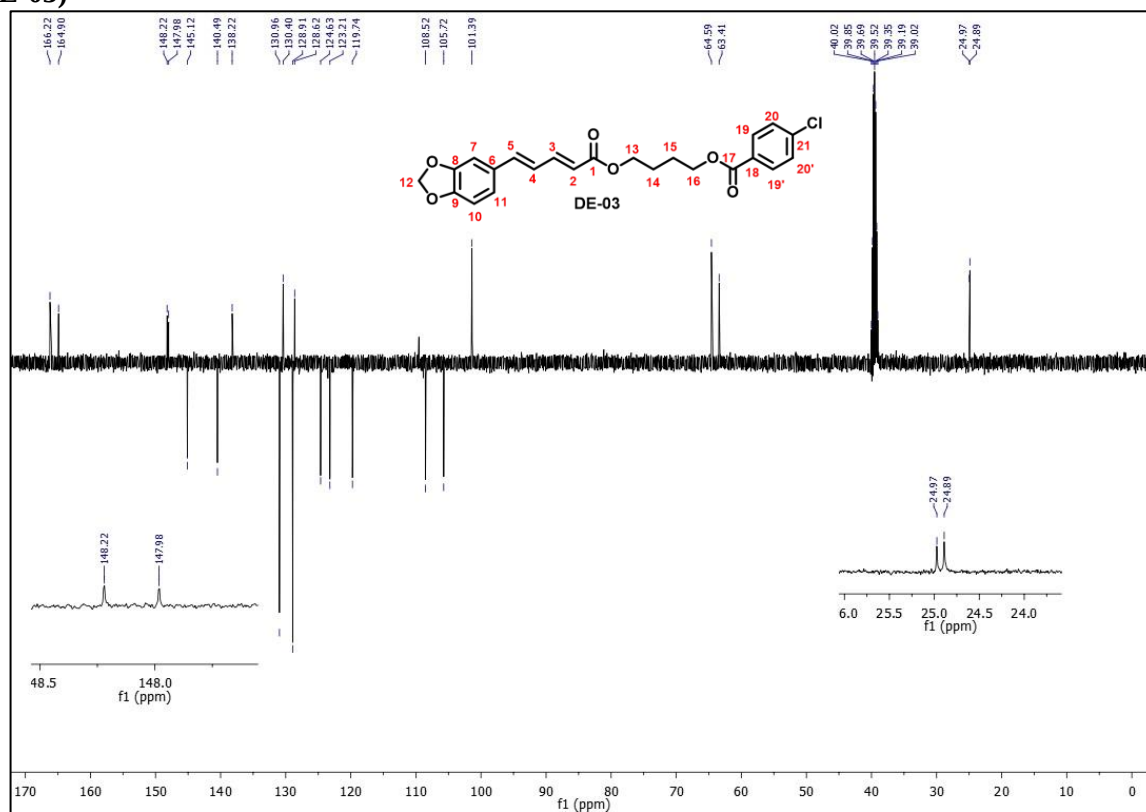
Espectro 83- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-acetato-piperato de butila (**DE-01**).**Espectro 84-** Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-acetato-piperato de butila (**DE-01**).

Espectro 85- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-acetato-piperato de butila (DE-01).**Espectro 86-** Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-acetoxi-piperato de butila (DE-02).

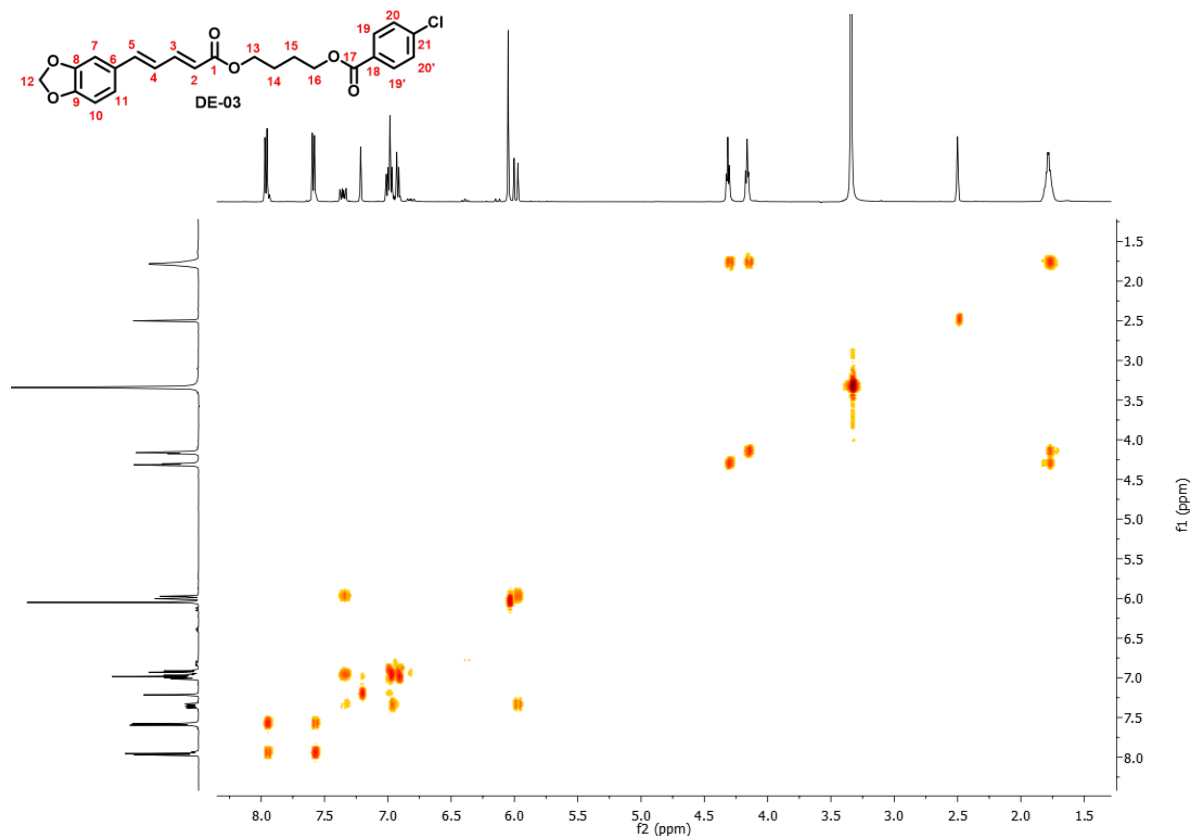
Espectro 87- Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 400 MHz) do 4-acetoxi-piperato de butila (DE-02).**Espectro 88-** Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 101 MHz) do 4-benzoato-piperato de butila (DE-02).

Espectro 89- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (**DE-03**).**Espectro 90-** Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (**DE-03**).

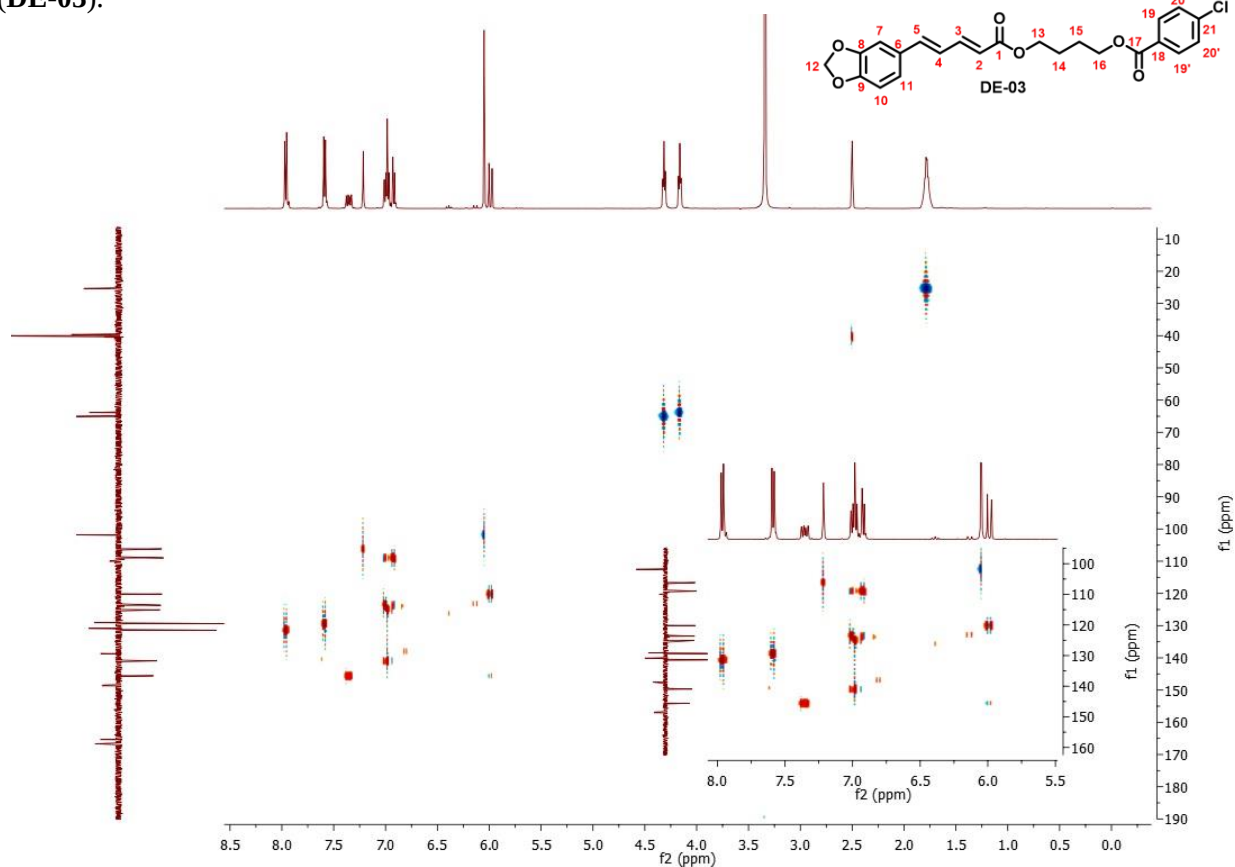
Espectro 91- Espectro de RMN ^{13}C ($\text{DMSO-}d_6$, 126 MHz) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03)



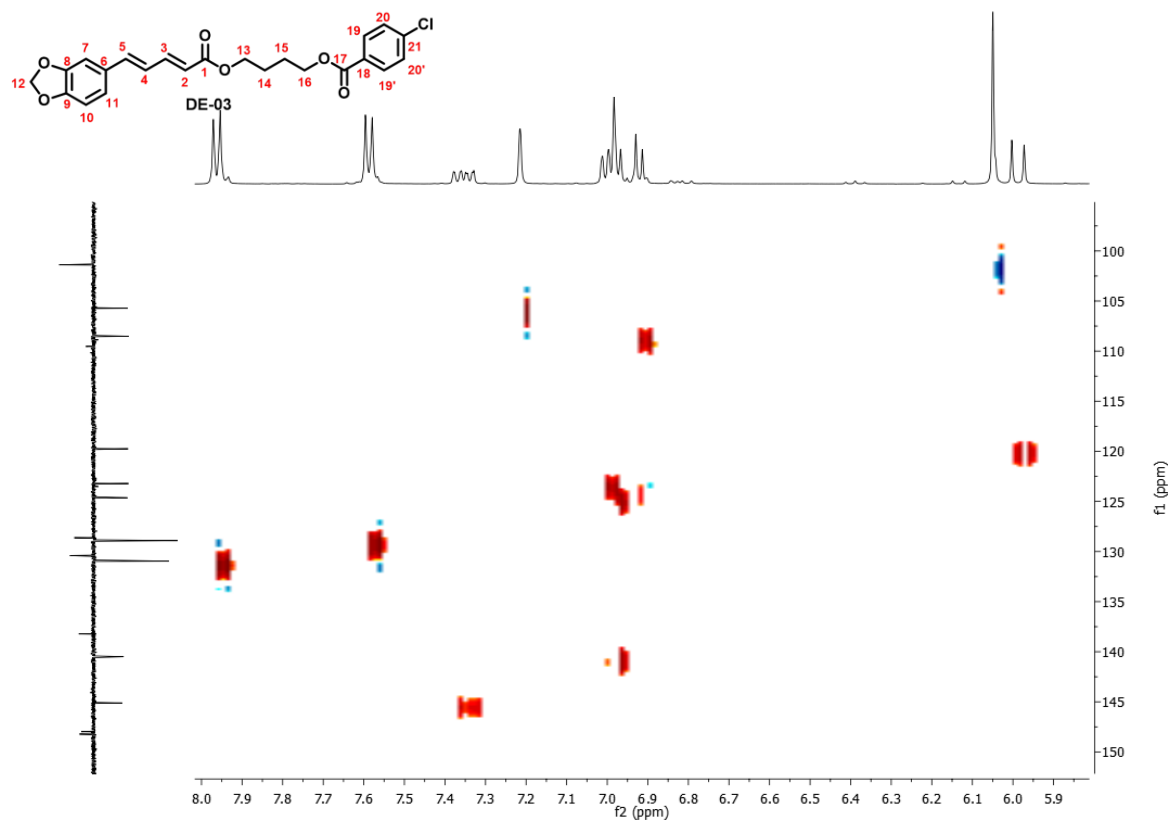
Espectro 92- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(4-cloro)-piperato de butila (DE-03).



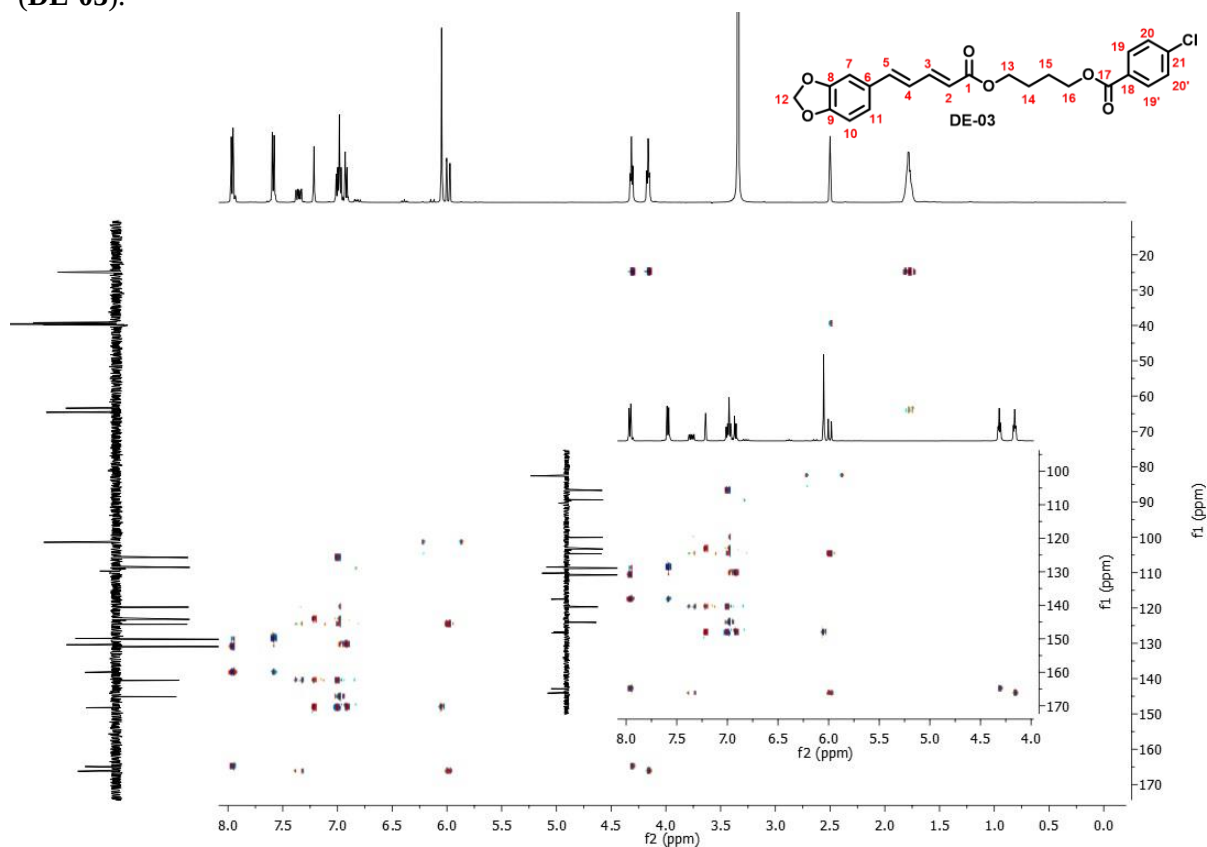
Espectro 93- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).



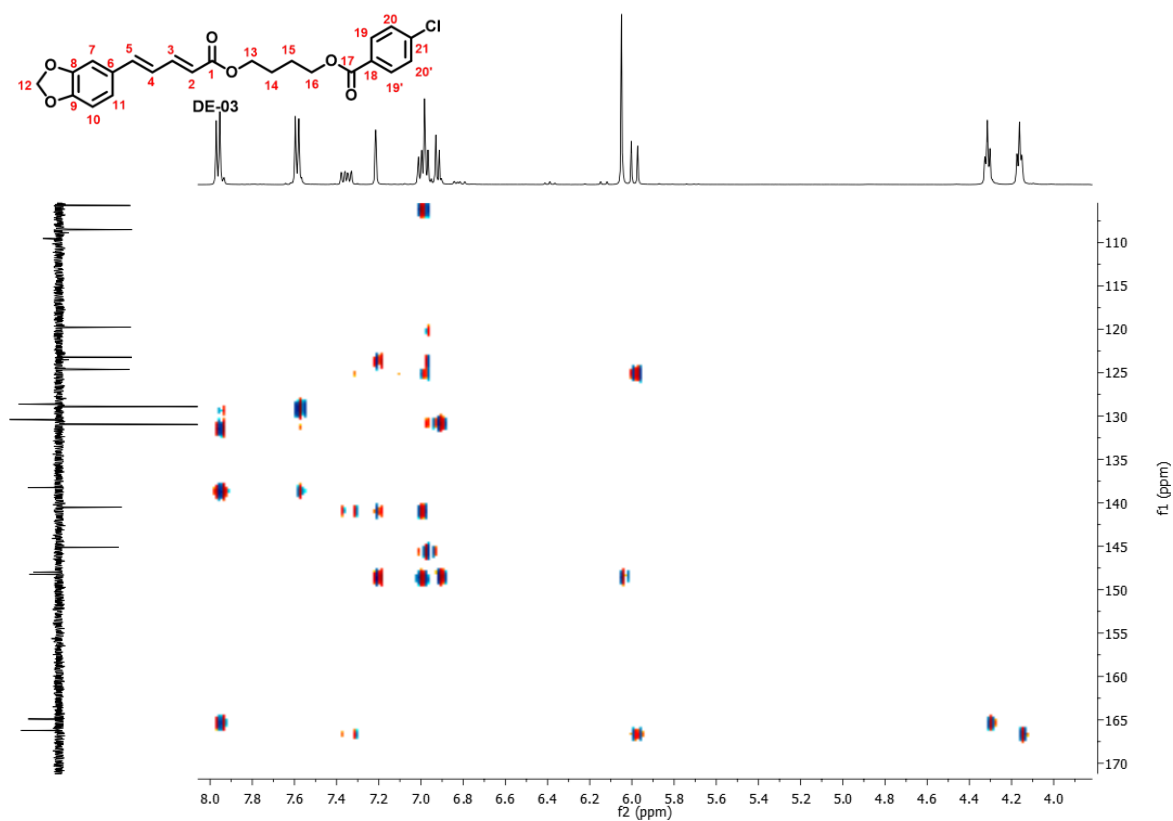
Espectro 94- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).

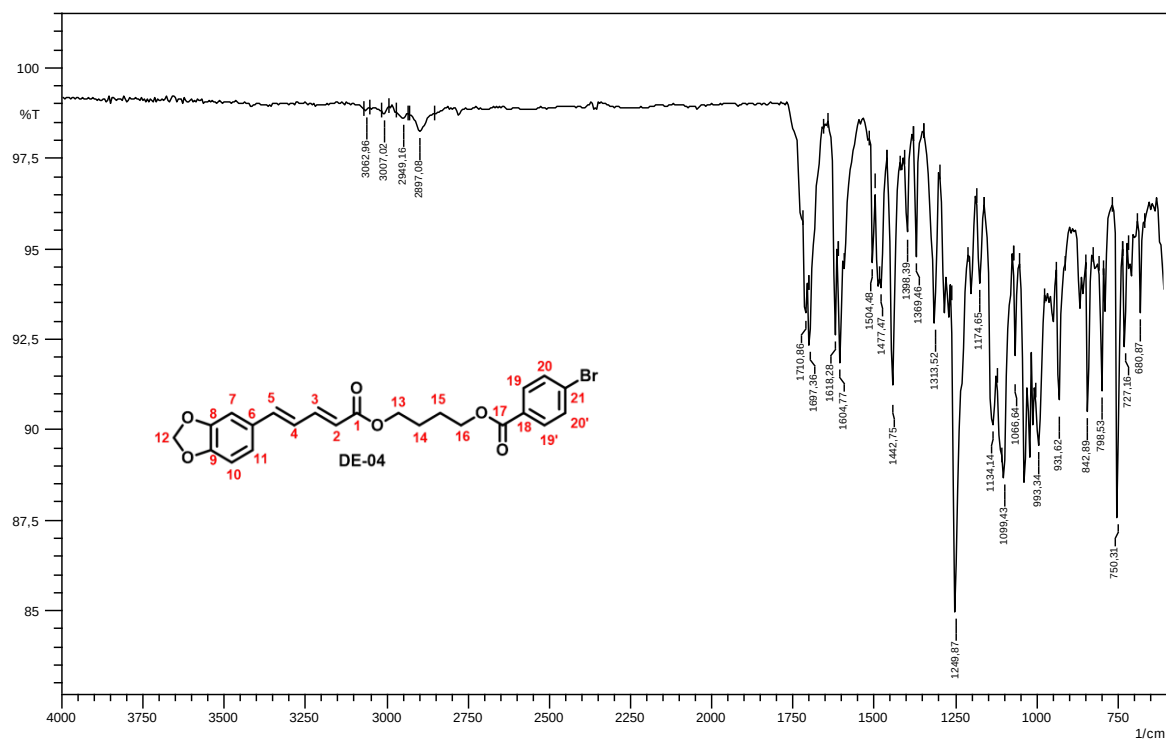
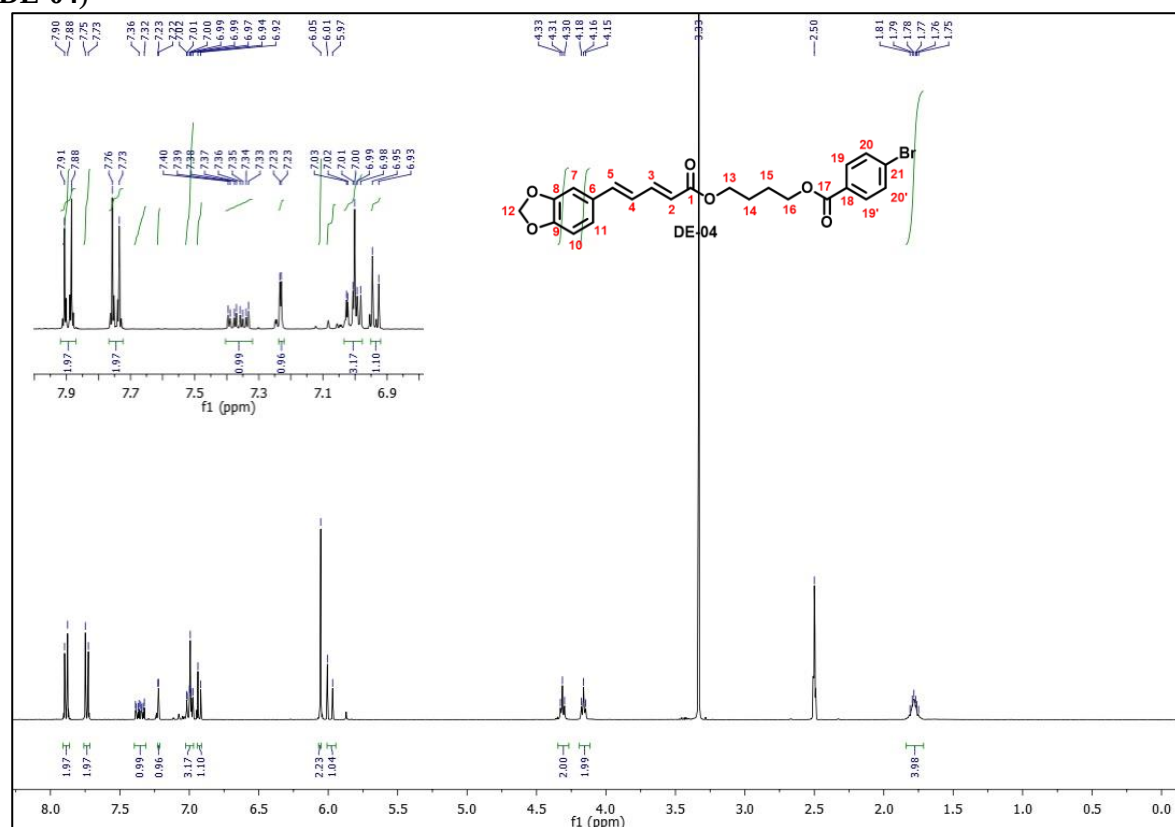


Espectro 95- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).

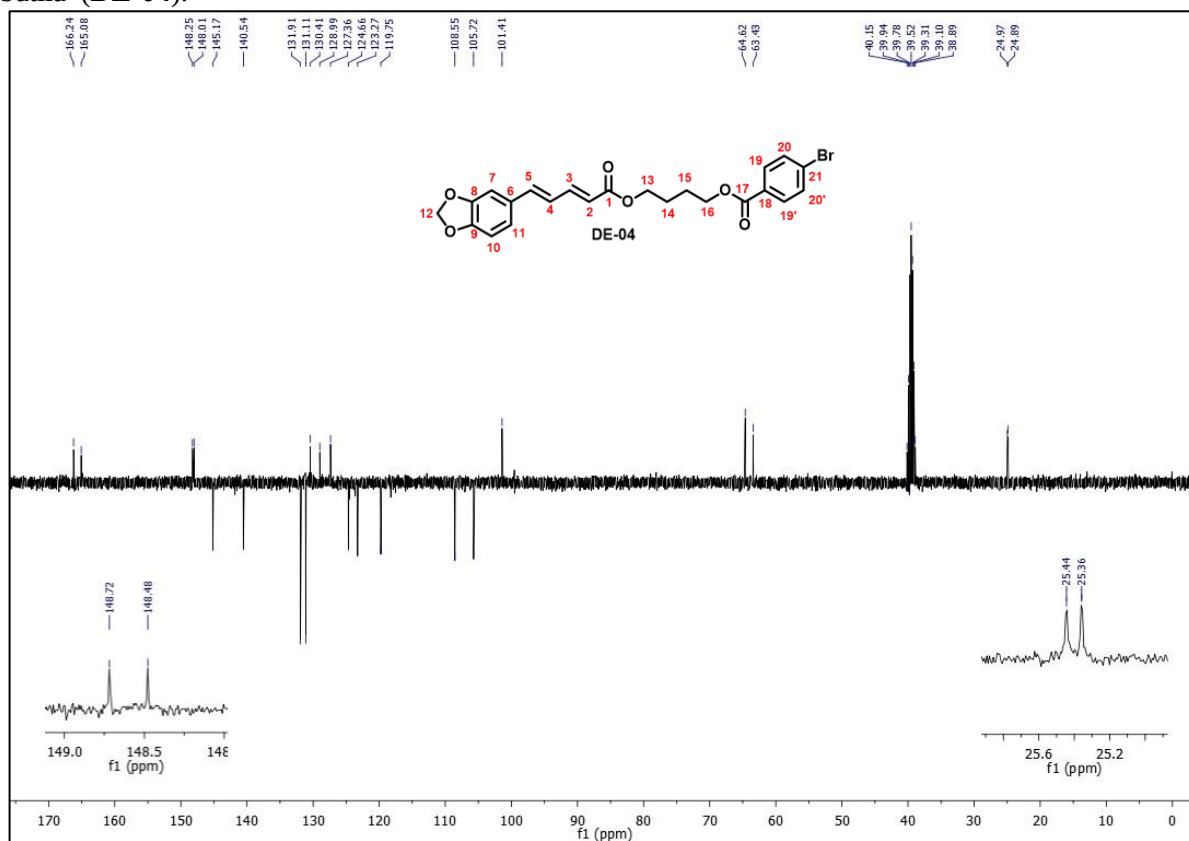


Espectro 96- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-cloro-benzoato)-piperato de butila (DE-03).

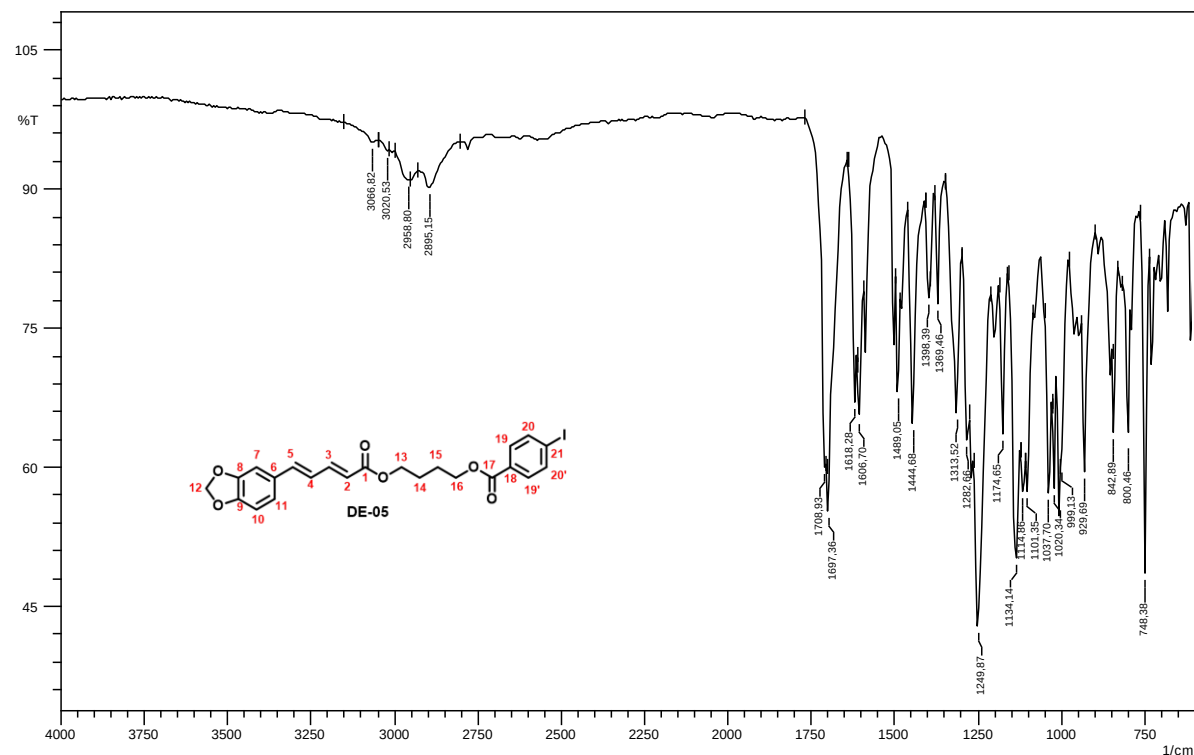


Espectro 97- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (**DE-04**)**Espectro 98-** Espectro de RMN ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (**DE-04**)

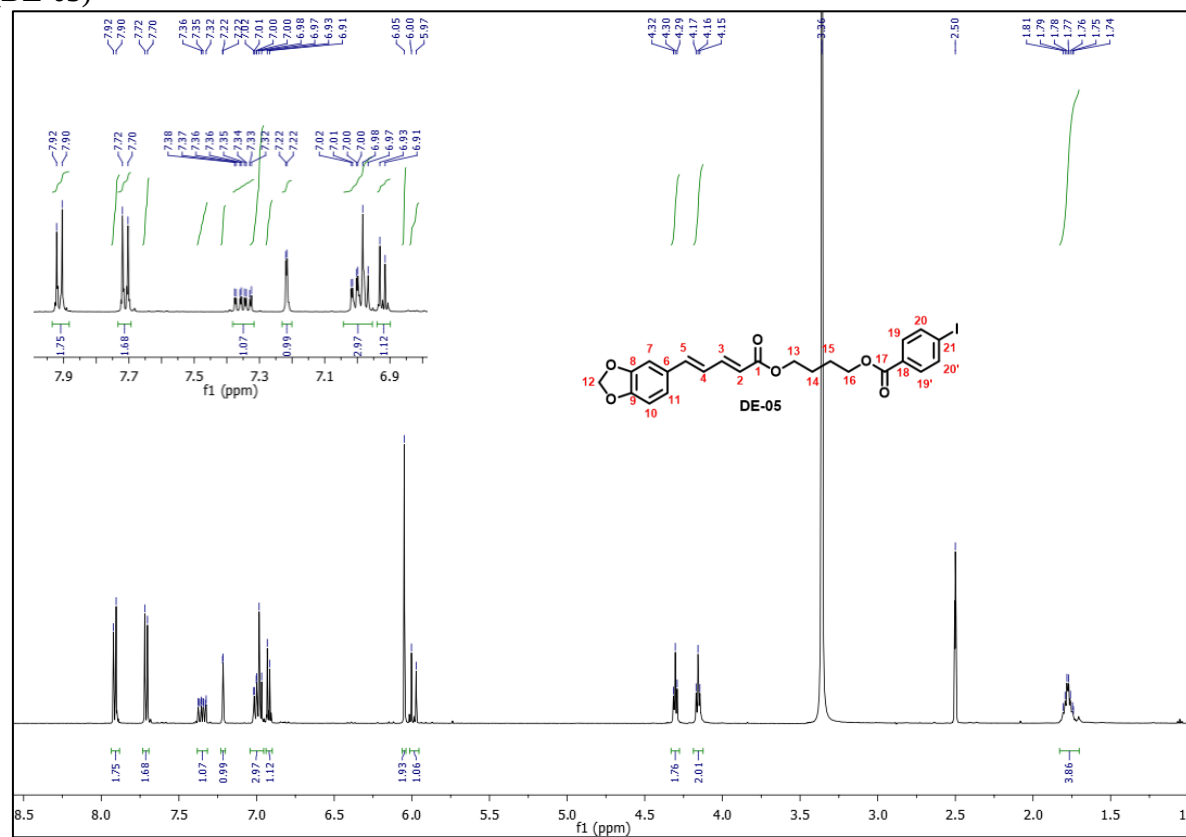
Espectro 99- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(4-bromo-benzoato)-piperato de butila (**DE-04**).



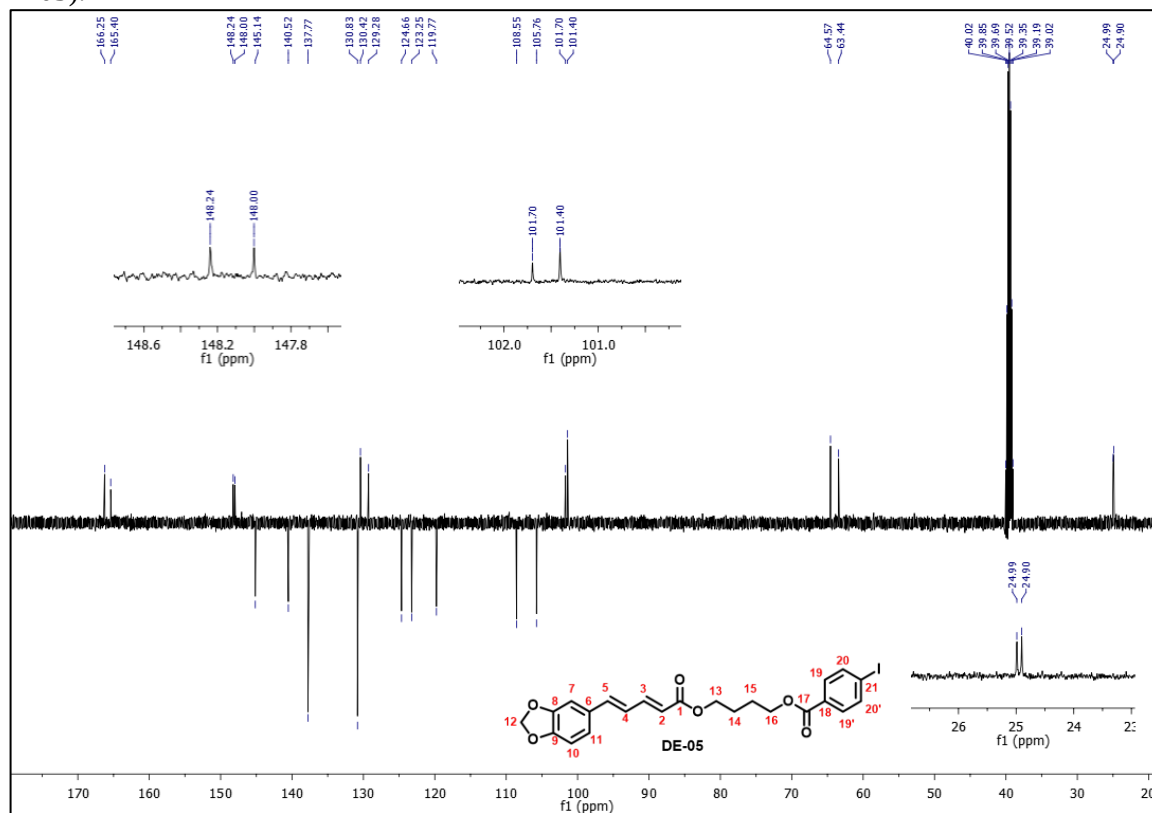
Espectro 100- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (**DE-05**).

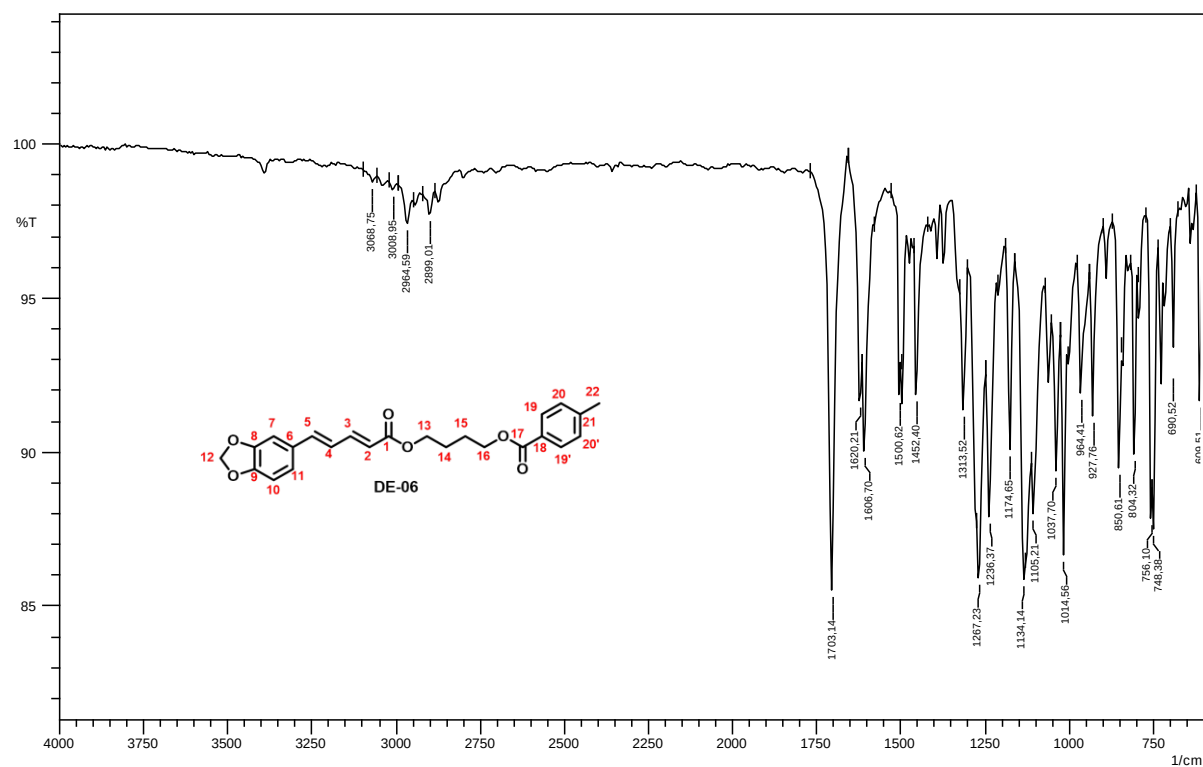
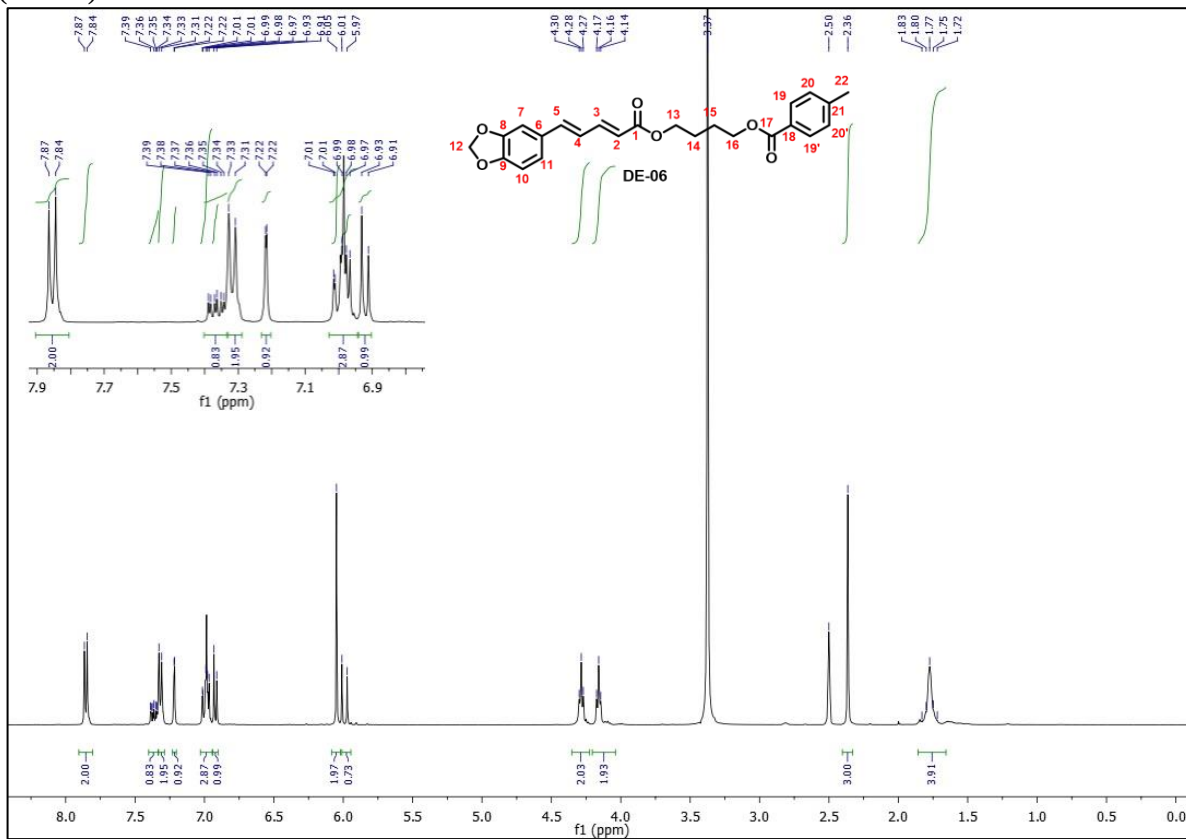


Espectro 101- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05)

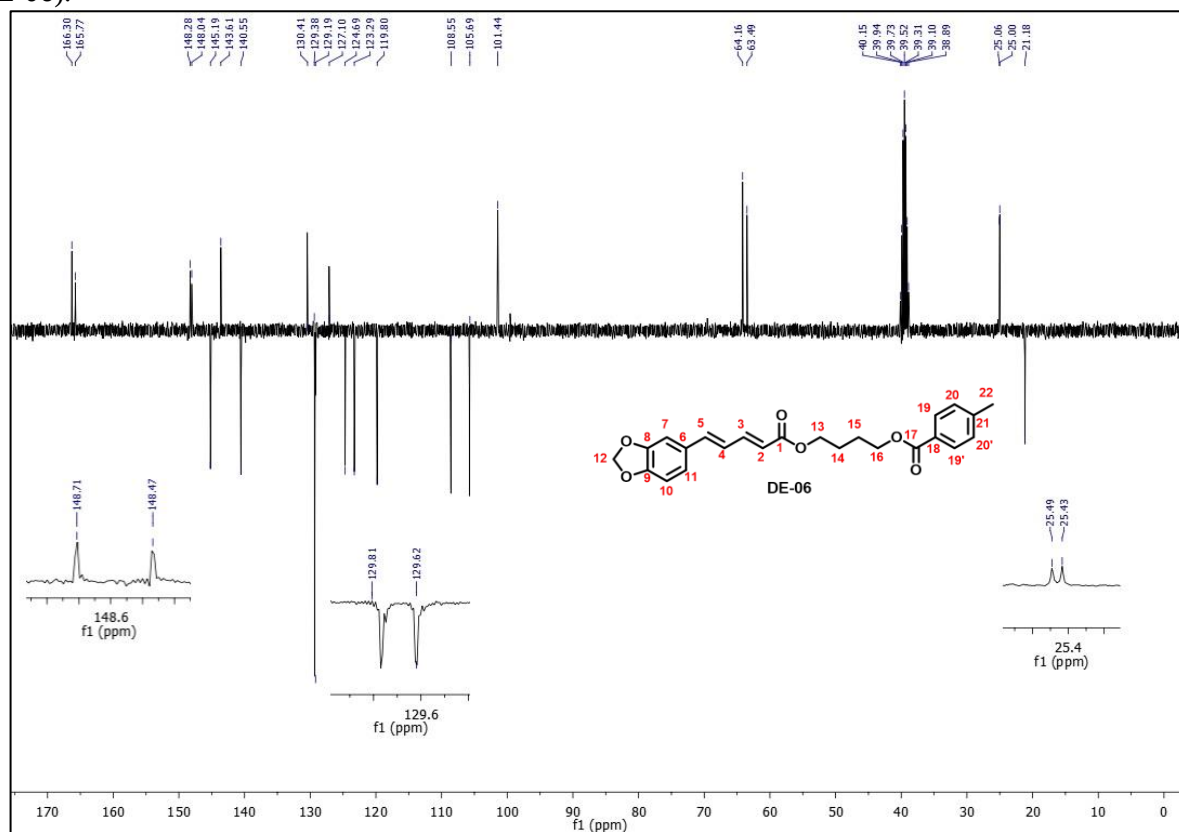


Espectro 102- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-(4-iodo-benzoato)-piperato de butila (DE-05).

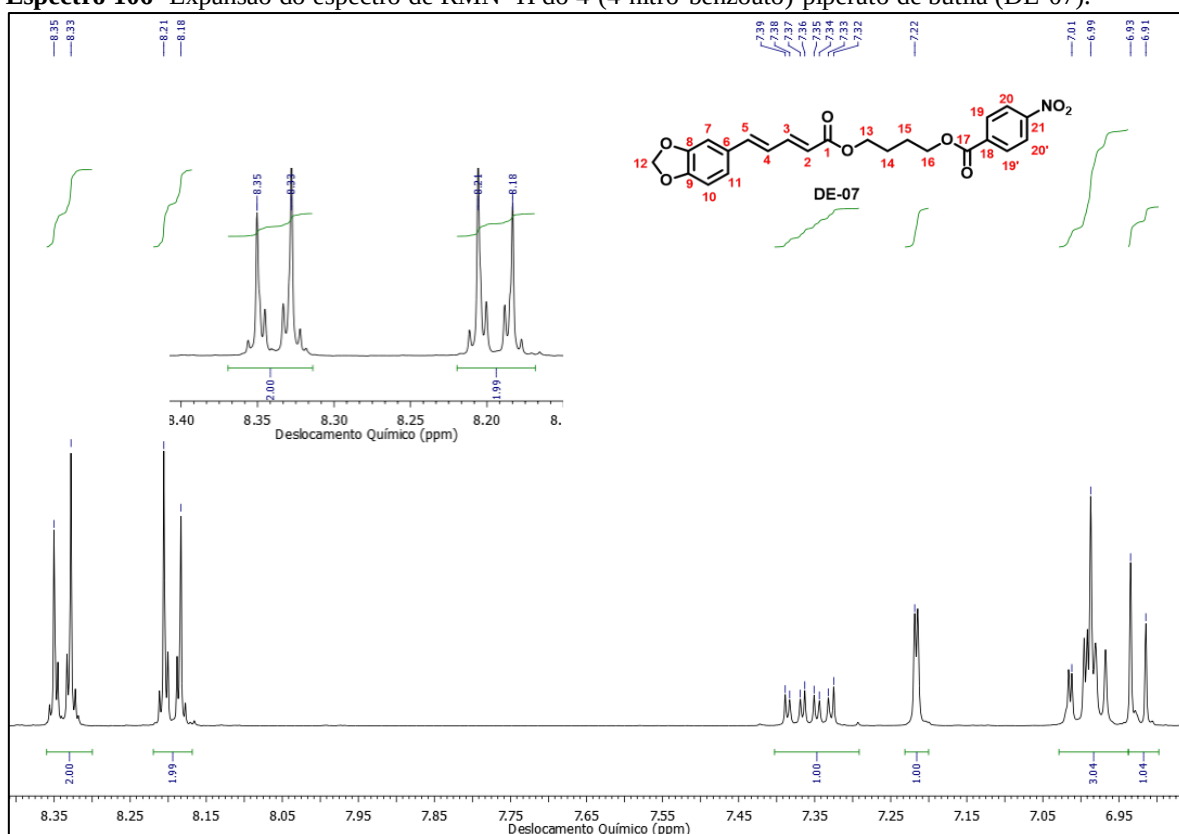


Espectro 103- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (**DE-06**).**Espectro 104-** Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (**DE-06**).

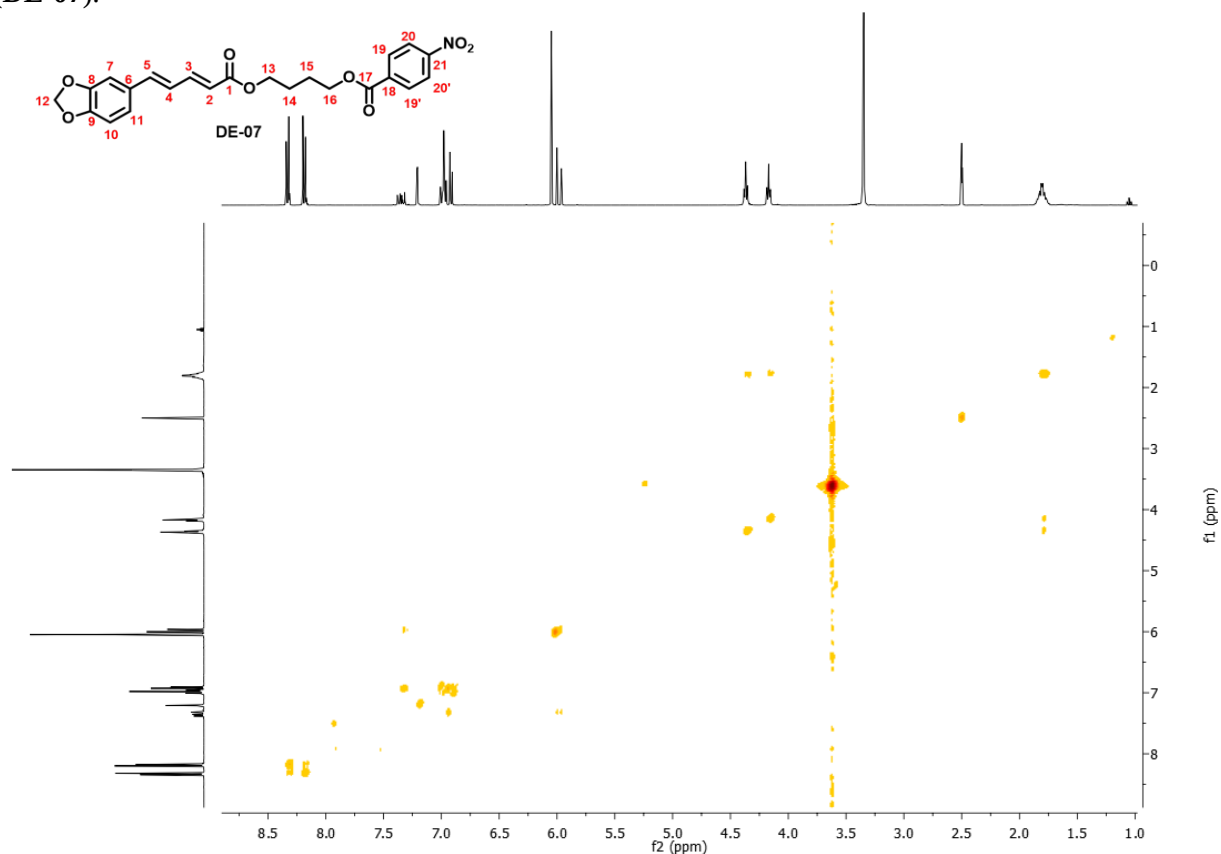
Espectro 105- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(4-metil-benzoato)-piperato de butila (DE-06).



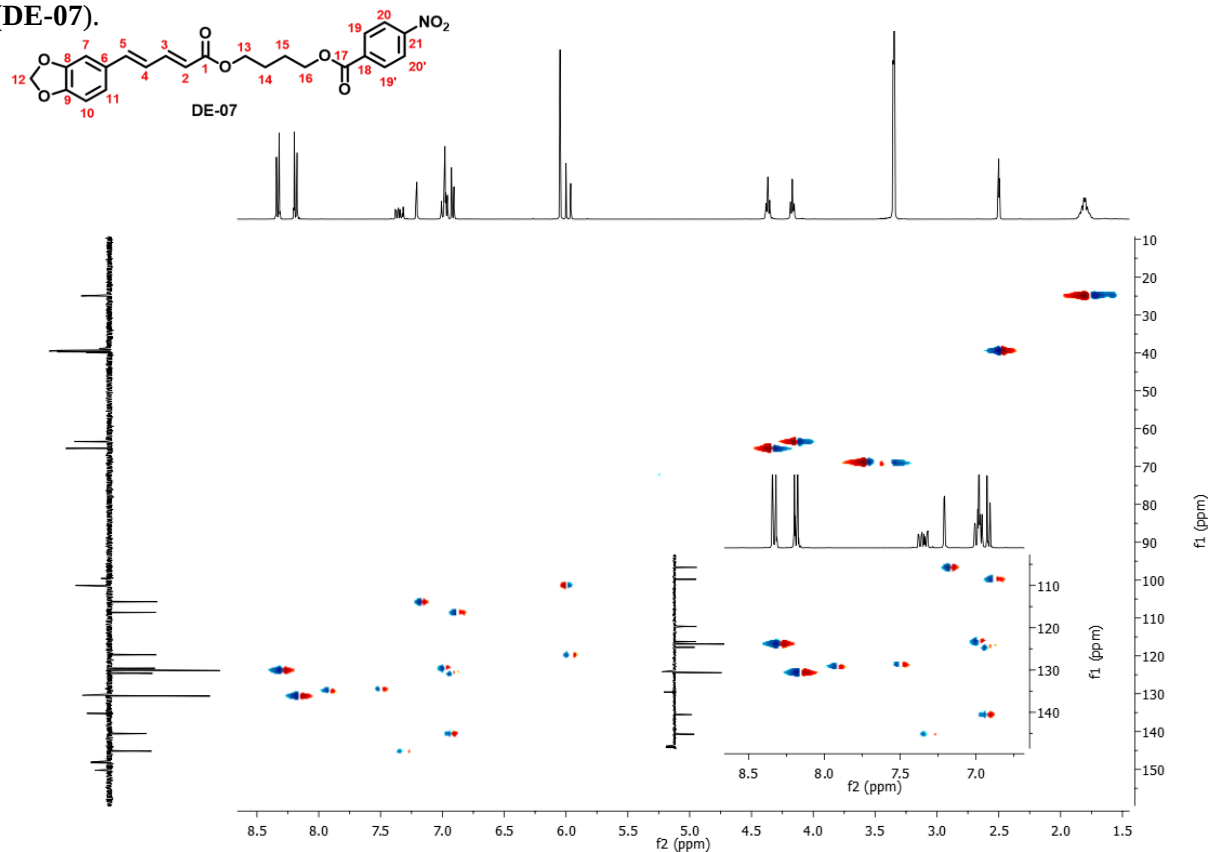
Espectro 106- Expansão do espectro de RMN ^1H do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



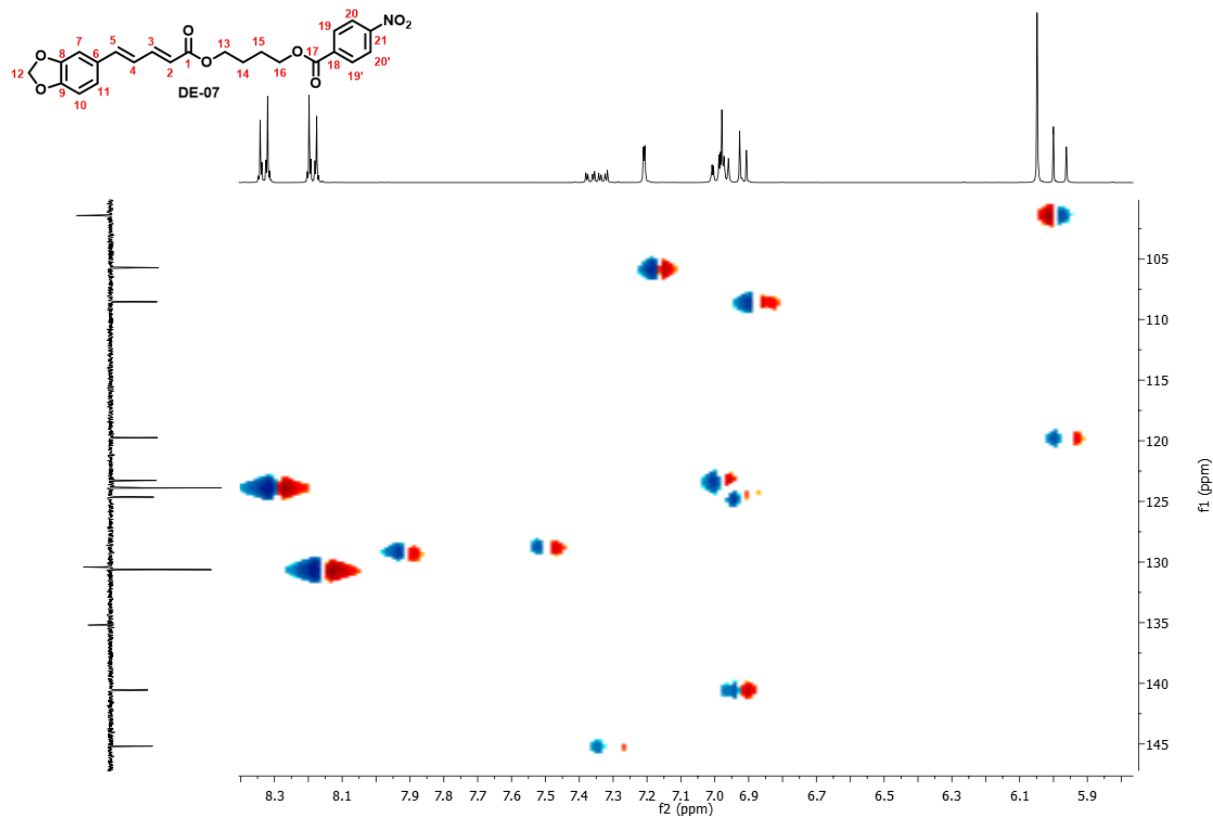
Espectro 107- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



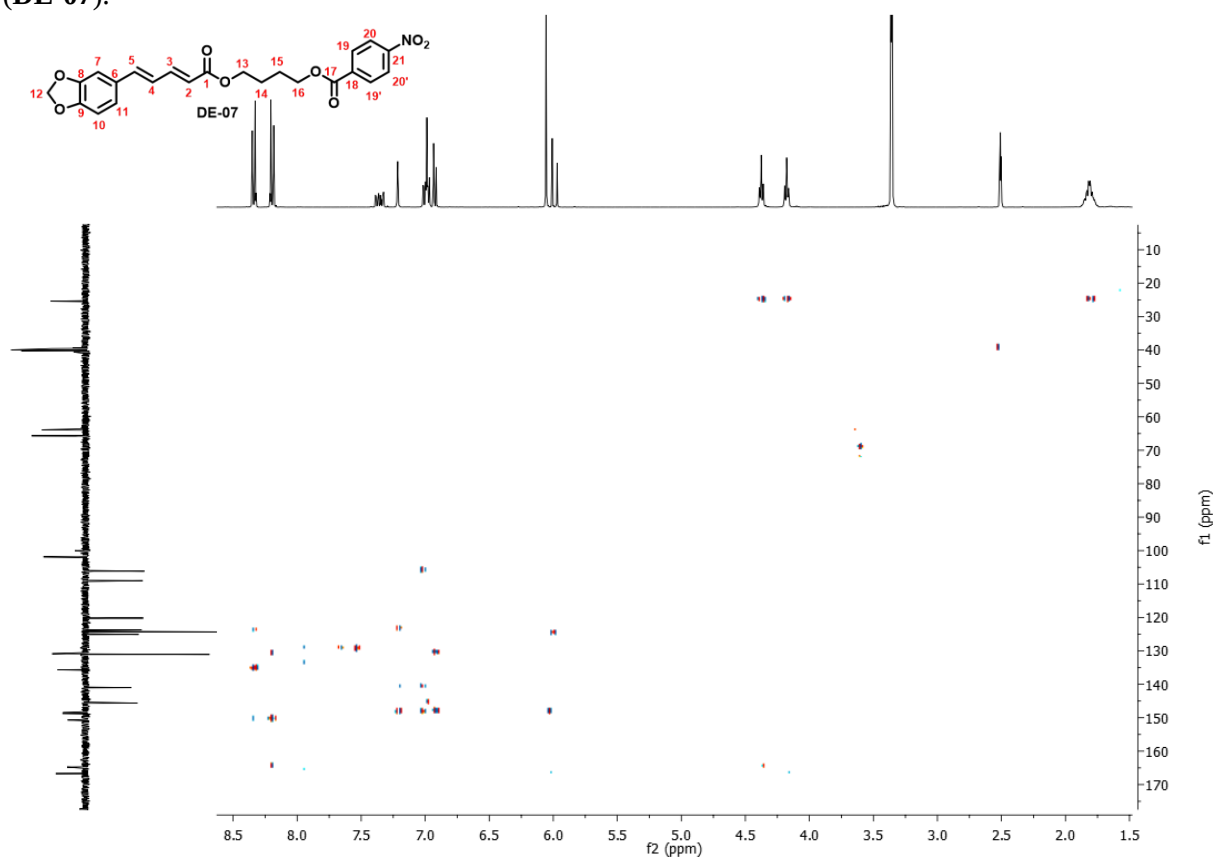
Espectro 108- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



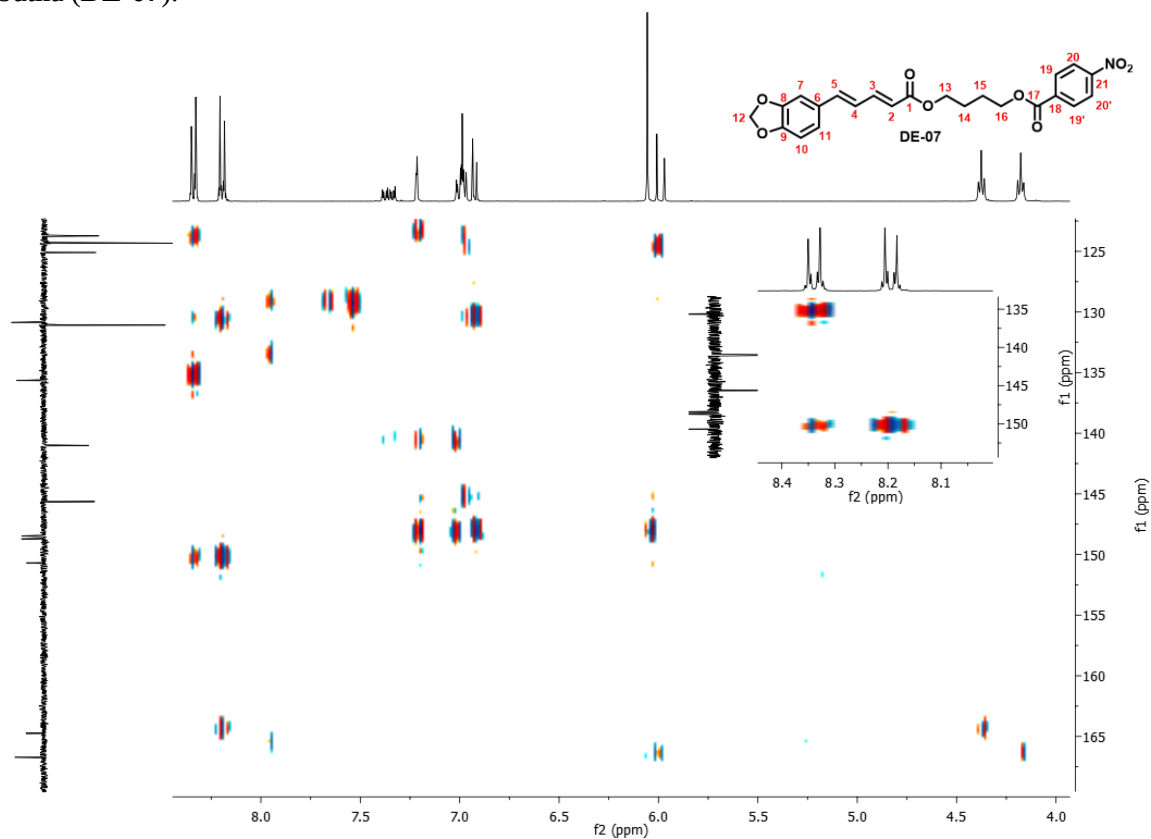
Espectro 109- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



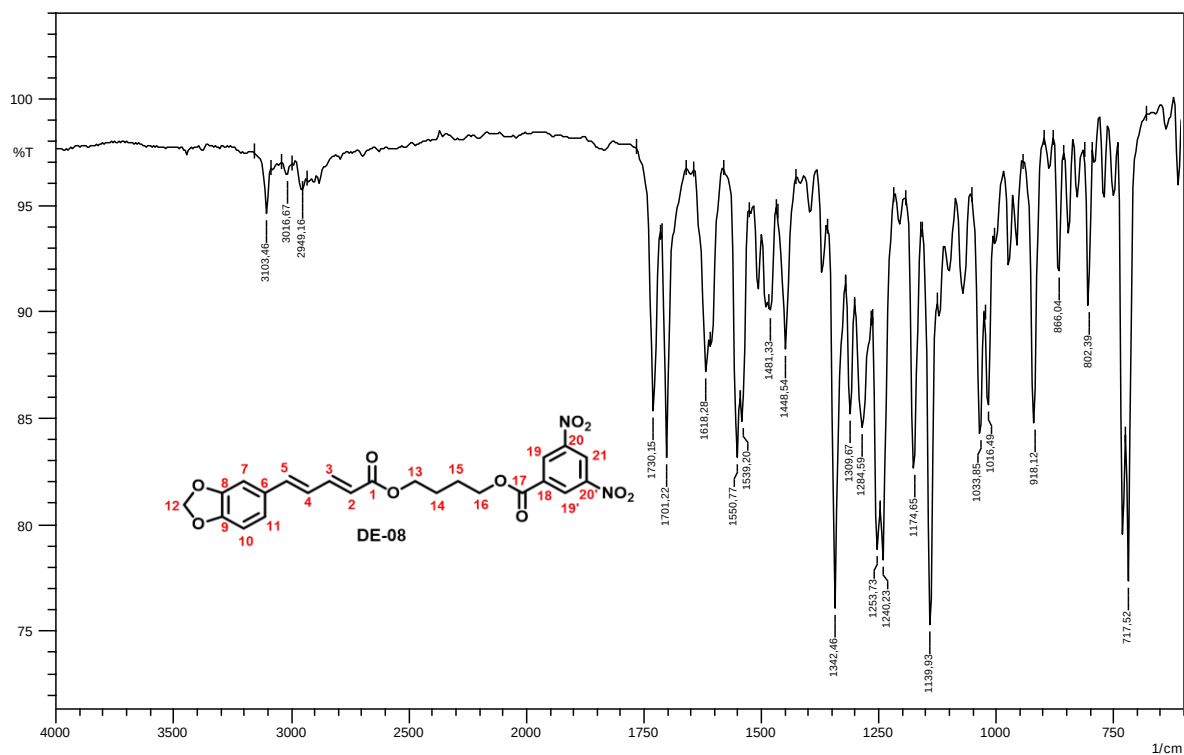
Espectro 110- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



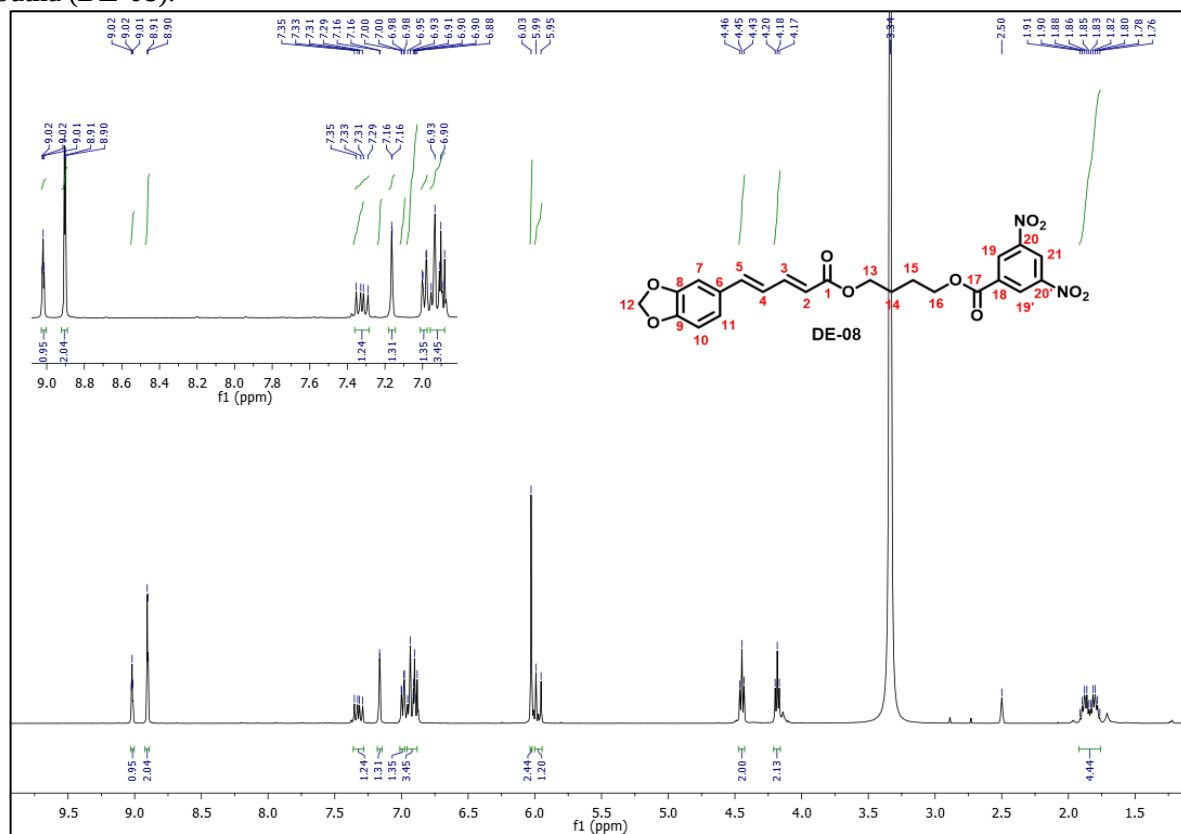
Espectro 111- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(4-nitro-benzoato)-piperato de butila (DE-07).



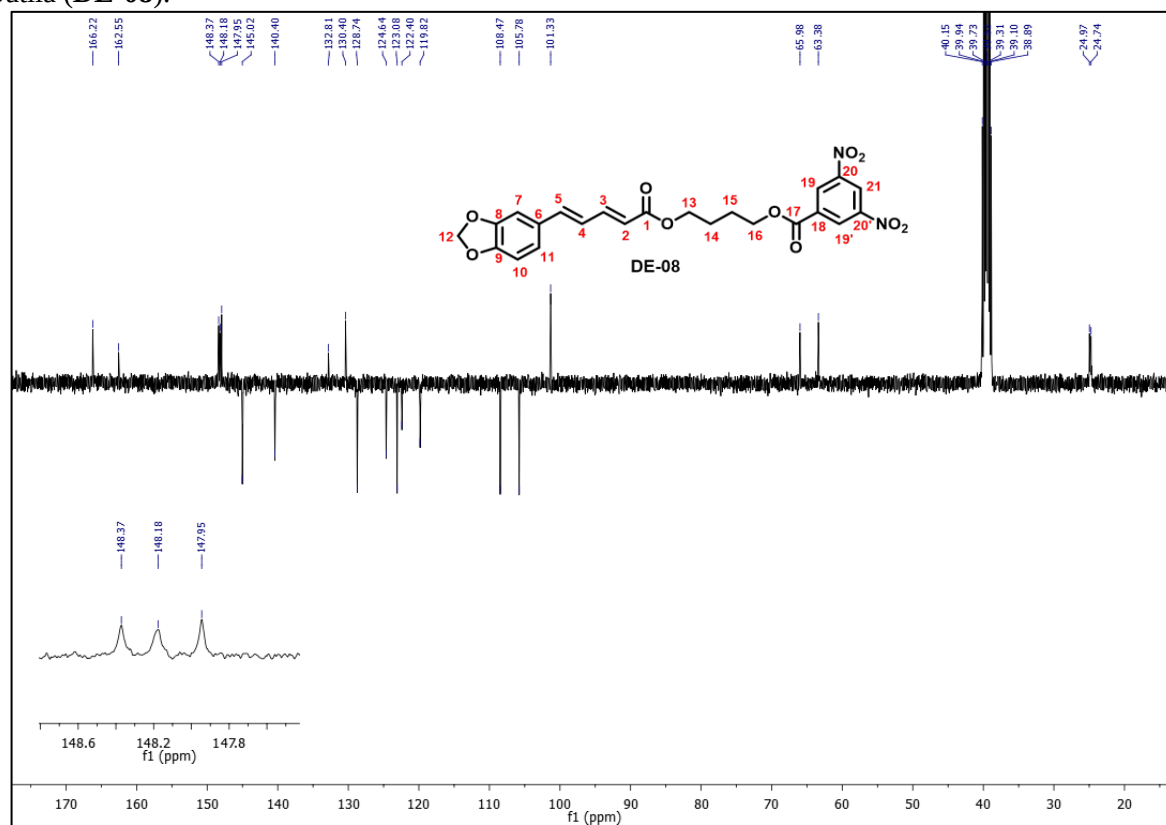
Espectro 112- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (DE-08).



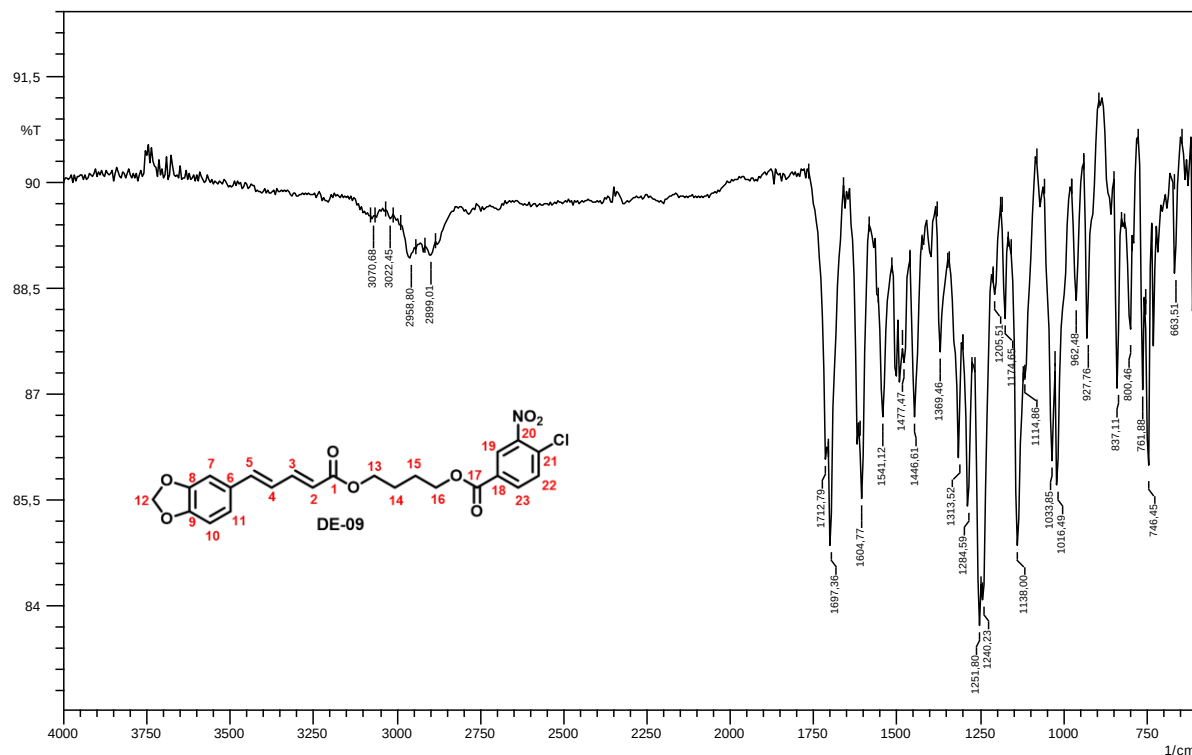
Espectro 113- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-08**).



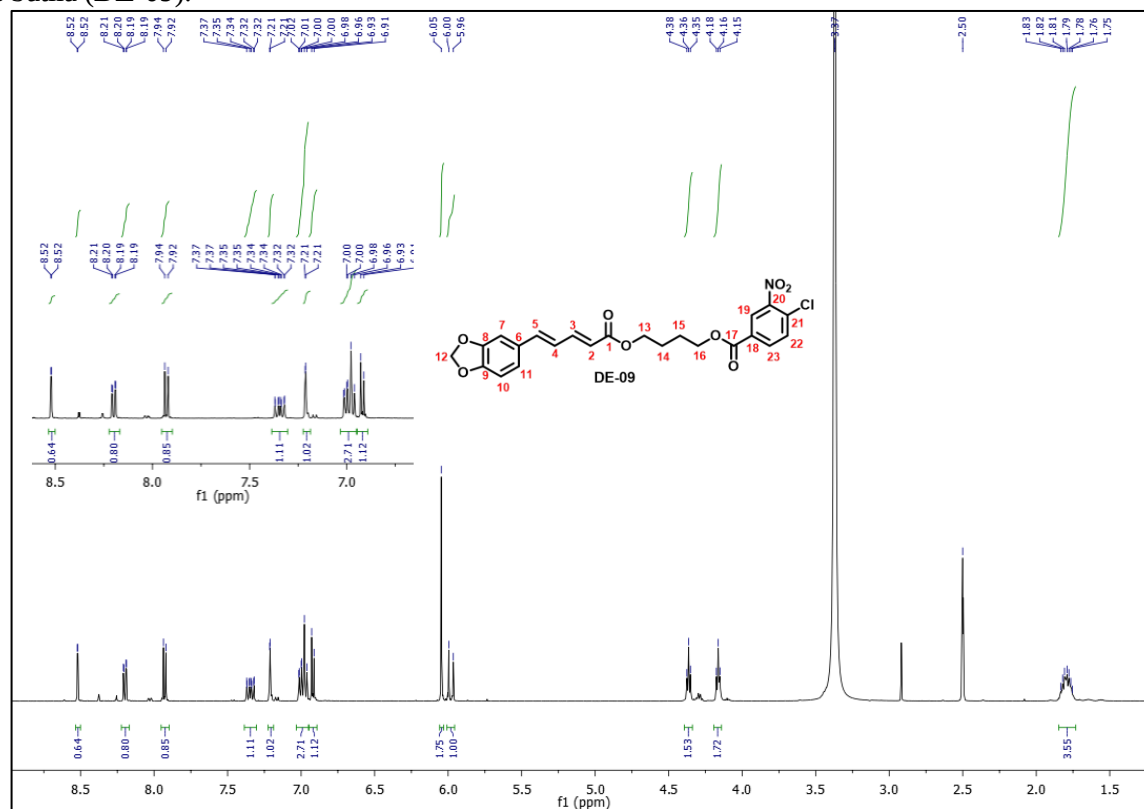
Espectro 114- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(3,5-dinitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-08**).



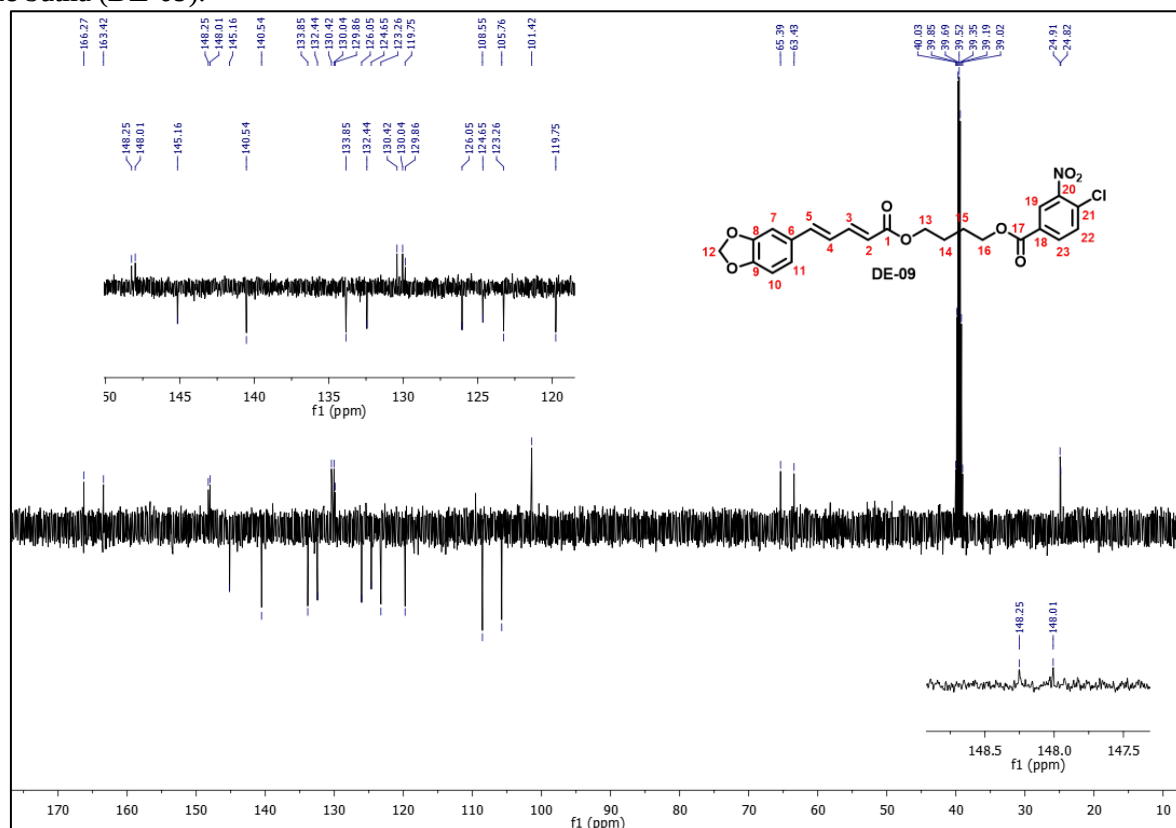
Espectro 115- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-cloro,3-nitro-benzoato)-piperato de butila(**DE-09**).



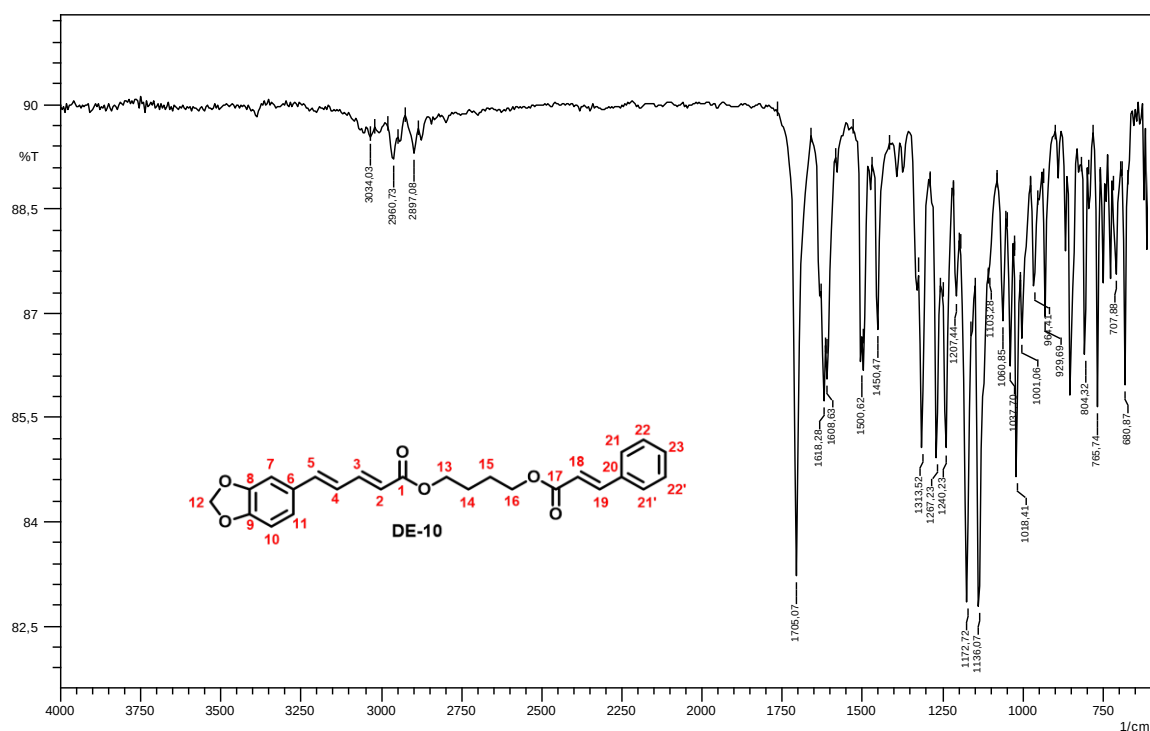
Espectro 116- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 500 MHz) do 4-(4-cloro, 3-nitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-09**).

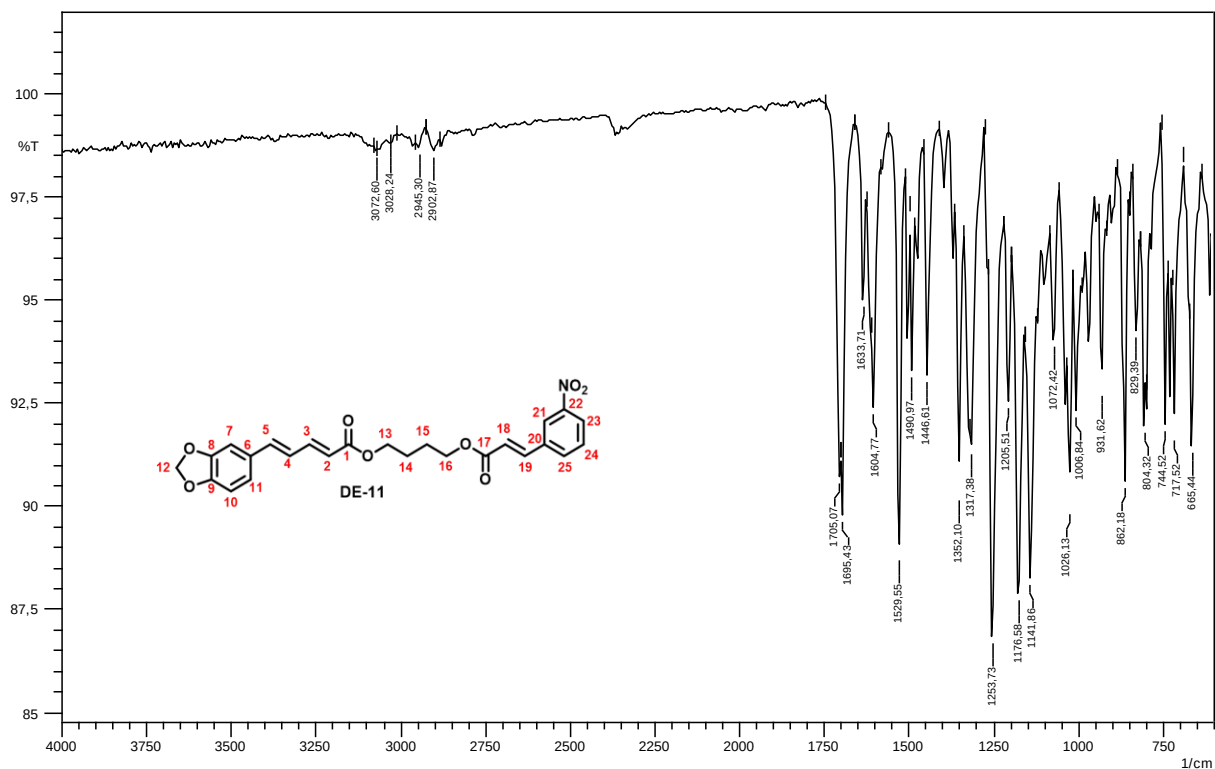
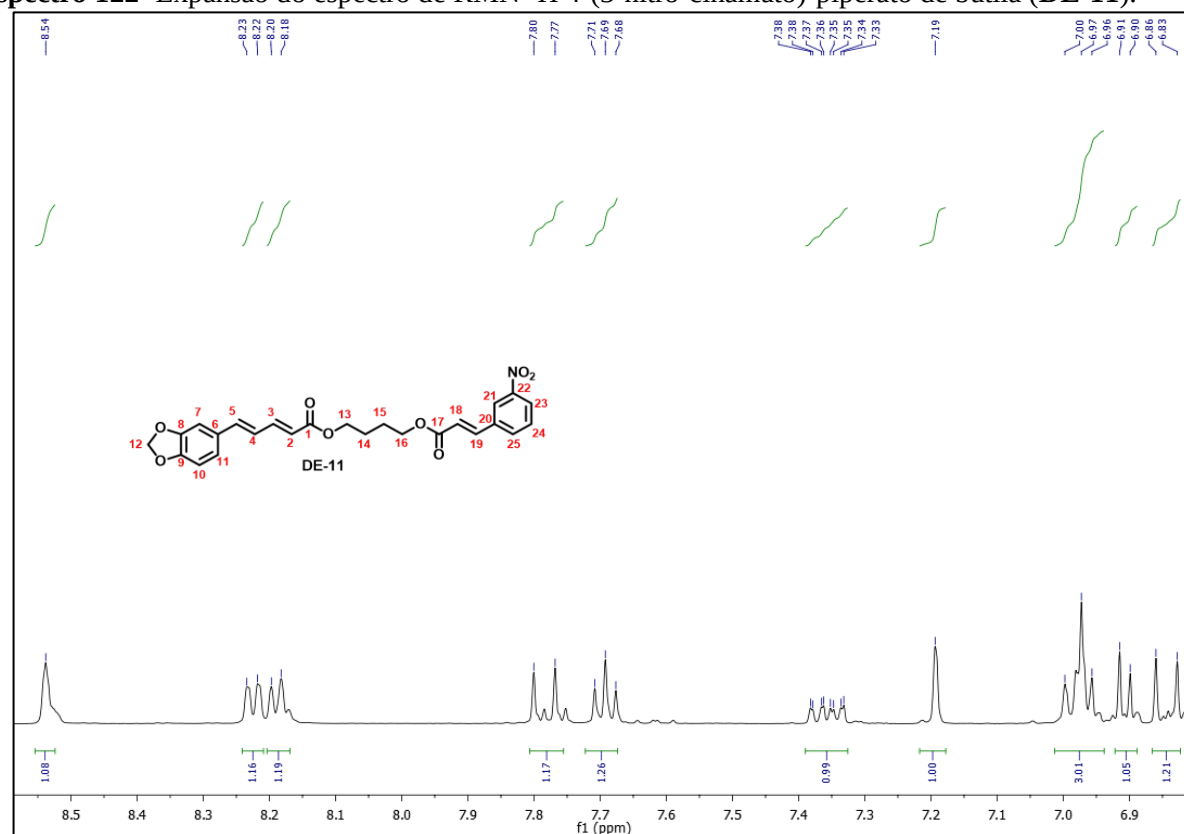


Espectro 117- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 126 MHz) do 4-(4-cloro, 3-nitro-benzoato)-piperato de butila (**DE-09**).

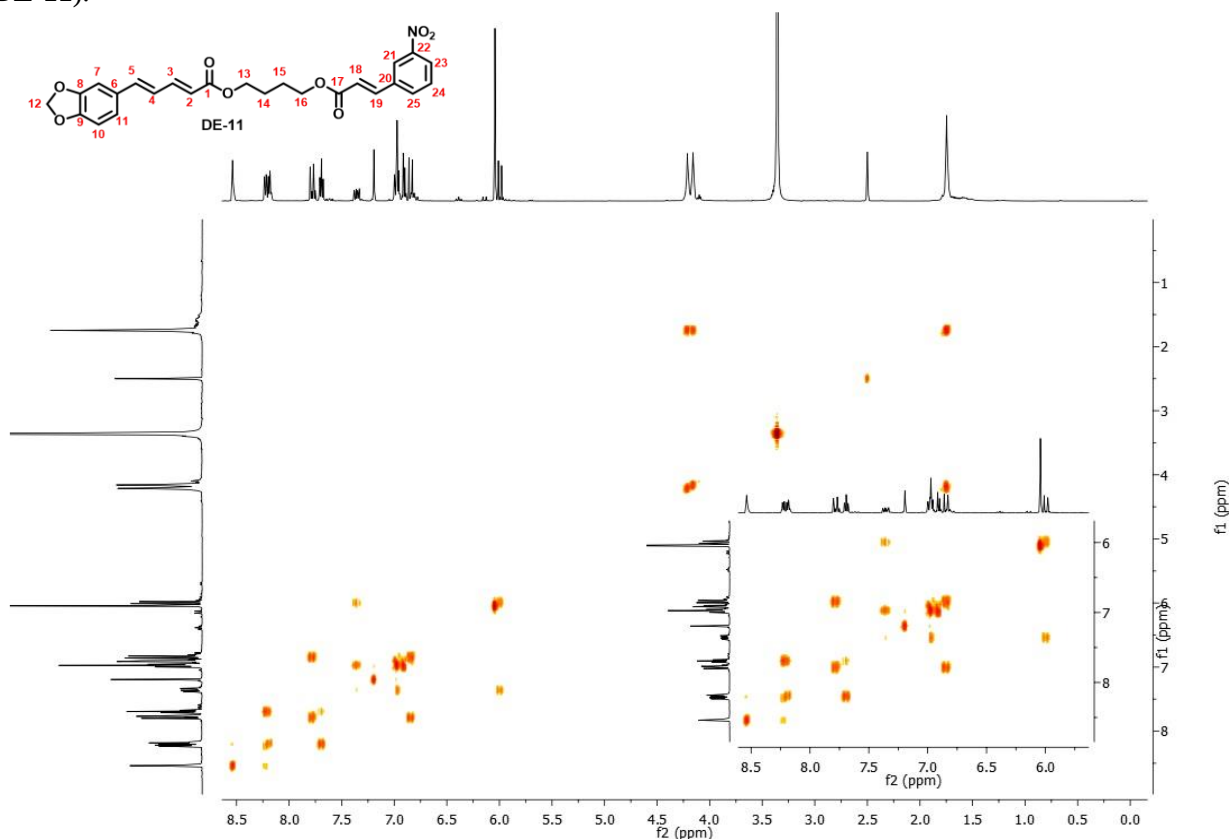


Espectro 118- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-cinamato-piperato de butila (**DE-10**).

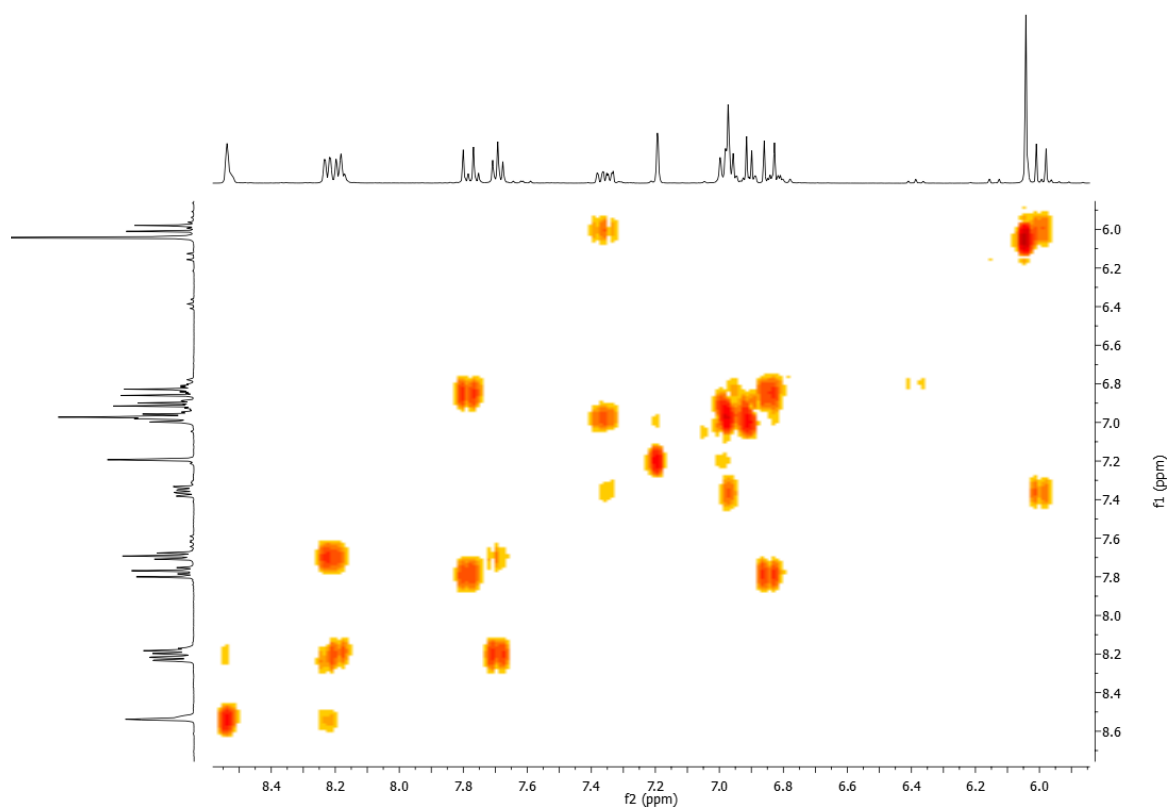


Espectro 121- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (**DE-11**).**Espectro 122-** Expansão do espectro de RMN ^1H 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (**DE-11**).

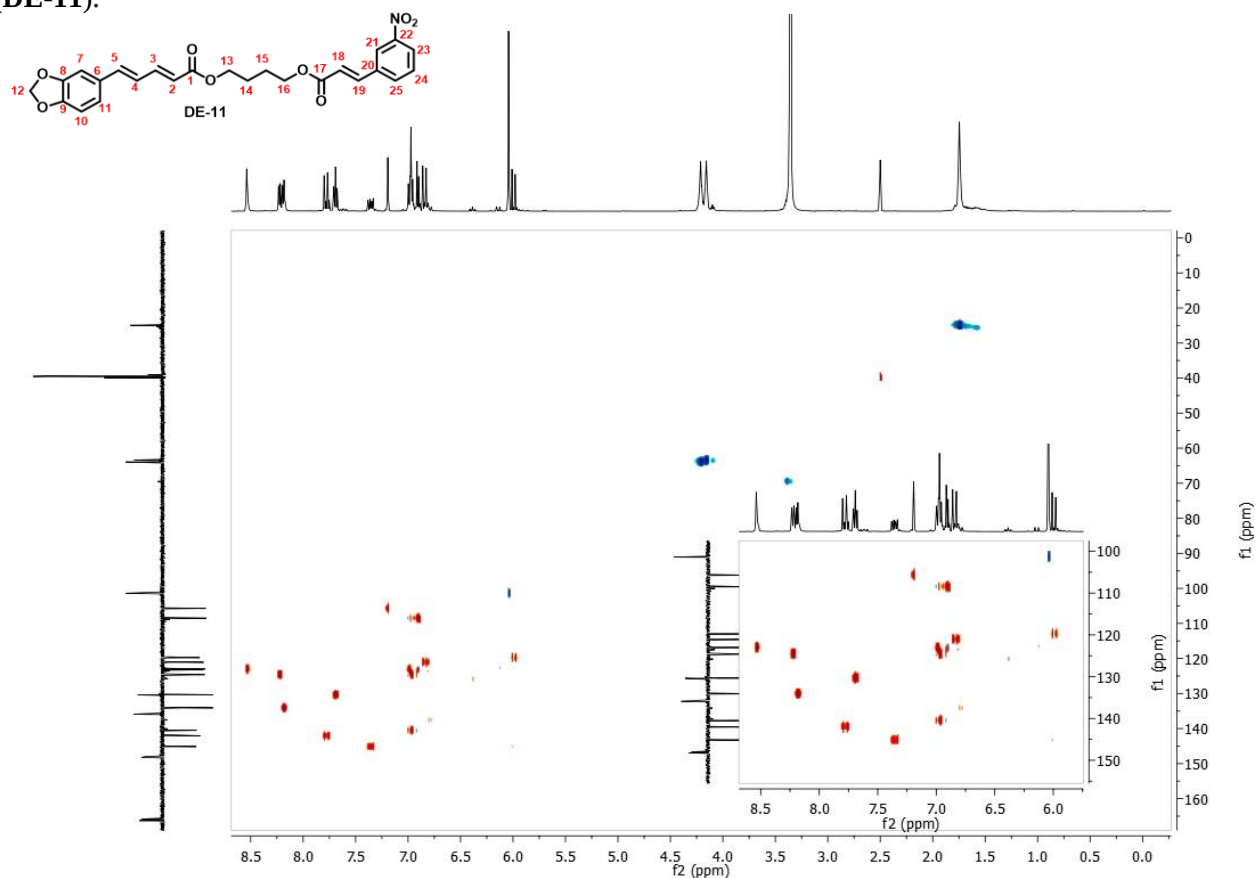
Espectro 123- Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



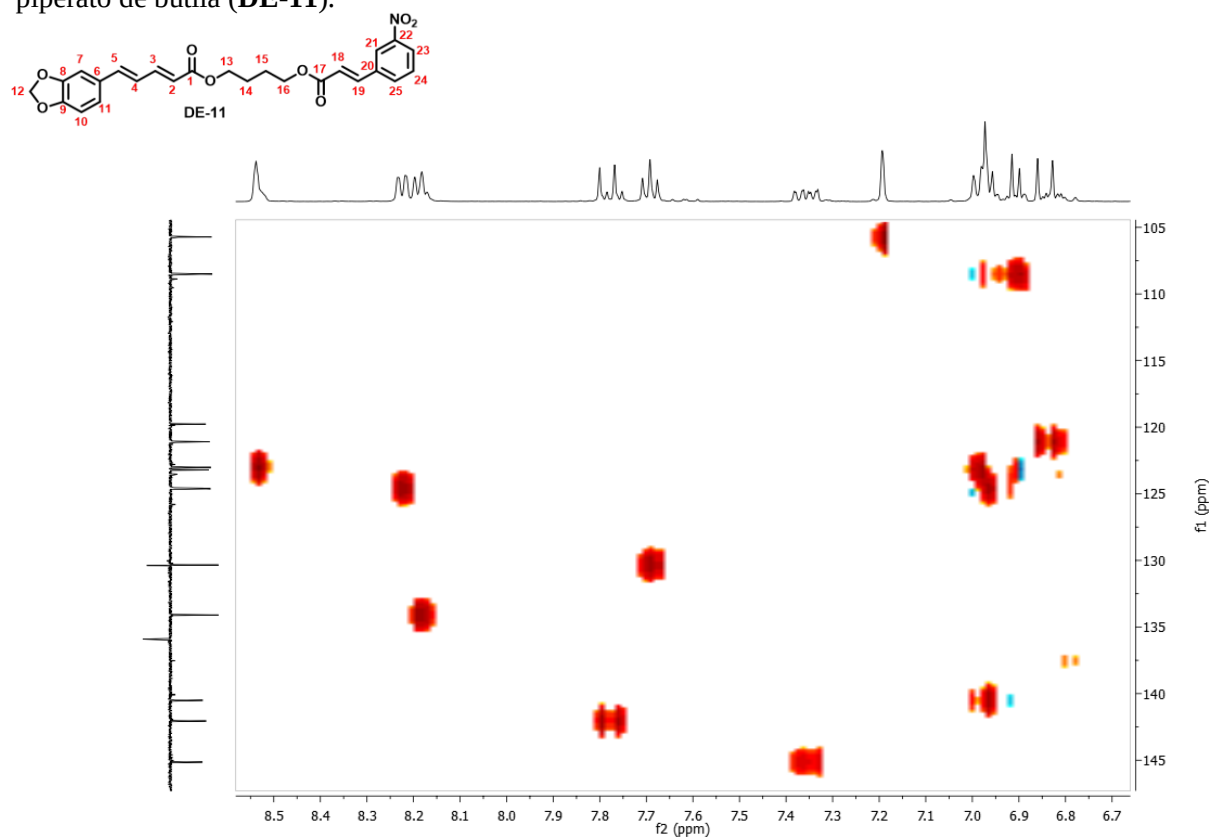
Espectro 124- Expansão do espectro de correlação homonuclear (COSY) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



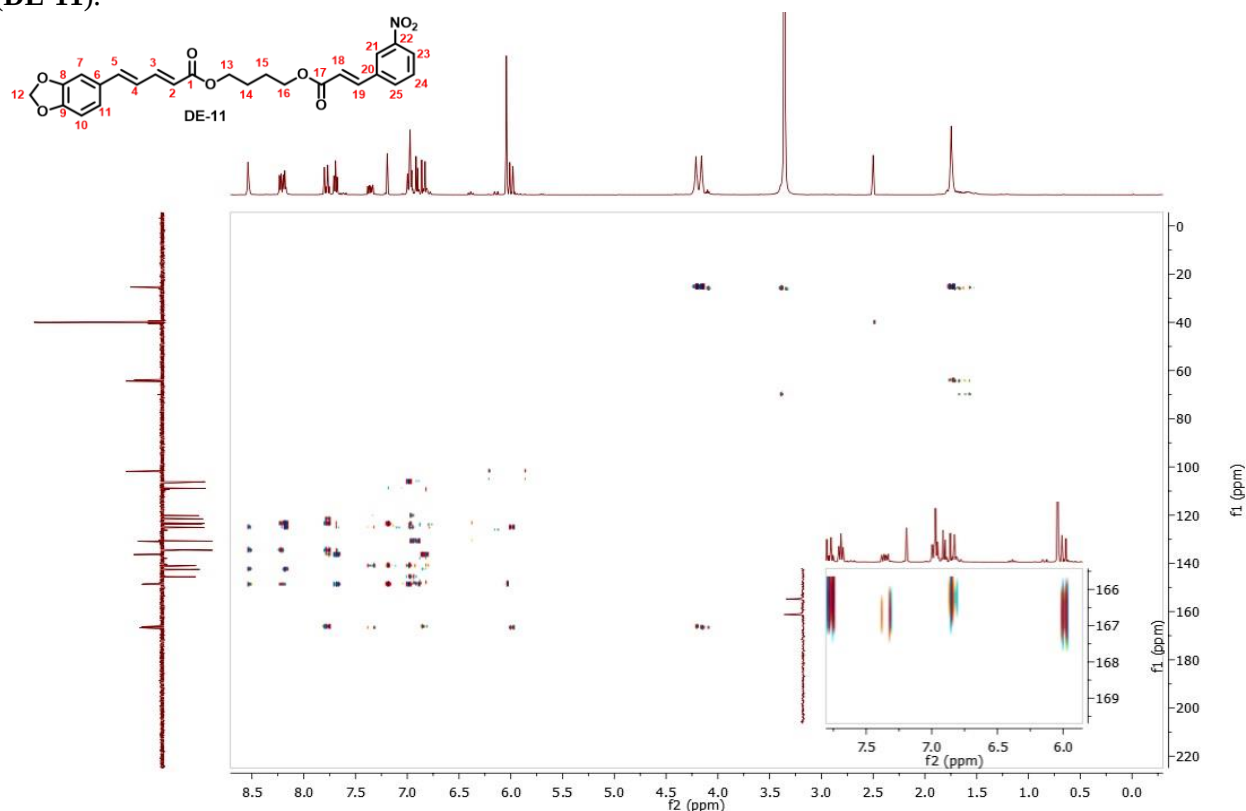
Espectro 125- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



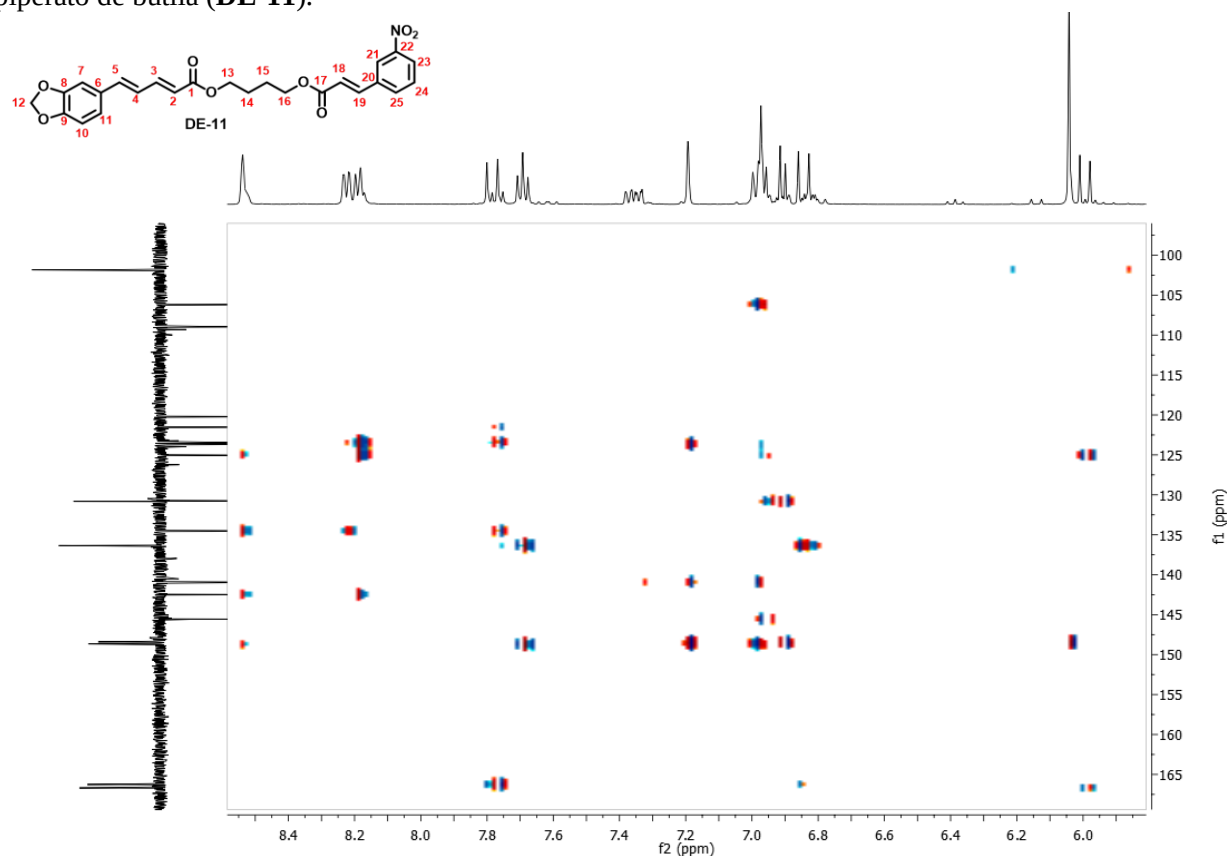
Espectro 126- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



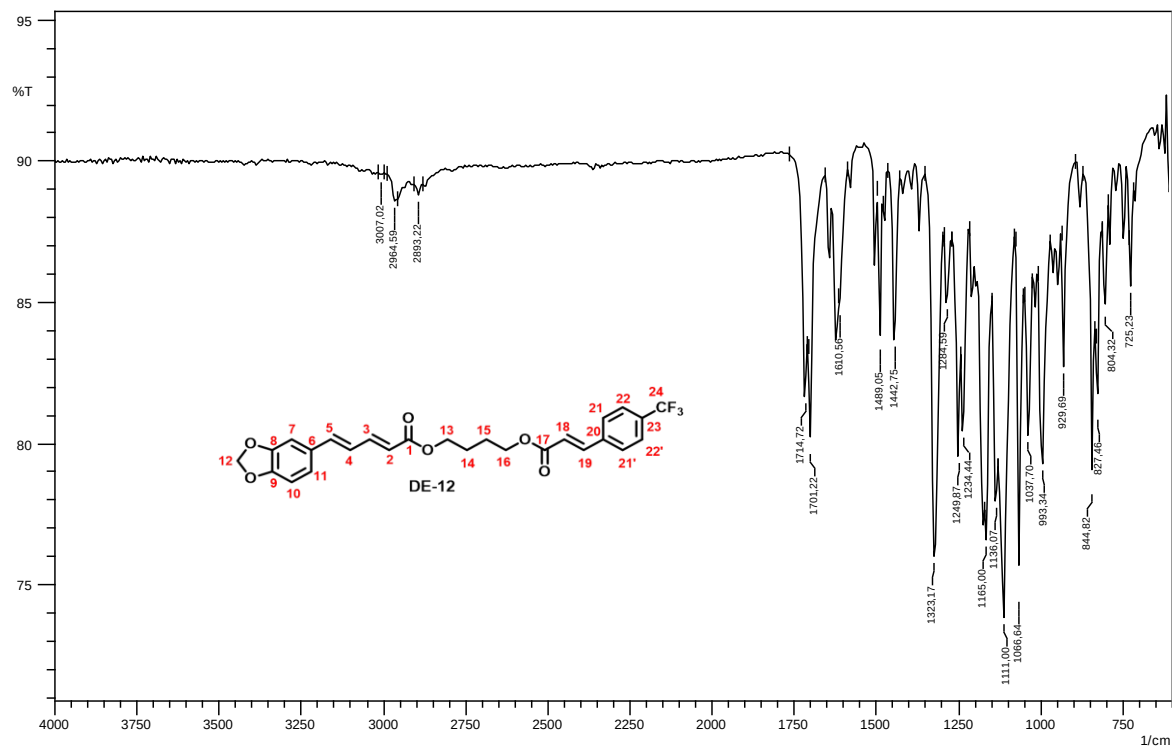
Espectro 127- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



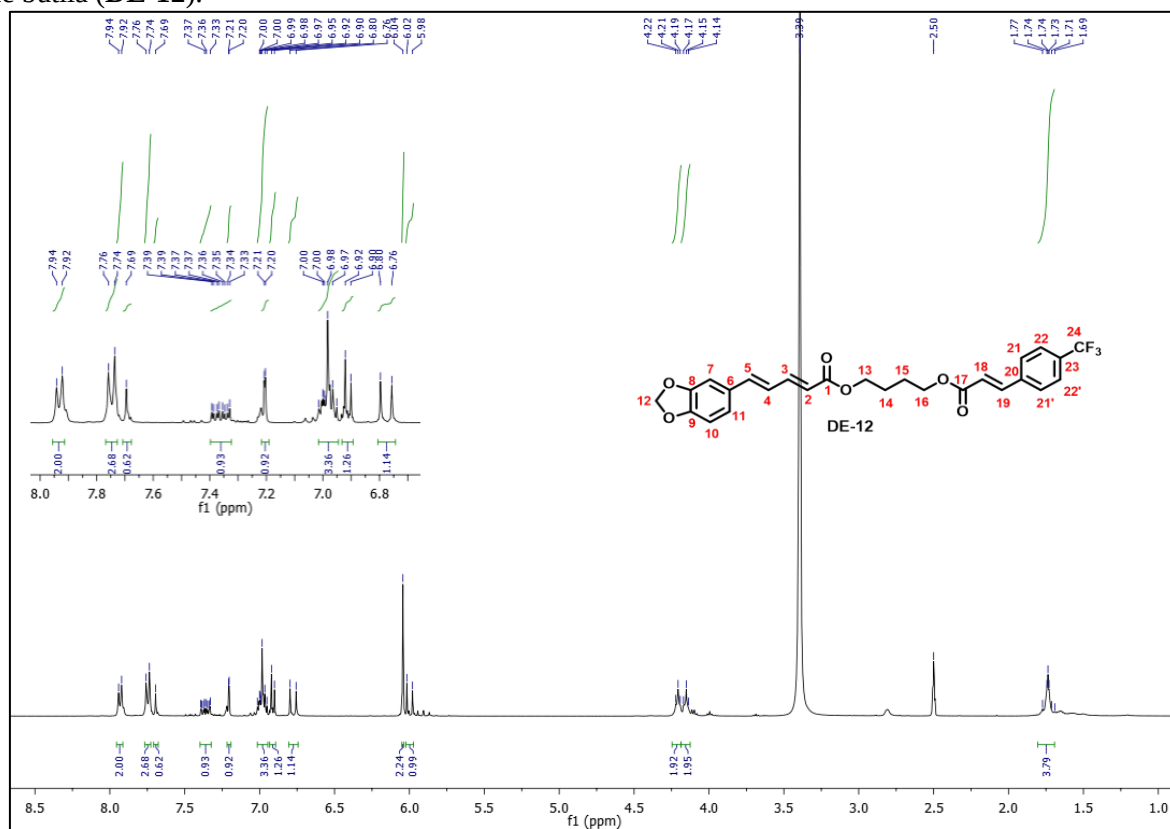
Espectro 128- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do 4-(3-nitro-cinamato)-piperato de butila (DE-11).



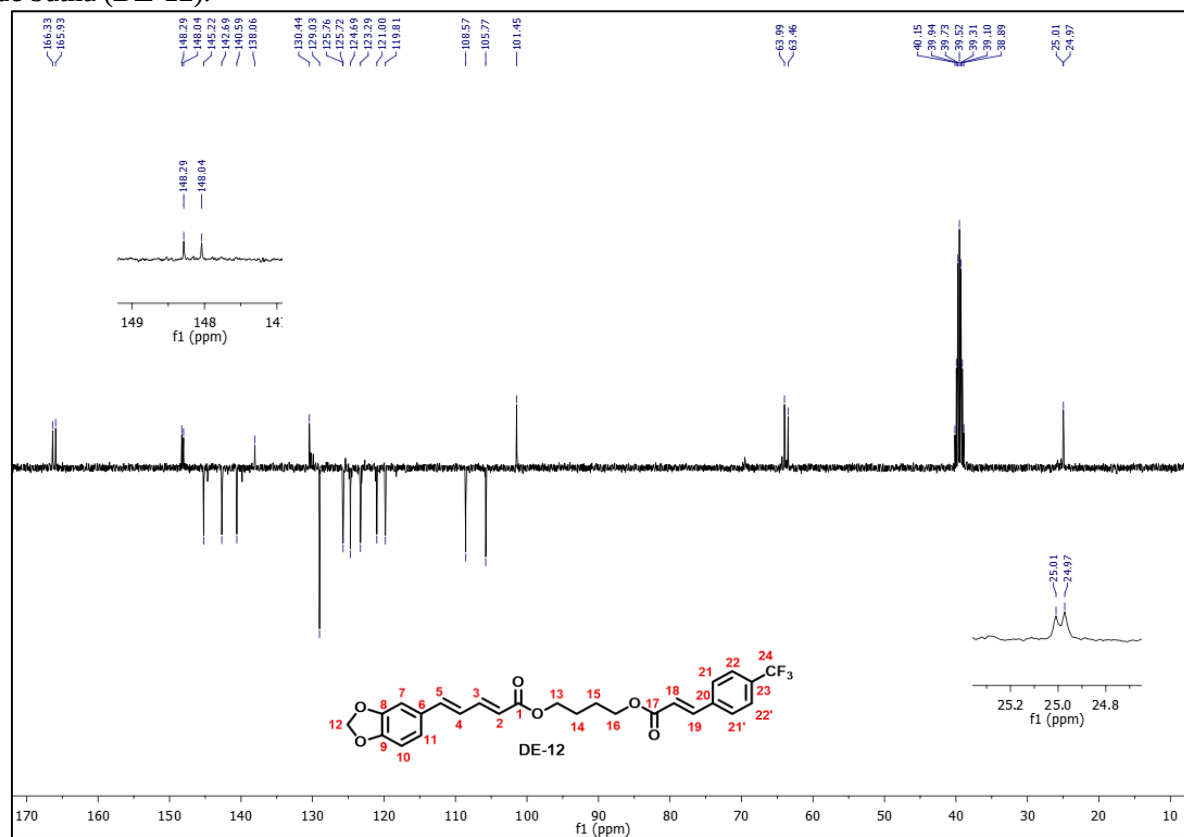
Espectro 129- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12).



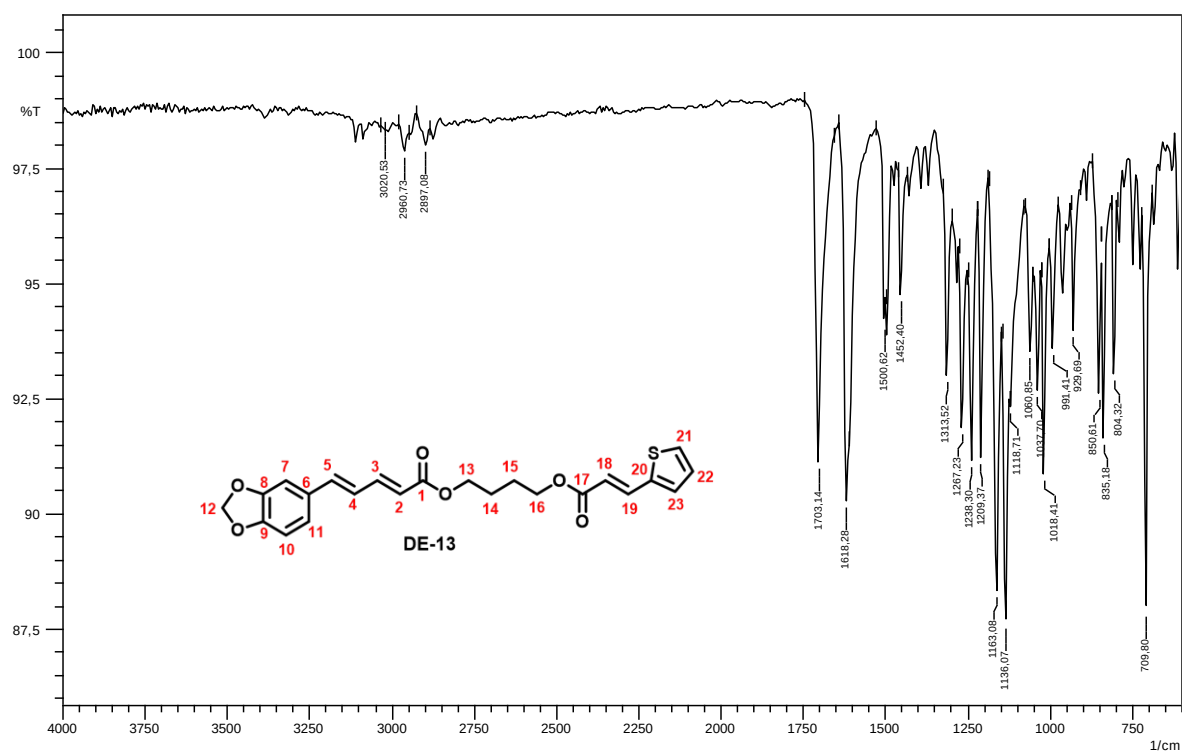
Espectro 130- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (DE-12).



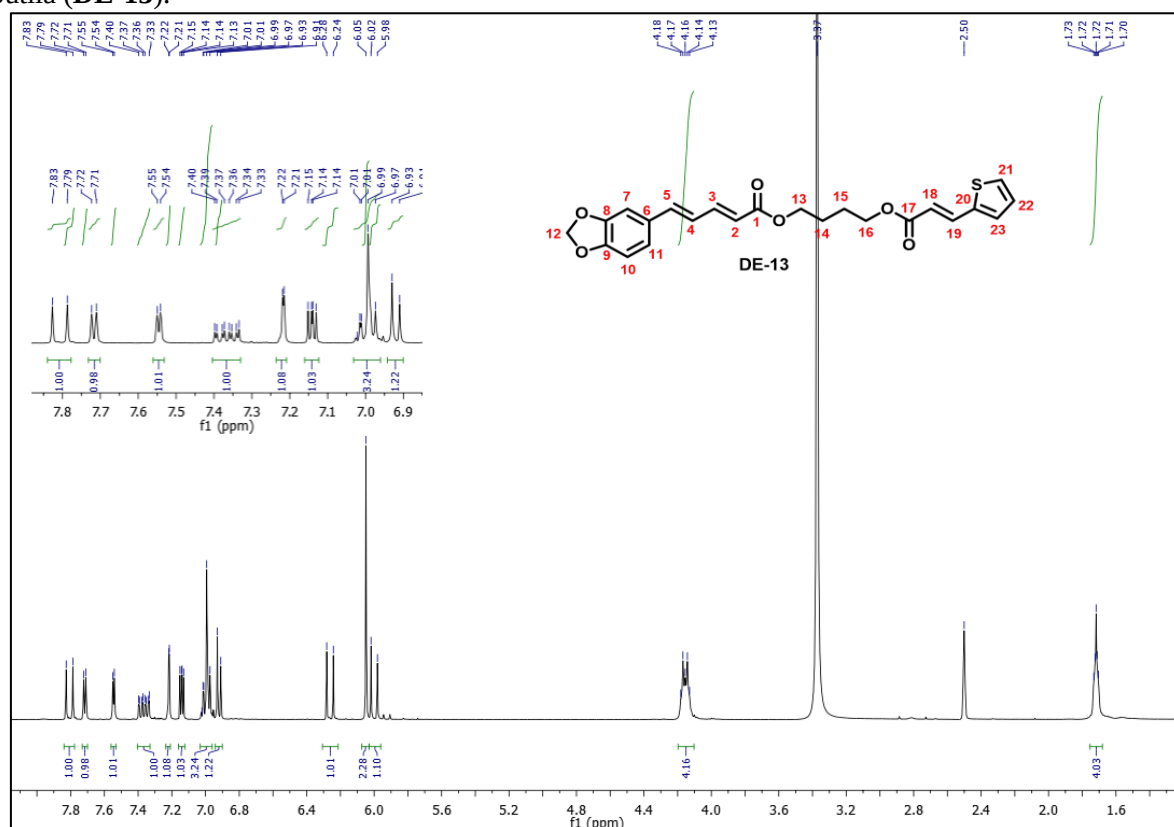
Espectro 131- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101MHz) do 4-(4-triflourmetil-cinamato)-piperato de butila (**DE-12**).



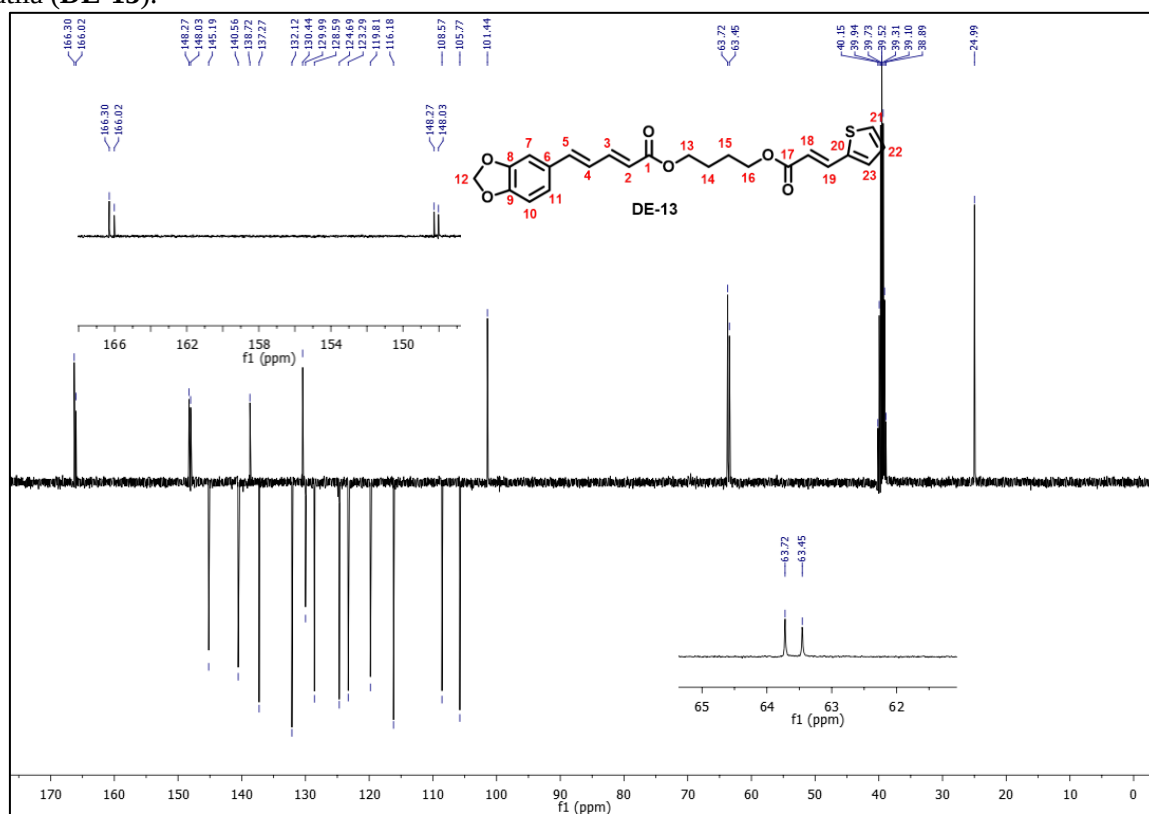
Espectro 132- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (**DE-13**).



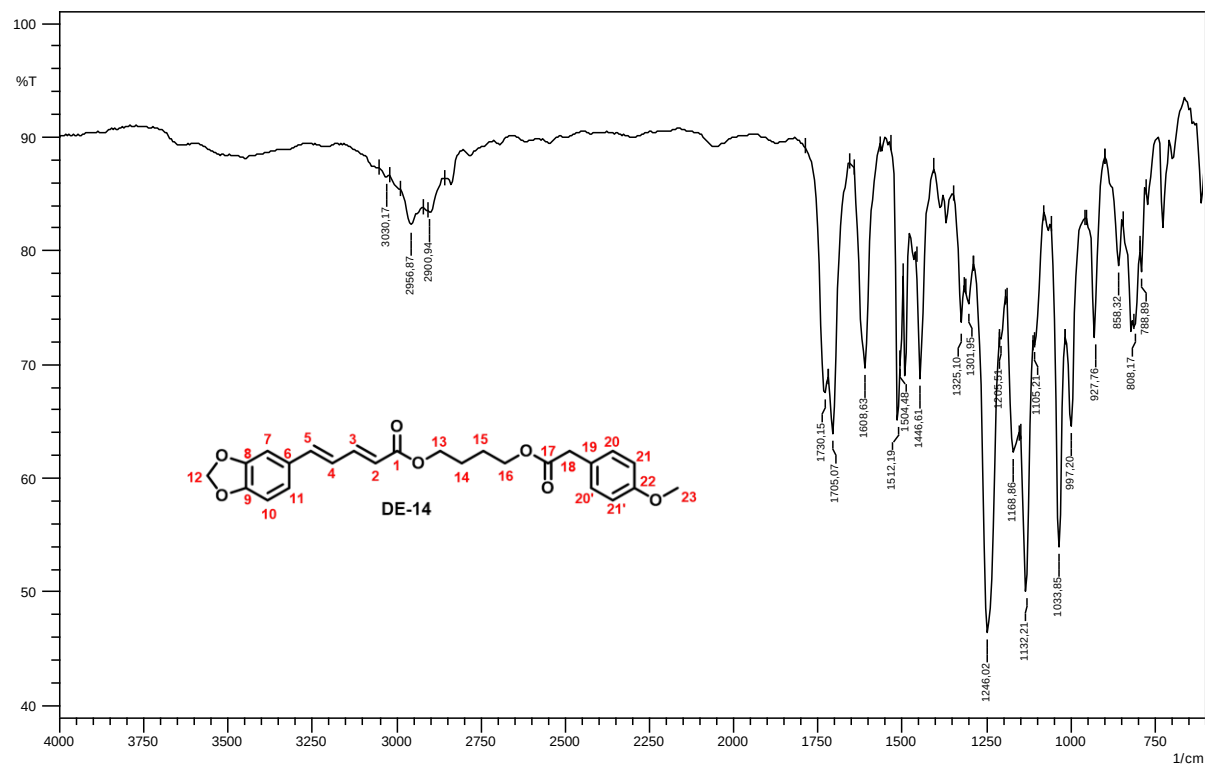
Espectro 133- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (DE-13).



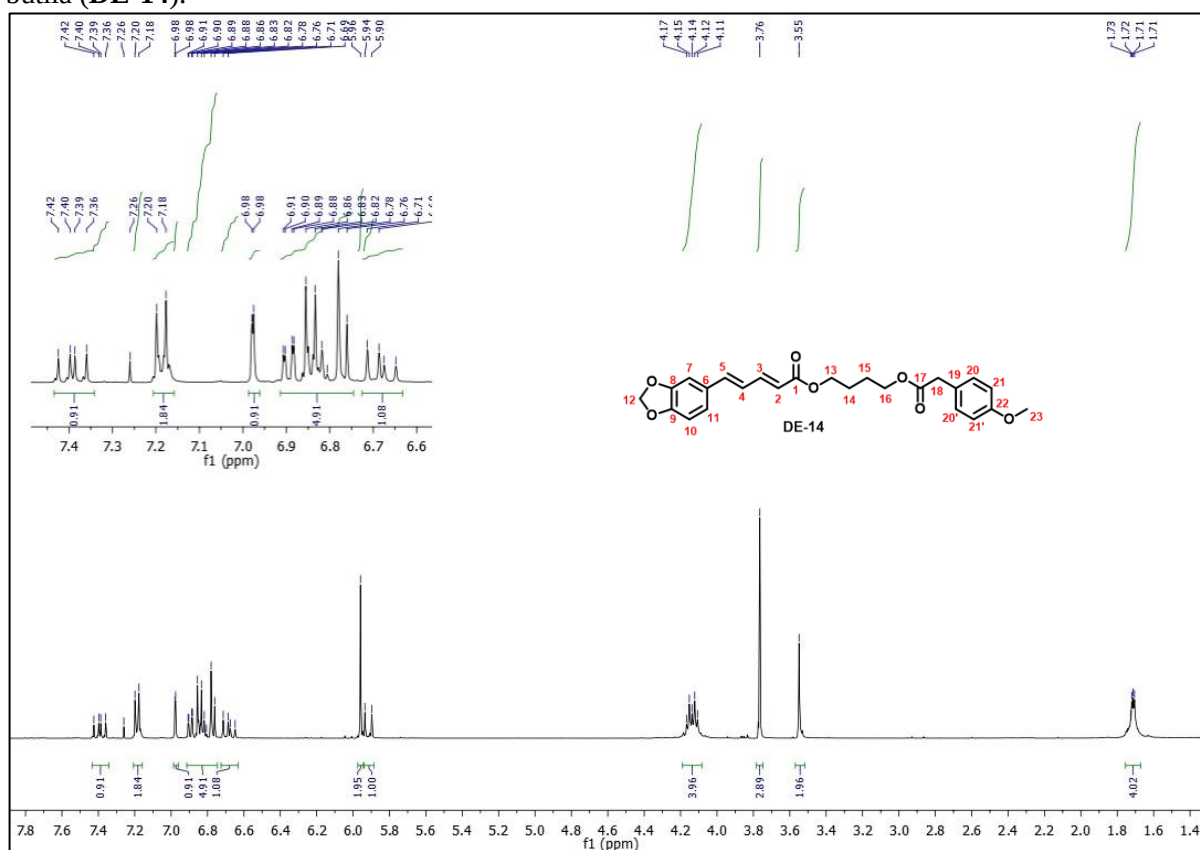
Espectro 134- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(3-(2-tienil-acrilato)-piperato de butila (DE-13).



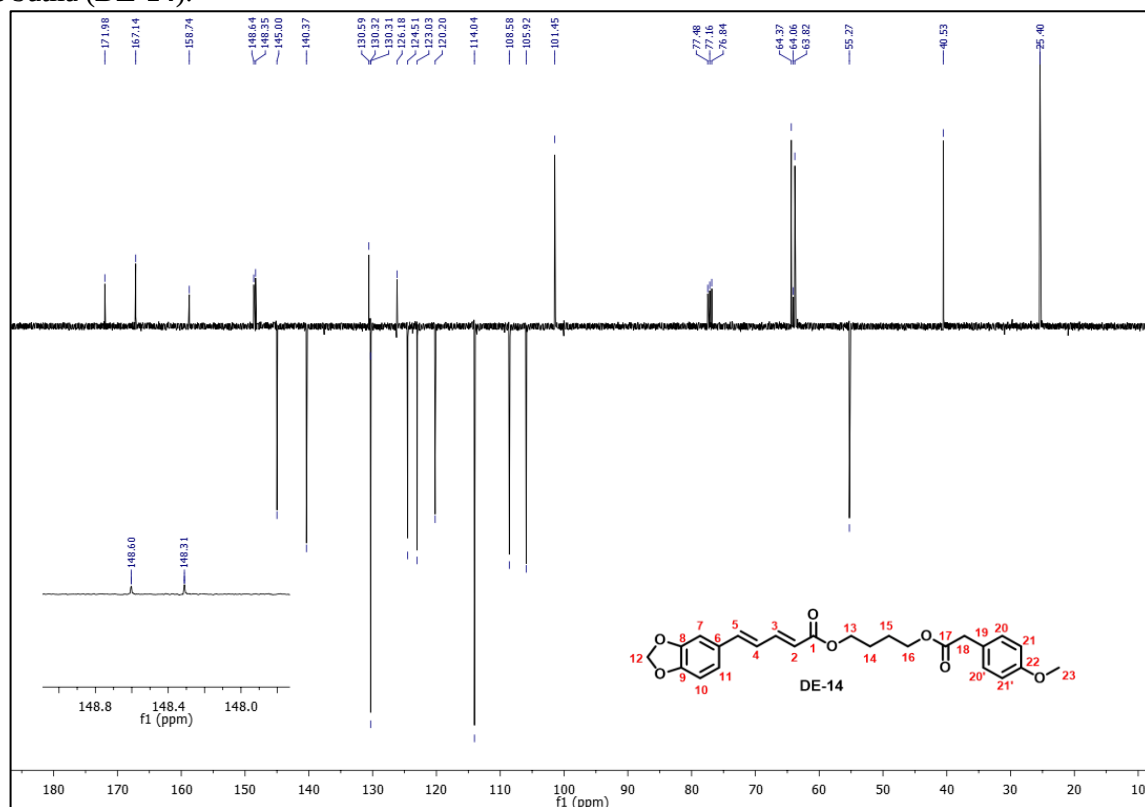
Espectro 135- Espectro Infravermelho (ATR) do 4-(2-(4-metóxfenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14).



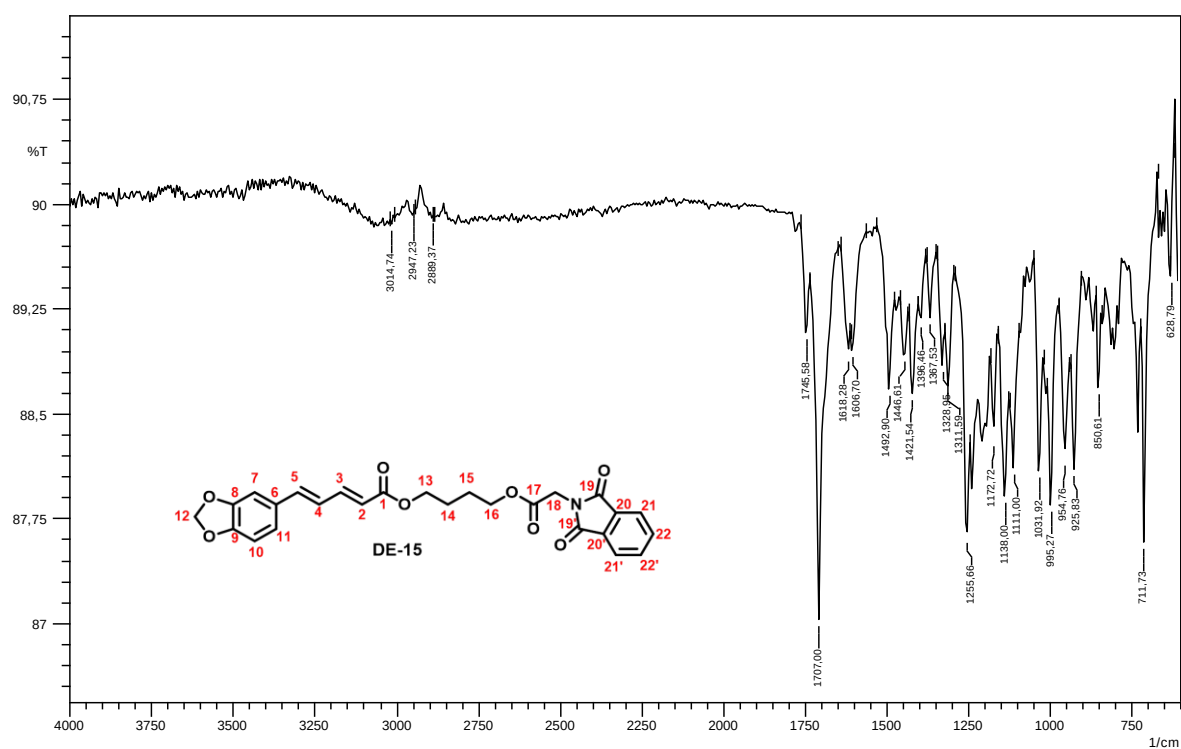
Espectro 136- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 4-(2-(4-metóxfenil)-acetato)-piperato de butila (DE-14).



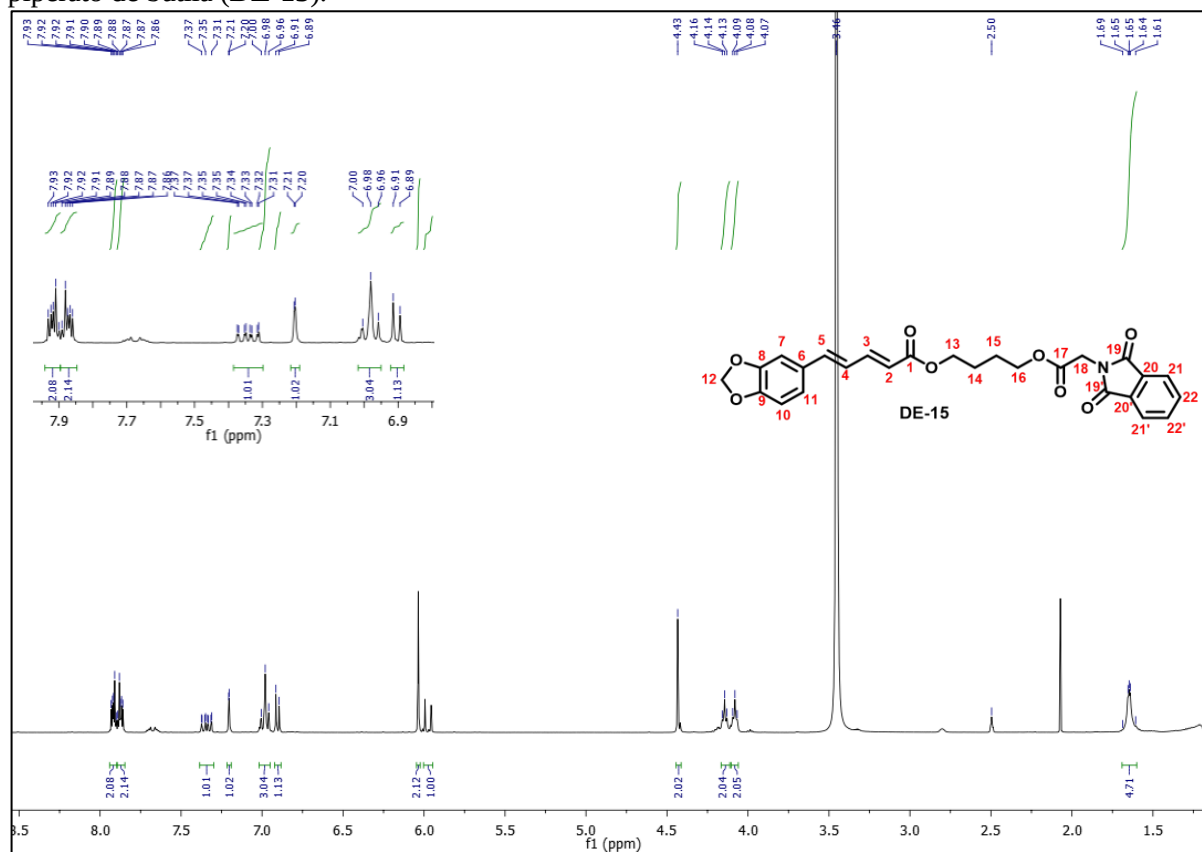
Espectro 137- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do do 4-(2-(4-metóxifenil)-acetato)-piperato de butila (**DE-14**).



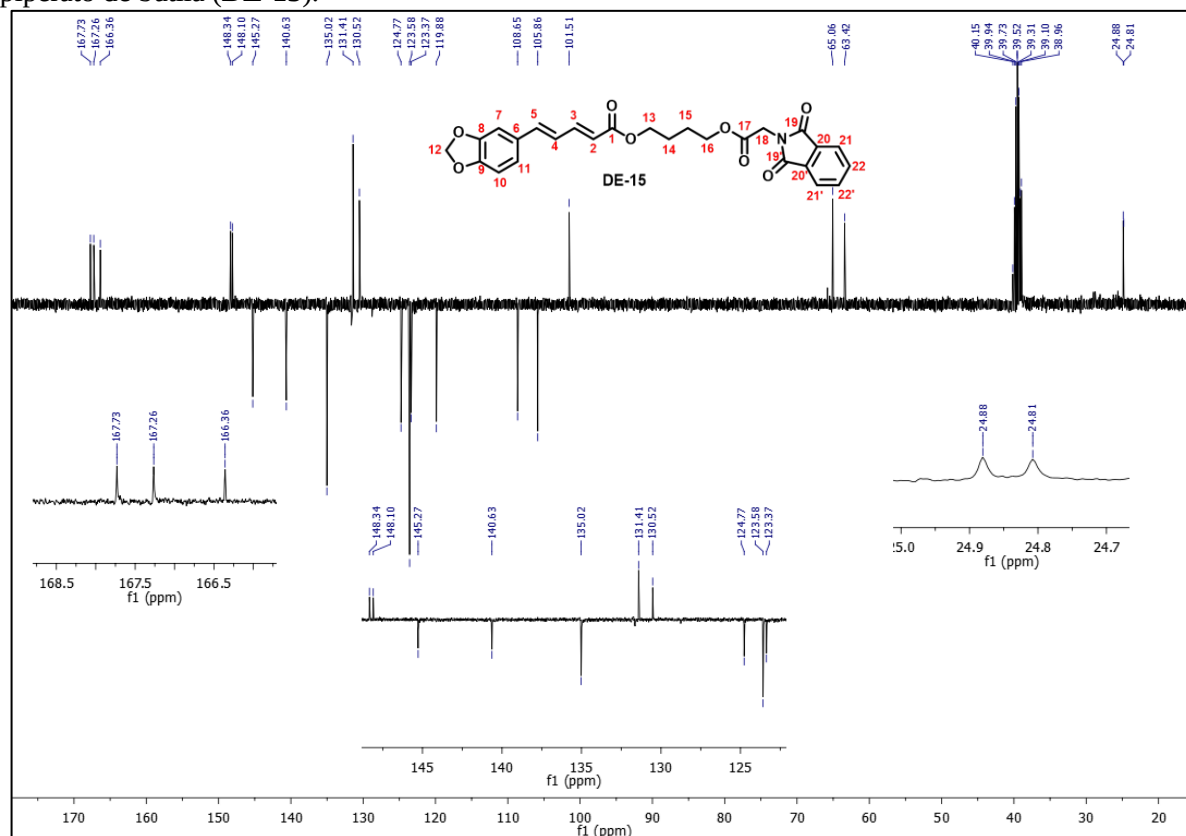
Espectro 138- Espectro de Infravermelho (ATR) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)- piperato de butila (**DE-15**).

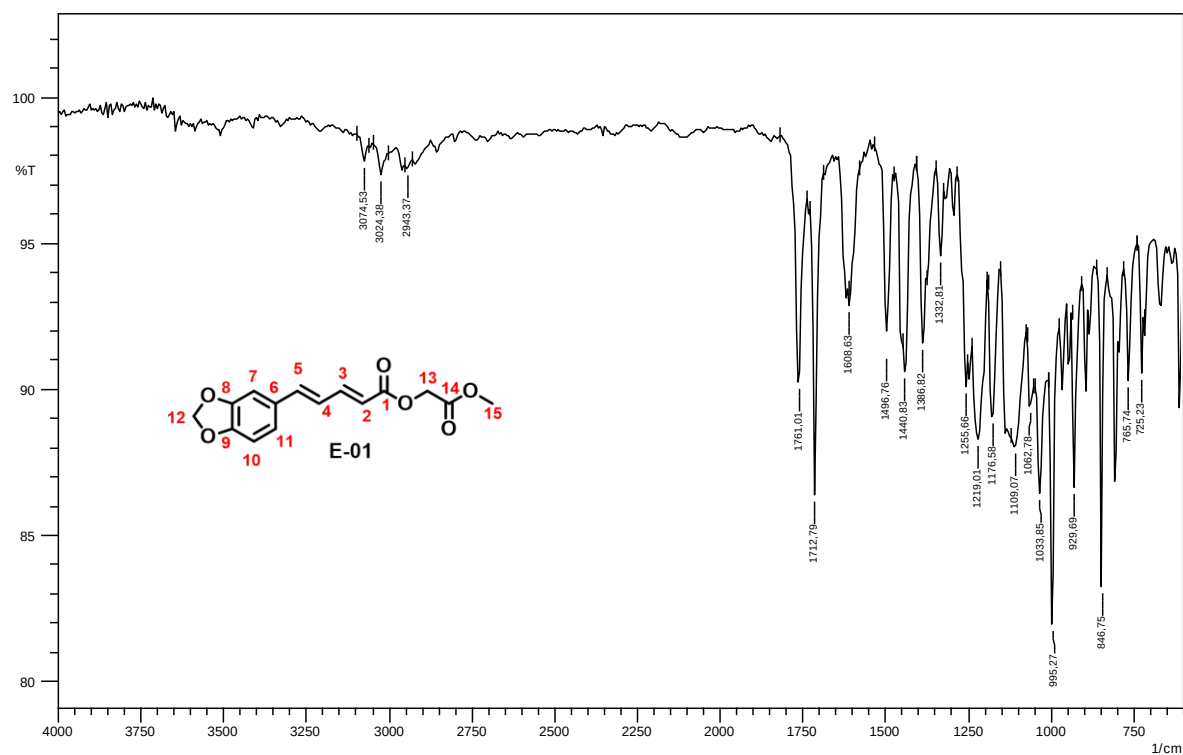
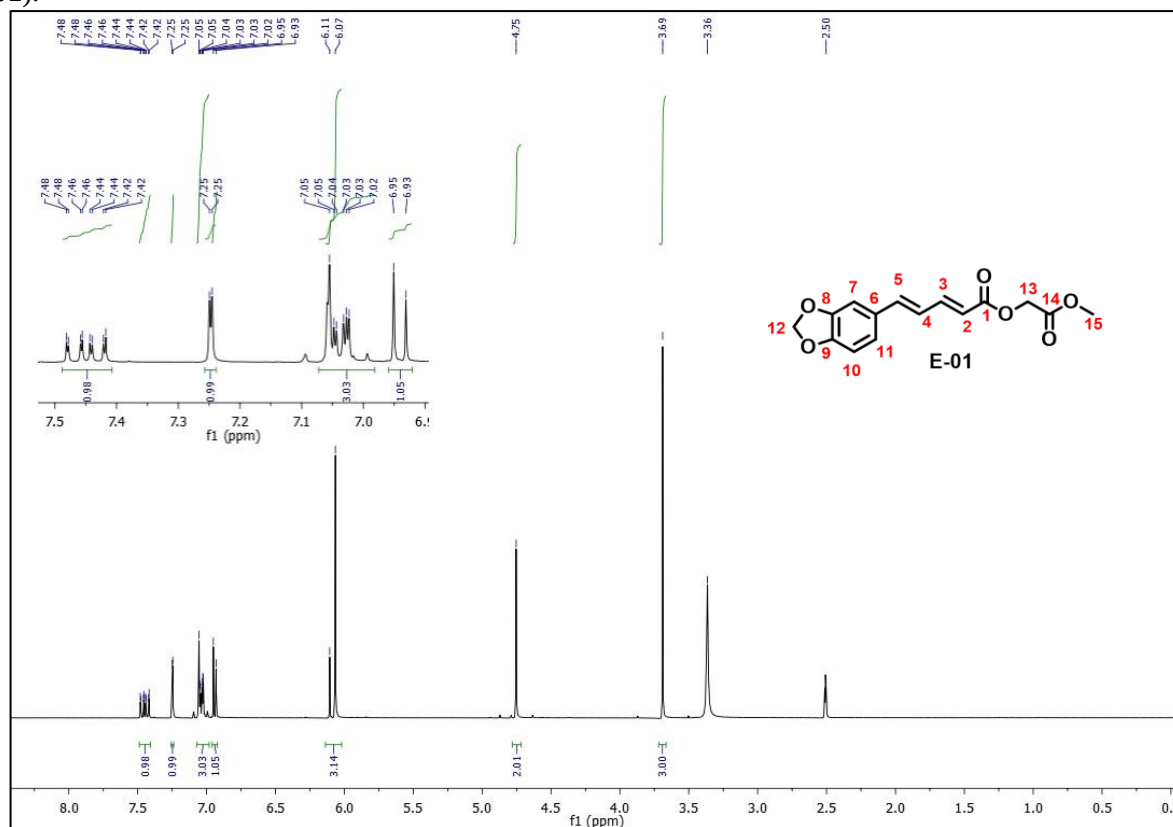


Espectro 139- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)-piperato de butila (**DE-15**).

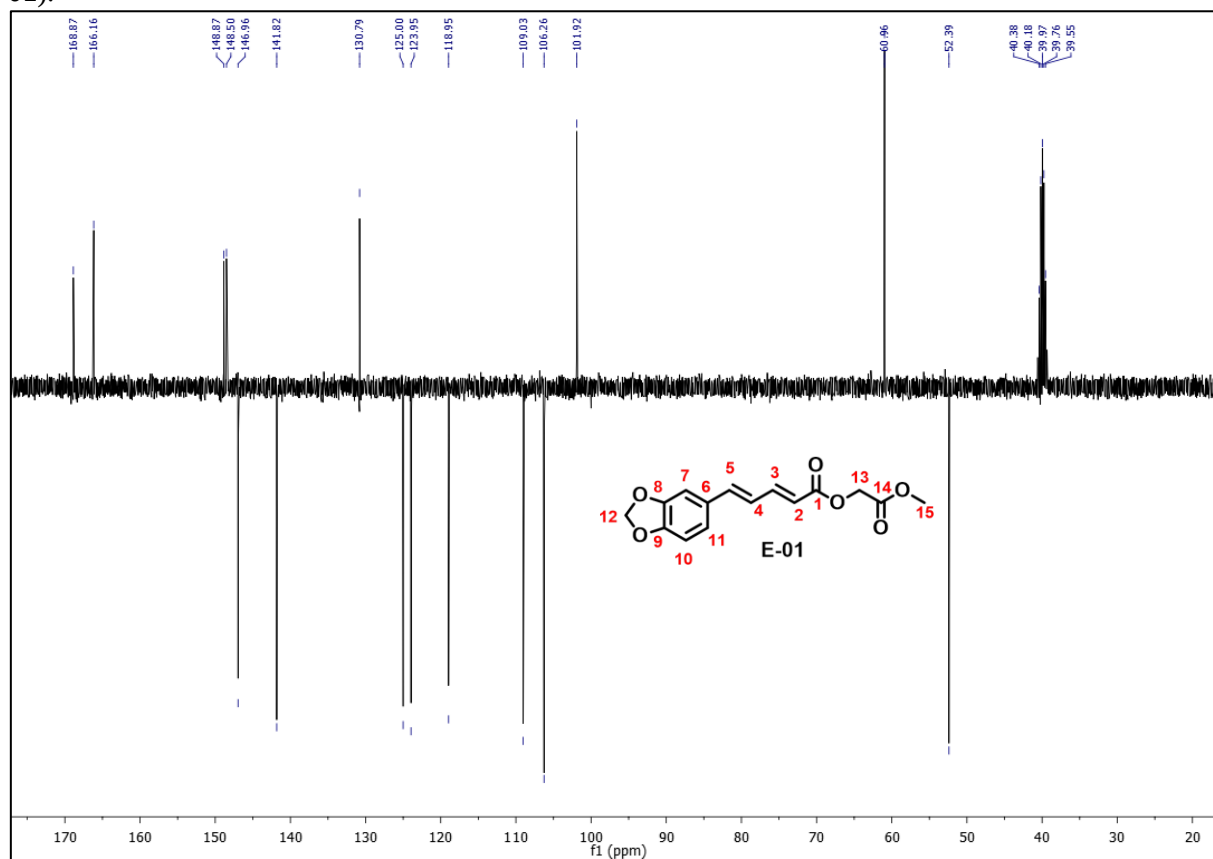


Espectro 140- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 4-(2-(1,3-dioxoisindolinil)-acetato)-piperato de butila (**DE-15**).

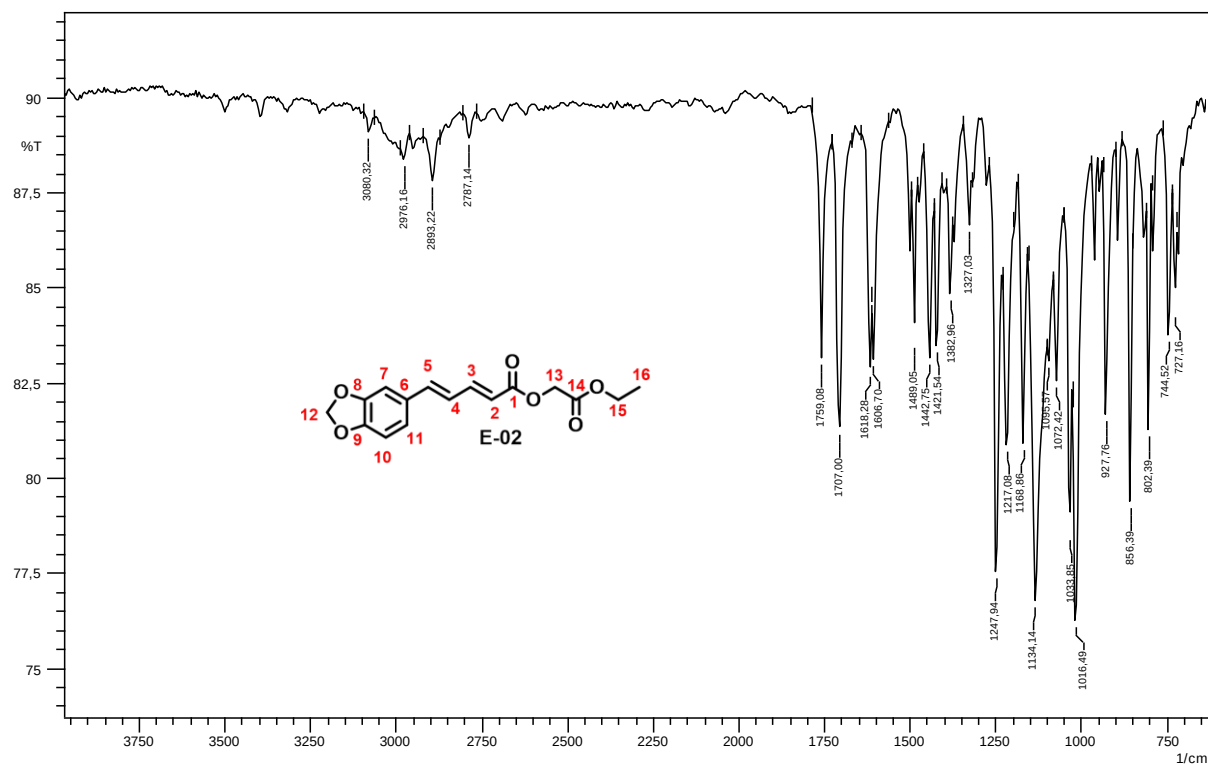


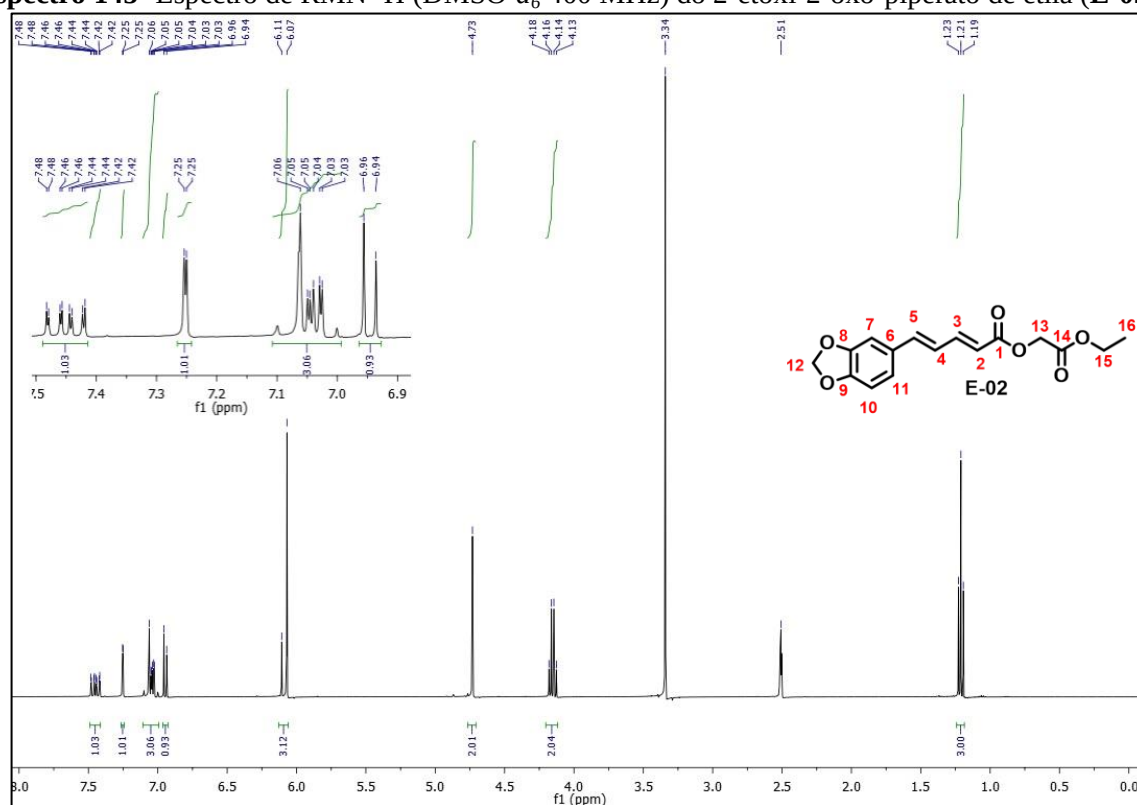
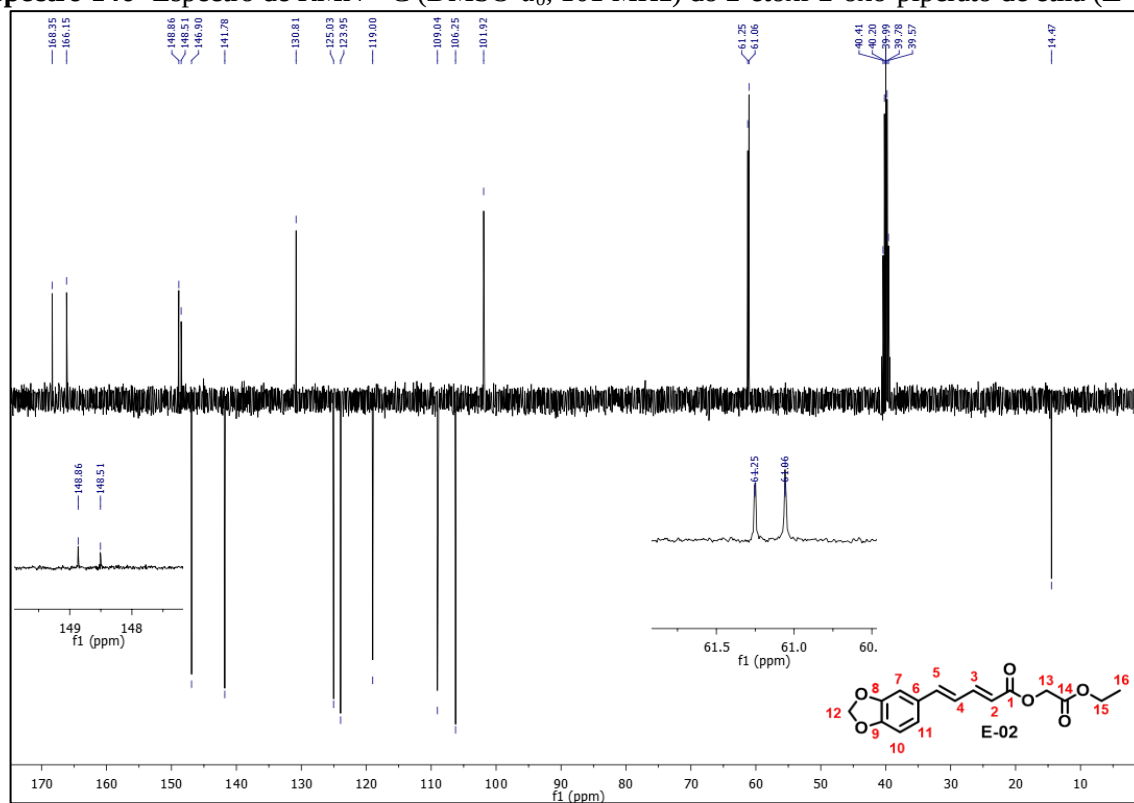
Espectro 141- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-01**).**Espectro 142-** Espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-01**).

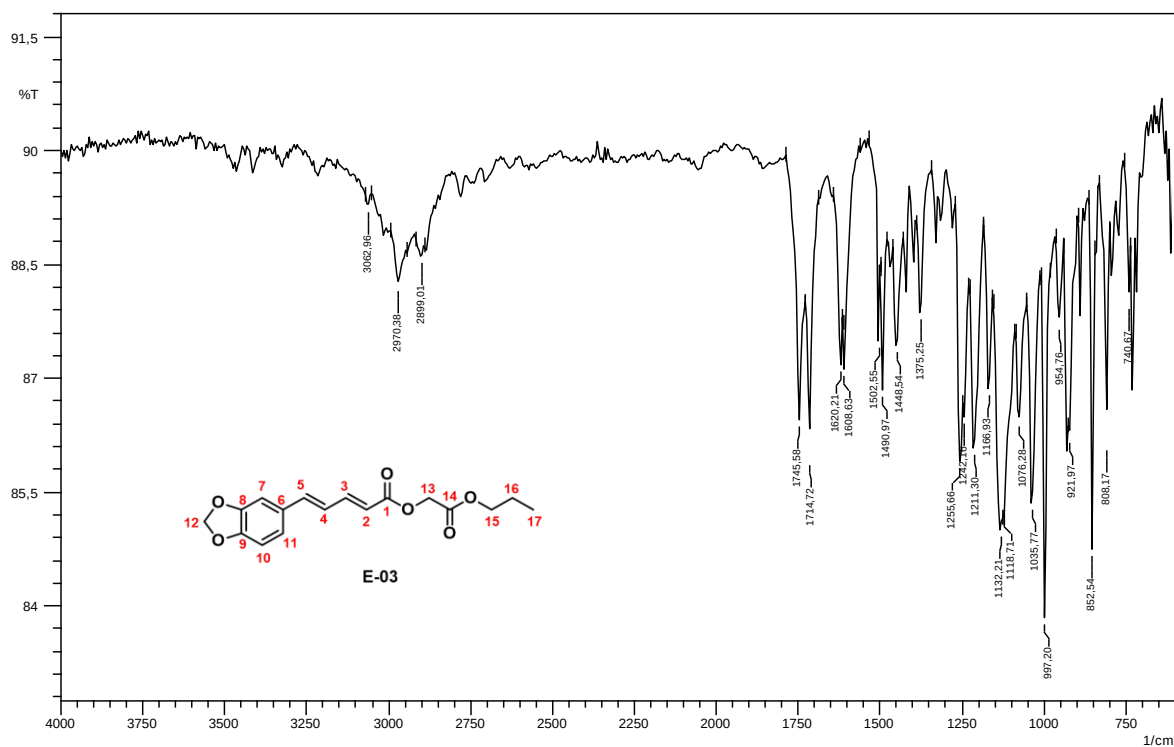
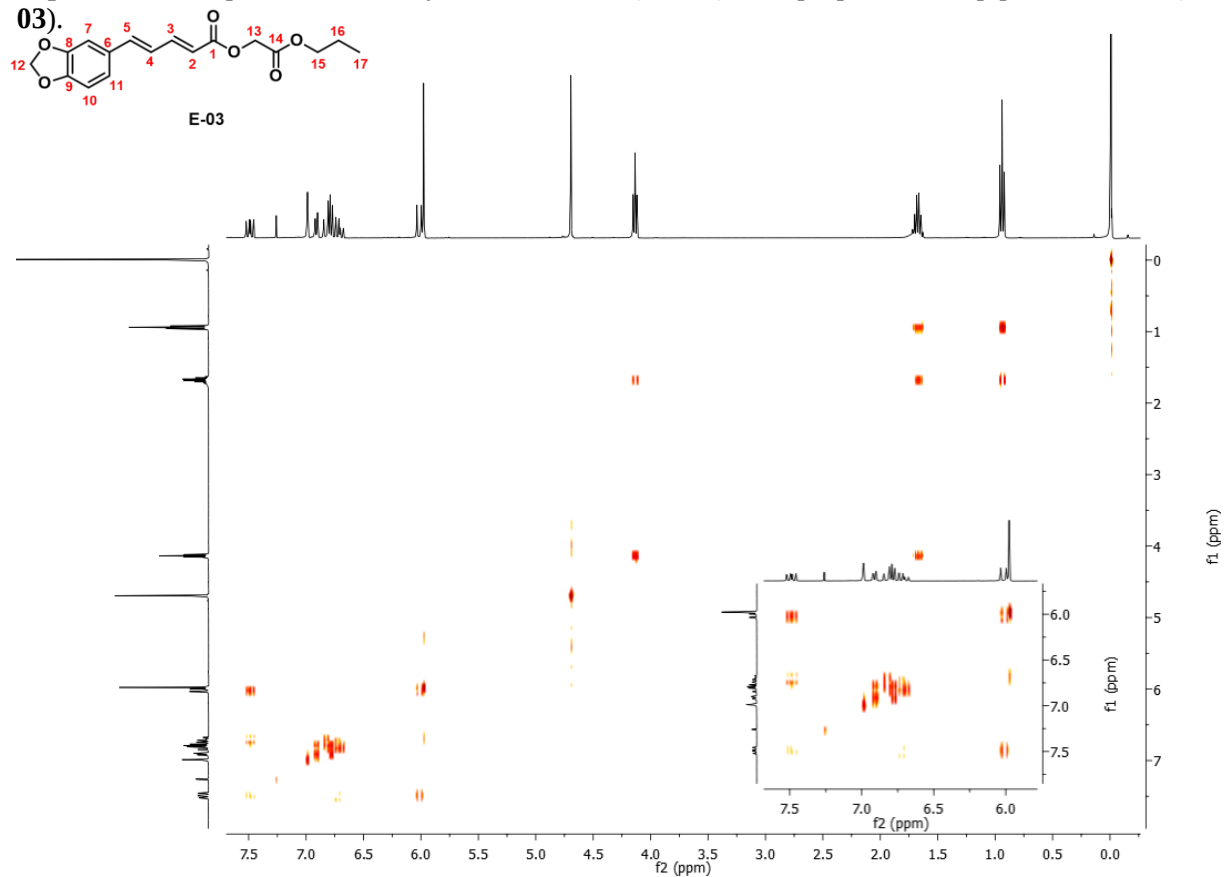
Espectro 143- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-metóxi-2-oxo-piperato de etila (E-01).



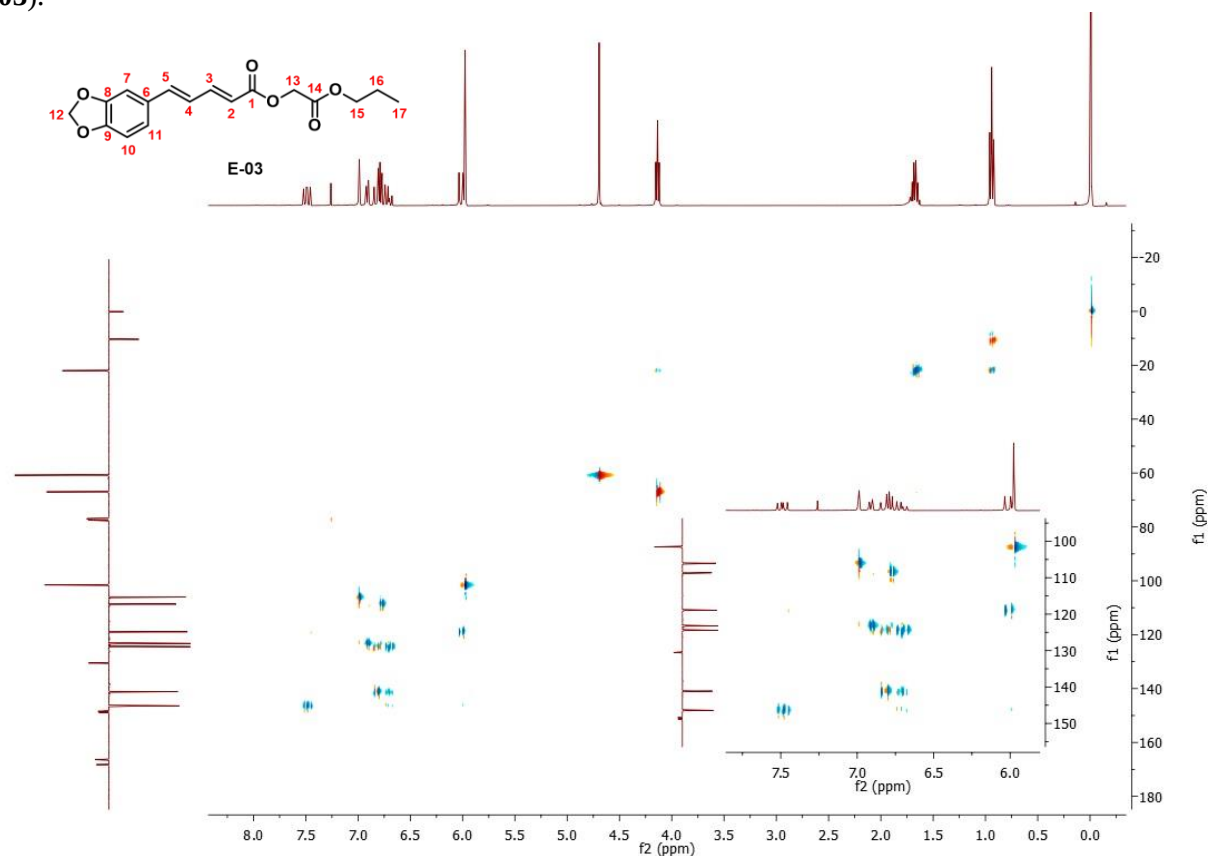
Espectro 144- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).



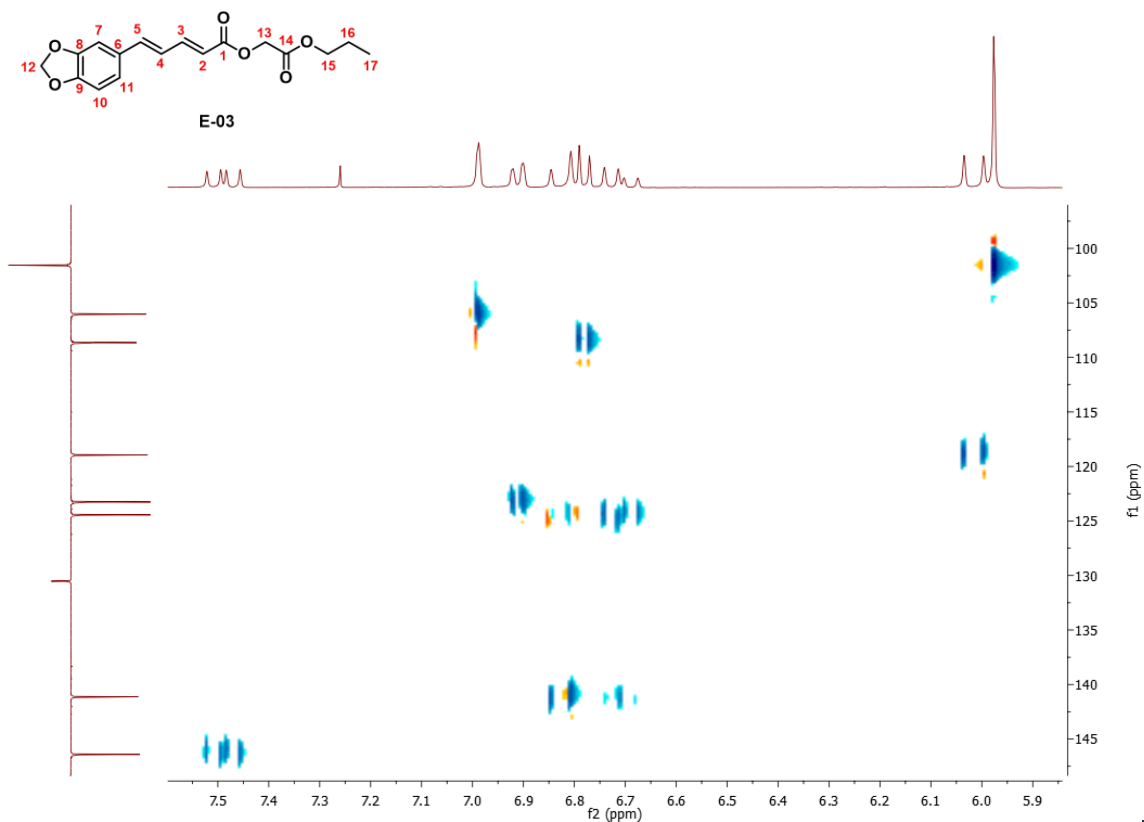
Espectro 145- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 400 MHz) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).**Espectro 146-** Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-etóxi-2-oxo-piperato de etila (E-02).

Espectro 147- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-03**).**Espectro 148-** Espectro de correlação homonuclear (COSY) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-03**).

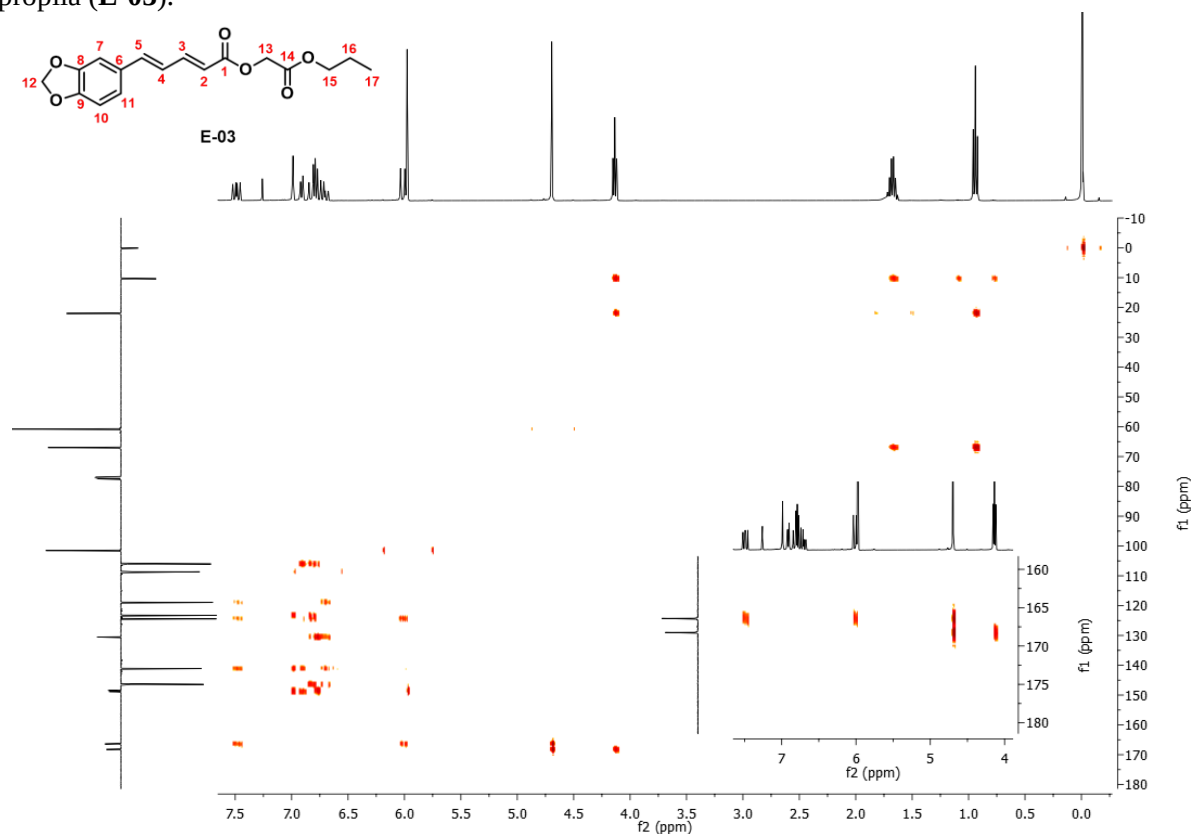
Espectro 149- Espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila(E-03).



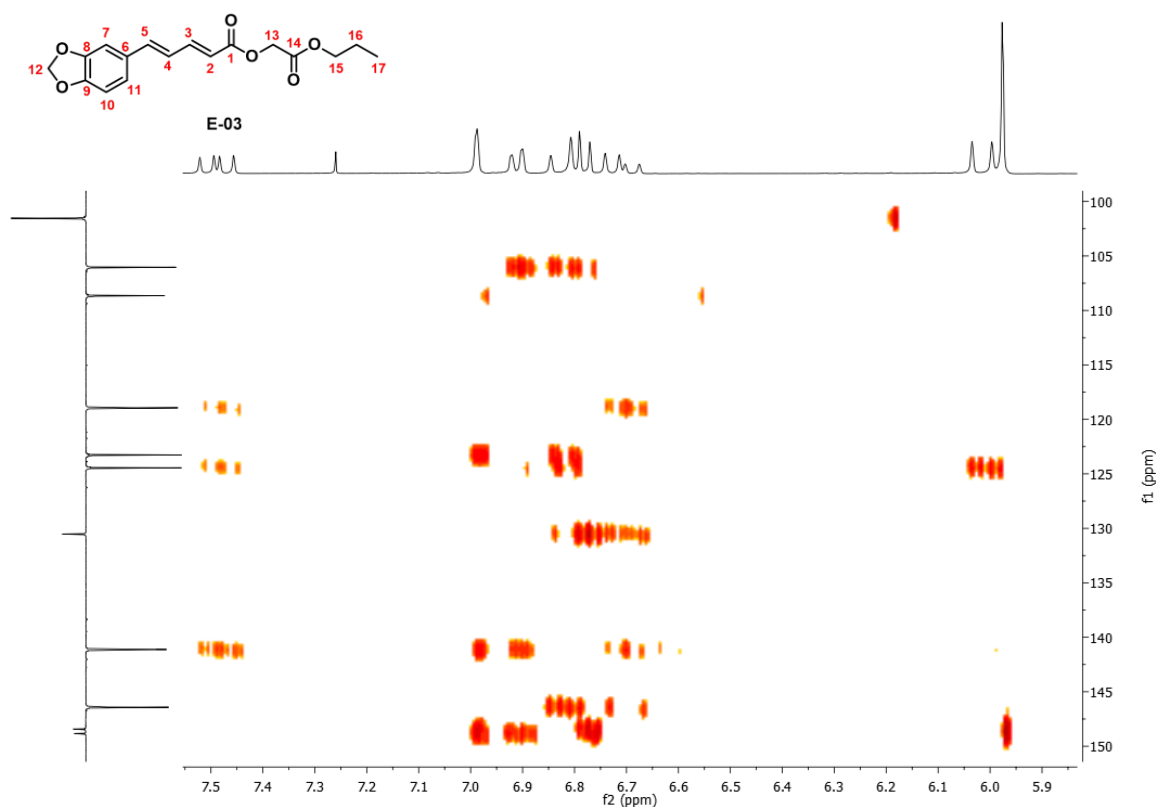
Espectro 150- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HSQC) do 2-propóxi-2-oxo-piperato de etila(E-03).

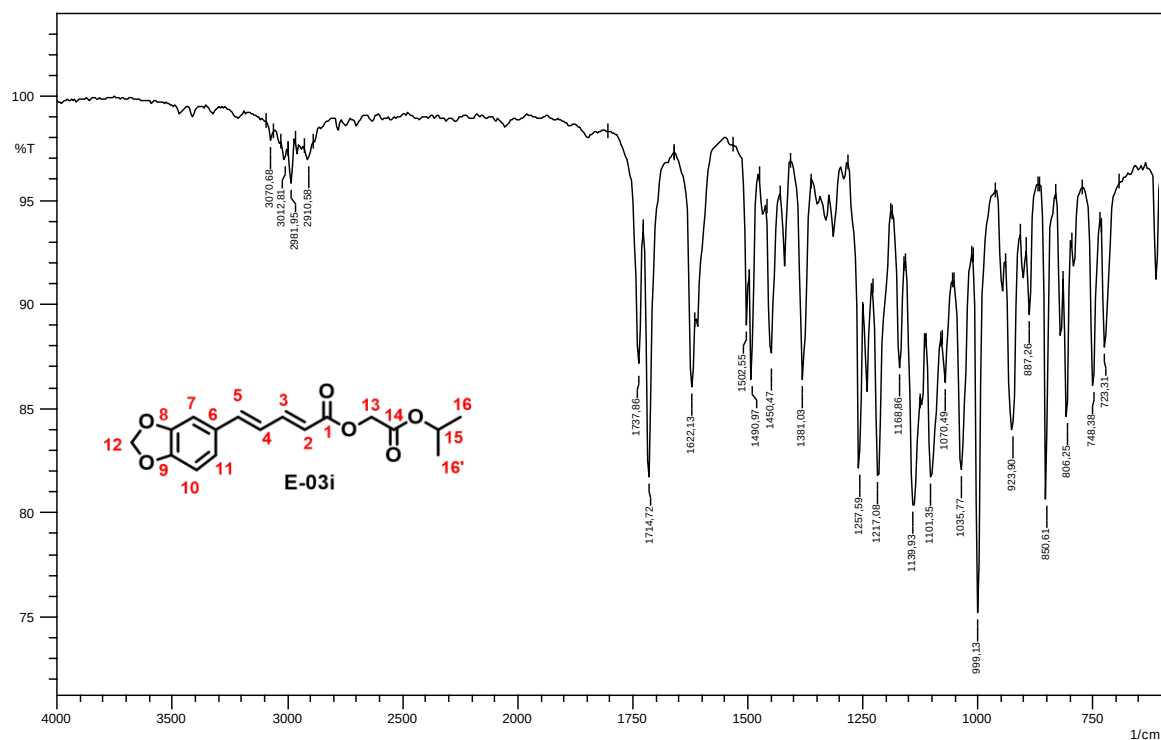
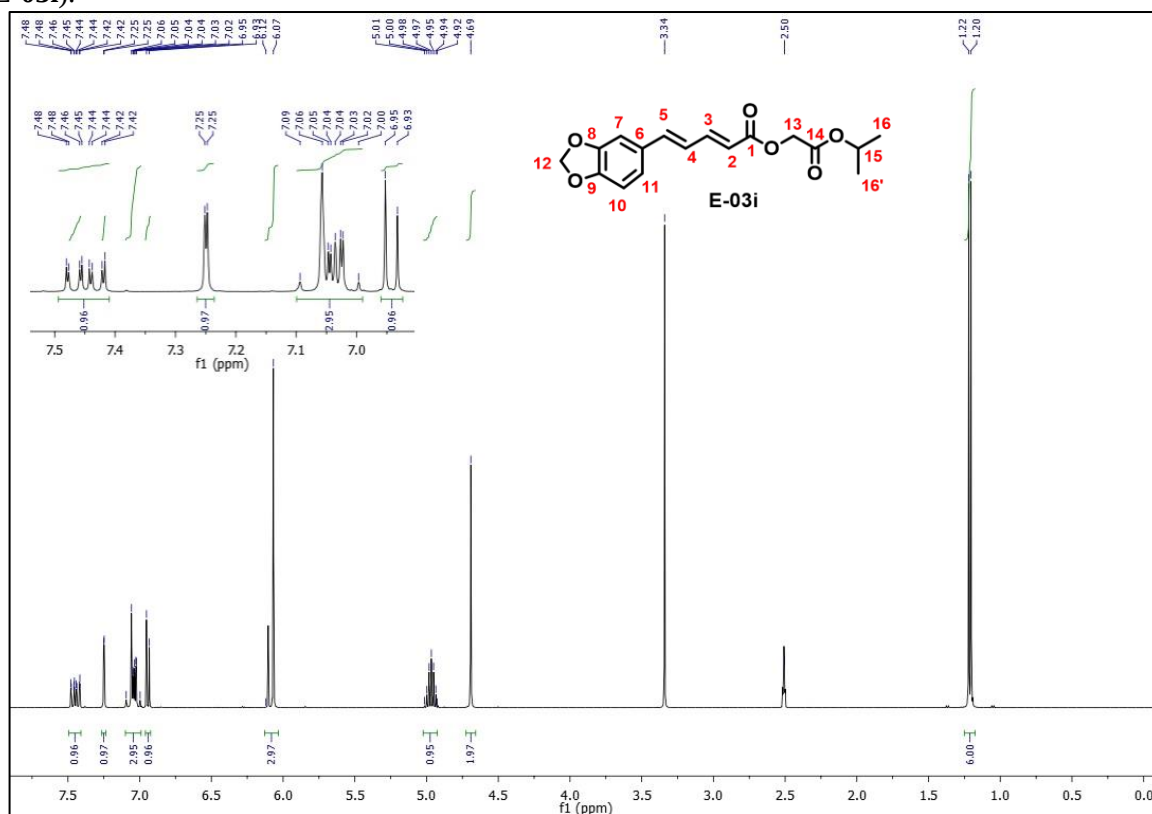


Espectro 151- Espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (**E-03**).

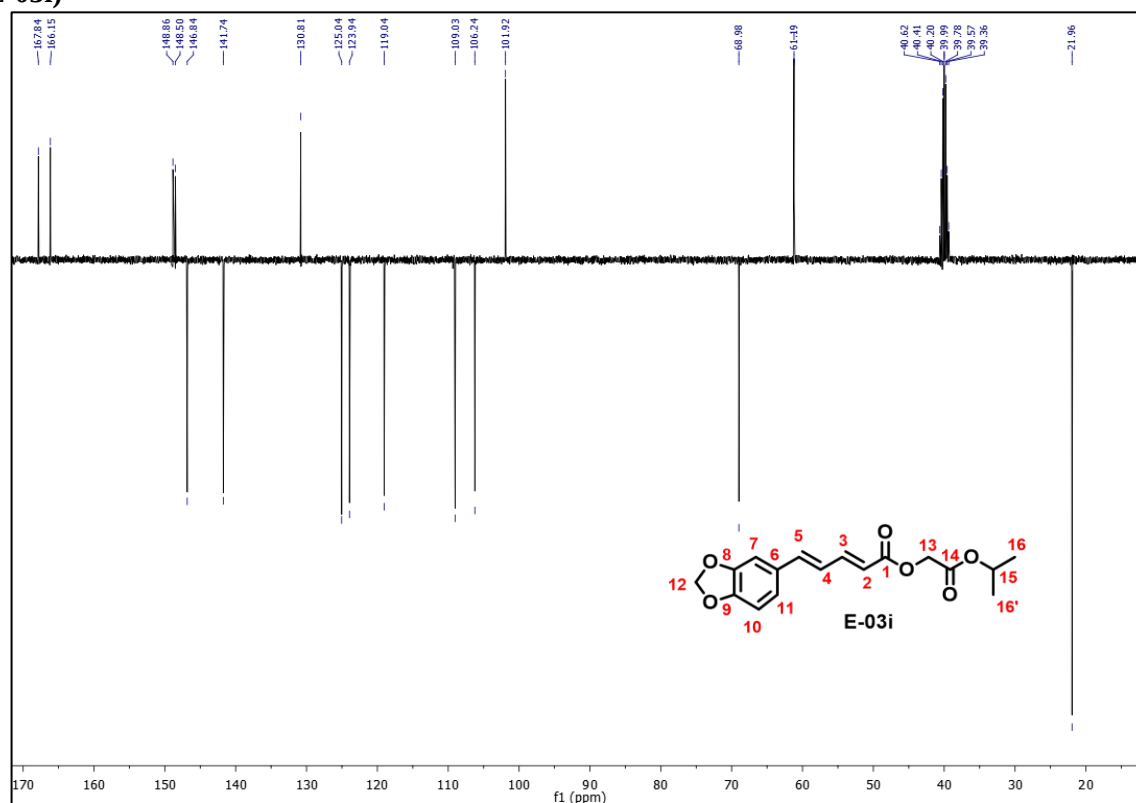


Espectro 152- Expansão do espectro de correlação heteronuclear (HMBC) do (2E,4E)-2-propóxi-2-oxo-piperato de propila (**E-03**).

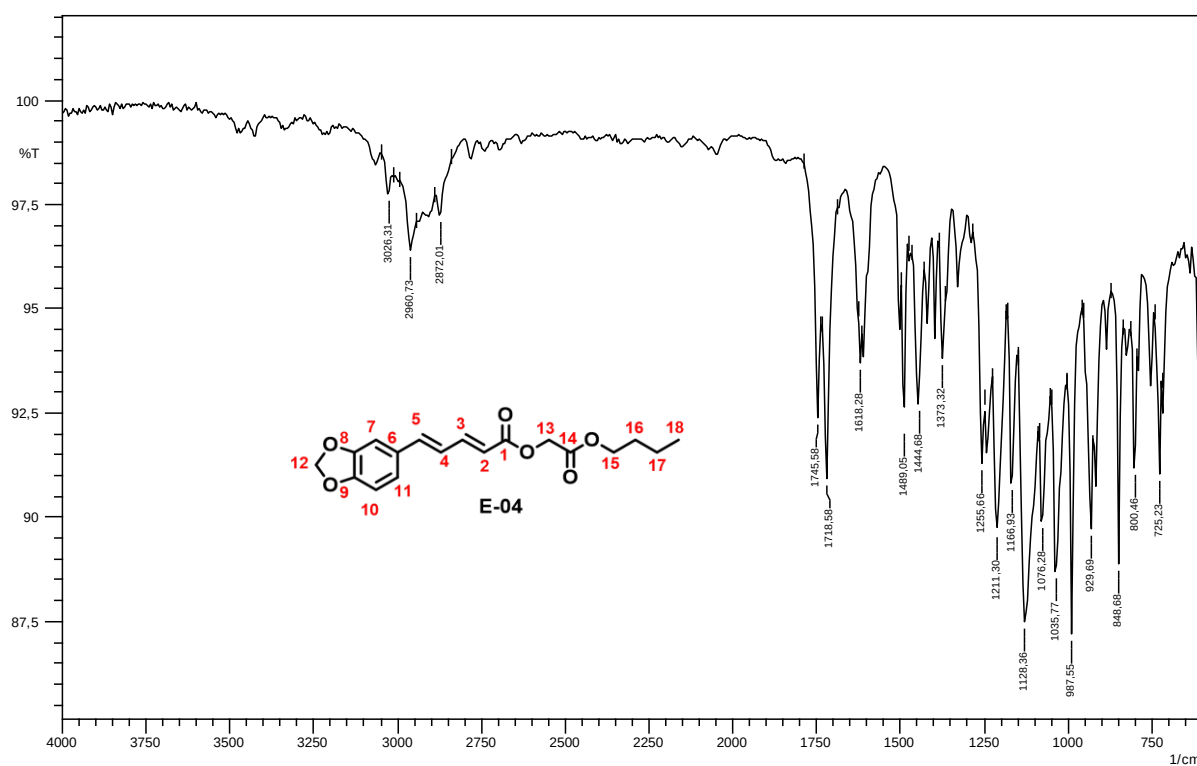


Espectro 153- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-03i**).**Espectro 154-** Espectro de RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 400 MHz) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-03i**).

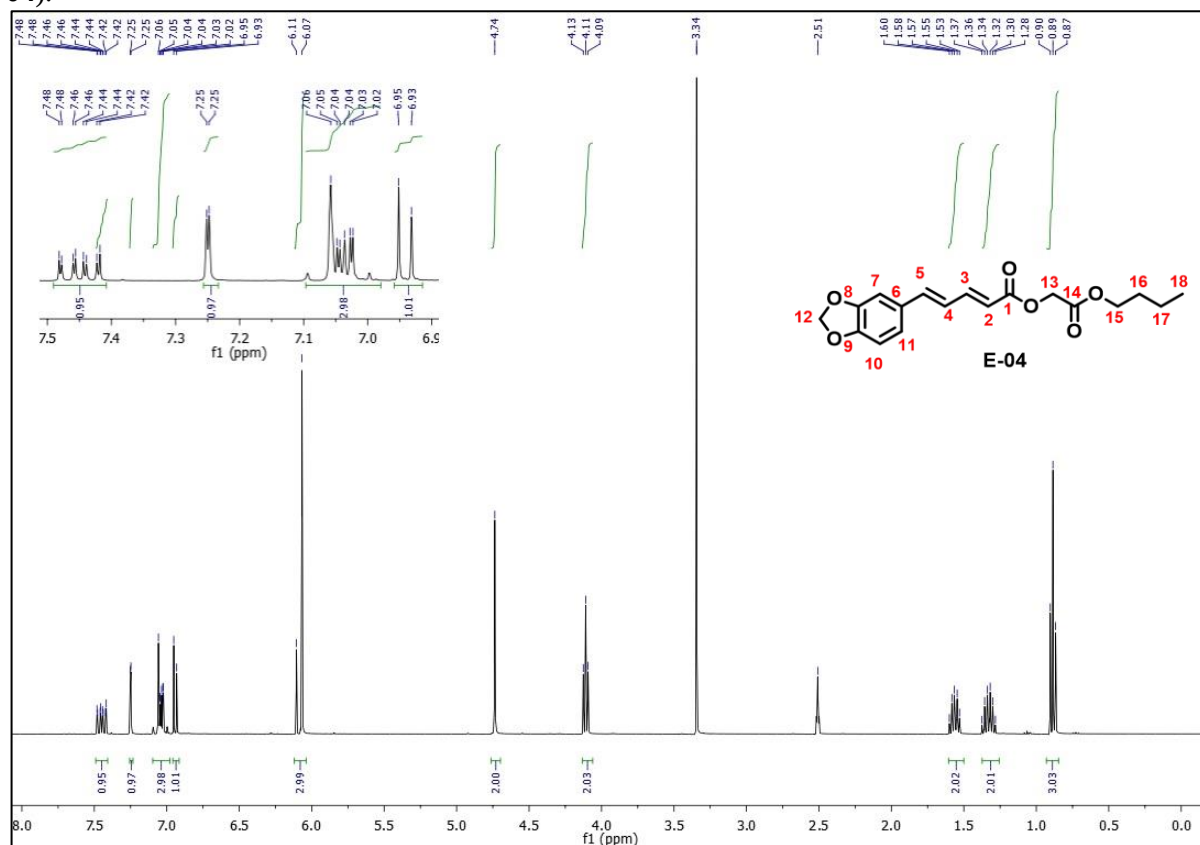
Espectro 155- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-isopropóxi-2-oxo-piperato de etila (E-03i)



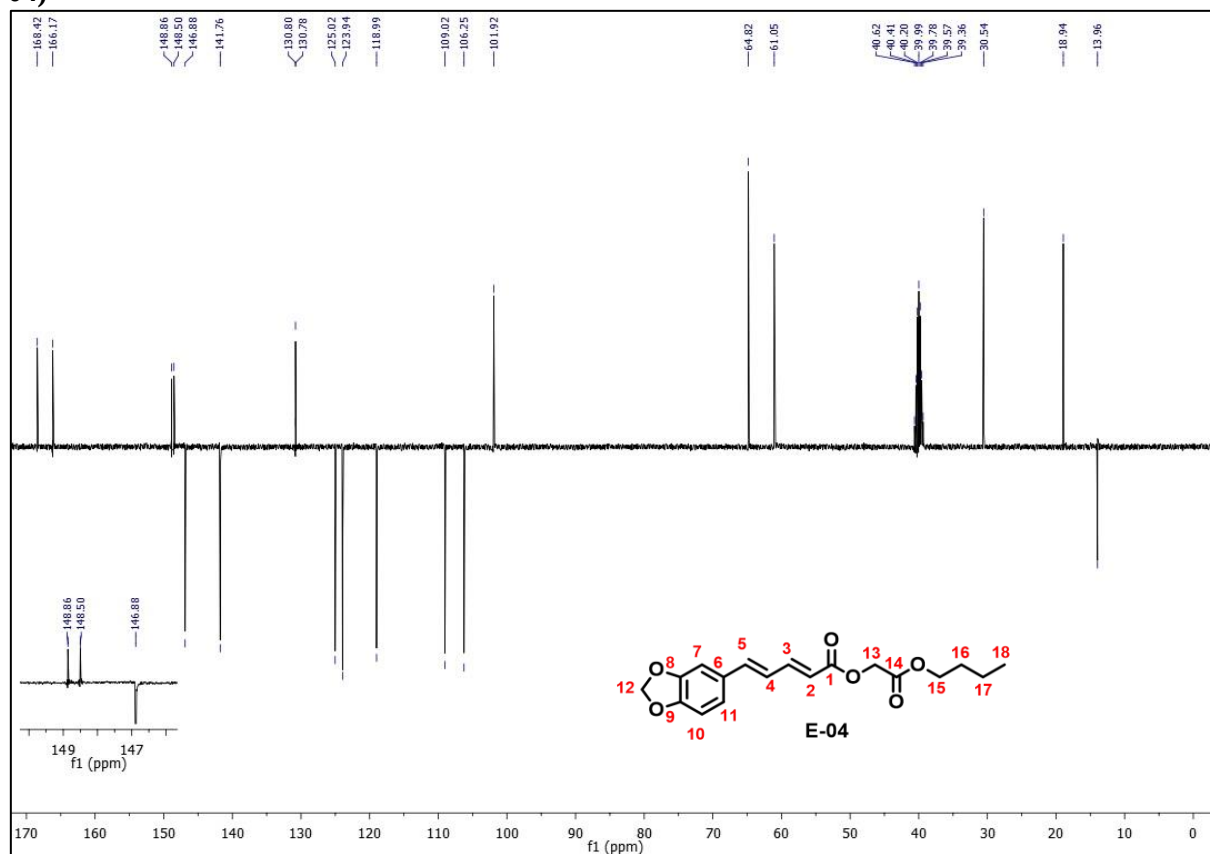
Espectro 156- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-butoxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).

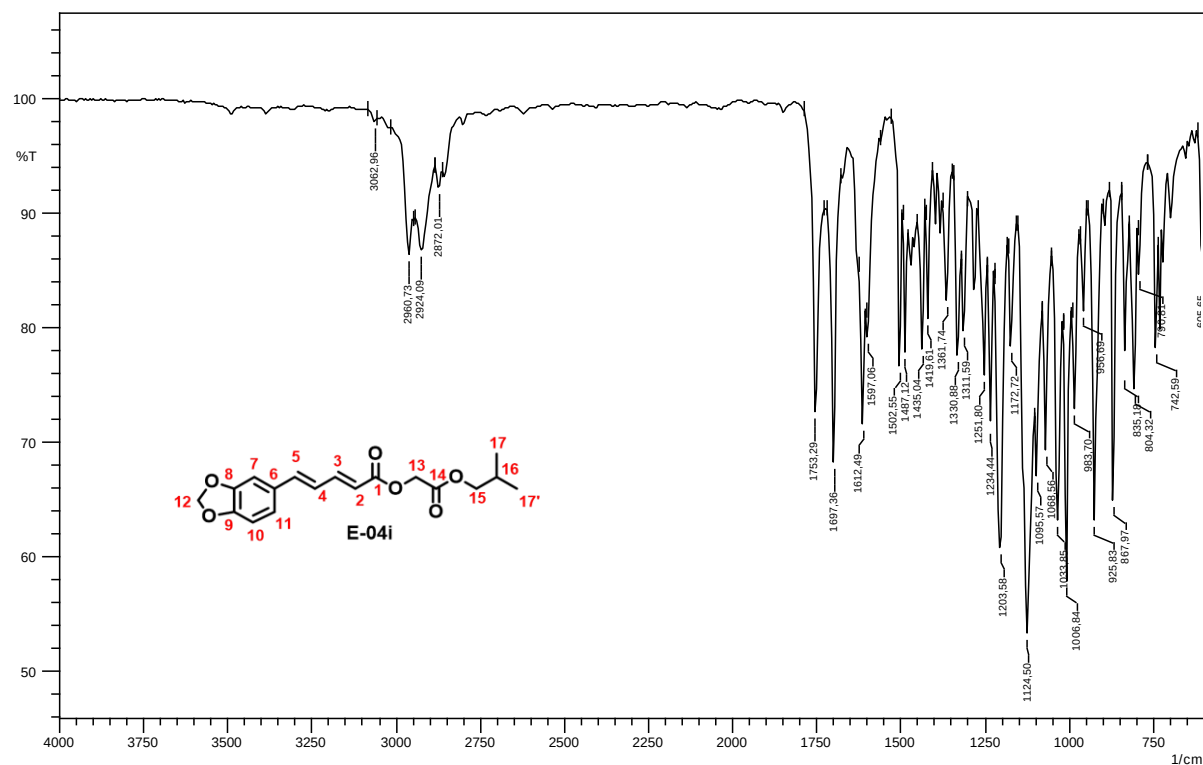
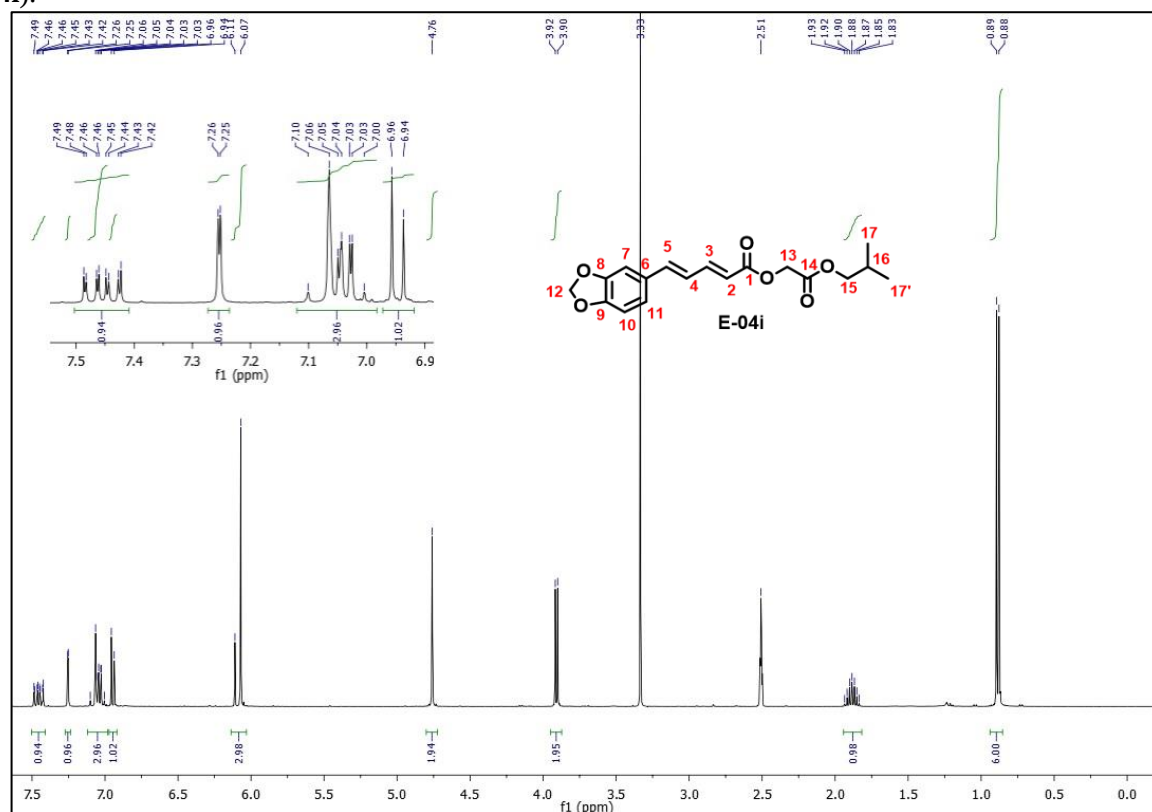


Espectro 157- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).

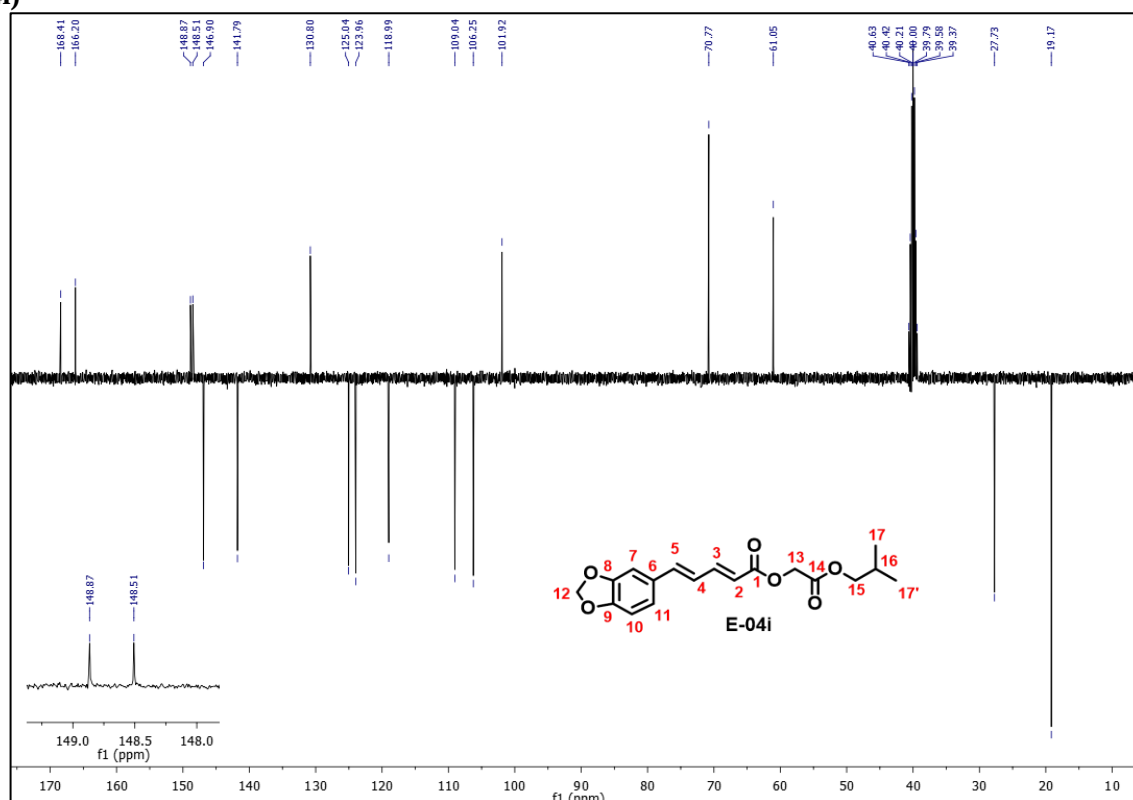


Espectro 158- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-butóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04).

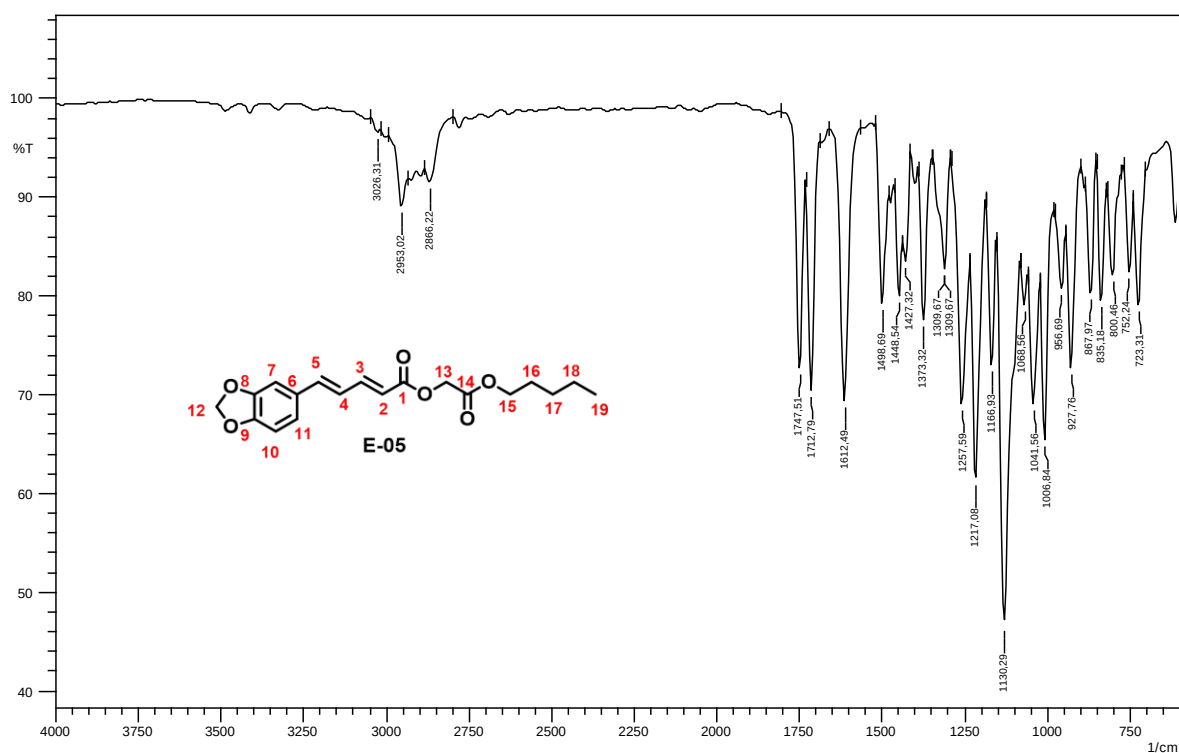


Espectro 159- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-04i**).**Espectro 160-** Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-04i**).

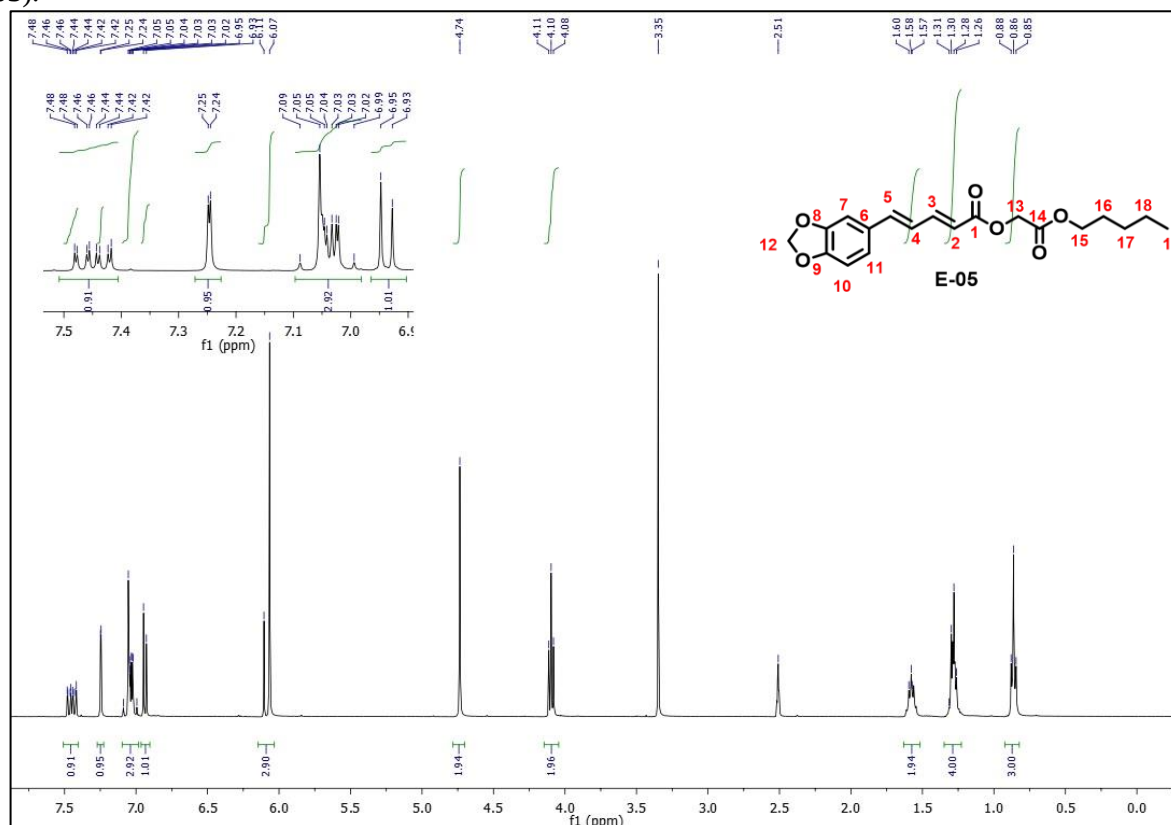
Espectro 161- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-isobutóxi-2-oxo-piperato de etila (E-04i)



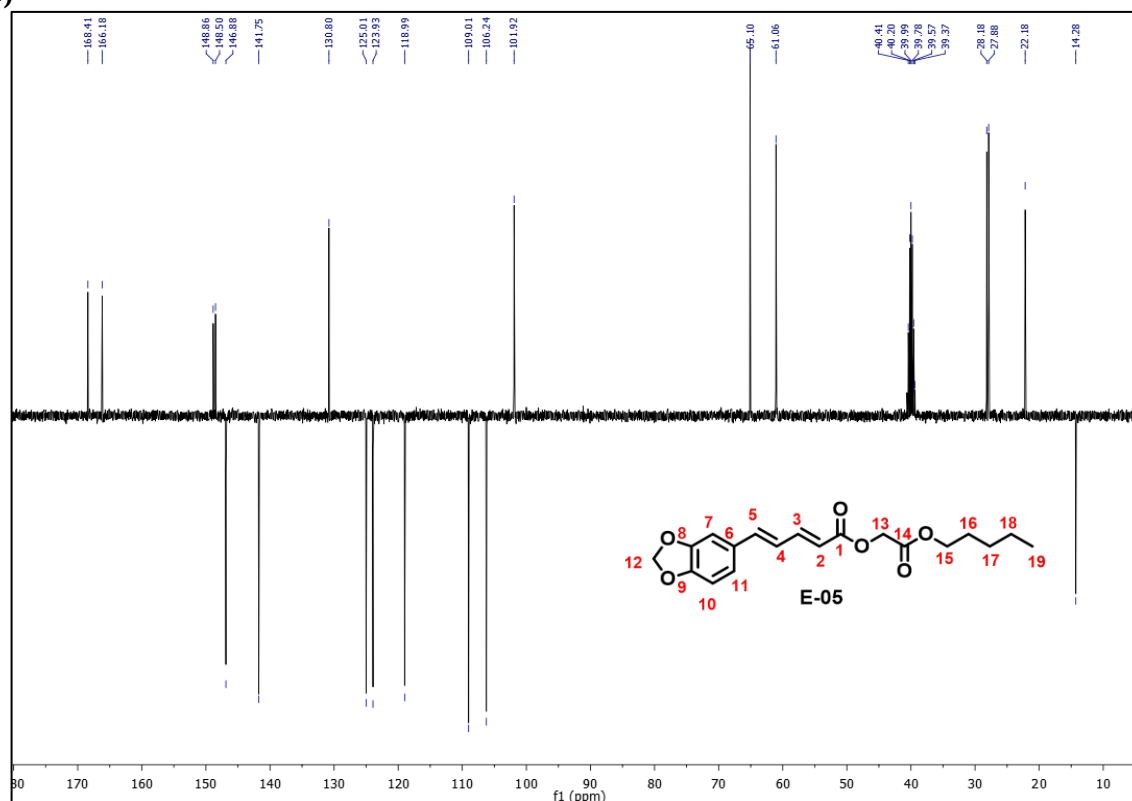
Espectro 162- Espectro Infravermelho (ATR) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).

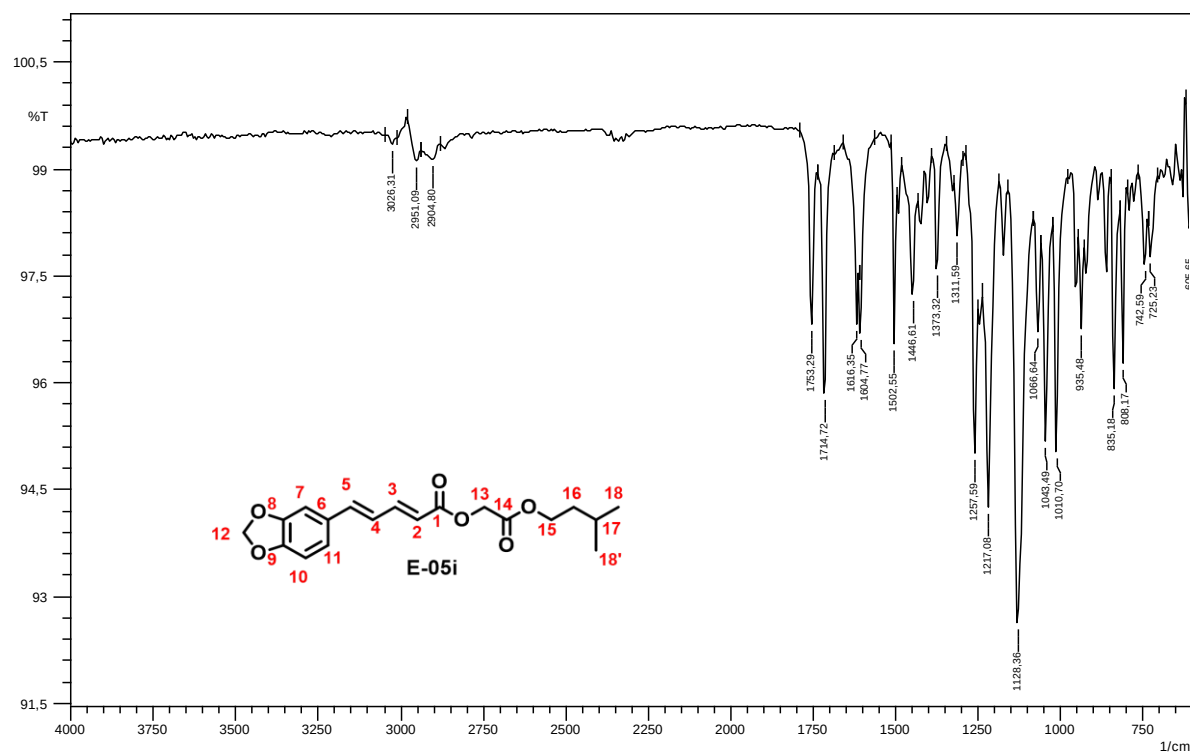
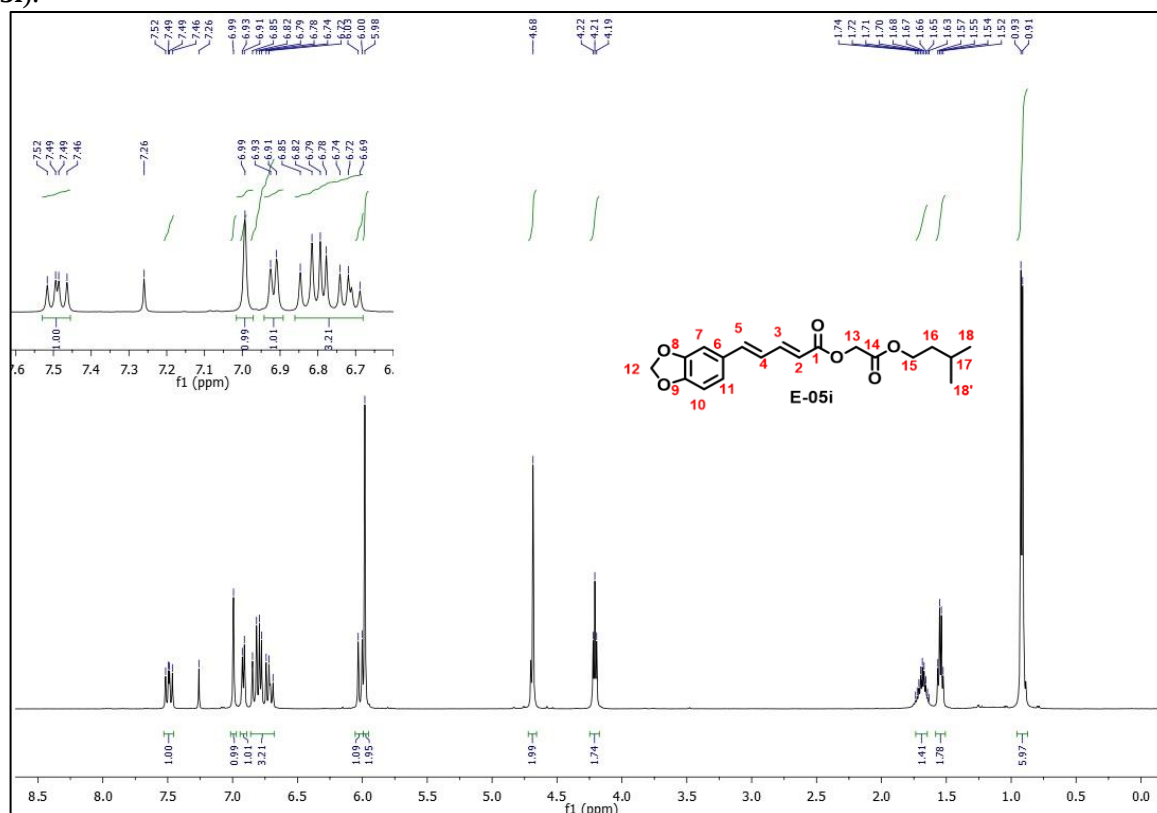


Espectro 163- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).

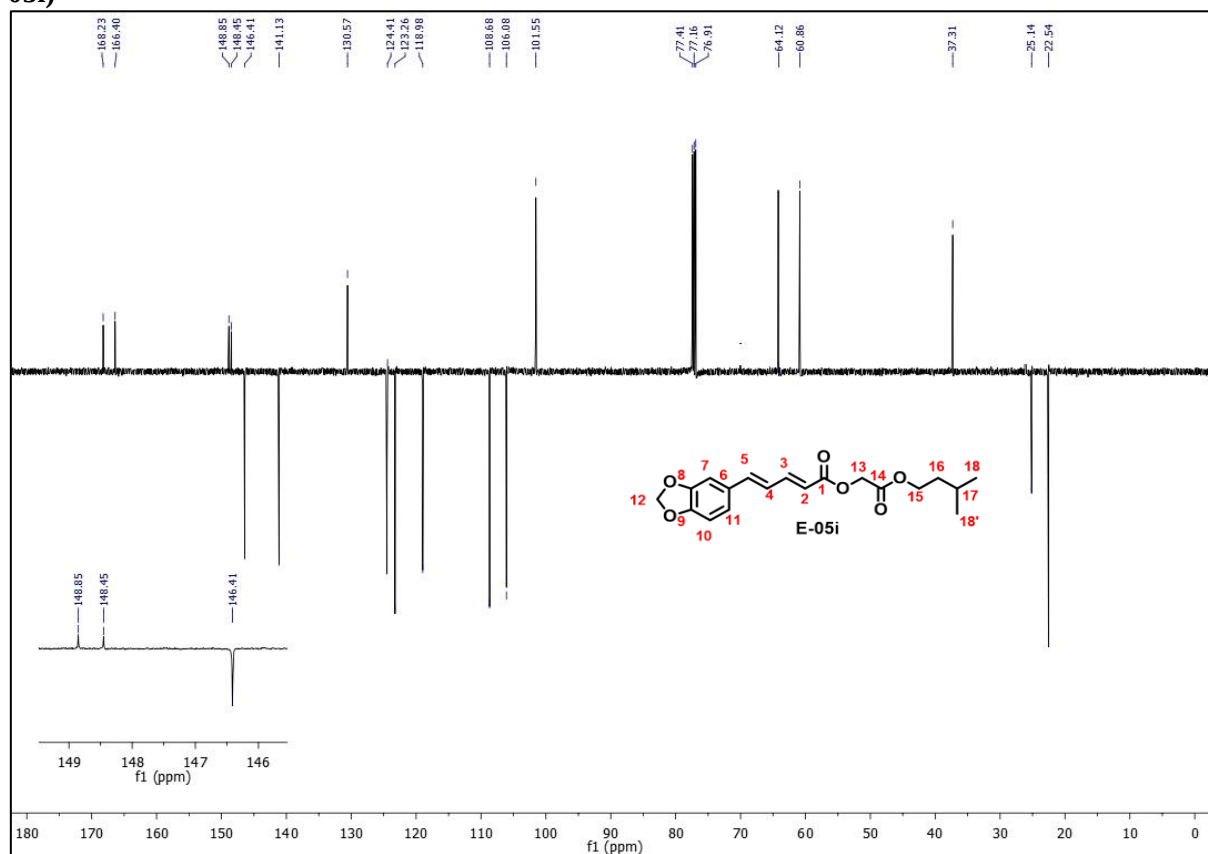


Espectro 164- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-pentóxi-2-oxo-piperato de etila (E-05).

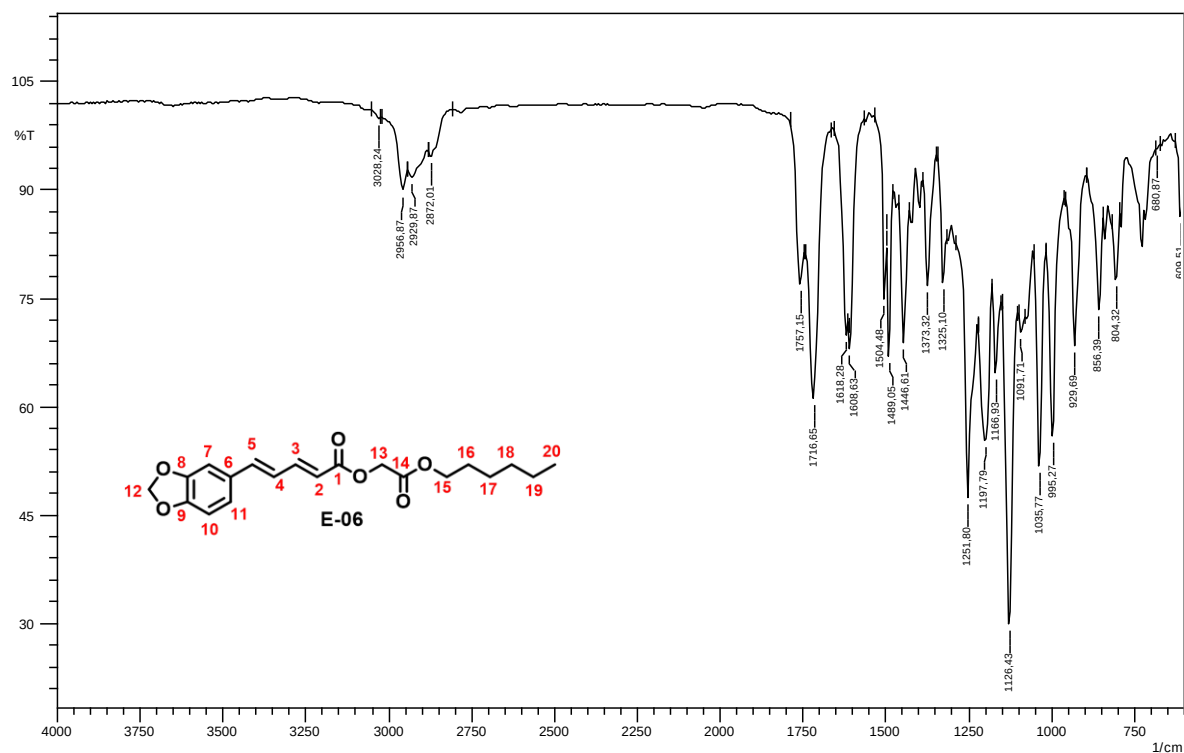


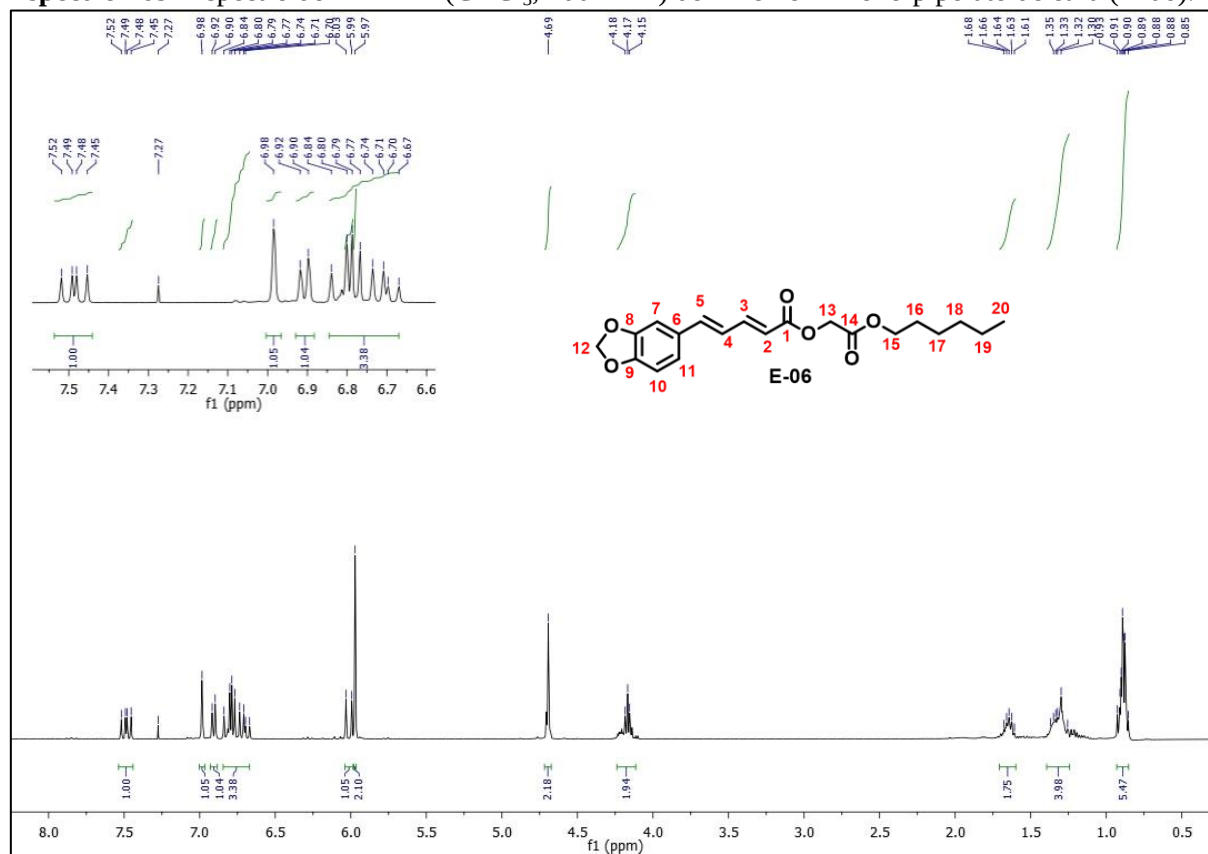
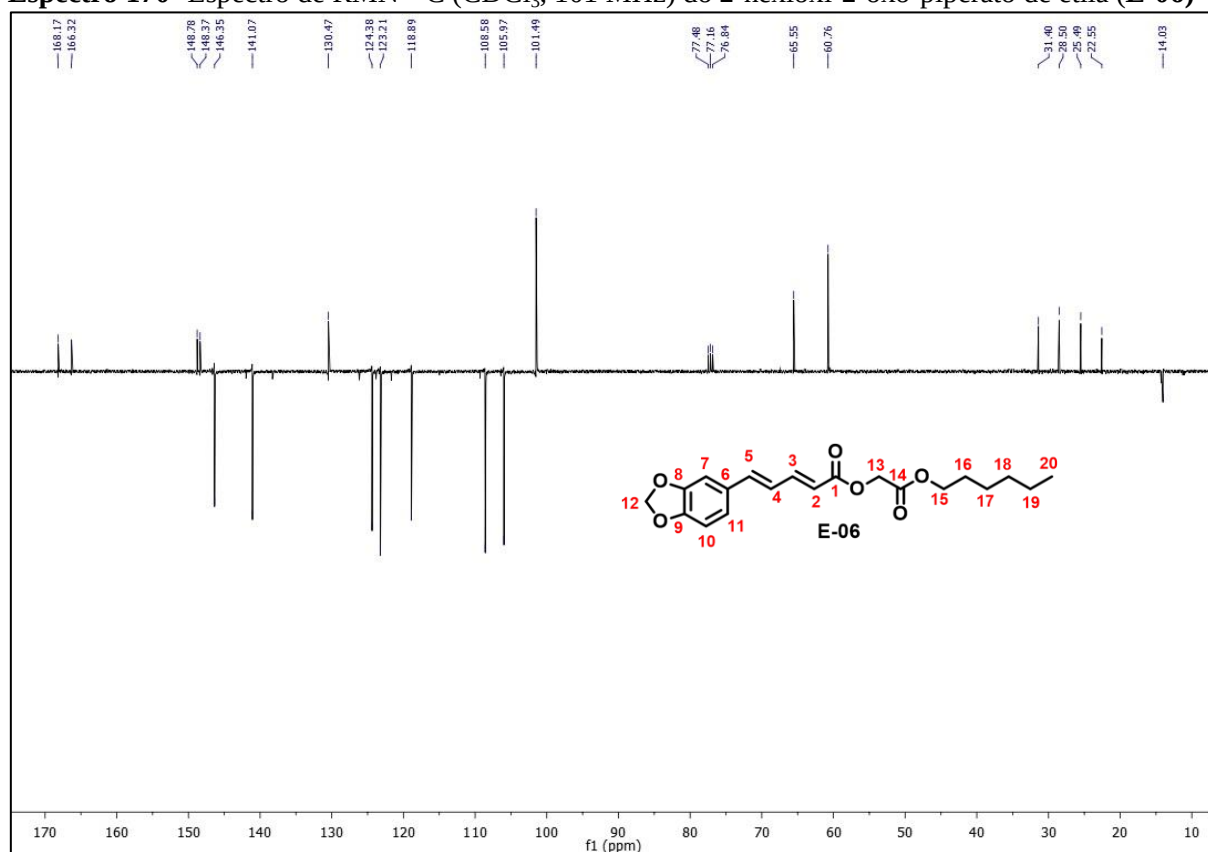
Espectro 165- Espectro Infravermelho (ATR) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-05i**).**Espectro 166-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-05i**).

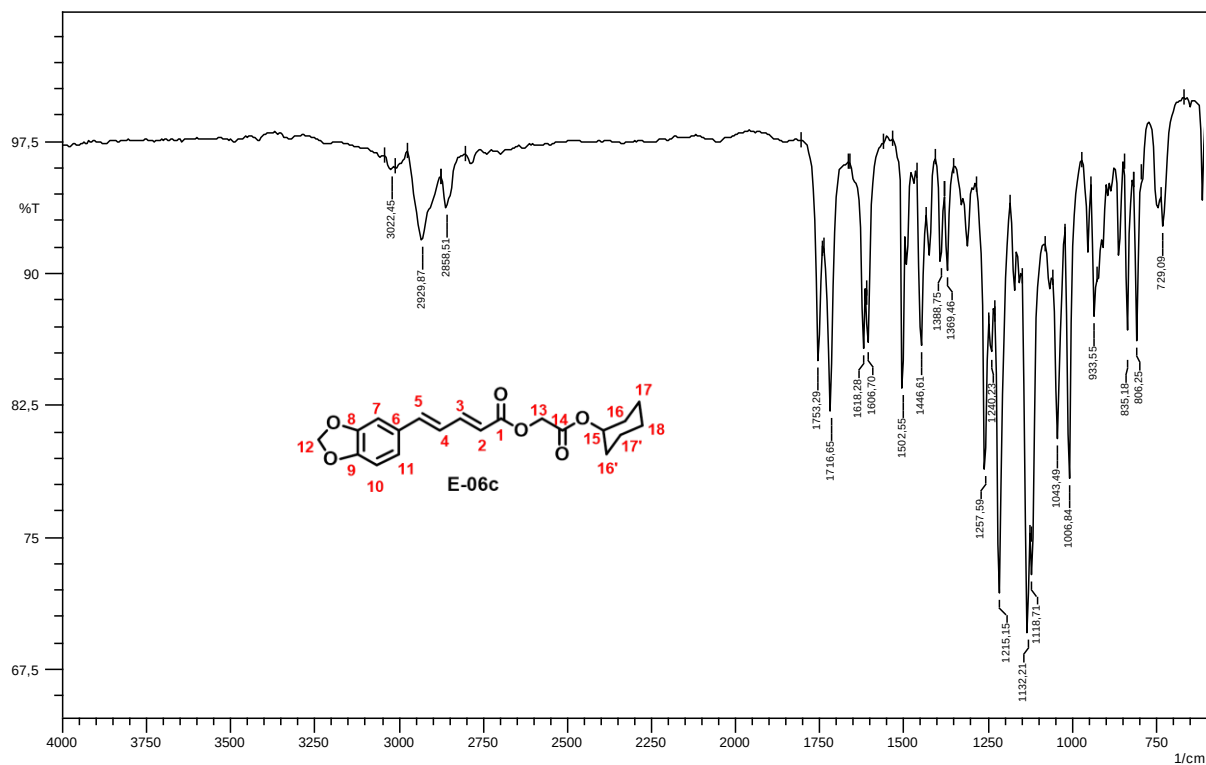
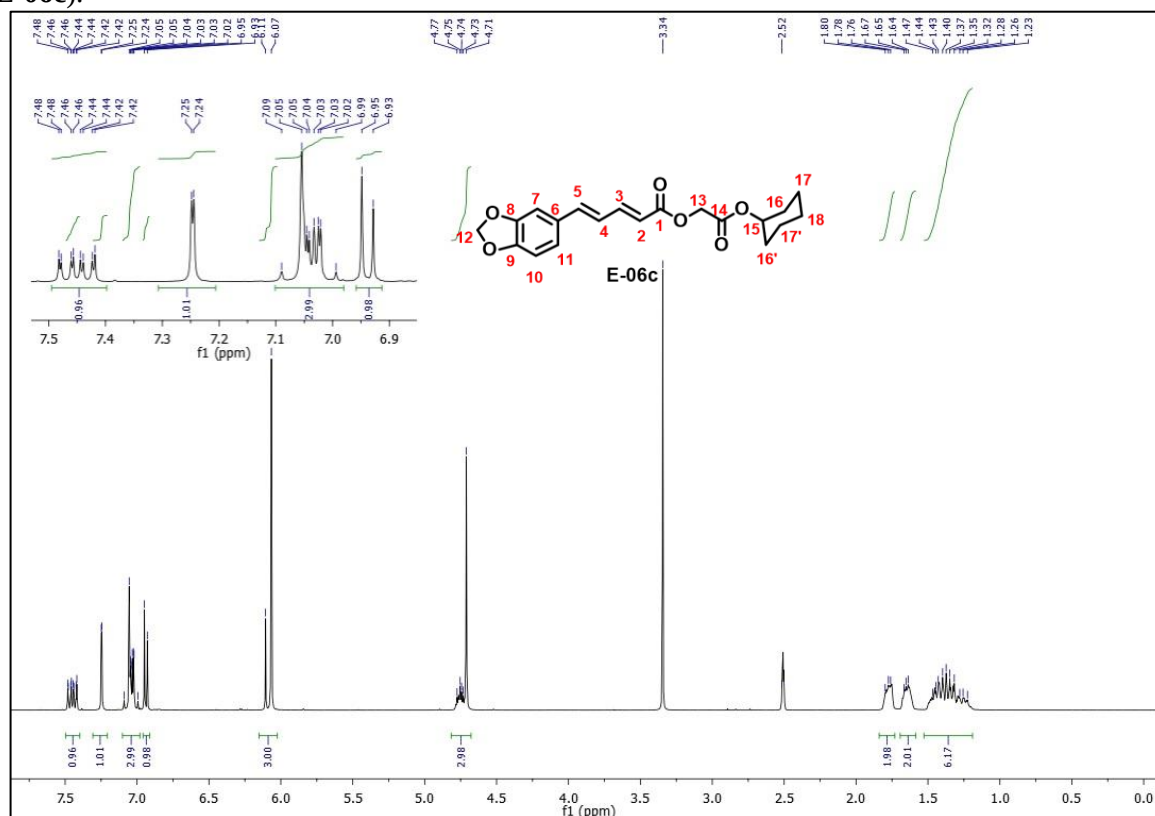
Espectro 167- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-isopentóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-05i**)



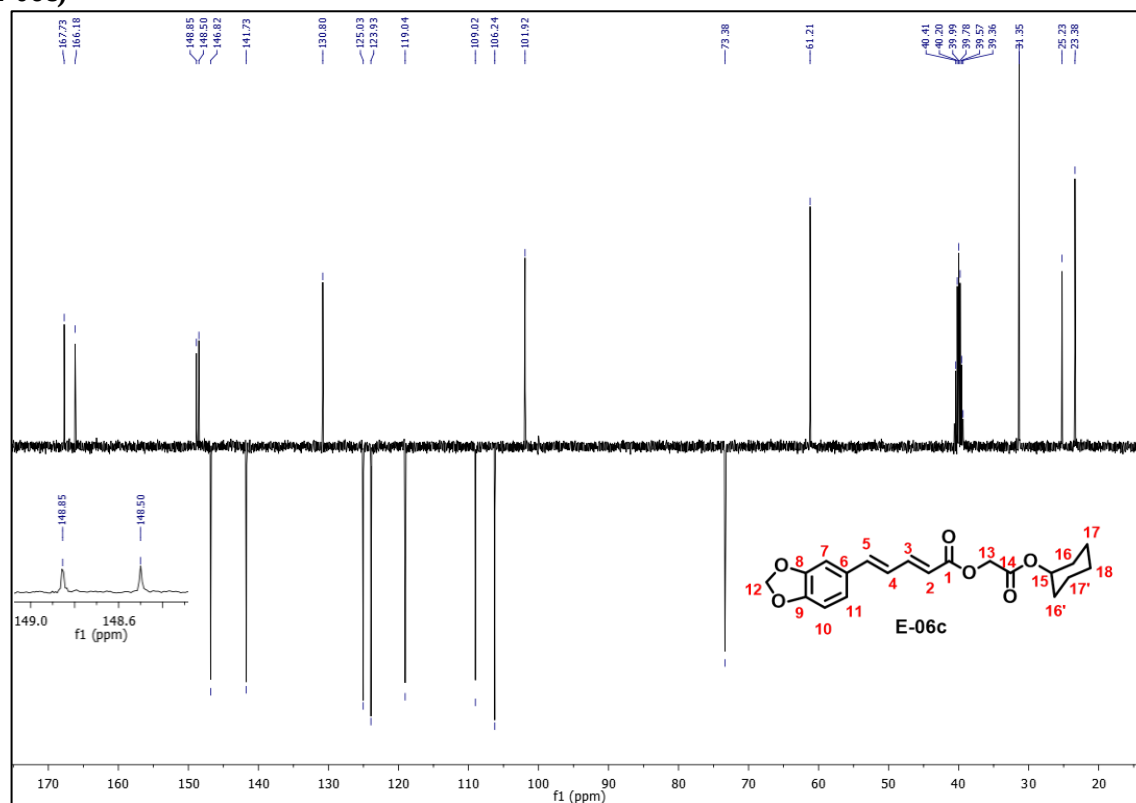
Espectro 168- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-06**).



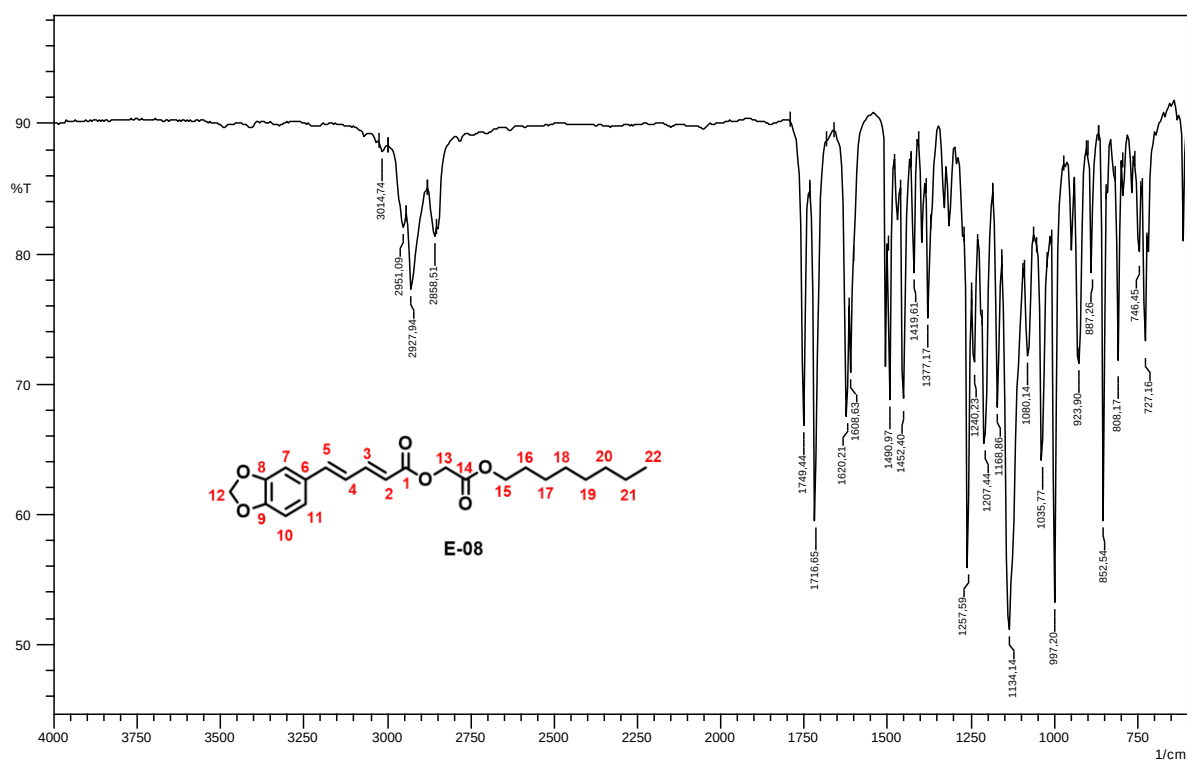
Espectro 169- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-06**).**Espectro 170-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 101 MHz) do 2-hexióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-06**)

Espectro 171- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-06c**).**Espectro 172-** Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-06c**).

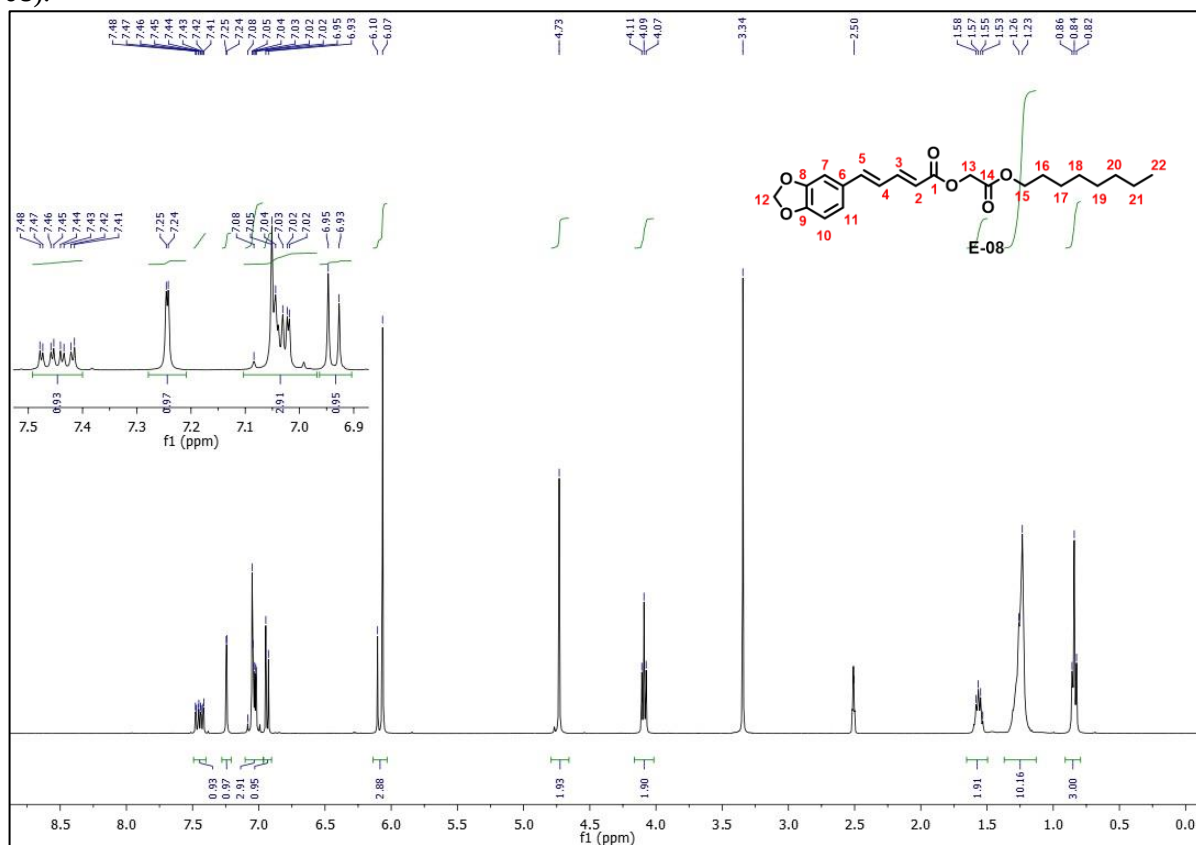
Espectro 173- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-cicloexióxi-2-oxo-piperato de etila (E-06c)



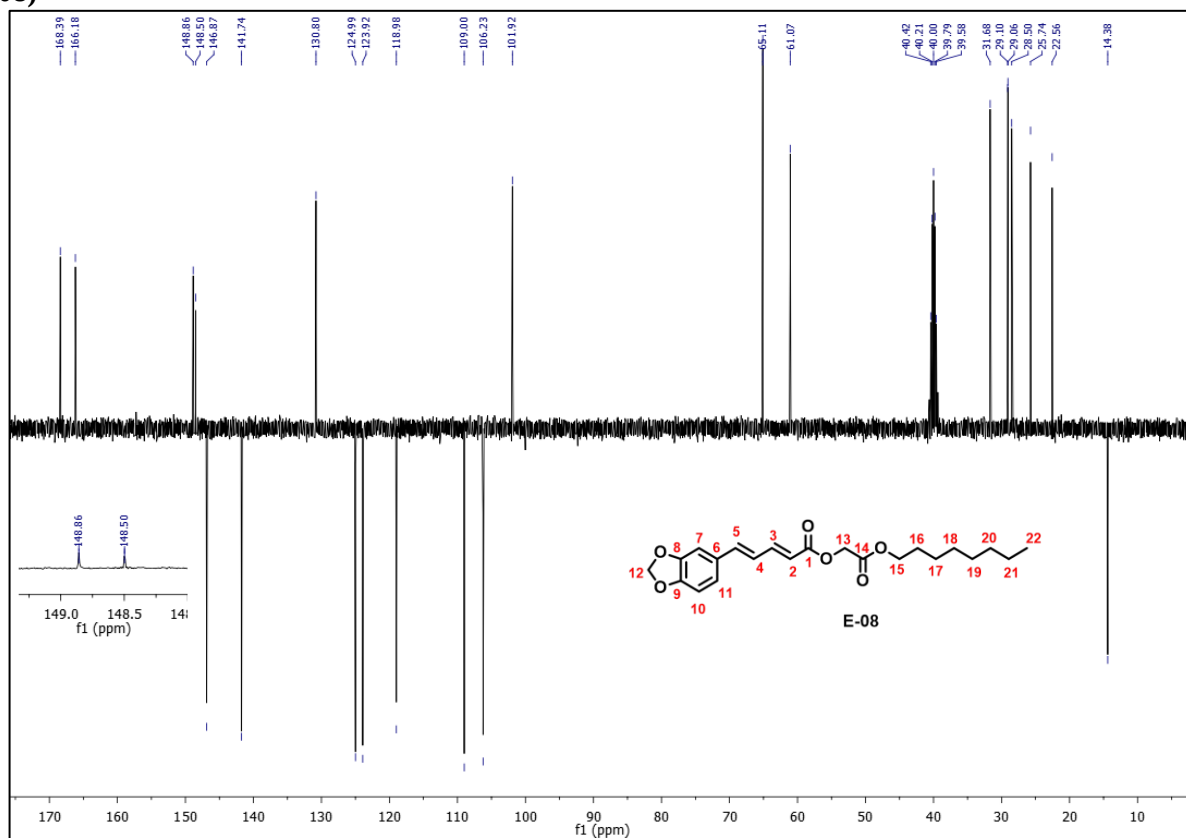
Espectro 174- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (E-08).

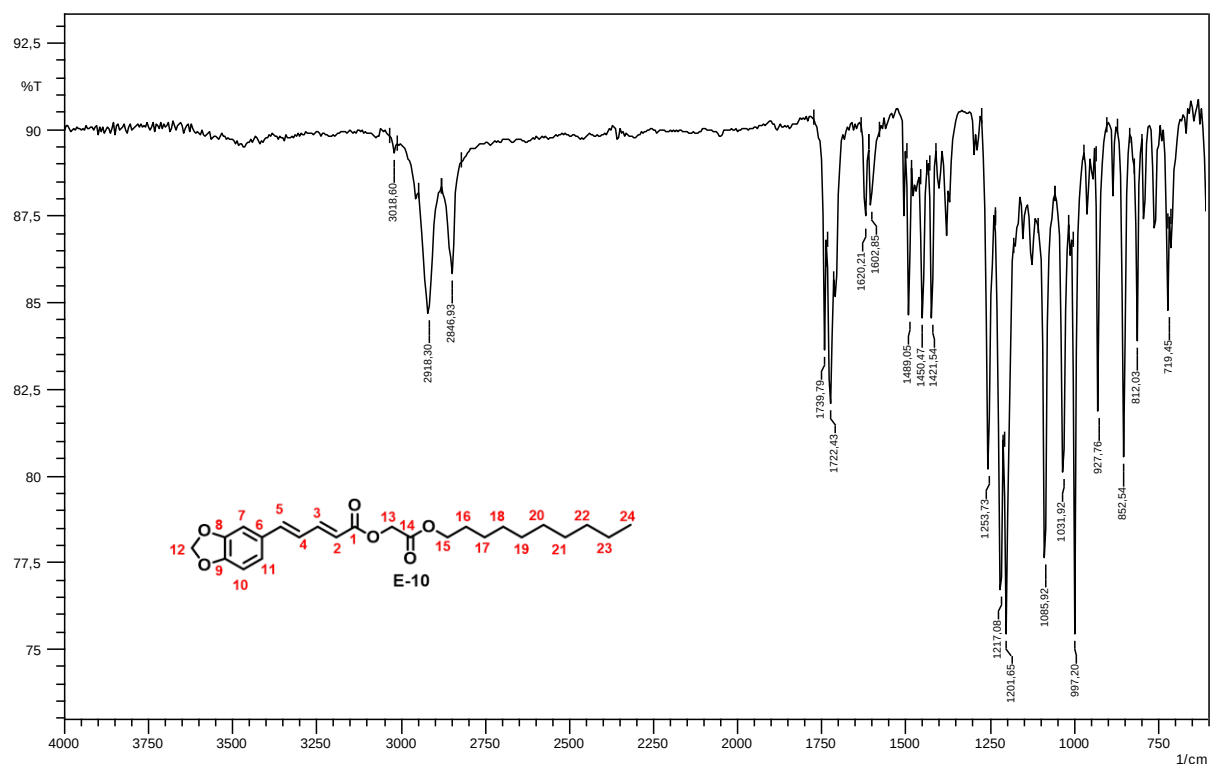
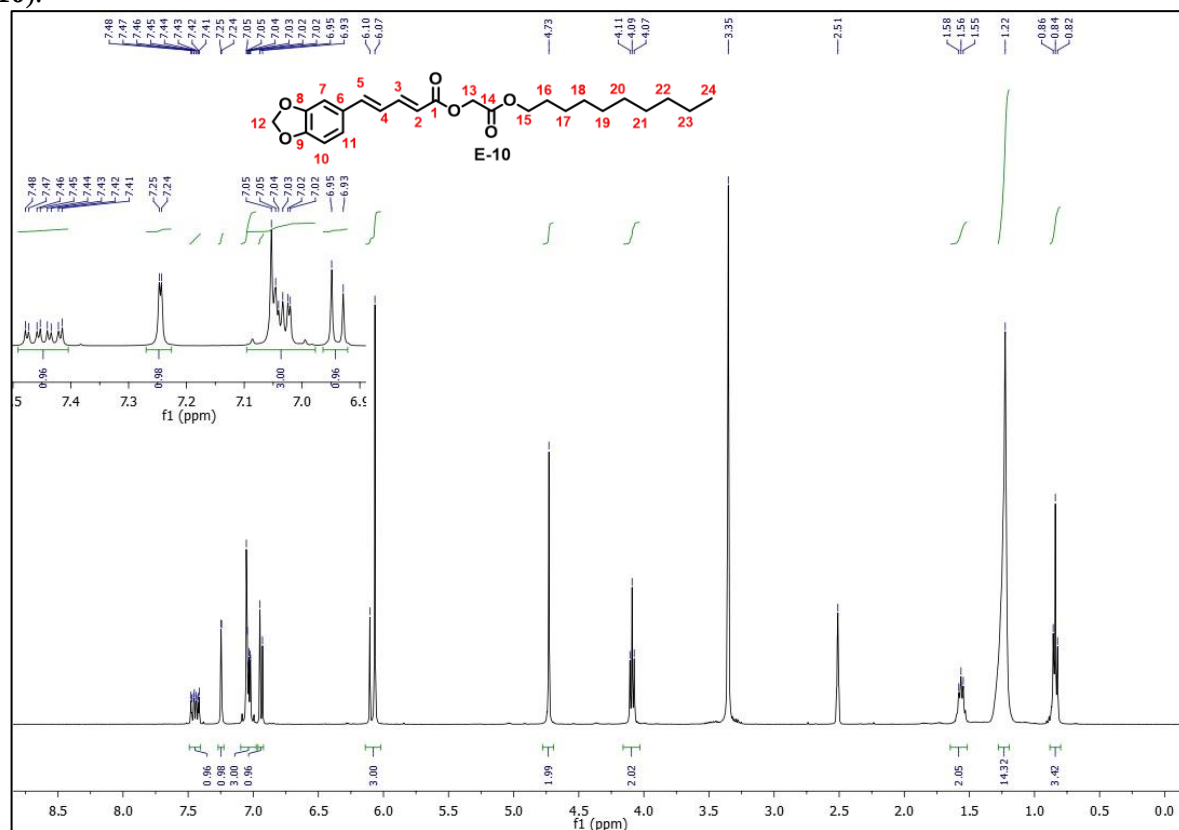


Espectro 175- Espectro de RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-08**).

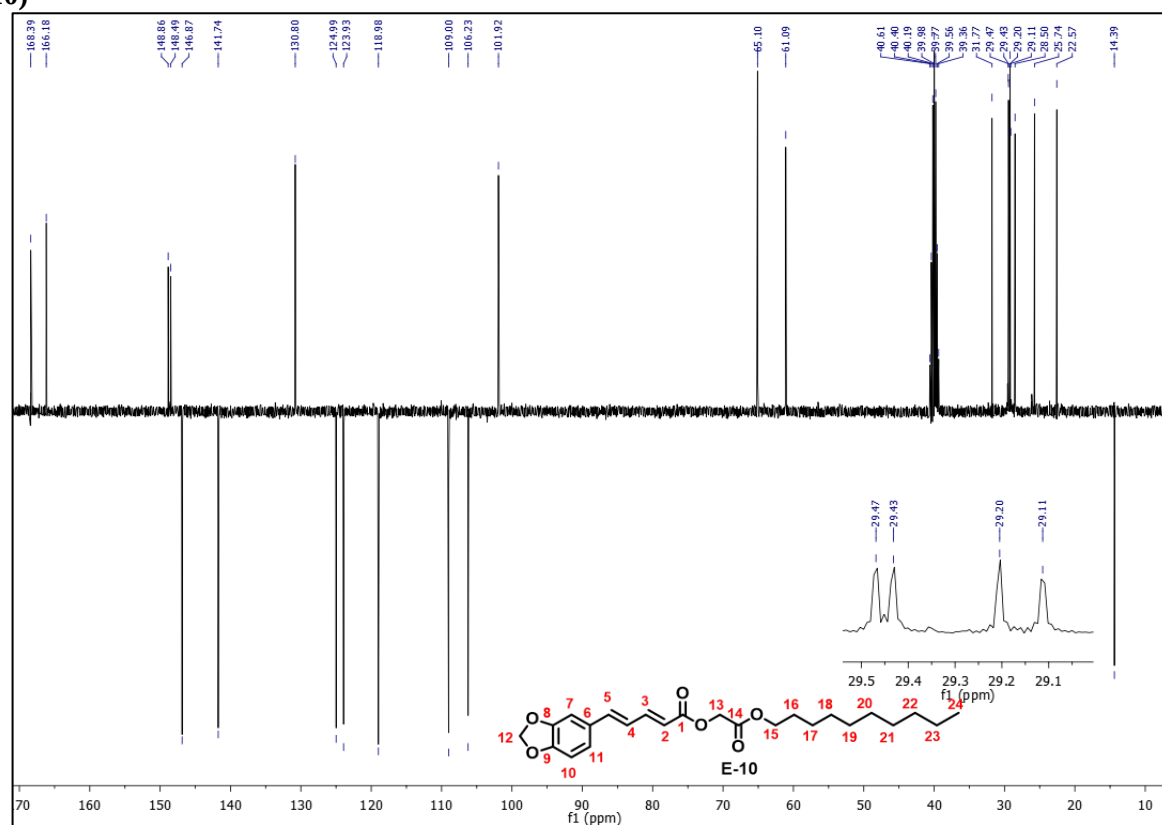


Espectro 176- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-octóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-08**).

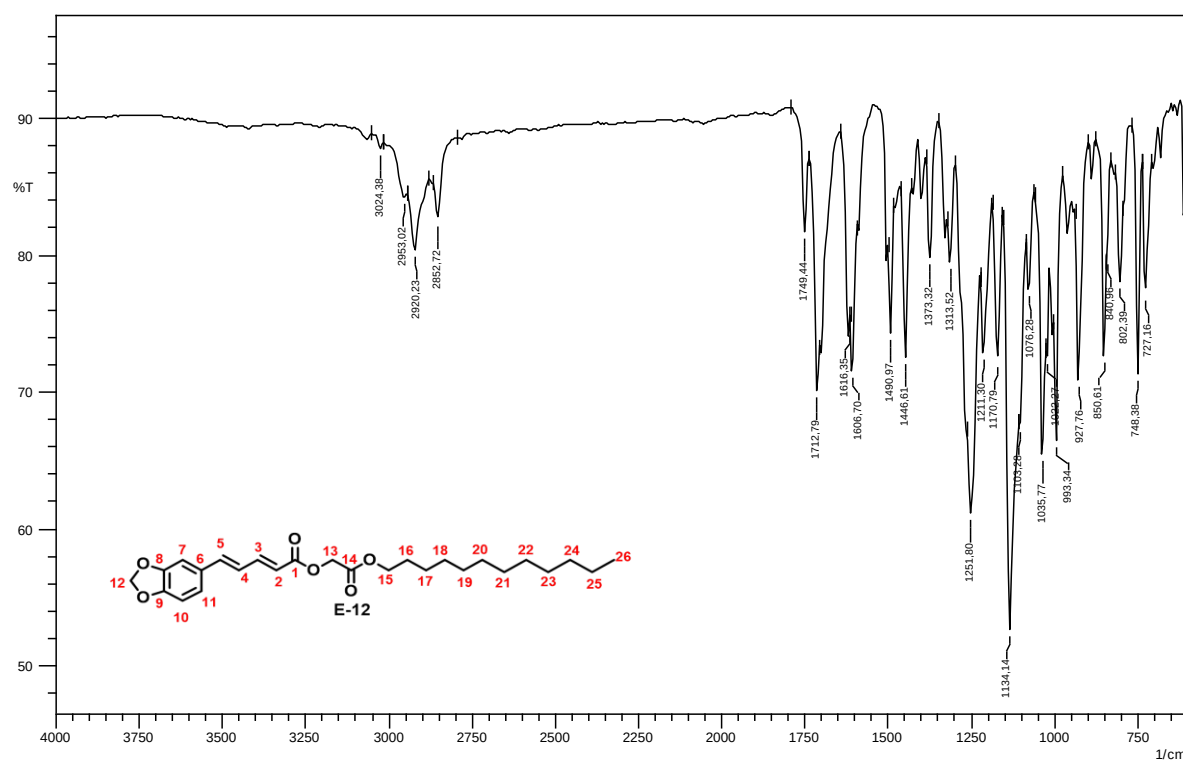


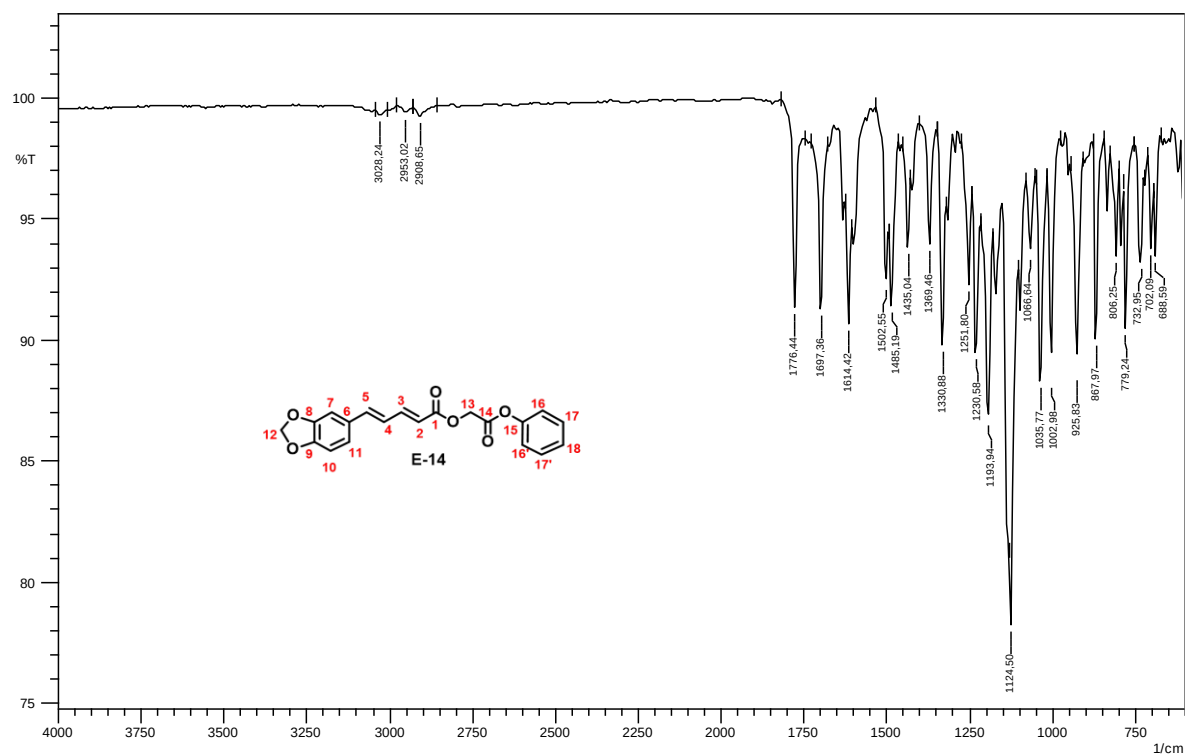
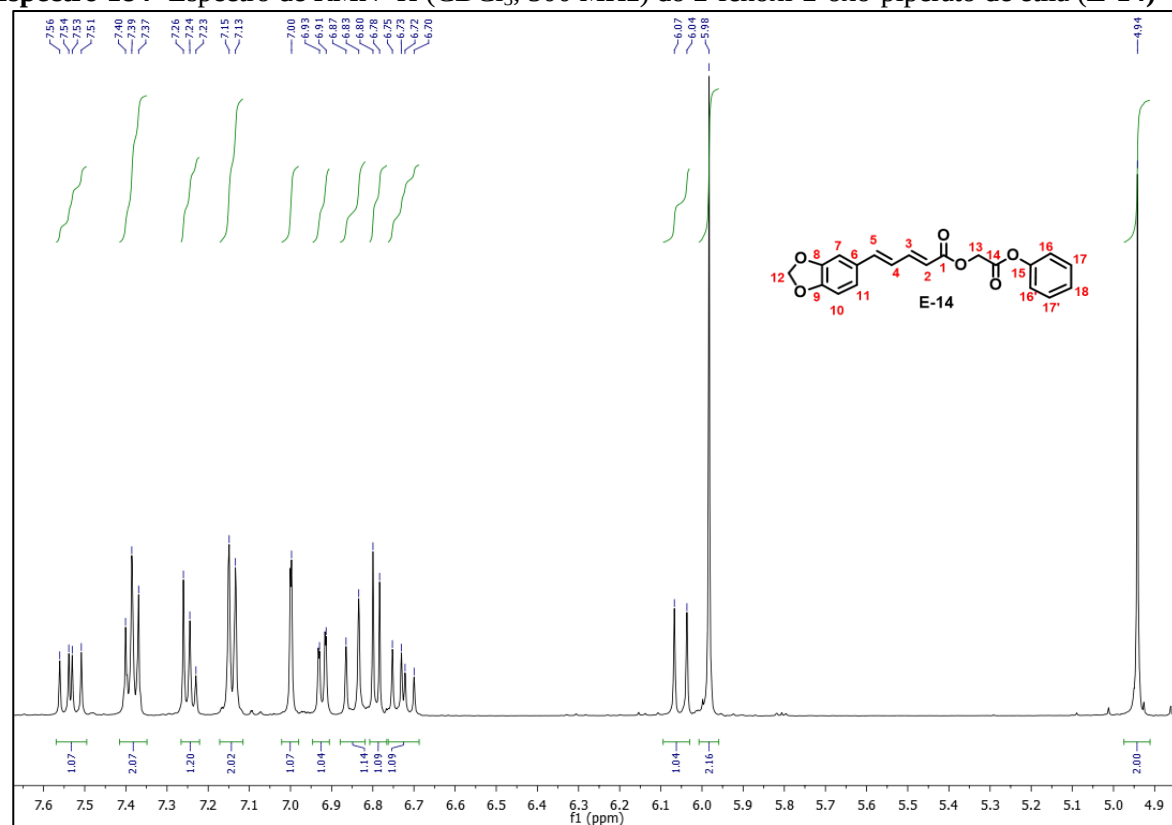
Espectro 177- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-10**).**Espectro 178-** Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 400 MHz) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-10**).

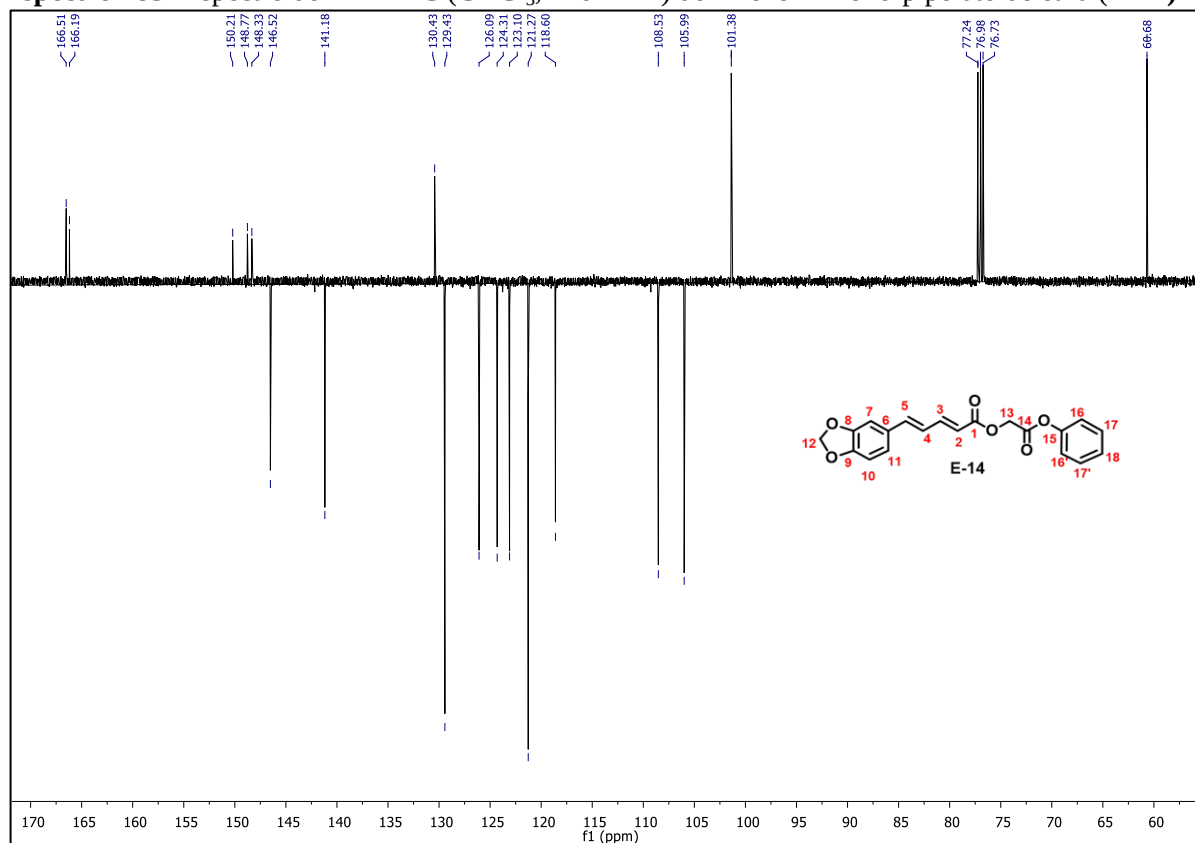
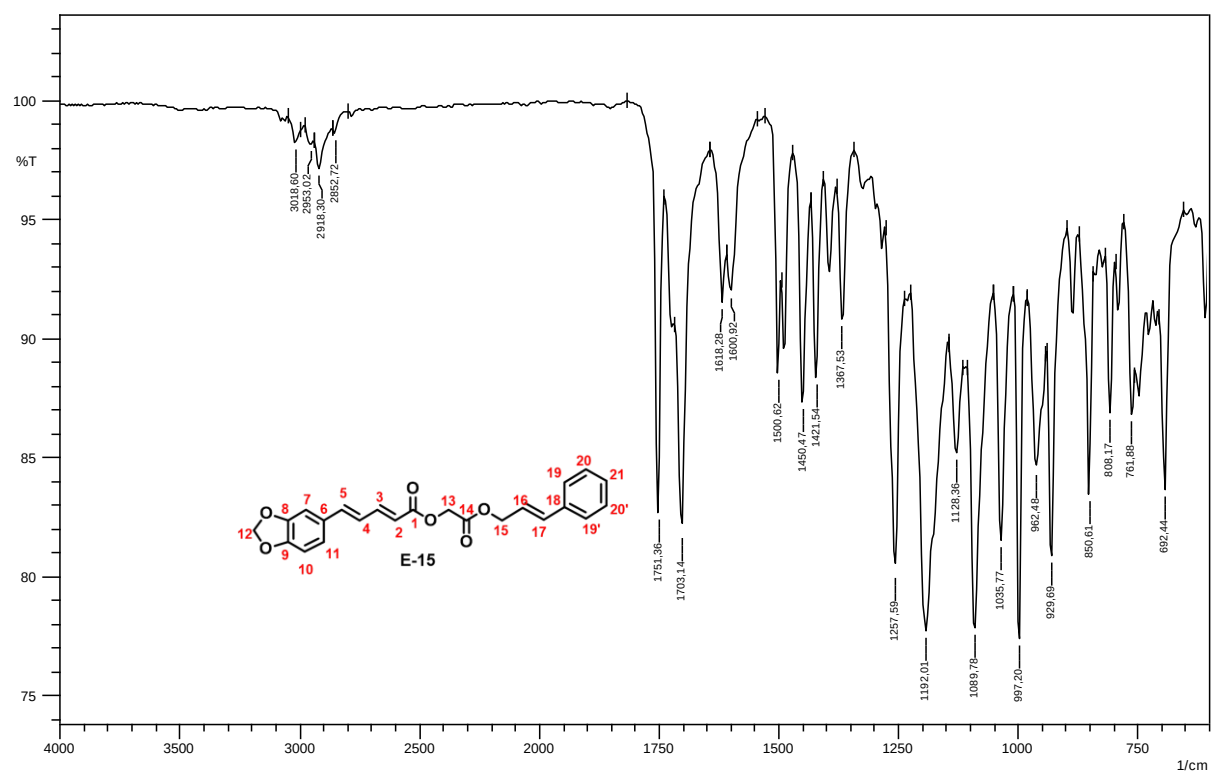
Espectro 179- Espectro de RMN ^{13}C (DMSO- d_6 , 101 MHz) do 2-decóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-10**)

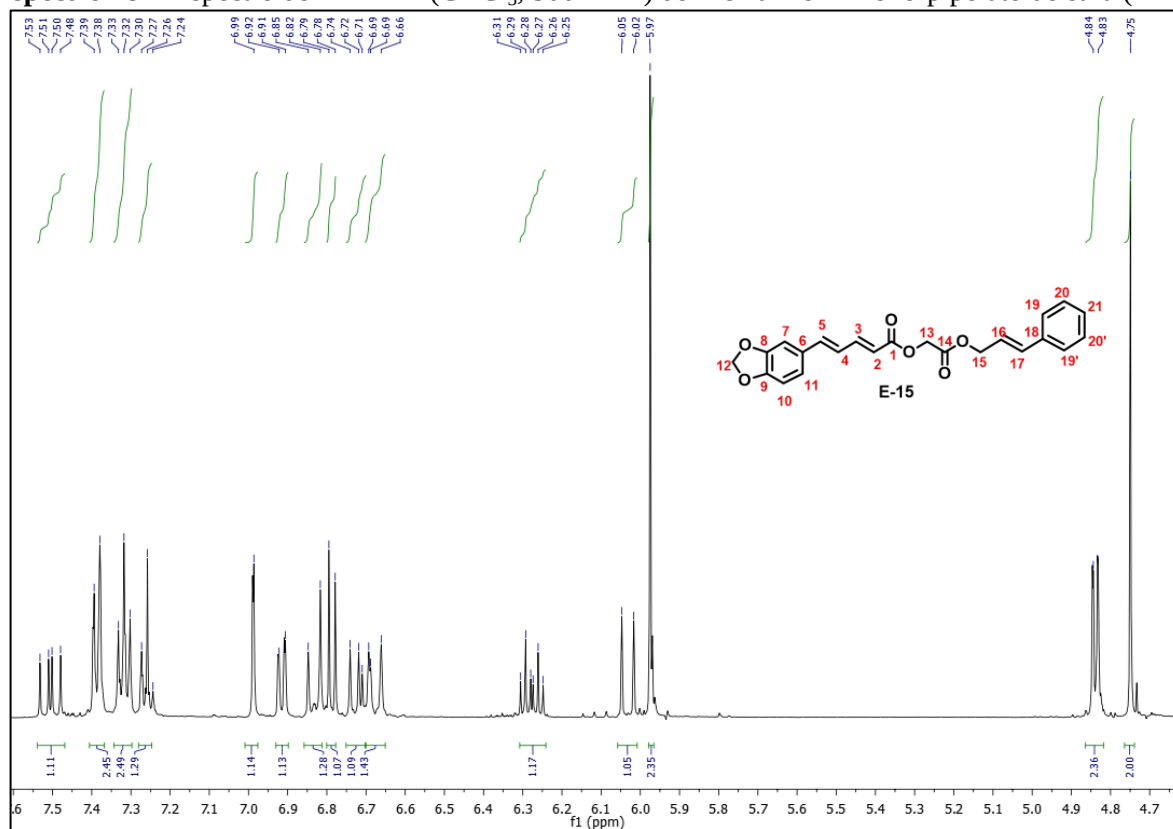
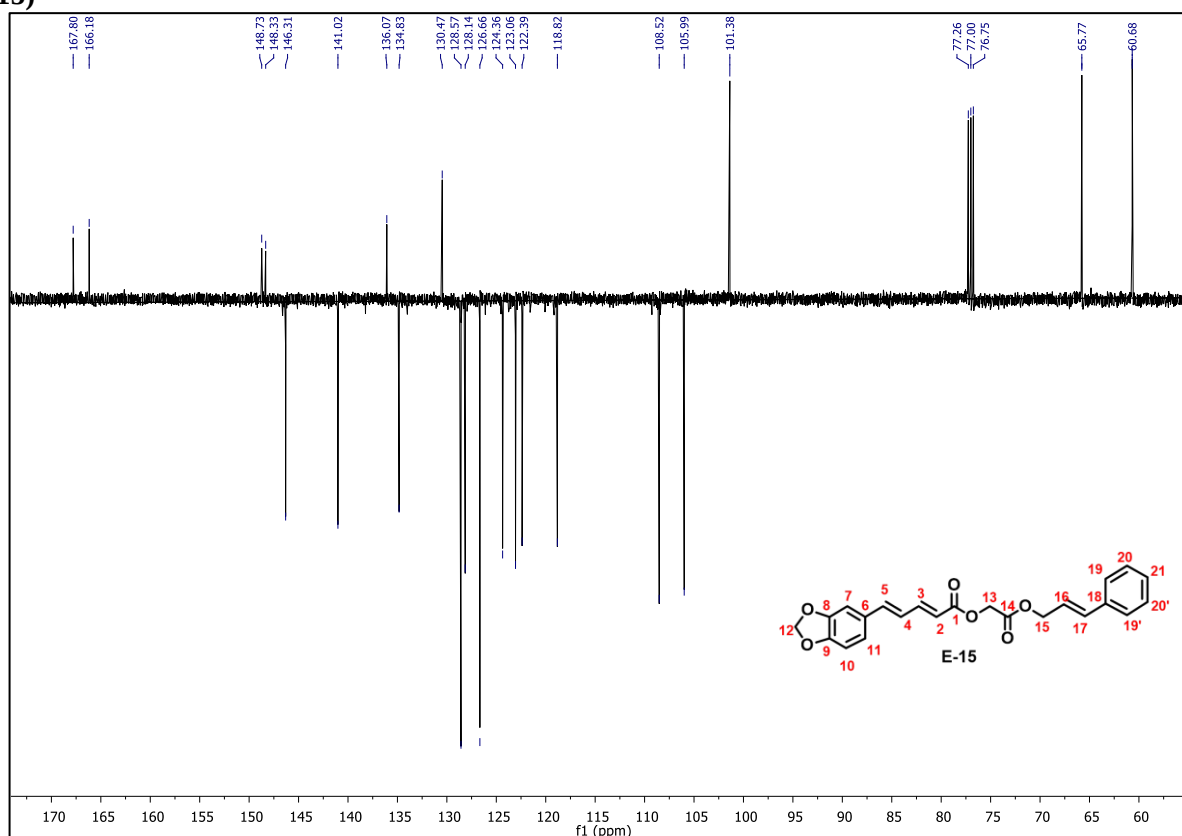


Espectro 180- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-dodecóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-12**).



Espectro 183- Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-14**)**Espectro 184-** Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (**E-14**)

Espectro 185- Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-fenóxi-2-oxo-piperato de etila (E-14)**Espectro 186-** Espectro de Infravermelho (ATR) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (E-15)

Espectro 187- Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-15**)**Espectro 188-** Espectro de RMN ^{13}C (CDCl_3 , 126 MHz) do 2-cinamióxi-2-oxo-piperato de etila (**E-15**)

ANEXO II: Certidão da Comissão de Ética no Uso de Animais para camundongos Swiss (*Mus musculus*).



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)**

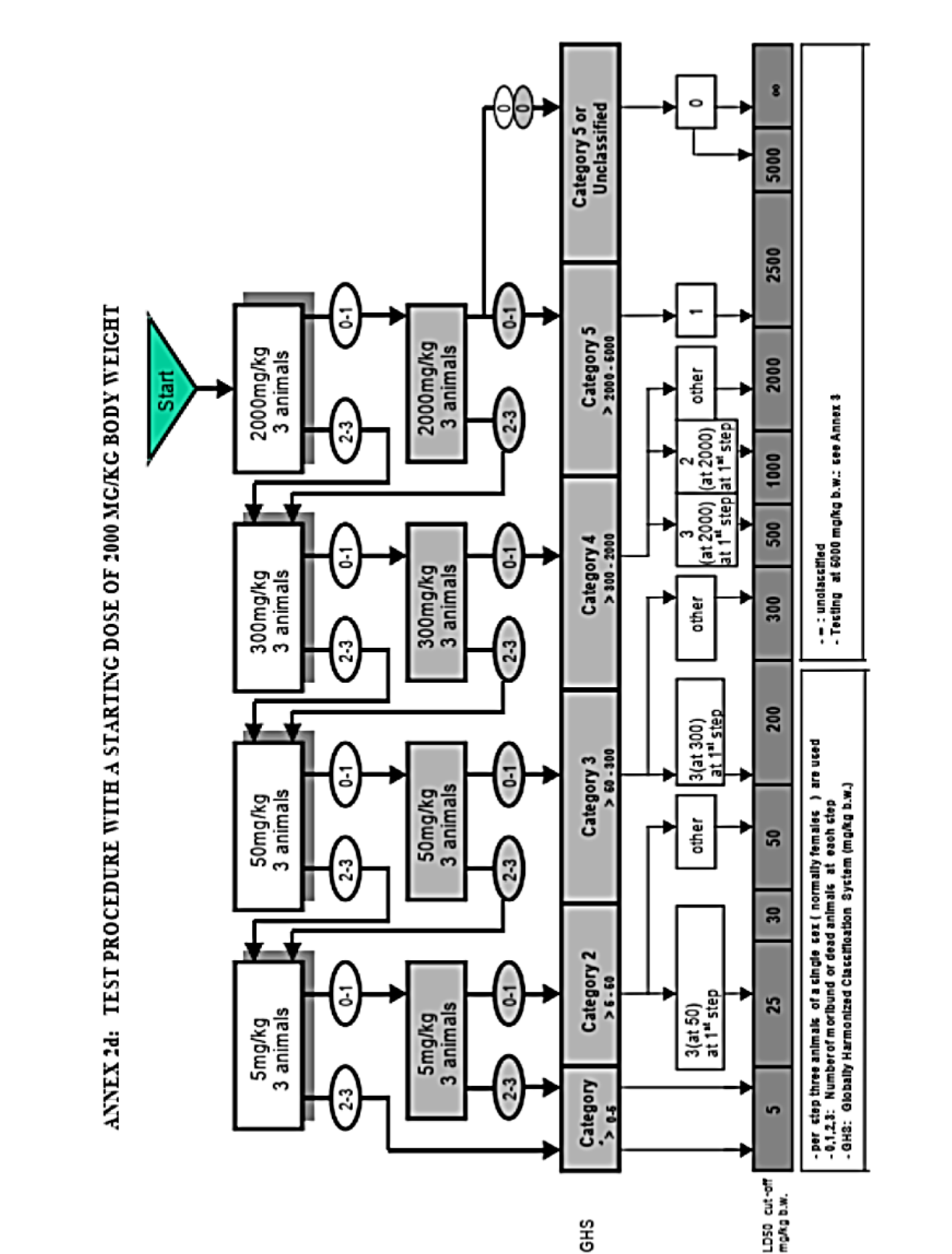


CERTIFICADO (2ª VIA)

Certificamos que o projeto intitulado “INVESTIGAÇÃO DA TOXICIDADE NÃO-CLÍNICA E DO POTENCIAL ANTITUMORAL DE NOVOS DERIVADOS ACRIDÍNICOS, QUINOLÍNICOS, PIPERÍNICOS E TIOFÊNICOS” protocolo nº 110/2017 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 pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB) em reunião de 05/10/2017. Com aprovação “*ad referendum*” de adendo em 23/07/2018.

Vigência do Projeto	2017 - 2019
Espécie/linhagem	<i>Mus musculus</i> / Swiss
Número de animais	354 animais
Idade/peso	6 – 8 semanas/ 28 - 32 g
Sexo	Fêmeas
Origem	Unidade de Produção Animal (UPA) do IPeFarM - UFPB

Profa. Dra. Islania Giselia Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da CEUA-UFPB



ANEXOS IV: PATENTES E PUBLICAÇÕES

PATENTES

- **Número de depósito:** BR102019022599-8 A2
Título: Diésteres derivados da piperina para tratamento do câncer.
Data do Depósito: 29/10/2019
Data da Publicação Nacional: 11/05/2021
- **Número de depósito:** BR102019023888-7 A2
Título: Compostos derivados da piperina para tratar doenças fúngicas.
Data do Depósito: 13/11/2019
Data da Publicação Nacional: 25/05/2021

PUBLICAÇÕES

Artigo 1:



<http://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200053>

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 31, No. 8, 1668-1678, 2020
 Printed in Brazil - ©2020 Sociedade Brasileira de Química

Article

New Diesters Derived from Piperine: *in silico* Study and Evaluation of Their Antimicrobial Potential

Emmely O. Trindade,^a Helivaldo D. S. Souza,^a Maria Cláudia R. Brandão,^b
 Hermes D. Neto,^c Edeltrudes O. Lima,^c Bruno F. Lira,^a Petrônio F. de Athayde-Filho^a
 and José M. Barbosa-Filho^{*,c}

^aDepartamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

^bInstituto Federal da Paraíba, Campus Areia, 58397-000 Areia-PB, Brazil

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba,
 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

Artigo 2:



<https://dx.doi.org/10.21577/0103-5053.20200140>

J. Braz. Chem. Soc., Vol. 31, No. 12, 2590-2602, 2020
 Printed in Brazil - ©2020 Sociedade Brasileira de Química

Article

Synthesis, *in silico* Study and Antimicrobial Activity of New Piperine Derivatives Containing Substituted δ -Esters

Emmely O. Trindade,^a Thalisson F. Dutra,^a Maria C. R. Brandão,^b
 Hermes Diniz Neto,^c Edeltrudes O. Lima,^c Bruno F. Lira,^a
 Petrônio F. de Athayde-Filho^a and José M. Barbosa-Filho^{*,c}

^aDepartamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

^bInstituto Federal da Paraíba, Campus Areia, 58397-000 Areia-PB, Brazil

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba,
 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

Artigo 3:

Biomedicine & Pharmacotherapy 128 (2020) 110247



Contents lists available at ScienceDirect

Biomedicine & Pharmacotherapy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bioph

Original article

A novel piperine analogue exerts *in vivo* antitumor effect by inducing oxidative, antiangiogenic and immunomodulatory actions

Rafael Carlos Ferreira^a, Tatianne Mota Batista^a, Sâmia Sousa Duarte^a, Daiana Karla Frade Silva^a,
 Thaís Mangeon Honorato Lisboa^a, Raquel Fragoso Pereira Cavalcanti^a, Fagner Carvalho Leite^a,
 Vivianne Mendes Manguiera^a, Tatyanna Kélvia Gomes de Sousa^a,
 Renata Albuquerque de Abrantes^a, Emmely Oliveira da Trindade^b,
 Petrônio Filgueiras de Athayde-Filho^b, Maria Cláudia Rodrigues Brandão^b,
 Karina Carla de Paula Medeiros^c, Davi Felipe Farias^d, Marianna Vieira Sobral^{a,*}

^a Postgraduate Program in Natural Products and Bioactive Synthetics, Federal University of Paraíba, 58051-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^b Postgraduate Program in Chemistry, Federal University of Paraíba, 58051-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil

^c Department of Morphology, Center of Biosciences, Federal University of Rio Grande do Norte, 59078-970, Rio Grande do Norte, Brazil

^d Department of Molecular Biology, Federal University of Paraíba, 58051-970, João Pessoa, Paraíba, Brazil

<https://doi.org/10.1016/j.bioph.2020.110247>