

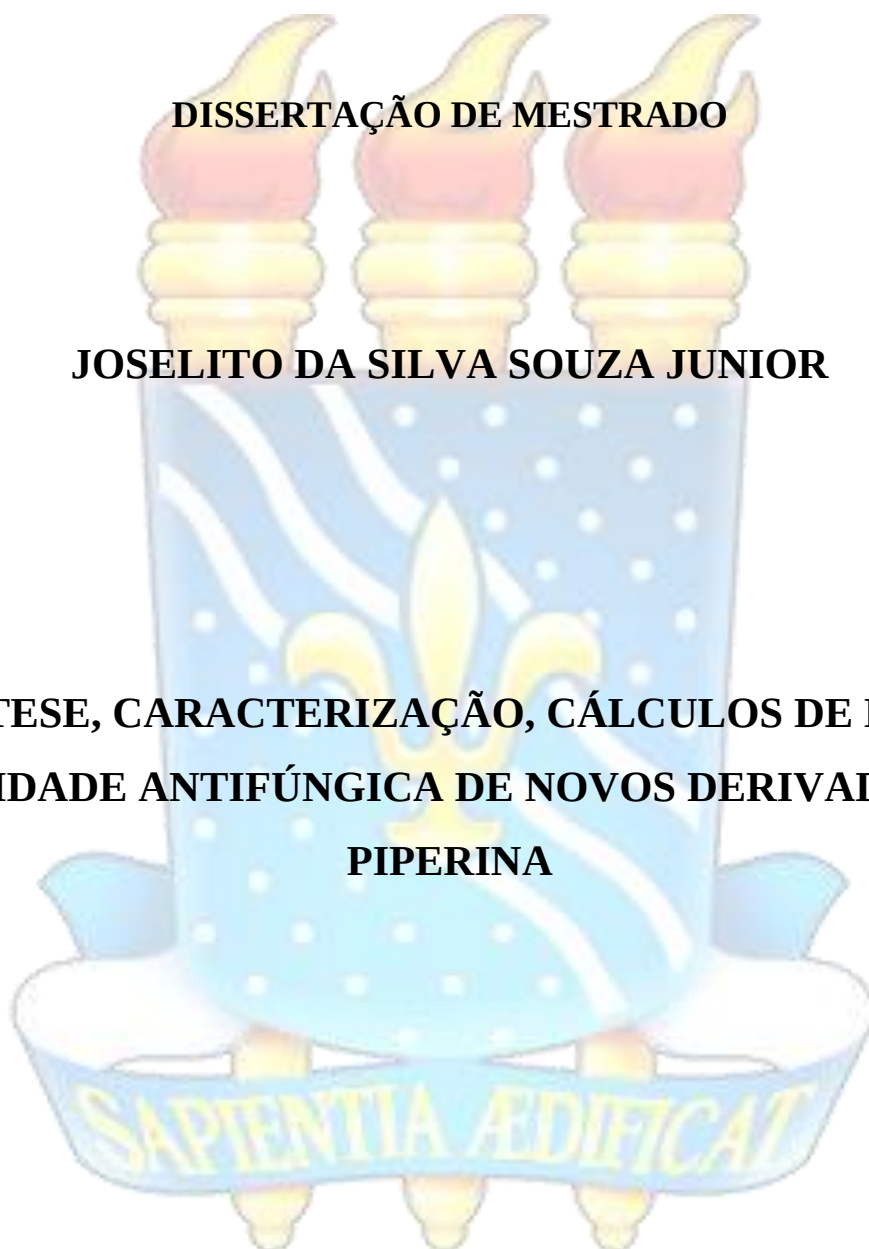


**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

JOSELITO DA SILVA SOUZA JUNIOR

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, CÁLCULOS DE DFT E
ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE NOVOS DERIVADOS DA
PIPERINA**



João Pessoa – PB - Brasil

Julho, 2021

JOSELITO DA SILVA SOUZA JUNIOR*

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO, CÁLCULOS DE DFT E ATVIDADE
ANTIFÚNGICA DE NOVOS DERIVADOS DA PIPERINA**

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

Orientador: Prof Dr Petrônio Filgueiras de Athayde Filho

***Bolsista CAPES**

João Pessoa – PB - Brasil

Julho, 2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S729s Souza Junior, Joselito da Silva.

Síntese, caracterização, cálculos de DFT e atividade antifúngica de novos derivados da piperina / Joselito da Silva Souza Junior. - João Pessoa, 2021.

95 f. : il.

Orientação: Petrônio Filgueiras de Athayde Filho.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN.

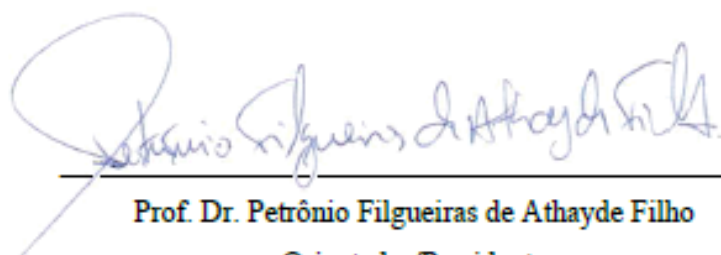
1. Antifúngico - Derivados da piperina. 2. Candida albicans - Estudo antifúngico. 3. Estudo teórico. I. Athayde Filho, Petrônio Filgueiras de. II. Título.

UFPB/BC

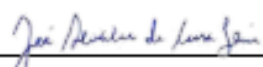
CDU 661.163.2(043)

Síntese, caracterização, cálculos de DFT e atividade antifúngica de novos derivados da piperina.

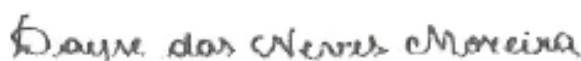
Dissertação de Mestrado apresentada pelo aluno Joselito da Silva Souza Junior e aprovada pela banca examinadora em 30 de Julho de 2021.



Prof. Dr. Petrónio Filgueiras de Athayde Filho
Orientador/Presidente



Prof. Dr. José Alixandre de Sousa Luís
Examinador



Profa. Dra. Dayse das Neves Moreira
Examinadora

“Agradeço a Deus, aos meus pais e a minha esposa pelo apoio incondicional em todos os momentos difíceis da minha trajetória acadêmica. Este trabalho é dedicado a eles.”

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me fornecer forças e saúde para poder alcançar meu sonho diante de tantas dificuldades encontradas. Muito obrigado por guiar meu caminho, minhas conquistas, minha vida. Muito obrigado por nunca desistir de mim Deus.

Aos meus pais a quem devo a minha vida e todo meu amor, Joselito da Silva Souza e Carmen Dolores Marques da Silva. Diante de tanta luta e determinação de vocês em sempre colocar meus estudos em primeiro lugar, consegui realizar esse sonho, vocês são minha maior inspiração, se hoje cheguei onde estou foi por causa de vocês. Muito obrigado Pai e Mãe por sempre estarem comigo nas minhas maiores vitórias.

Ao meu irmão Cleyton Marques da Silva, que sempre me apoiou nos meus estudos mesmo diante de tantas dificuldades nunca me disse não, muito obrigado meu irmão, te amo muito, essa vitória também é para você.

A minha esposa Danielle Costa da Silva, que me incentivou muito a terminar meu mestrado e me apoiou bastante além, de entender minhas ausências para encontrá-la. Te amo meu amor, obrigado por existir na minha vida e por me apoiar sempre, a você deixo meus agradecimentos.

Ao meu orientador Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho, por me auxiliar nessa jornada, por acreditar e me mostrar que tenho potencial para conquistar meus sonhos. Agradeço também ao Dr. Helivaldo Diógenes pelo apoio nessa jornada tão difícil e desafiadora. Agradeço a UFPB e a CAPES pelos incentivos.

Contudo e não menos importante, agradeço a todos os professores por todo o conhecimento adquirido e por sempre estarem a disposição para os alunos quando necessário. Obrigado.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”. (Marthin Luther King)

RESUMO

Este trabalho descreve a síntese de quatro novos derivados da piperina (**PC1-PC4**), que foram obtidos através da reação de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2) entre bromoacetofenonas e piperato de potássio com rendimentos que variam entre 58% e 65%. Os compostos foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho (IR), RMN de 1H e ^{13}C . Para os compostos foram feitos cálculos quânticos utilizando a teoria funcional da densidade (DFT) na base B3LYP-D3/6-31G(d,p) e 6-311+G(2d,p) e com isso foram obtidas as propriedades eletrônicas de cada molécula para verificar o gap de energia entre os orbitais HOMO e LUMO e alguns descritores globais de reatividade química como Eletrofilicidade, Potencial Químico e Dureza, os quais foram utilizados para estudar a reatividade e a estabilidade dos compostos supracitados. Os deslocamentos químicos de 1H e ^{13}C foram calculados usando o método de orbital atômico gauge-invariante (GIAO) e comparados com os valores experimentais. Além disso, os cálculos de coeficiente de determinação (R^2) para o deslocamento químico do ^{13}C variou entre 0,96 - 0,99, já o deslocamento químico do 1H variou entre 0,90 - 0,97. O R^2 foi realizado para determinar qual composto sintetizado possuía a melhor correlação entre os deslocamentos químicos experimentais e os calculados, e a **PC3** foi a substância com melhor coeficiente de determinação foi o PC3. Os compostos foram avaliados em um estudo antifúngico contra cepas de *Candida albicans* ATCC 76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM-122, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-04, *C. krusei* LM-656, *C. krusei* LM-13, *Trichophyton rubrum* LM-49, *Microsporum canis* LM-12, *M. gypseum* LM-512, *Aspergillus flavus* LM-171, LM-248, *Aspergillus niger* LM-22, *Penicillium citrinum* LM-278, LM-161, *Cladosporium* sp LM-283. Após o estudo antifúngico o composto **PC4** apresentou 81,25% de inibição em dezesseis cepas testadas com concentração inibitória mínima (MIC) variando entre 1,23-2,46 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ e a concentração fungicida mínima (MFC) variou entre 9,84-19,68 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ apresentando um efeito fungistático.

Palavras-chave: Derivados da piperina. Estudo Teórico. Estudo antifúngico.

ABSTRACT

This work describes the synthesis of four new piperine derivatives (PC1-PC4), which were obtained through the bimolecular nucleophilic substitution reaction (S_N2) between bromoacetophenones and potassium piperate with yields ranging between 58% and 65%. The compounds were characterized by infrared spectroscopy (IR), NMR of 1H and ^{13}C . For the compounds, quantum calculations were made using the density functional theory (DFT) on the basis of B3LYP-D3/6-31G(d,p) and 6-311+G(2d,p) and with this the electronic properties of each molecule to verify the energy gap between the HOMO and LUMO orbitals and some global chemical reactivity descriptors such as Electrophilicity, Chemical Potential and Hardness, which were used to study the reactivity and stability of the aforementioned compounds. The 1H and ^{13}C chemical shifts were calculated using the gauge-invariant atomic orbital method (GIAO) and compared with the experimental values. In addition, the calculations of coefficient of determination (R^2) for the chemical shift of ^{13}C ranged between 0.96 and 0.99 and for 1H ranged between 0.90 and 0.97, R^2 was performed to determine which synthesized compound had the best correlation between experimental and calculated chemical shifts, and PC3 was the substance with the best coefficient of determination was PC3. The compounds were evaluated in an antifungal study against strains of *Candida albicans* ATCC 76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM-122, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-04, *C. krusei* LM-656, *C. krusei* LM-13, *Trichophyton rubrum* LM-49, *Microsporum canis* LM-12, *M. gypseum* LM-512, *Aspergillus flavus* LM-171, LM-248, *Aspergillus niger* LM-22, *Penicillium citrinum* LM-278, LM-161, *Cladosporium* sp LM-283. After the antifungal study, the PC4 compound showed 81.25% inhibition in sixteen strains tested with a minimum inhibitory concentration (MIC) value ranging from 1.23-2.46 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ and the minimum fungicidal concentration (MFC) varied between 9.84-19.68 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ showing a fungistatic effect.

Keywords: Piperine derivatives. Theoretical Study. Antifungal study.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Pimenta-do-reino seca.....	25
Figura 2: Cristais de Piperina	26
Figura 3: Estrutura química da piperina	26
Figura 4: Estruturas derivadas da piperina com atividades larvicidas (1), antifúngicas (2), tripanocidas (3), antidiabéticas (4) e antitumoral (5).	28
Figura 5: estrutura geral para obtenção dos compostos (3a-o) por Wahab et al, 2015	30
Figura 6: Estrutura Geral derivada da Piperina segundo Trindade et al, 2020.....	31
Figura 7: Substituintes (7a-o) utilizado para determinação do MIC	32
Figura 8: Via sintética das moléculas alvo (PC1-PC4)	42
Figura 9: Obtenção do Piperato de Potássio	42
Figura 10: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, D_2O) do Piperato de Potássio (1)	43
Figura 11: Obtenção das bromoacetofenonas.....	44
Figura 12: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-acetofenona (9a) ..	44
Figura 13: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-acetofenona (9a) ...	45
Figura 14: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'-nitroacetofenona (9b)	46
Figura 15: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'-nitroacetofenona (9b)	47
Figura 16: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-3'- metilacetofenona (9c).....	48
Figura 17: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'- mitilacetofenona (9c).....	49
Figura 18: Via de síntese para a obtenção dos compostos (PC1-PC4).....	49
Figura 19: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2-oxo-2-feniletil-piperato (PC1).....	51
Figura 20: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) do composto 2-oxo-2-feniletil- piperato (PC1)	52
Figura 21: Espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-oxo-2-feniletil- piperato (PC1)	53
Figura 22: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil-piperato (PC2).....	54
Figura 23: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) do composto 2- (4-nitrofenil) -2- oxoetil-piperato (PC2)	55

Figura 24: Espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil-piperato (PC2)	56
Figura 25: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (PC3)..	57
Figura 26: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (PC3)	58
Figura 27: Espectroscopia de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (PC3)	59
Figura 28: Espectroscopia de IR (ATR) do composto 2-(4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4).....	60
Figura 29: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4)	61
Figura 30: RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4)	62
Figura 31: Geometrias otimizadas das quatro conformaçõess de menor energia do composto PC1, calculados por B3LYP-D3 / 6-311 + G (2d, p) em clorofórmio.	63
Figura 32: Potencial eletrostático molecular para derivados de piperina, calculado no nível B3LYP / 6-311 + G (2d, p).....	64
Figura 33: Gráficos HOMO e LUMO para compostos PC1, PC2.	65
Figura 34: Gráficos HOMO e LUMO para compostos PC3 e PC4.	65
Figura 35: O sistema de numeração utilizado em derivados de piperina para análise ^1H e ^{13}C RMN, em que R= H, NO ₂ , CH ₃ , Br.....	67
Figura 36: Extração da piperina.....	94
Figura 37: Obtenção do Piperato de Potássio.....	95
Figura 38: Obtenção das Bromoacetofenonas	96
Figura 39: Obtenção da estrutura geral para os compostos (PC1-PC4)	98
Figura 40: Estrutura do composto PC1 com definição dos ângulos diedrais	104
Figura 41: Superfície de energia potencial do composto PC1 calculado por B3LYP-D3 / 6-Método31G(d,p), considerando a rotação sobre o ângulo diédrico O-C-CO.....	105
Figura 42: Superfície de energia potencial do composto PC1 calculado por B3LYP-D3 / 6-Método31G(d,p), considerando a rotação sobre o ângulo diédrico C-C-O-C.....	105
Figura 43: Equações utilizadas para avaliar os descritores dureza química (η), potencial químico eletrônico (μ) e eletrofilicidade (ω), a partir das energias Homo e Lumo.....	106
Figura 44: Equação de desvio médio absoluto (MAD)	107

Figura 45: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC1.....	101
Figura 46: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC1.....	102
Figura 47: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC2.....	102
Figura 48: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC2.....	103
Figura 49: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC3.....	103
Figura 50: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC3.....	104
Figura 51: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC4.....	104
Figura 52: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC4.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Atividade antibacteriana e antifúngica in vitro dos compostos (3a-o)	29
Tabela 2: Concentração inibitória mínima (MIC) dos substituintes (7a-o) utilizado por Trindade et al, (2020).	31
Tabela 3: Estruturas derivadas da piperina (PC1-PC4)	40
Tabela 4: Compostos intermediários sintetizados.	41
Tabela 5: Características dos compostos finais (Rendimento, Massa Molar, P.F dos substtuintes usados)	50
Tabela 6: Energia relativa de Gibbs, população de Boltzmann (a 298,15 K) e ângulo diédrico dos confômeros de menor energia do composto PC1 calculado pelo método B3LYP-D3 / 6-311 + G (2d, p).	63
Tabela 7: Descritores de DFT calculados no nível B3LYP / 6-311 + G (2d, p).	66
Tabela 8: Deslocamento químico (experimental e calculado) dos carbonos (C1-C18) RMN ¹³ C dos derivados de piperina em clorofórmio e solventes DMSO usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p).	67
Tabela 9: Coeficientes angulares, lineares, e de determinação, referentes à equação da reta de cada abordagem para o ¹³ C.	68
Tabela 10: Deslocamento químico dos RMN ¹ H (experimental e calculado) dos derivados da piperina em clorofórmio e solventes DMSO usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p).	69
Tabela 11: Coeficientes angulares, lineares, e de determinação referentes à equação da reta de cada abordagem para o ¹ H.	70
Tabela 12: Atividade antifúngica (valores MIC e MFC em $\mu\text{mol mL}^{-1}$) dos compostos PC1-PC4.	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

δ	Deslocamento químico
ATR	Refletância Total Atenuada
CFM	Concentração Fungicida Mínima (Minimum Fungicidal Concentration)
CIM	Concentração Inibitória Mínima (Minimum Inhibitory Concentration)
DFT	Teoria do funcional da densidade (Density Functional Theory)
IR	Espectroscopia na Região do Infravermelho
MHz	Mega Hertz
MM	Massa Molar
S_N2	Substituição nucleofílica bimolecular
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
ν	Frequência
FTIR	Infravermelho por transformada de Fourier

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	19
2. OBJETIVOS	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	24
3.1 A PIMENTA DO REINO	24
3.2 APLICAÇÃO BIOLÓGICA.....	26
3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COMPOSTOS DERIVADOS DA PIPERINA ..	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
4.1 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL.....	40
4.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS E COMPOSTOS FINAIS (PC1-PC4).....	42
4.2.1 SÍNTESE DO PIPERATO DE POTÁSSIO	42
4.2.2 SÍNTESE DAS BROMOACETOFENONAS	43
4.2.2.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H DO COMPOSTO (9a).....	44
4.2.2.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹³ C DO COMPOSTO (9a)	45
4.2.2.3 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H DO COMPOSTO (9b)	45
4.2.2.4 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹³ C DO COMPOSTO (9b)	46
4.2.2.5 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹ H DO COMPOSTO (9c).....	47
4.2.2.6 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹³ C DO COMPOSTO (9c).....	48
4.2.3 ESTUDOS QUÍMICOS DOS DERIVADOS DA PIPERINA (PC1-PC4)	49
4.2.3.1 COMPOSTO 2-OXO-2-FENILETIL-PIPERATO (PC1).....	50
4.2.3.2 COMPOSTO 2-(4-NITROFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (PC2).....	53
4.2.3.3 COMPOSTO 2-OXO-2-(4-TOLIL) ETIL-PIPERATO (PC3).....	56
4.2.3.4 COMPOSTO 2- (4-BROMOFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (PC4)	59
4.4 ANÁLISE CONFORMACIONAL.....	62
4.5 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DOS COMPOSTOS (PC1- PC4)	64
4.6 CÁLCULOS DE RMN.....	66
4.7 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....	70
5. CONCLUSÃO.....	73
6. METODOLOGIAS	93

6.1 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS	93
6.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO	93
6.2.1 PROCEDIMENTOS PARA EXTRAÇÃO DA PIPERINA	94
6.3 PREPARAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS PIPERATO DE POTÁSSIO E OS COMPOSTOS (9a – 9d).....	95
6.3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO PIPERATO DE POTÁSSIO	95
6.3.2 PROCEDIMENTO GERAL DE SÍNTESES DAS BROMOCETOFENONAS (9a-d)...	95
6.3.3 SÍNTESE DO 2-BROMOACETOFENONA (9a)	96
6.3.4 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-NITROACETOFENONA (9b).....	97
6.3.5 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-METILACETOFENONA (9c)	97
6.3.6 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-BROMOACETOFENONA (9d)	98
6.4 PROCEDIMENTO GERAL DE SÍNTESE DOS DERIVADOS DA PIPERINA (PC1-PC4)	98
6.4.1 SÍNTESE DO 2-OXO-2-FENILETIL-PIPERATO (PC1)	99
6.4.2 SÍNTESE DO 2-(4-NITROFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (PC2)	100
6.4.3 SÍNTESE DO 2-OXO-2- (4-TOLIL)-ETIL-PIPERATO (PC3).....	101
6.4.4 SÍNTESE DO 2-(4-BROMOFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (PC4)	102
6.5 ESTUDOS COMPUTACIONAIS	103
6.5.1 ESTUDO CONFORMACIONAL E OTIMIZAÇÃO DA GEOMETRIA.....	103
6.5.2 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS	105
6.5.3 CÁLCULO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)	106
6.6 ESTUDOS DE ATIVIDADES ANTIFÚNGICAS	107
6.6.1 SUBSTÂNCIAS TESTE	107
6.6.2 MEIOS DE CULTURA	107
6.6.3 MICROORGANISMOS.....	107
6.6.4 INÓCULO	108
6.6.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC)	108
6.6.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (MFC)	109
REFERÊNCIAS	111
ANEXO.....	101
GRÁFICO – PC1	101
GRÁFICO – PC2	102
GRÁFICOS – PC3	103
GRÁFICO – PC4	104

CAPÍTULO 1

Introdução

1.INTRODUÇÃO

A Química Medicinal é uma área de pesquisa que envolve a química, em especial a química orgânica e a farmacologia . A química medicinal envolve aspectos importantes das Ciências Farmacêuticas, Médicas e Biológicas, a Química Medicinal estuda as razões moleculares da ação dos fármacos, sua descoberta/invenção empregando abordagens e estratégias interativas multidisciplinares, tem como foco a síntese e desenvolvimento de medicamentos a partir de produtos naturais. Um dos produtos mais utilizados são as plantas medicinais que vêm sempre se apresentando como fonte viável de tratamento contra algumas enfermidades como gripe, doenças do trato digestivo ou intestinal, dor de cabeça, insônia, doenças de pele entre outros (CARDOSO, 2005). A pesquisa de novos compostos imunoestimulantes, que possam ser usados por longos períodos e sem efeitos colaterais ainda é um grande desafio, entretanto a química medicinal avançou significativamente nos últimos anos. Nesse período, surgiram novas doenças e novos fármacos naturais inovadores para o tratamento de enfermidades que até então causavam altas taxas de mortalidade ou debilitavam as populações como exemplo temos os óleos de copaíba que é obtido a partir das raízes da árvore copaíba e dela é extraído o β -bisabolol (antiirritantes, antiinflamatórias e antimicrobianas) e o β -cariofileno (bactericida, antitumoral e anti-inflamatório) (AMARAL et al, 2017).

Com o passar dos tempos à necessidade de desenvolvimento de fármacos para combater doenças foi se tornando cada vez mais necessária. As indústrias farmacêuticas vêm buscando moléculas com maior seletividade e menor latência de ação, toxicidade e efeitos colaterais. Essas características conferem uma boa qualidade ao medicamento para o tratamento de uso contínuo pelos pacientes e como consequência, garantindo maior tolerância ao uso prolongado (COSTA, 2017).

Uma molécula que vem sendo utilizada pela química medicinal é a piperina, ela é um alcalóide natural e um dos principais metabólitos secundários encontrado na *Piper nigrum* ou pimenta do reino. Entretanto, a piperina também pode ser encontrada em outras espécies do gênero *Piper*, tais como *P. guineense*, *P. interruptum*, *P. sarmentosum* e *P. chaba*. O alcalóide amida tem eficácia farmacológica, como antifúngico, antibacteriano, analgésico, antipirético,

antiinflamatório, antileishmaniano, larvicida (FERREIRA et al. 2014). Um alcalóide com eficácia fúngica é bastante importante porque cerca de 4 milhões de pessoas devem ter infecções fúngicas no Brasil a cada ano, desse total, 2,8 milhões são infecções causadas por *Candida* e 1 milhão por *Aspergillus*, que avançam principalmente em pessoas com o sistema imunológico enfraquecido em razão do uso de medicamentos contra rejeição de órgãos transplantados, câncer ou Aids e também do uso intensivo de antibióticos (FIORAVANTI, 2016). Para minimizar esses efeitos a piperina vem sendo utilizada em conjuntos com outros medicamentos como a Anfotericina B para evitar o crescimento ou até mesmo a morte celular do fungo.

Na indústria farmacêutica a piperina é vista como uma molécula com grande variedade e potencial farmacológico. A piperina possui várias atividades farmacológicas úteis e excelentes propriedades terapêuticas já comprovadas, incluindo atividade antiparasitária, antipirética e analgésica, antiinflamatória, contraceptiva e antiespermatogênica, inseticida, imunomoduladora e anticarcinogênica (ALBUQUERQUE, 2020). Além da ação antimicrobiana, a piperina apresenta atividade antioxidante que evita a ocorrência de danos celulares oxidativos através da inativação de radicais livres e formas reativas de oxigênio.

O uso da piperina pode ser uma ferramenta extremamente importante e alternativa para reduzir possíveis danos causados pelo estresse oxidativo em patologias como o câncer e o diabetes (ALBUQUERQUE, 2020).

Assim, levando em conta o potencial da piperina na construção para o desenvolvimento de candidatos a drogas, descreve-se a síntese e caracterização de quatro compostos utilizando-se espectroscopia de infravermelho (IR), ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN). Além disso, as propriedades conformacionais, eletrônicas e espectroscópicas dos compostos foram calculadas usando a teoria funcional da densidade (DFT). Usando este método, os parâmetros químicos quânticos, tais como dureza (η), potencial químico (μ) e índice eletrofílico (ω) foram calculados para caracterizar sua reatividade química global. Os desvios químicos de ^1H e ^{13}C RMN foram calculados e utilizados para avaliar a correlação entre dados teóricos e experimentais. Além disso, foi incluído um estudo preliminar da atividade antifúngica dos compostos contra 10 espécies de fungos (7 leveduras e 3 filamentosas), mas em um segundo momento outras 6 cepas foram estudadas, determinado assim os seus MIC e MFC de cada composto sintetizado.

CAPÍTULO 2

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Esse trabalho de pesquisa científica teve por objetivo sintetizar 4 (quatro) novos compostos a partir da piperina e determinar as substâncias candidatas a agentes antimicrobianos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter a piperina através da técnica de extração por Soxhlet;
- Obter os compostos finais (**PC1-PC4**) a partir da reação entre as bromoacetofenonas e o piperato de potássio;
- Avaliar o potencial antifúngico dos compostos (**PC1-PC4**) para determinar se as moléculas apresentam efeito fugistático ou fungicida.
- Realizar os cálculos químicos quânticos utilizando a teoria funcional da densidade (DFT) na base B3LYP-D3/6-31G(d,p) e 6-311+G(2d,p) dos compostos (**PC1-PC4**).
- Calcular os deslocamentos químicos de ^1H e ^{13}C RMN utilizando o método de orbital atômico gauge-invariante (GIAO) e compará-los com valores experimentais.

CAPÍTULO 3

Fundamentação Teórica

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 A PIMENTA DO REINO

A pimenta-do-reino, uma das especiarias mais antigas conhecidas, é originária do sudeste da Índia e, mais especificamente, da Floresta Kerala do sul da África (PISSINATE, 2006). Essa especiaria está relacionada ao gênero *Piper* que pertence à família das *Piperaceae*. Elas são formadas aproximadamente por cerca de 2500 espécies, no Brasil está constituída por quatro gêneros e cerca de 500 espécies. São encontradas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais (DUARTE, 2004).

A pimenteira é uma planta trepadeira que pode atingir cerca de 4 metros de altura. Seus frutos, são compostos por sementes, logo é do tipo drupa. Entre os anos de 1401 a 1500, seus frutos constituíram a especiaria de maior interesse comercial ao longo da história, sendo esta relacionada como moeda de troca, chegando até a valer mais que o próprio ouro (PISSINATE, 2006).

As flores da pimenteira são pequenas, de cores brancas e em forma de espigas, já seus frutos possuem formato globular de coloração vermelha quando maduros e escuros e rugosos quando passam pelo processo de secagem (GRACIA et al. 2000; PISSINATE, 2006).

As sementes são caracterizadas pelo grau de maturação que elas recebem e isso pode resultar em um sabor mais intenso, ou seja, picante. O Brasil, por ser um país tropical, o cultivo da pimenta vem crescendo consideravelmente principalmente nos estados do Espírito Santo, Sul da Bahia e Pará que atualmente é o maior produtor nacional responsável por quase 70% da produção do país. Entre os anos de 2015 e 2017 a plantação de pimenta no Brasil cresceu cerca de 28%, passando de 22.384 mil hectares para 28.799 mil/ha. No mesmo intervalo de tempo a produção saiu de 51.739 mil toneladas para 79.371 mil/ton em 2017, crescimento aproximado de 53% (IBGE, 2017). A grande quantidade de pimenta produzida no país é determinada por dois fatores importantes clima e solo.

As plantas, em sua grande maioria, dependem de um bom clima e um determinado solo para o seu desenvolvimento. A pimenta do reino tem uma certa facilidade de adaptação em relação ao solo, ela necessita apenas de um solo bem drenado e que este possua um bom teor de argila para fazer a retenção da umidade quando se tratar de períodos do ano mais secos, mas os solos não devem ser de várzea, uma vez que eles são muito enxarcados e prejudicam o desenvolvimento das raízes e ocasionando aparecimentos de fungos (EMBRAPA, 2004).

A partir dos processos de plantio e clima e solo e colheita, a pimenta consegue se desenvolver ao ponto de ser comercializada e ser utilizada para fins farmacológicos como a extração da piperina. A piperina é um composto orgânico da classe dos alcaloides que é obtido a partir da pimenta preta ou pimenta-do-reino. A piperina foi descoberta por volta do século XIX por Hans Christian Ørsted, que a identificou entre os frutos de *Piper nigrum* (RAFAEL, 2013). A obtenção é feita através do processo de extração que produz quantidades de 3 a 7% do composto. Essa substância pode ser de origem de fontes naturais e renováveis, pode ser obtida várias vezes durante o ano. “A piperina produz ardência através da ação causticante, queimando as células superficiais da mucosa atingida” (SEMEDO et al, 2004). A figura 1 mostra a pimenta-do-reino seca utilizada para obtenção da piperina.

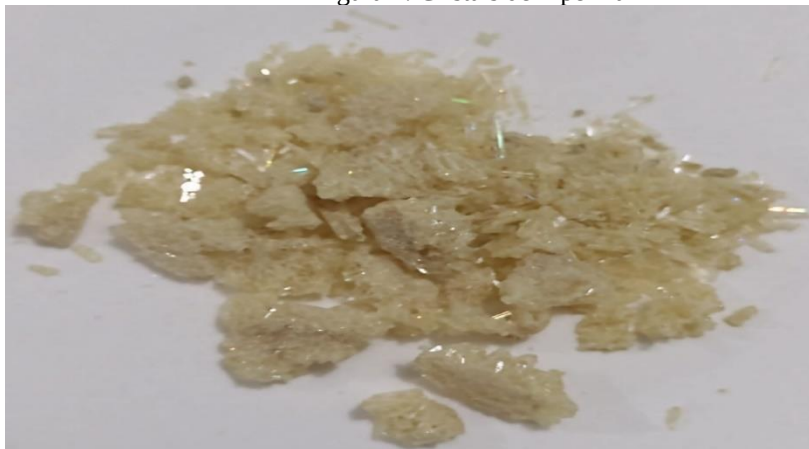
Figura 1: Pimenta-do-reino seca



Fonte: Próprio autor, 2021

A Piperina é uma substância cristalina, que pode apresentar diferença de coloração. Na figura 2 é possível observar os cristais de piperina que foram extraídos a partir da pimenta-do-reino. Os cristais de piperina apresentaram a coloração amarelo-pálido.

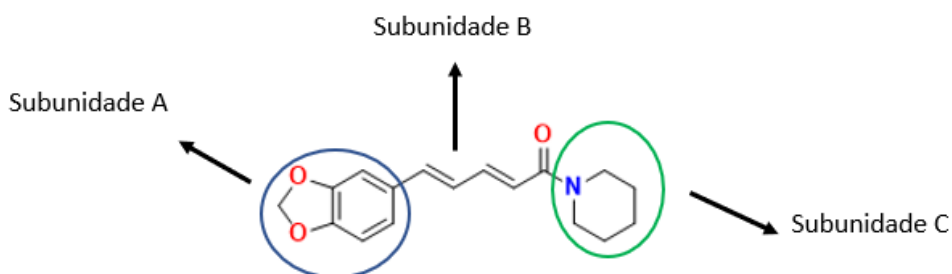
Figura 2: Cristais de Piperina



Fonte: Próprio autor, 2021

Na figura 3 é possível observar a estrutura da piperina que é composta por três partes fundamentais, um grupo 1,3- benzodioxola (subunidade A), uma cadeia de ácido pentadienóico (subunidade B) e um grupamento amida constituída de um anel de piperidina (subunidade C).

Figura 3: Estrutura química da piperina



Fonte: Próprio autor, 2021

3.2 APLICAÇÃO BIOLÓGICA

Segundo Dignani (2009), a piperina vem sendo investigada por muitos pesquisadores devido a sua aplicabilidade para com diversas atividades biológicas úteis. Entre elas, a piperina apresenta atividade antimicrobiana, anti-inflamatória, antiparasitária (doença de Chagas e leishmaniose), propriedades antioxidantes, entre outros.

Para ampliar as aplicabilidades da piperina como fármacos, neste trabalho, foi considerada como foco de pesquisa a atividade antimicrobiana de fungos patogênicos, como

leveduras e fungos filamentosos. Os fungos, são encontrados em diferentes habitats da terra, são microorganismos que participam da decomposição inicial nos ecossistemas e desempenham um importante papel ecológico principalmente no ciclo do carbono e reciclagem de nutrientes (QUEIROZ et al, 2020). Os fungos são encontrados muitas vezes em plantas, seres humanos e animais, são importantes para a agropecuária (controle biológico) e demonstram um grande potencial para produção biológica e biotecnológica. As leveduras (microorganismos eucarióticos predominantemente unicelulares do Reino Fungi) contribuíram para o processo científico, constituindo modelo celular de escolha na elucidação dos processos bioquímicos e metabólicos fundamentais das células vivas eucarióticas (BENTO, 2006).

Nos estudos das avaliações microbiológicas, foram utilizadas as seguintes leveduras: *Candida albicans*, *C. Tropicalis*, *C. Krusei*. Essas cepas possuem suas variações que também foram estudados na atividade antifúngica. Dentre essas cepas, a mais comum é a *C. albicans*, ela é a responsável pelas principais infecções de candidíase pelo mundo. Já a *C. Tropicalis* está entre a segunda ou terceira na causa de cândida em adultos, especialmente em casos em que os pacientes apresentam outras doenças como linfoma, leucemia, complicações hematológicas malignas, diabetes mellitus e câncer. Dentre as três cepas a *C. Krusei* é a que possui a maior quantidade de resistência aos fármacos antifúngicos, principalmente devido a sua resistência ao Fluconazol, Anfotericina B e a 5-fluorocitosina.

Assim como as leveduras, um grupo de fungos filamentosos também foi estudado. As cepas selecionadas foram: *Trichophyton rubrum*, *Microsporum canis*, *M. Gypseum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium sp.* Eles diferentemente das leveduras, são seres pluricelulares e isso faz com que eles possuam morfologias diferentes dos outros seres vivos.

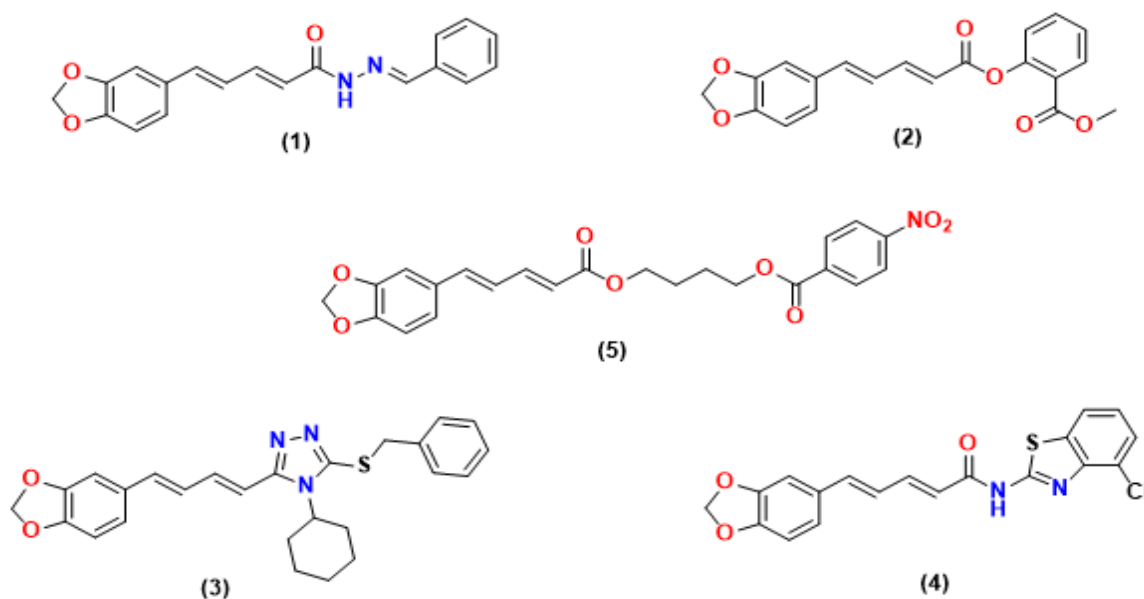
Quando as cepas tanto de fungos filamentosos quanto de leveduras são comparadas, é possível observar que as leveduras não toleram ambiente com pH alcalino enquanto que os filamentosos preferem um meio mais alcalino.

Existe uma gama de organismos vivos que há anos vem causando muito mal aos seres humanos, cada cepa estudada traz uma característica diferente a ser abordada e com a necessidade de desenvolvimento de substâncias capazes de dificultar seu desenvolvimento. A piperina, na atualidade, vem contribuindo para a descoberta de novos fármacos. As atividades

biológicas apresentadas em estudos farmacológicos pela piperina são muito amplas, evidenciando esta importante amida presente nas espécies do gênero *Piper* (COSTA, 2017).

Uma das primeiras aplicações da piperina ocorreu por volta de 1924, teve como papel a atividade inseticida, e após este feito, foram feitas inúmeras pesquisas para tentar identificar algumas características farmacológicas. Segundo Costa (2017), a piperina apresenta, até o momento as seguintes atividades biológicas: Amebicida, anticonvulsivante, Antichagásica, Antidepressiva, Antifúngica, Antiinflamatória, Antitérmica, Antitumoral, Fertilizante, Hepatoprotetora, Inseticida, Leshmanicida, Tripanocida e além disso é capaz de realizar a inibição da resistência bacteriana. Para que os Fármacos façam efeito é necessário que eles sejam administrados juntamente com a piperina, logo isso faz com que os níveis plasmáticos subam e os resultados sejam melhores. A vantagem dessa aplicação está na tentativa de criar algo diferente para administrar os fármacos, evitando assim vias mais dolorosas e consequentemente o uso de dosagens menores a partir do uso da piperina (RIBEIRO, 2004). Na figura 4 pode ser visto estruturas de alguns compostos sintetizados a partir da piperina que possuem aplicabilidades farmacológicas diferentes como larvicidas (1), antifúngicas (2), tripanocidas (3), antidiabéticas (4) e antitumoral (5).

Figura 4: Estruturas derivadas da piperina com atividades larvicidas (1), antifúngicas (2), tripanocidas (3), antidiabéticas (4) e antitumoral (5).



Não se pode deixar de perceber que as espécies do gênero *piper* apresentam grande quantidade de moléculas bioativas. Os seus diversos efeitos biológicos e suas aplicações foram relatadas e reconhecidas por vários cientistas no mundo, onde por meio de testes: *In vitro e in vivo* confirmaram uma série de efeitos benéficos e de interesse da indústria farmacêutica (COSTA, 2017).

3.3 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE COMPOSTOS DERIVADOS DA PIPERINA

Nesta dissertação o foco principal de estudo está relacionado a atividade antimicrobiana, encorajado pela grande importância de estudos de sínteses anteriores feitos a partir da piperina.

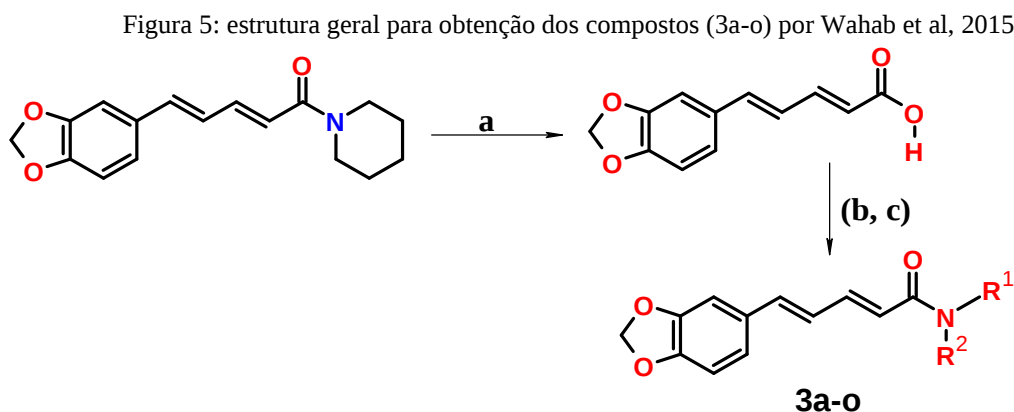
Wahab et al. (2015), desenvolveu o estudo sobre **Síntese, atividade antimicrobiana, antioxidante e nematocida de (2E,4E)-5-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il) penta-2,4-dienamidas**. Sabe-se que a piperina é uma amida deriva da pimenta-do-reino, como foi relatado neste trabalho, ela apresenta características importantes como a atividade antimicrobiana. Em seu estudo ele utilizou deferentes cepas tanto de fungos como bactericidas.

Para isso Wahab et al. (2015), sintetizou várias moléculas a partir do ácido pipérico e as aplicou nas cepas selecionadas como poder visto na tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Atividade antibacteriana e antifúngica in vitro dos compostos (3a-o)

Organismo	3a	3b	3c	3d	3e	3f	3g	3h	3i	3j	3k	3l	3m	3n	3o	Padrão
Bactéria																Estreptomicina
S.pneumonia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35
P.vulgaris	-	-	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	25	-	-	30
S.aurens	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	-	-	30	-	-	25
P. stutzeri	-	-	10	-	-	-	-	-	16	-	-	16	29	-	-	15
P. aeruginosa	-	7	14	-	16	16	12	-	16	-	18	-	19	-	-	15
E. coli	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	-	20	-	16	20
Fungos																Cetoconazol
Rhizopus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-	-	22
A. niger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	24
A. flavis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	24
C. albican	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	-	22

Como descrito por Wahab et al. (2015), foram sintetizados 15 compostos derivados da piperina de modo que o composto **3m** foi considerado altamente ativo contra todas as cepas bacterianas testadas, mas em relação as cepas fúngicas este obteve baixo desempenho farmacológico. A tabela 2 relaciona as nomenclaturas dos compostos sintetizados (**3a-o**) por Wahab e as respectivas estruturas podem ser vistas na figura 5.



Fonte: Wahab et al. 2015

(a) KOH (20%) metanólico, 150 °C, 24 h, refluxo; HCl (2N); (b) SOCl₂, seco DCM, N₂ atm., 2h em banho de gelo; (c) seco DCM, 60 °C, 2,5 h, refluxo, Amina.

Os resultados obtidos mostram que as amidas de ácido pipérico têm grande potencial farmacológico contra vários tipos de infecções microbianas e a tornam um grande candidato a estudos futuros para desenvolvimento de novos fármacos.

Outro trabalho de pesquisa que enfatiza a síntese de novos compostos da piperina com aplicação antimicrobiana foi realizado por Trindade et al, (2020), que descreve a síntese de 12 (doze) derivados da piperina. Na tabela 3 abaixo é apresentado a concentração inibitória mínima (MIC) realizada por Trindade et al. (2020), utilizando os substituintes (**7a-o**) (figura 7) para observar as cepas de maiores eficiências farmacológicas.

Tabela 2: Concentração inibitória mínima (MIC) dos substituintes (7a-o) utilizado por Trindade et al, (2020).

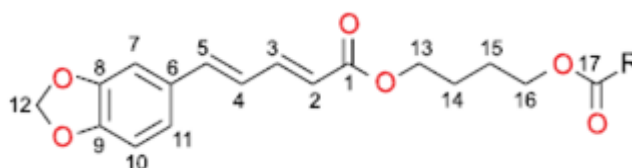
MIC/ $\mu\text{g.mL}^{-1}$										Compostos
Bactérias		Levedura				Fungos Filamentosos				
S. aureus ATCC- 25923	P aeruginosa ATCC- 25853	C. albicans Atcc- 60193	C. albicans LM-92	C. tropicalis ATCC- 13803	C. tropicalis LM-18	A. flavus LM- 714	A. niger LM- 108	A. fumigatus ATCC- 40640	A. fumigatus IPP-210	
+	+	256	256	1024	1024	+	256	256	+	7a
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7b
+	+	256	1024	1024	256	+	256	1024	+	7c
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7d
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7e
+	+	256	1024	1024	512	512	256	256	256	7f
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7g
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7h
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7i
+	+	1024	1024	1024	1024	+	+	+	+	7j
+	+	1024	256	1024	1024	1024	512	512	+	7k
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	7l
+	+	1024	1024	256	256	+	256	256	+	7m
+	+	1024	1024	1024	1024	1024	256	256	+	7n
+	+	256	512	512	1024	+	+	1024	+	7o
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Cultura Média
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Microorganismo
.	.	-	-	-	-	-	-	-	-	Anfotericina B
-	-	.	.	.	.	.	.	.	.	Gentamicina

Não empregado. +: presença de crescimento microbiano; -: ausência de crescimento microbiano

Fonte: Trindade et al., 2020

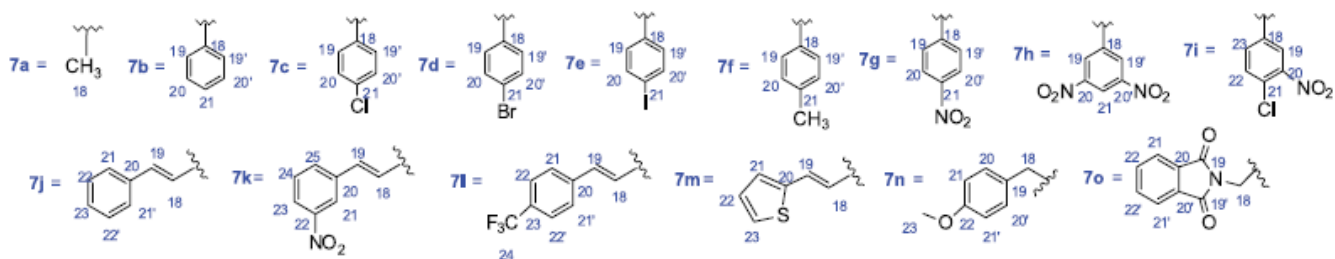
Os resultados apresentados na tabela 2 mostram que não houve resultados significativos em relação as cepas de bactérias, mas se observa maior eficiência farmacológica frente as cepas de leveduras e fungos filamentosos. Na figura 6 é mostrado a estrutura geral obtida a partir da piperina para aplicação nas cepas de bactérias, leveduras e fungos filamentosos (tabela 2) usada para determinar as cepas de maior eficiência farmacológica segundo Trindade et al, (2020). A figura 7 mostra a estrutura e os substituintes (R) (**7a-o**) utilizados por Trindade et al, (2020) para determinar a concentração inibitória mínima.

Figura 6: Estrutura Geral derivada da Piperina segundo Trindade et al, 2020.



Fonte: Trindade et al, 2020.

Figura 7: Substituintes (7a-o) utilizado para determinação do MIC



Fonte: Trindade et al., 2020

Comprovadamente a piperina possui aplicabilidade antimicrobiana, mas existem estudos sobre a síntese de novos compostos da piperina para uso larvicida, pesticida entre outros.

CAPÍTULO 4

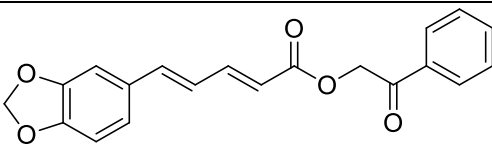
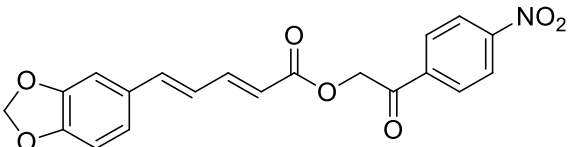
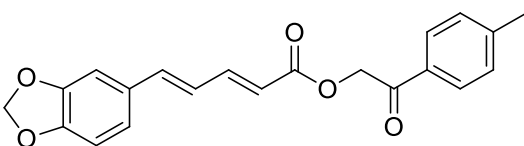
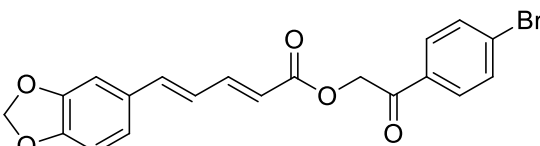
Resultados e Discussão

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico do trabalho são apresentadas as rotas de síntese para obtenção dos compostos finais derivados da piperina, bem como a discussão da caracterização estrutural, avaliação do potencial biológico e estudos teóricos de RMN ^1H , ^{13}C e infravermelho (IV).

4.1 PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

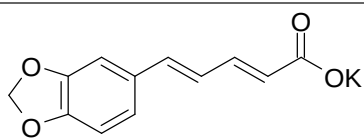
Os compostos 2-oxo-2-feniletil-piperato (PC1), 2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil-piperato (PC2), 2-oxo-2-(4-tolil) etil-piperato (PC3), 2-(4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4), foram obtidos através de reação de substituição nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$ entre as bromoacetofenonas e o piperato de potássio. Os quatros compostos obtidos a partir da piperina podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3:Estruturas derivadas da piperina (PC1-PC4)	
	2-oxo-2-feniletil-piperato (PC1)
	2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil-piperato (PC2)
	2-oxo-2-(p-tolil) etil-piperato (PC3)
	2-(4-bromofenil)-2-oxoetil-piperato (PC4)

Fonte: Próprio autor, 2021

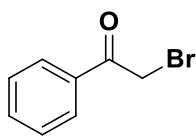
Além dos compostos principais sintetizados (PC1-PC4), foi necessário a síntese de substâncias intermediárias (tabela 3) para chegar ao resultado obtido na tabela 4.

Tabela 4: Compostos intermediários sintetizados.



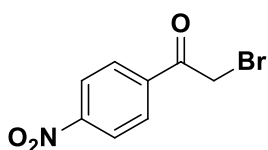
(1)

Piperato de potássio



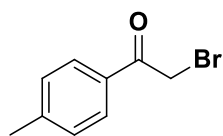
(2)

2-bromoacetofenona (9a)



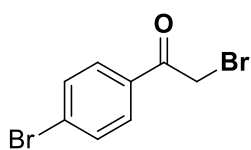
(3)

2-bromo-4'-nitroacetofenona (9b)



(4)

2-bromo-4'-metilacetofenona (9c)



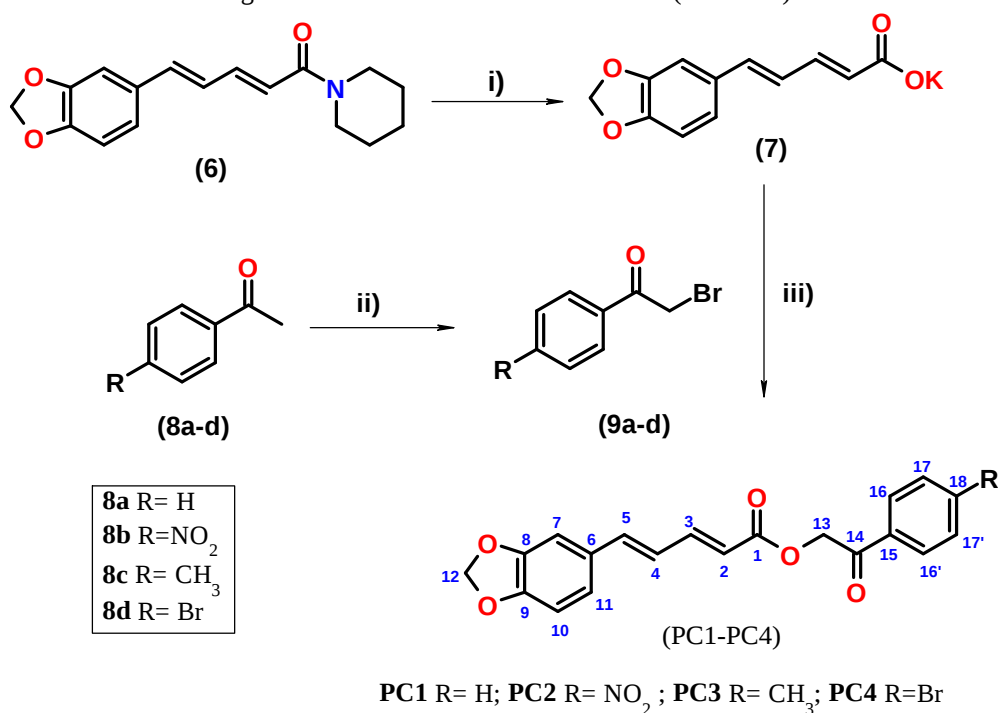
(5)

2-bromo-4'-bromoacetofenona (9d)

Fonte: Próprio autor, 2021

Na figura 8, é apresentado o esquema do processo de síntese dos compostos 2-oxo-2-feniletil-piperato (PC1), 2-(4-nitrofenil)-2-oxoetil-piperato (PC2), 2-oxo-2-(4-tolil) etil-piperato (PC3), 2-(4-bromofenil)-2-oxoetil-piperato (PC4), partindo da piperina até chegar ao produto final representado pela estrutura geral abaixo.

Figura 8: Via sintética das moléculas alvo (PC1-PC4)



Fonte: Próprio autor, 2021

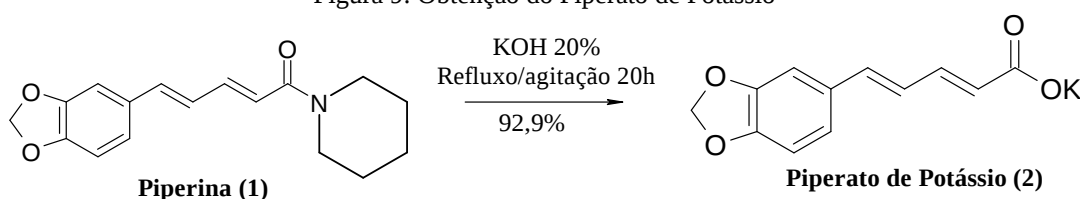
Reagentes e condições: (i) KOH 20%, EtOH, refluxo, 20 h, rendimento 93%; (ii) Br₂, CHCl₃, t.a, 24h, rendimento 75-80%; (iii) DMF, 100 ° C, rendimento 50-65%.

4.2 SÍNTESE DOS COMPOSTOS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS E COMPOSTOS FINAIS (PC1-PC4).

4.2.1 SÍNTESE DO PIPERATO DE POTÁSSIO

Seguindo a metodologia descrita por Trindade et al (2020), a obtenção do piperato de potássio ocorreu partindo de 6,0 g (0,021 mol) da piperina com 60 mL de uma solução etanólica de hidróxido de potássio a 20%. Essa reação, como pode ser visto na figura 9, gerou um rendimento de 92,9%.

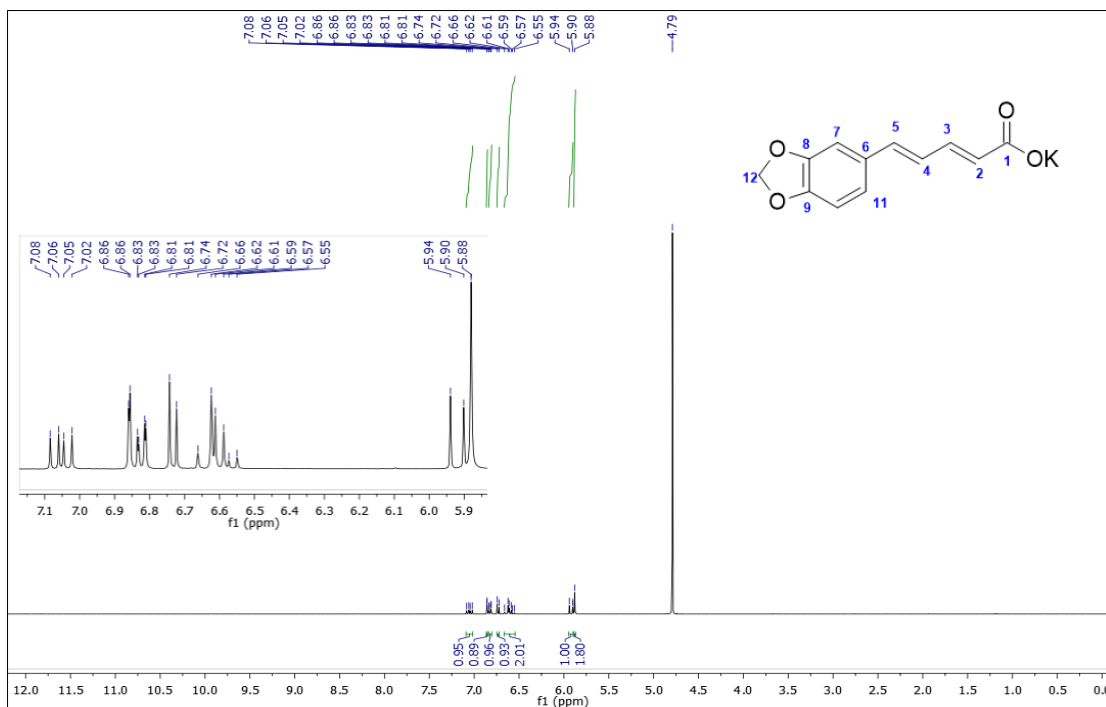
Figura 9: Obtenção do Piperato de Potássio



Fonte: Próprio autor, 2021

O piperato de potássio foi caracterizado pela técnica de espectroscopia de ressonância magnética nuclear de ^1H (RMN ^1H) (figura 10) usando como solvente D_2O . Foi possível observar um sinal a 5,88 (ppm) característico de hidrogênios ligados aos oxigênios oxirânicos ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$) e multipletos entre 6,73 – 6,86 ppm indicando a presença de hidrogênios do anel aromático

Figura 10: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, D_2O) do Piperato de Potássio (1)

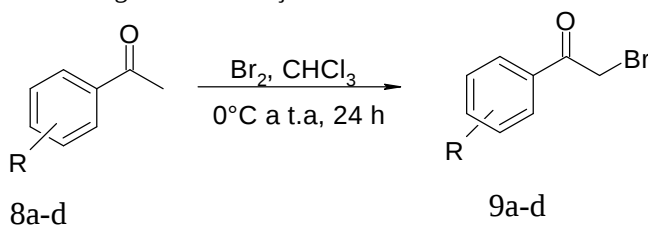


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2 SÍNTESE DAS BROMOACETOFENONAS

Seguindo a metodologia descrita por Trindade et al (2020), as bromoacetofenonas (**9a-d**) foram obtidas a partir da reação entre o bromo com diferentes acetofenonas substituídas (**8a-d**) (figura 11) utilizando clorofórmio como solvente à temperatura ambiente. Os rendimentos obtidos para os compostos (9a-d) foram entre 75-80%. Os compostos obtidos foram caracterizados pela técnica de espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C .

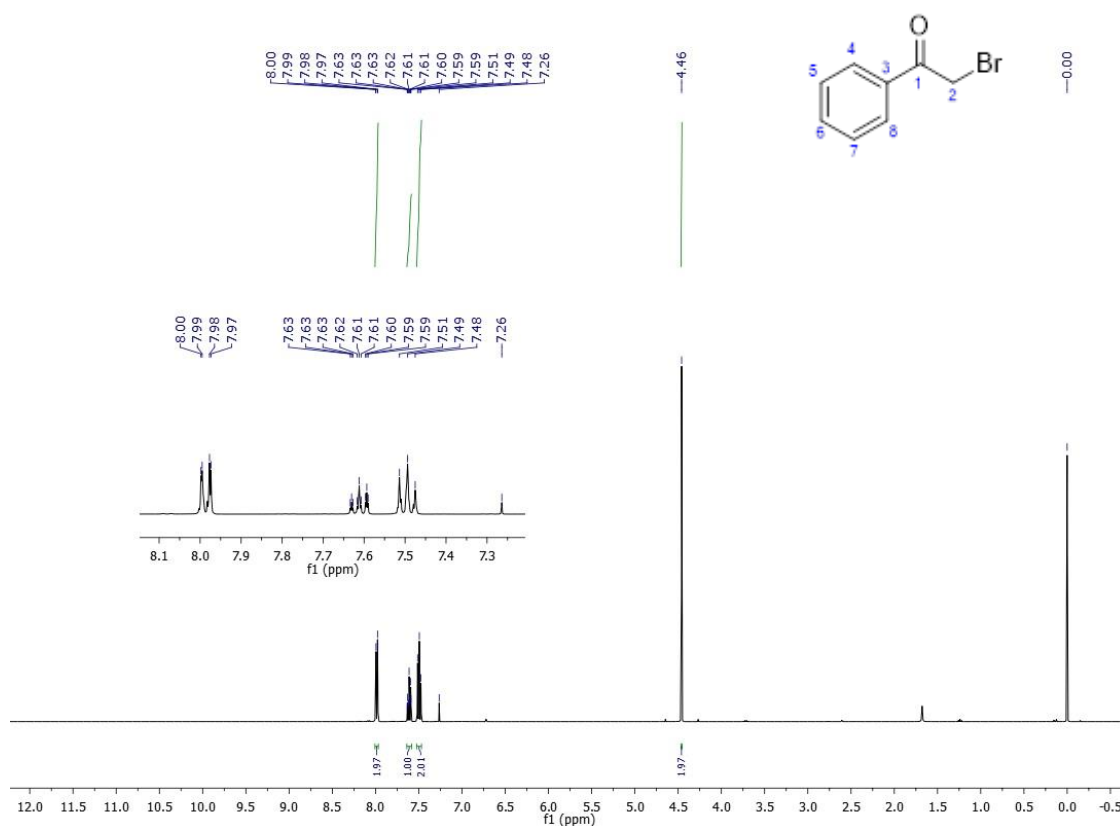
Figura 11: Obtenção das bromoacetofenonas

R: H, 4-NO₂, 4-CH₃, 4-Br

Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.1 ESPECTROSCOPIA DE RMN ¹H DO COMPOSTO (9a)

No espectro de RMN ¹H do composto **9a** (Figura 12) em CDCl₃, observou-se um singlete para dois prótons metilênicos em 4,46 referente ao H-2, na região dos sinais dos aromáticos é observado um sinal de tripleto referente aos H-5 e H-7 em 7,49 ppm, um sinal de tripleto referente ao H-6 em 7,61 ppm e um duplete referente aos H-4 e H-8 em 7,99 ppm.

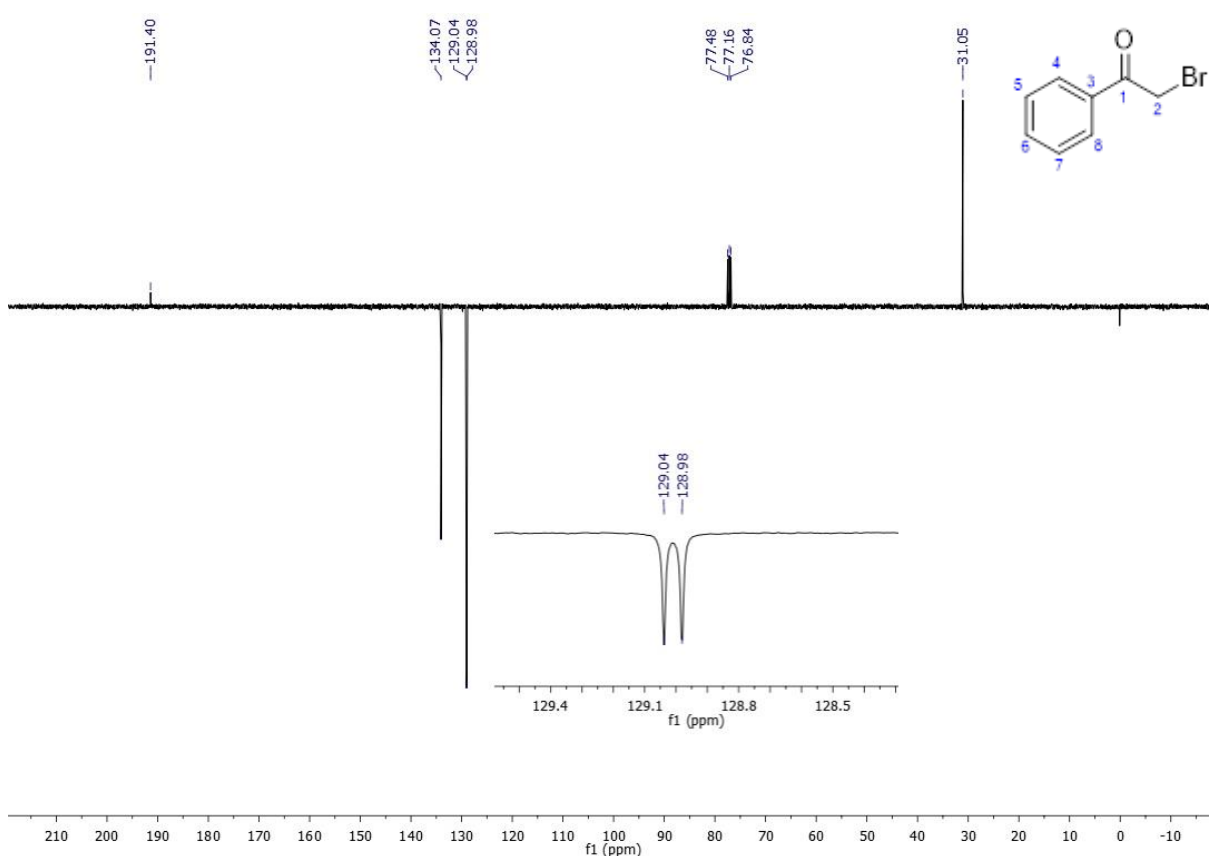
Figura 12: Espectroscopia de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) do 2-Bromo-acetofenona (9a)

Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.2 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^{13}C DO COMPOSTO (9a)

No espectro de RMN ^{13}C (APT) do composto **9a** (Figura 13), observou-se em 191,40 ppm (C-1), um sinal referente ao carbono da carbonila, em 128,98 ppm (C-5 e C-7), e 129,04 ppm (C-4 e C-8), referente aos carbonos aromáticos, em 31,05 ppm (C-2) o carbono metilênico ligado ao bromo.

Figura 13: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-acetofenona (9a)

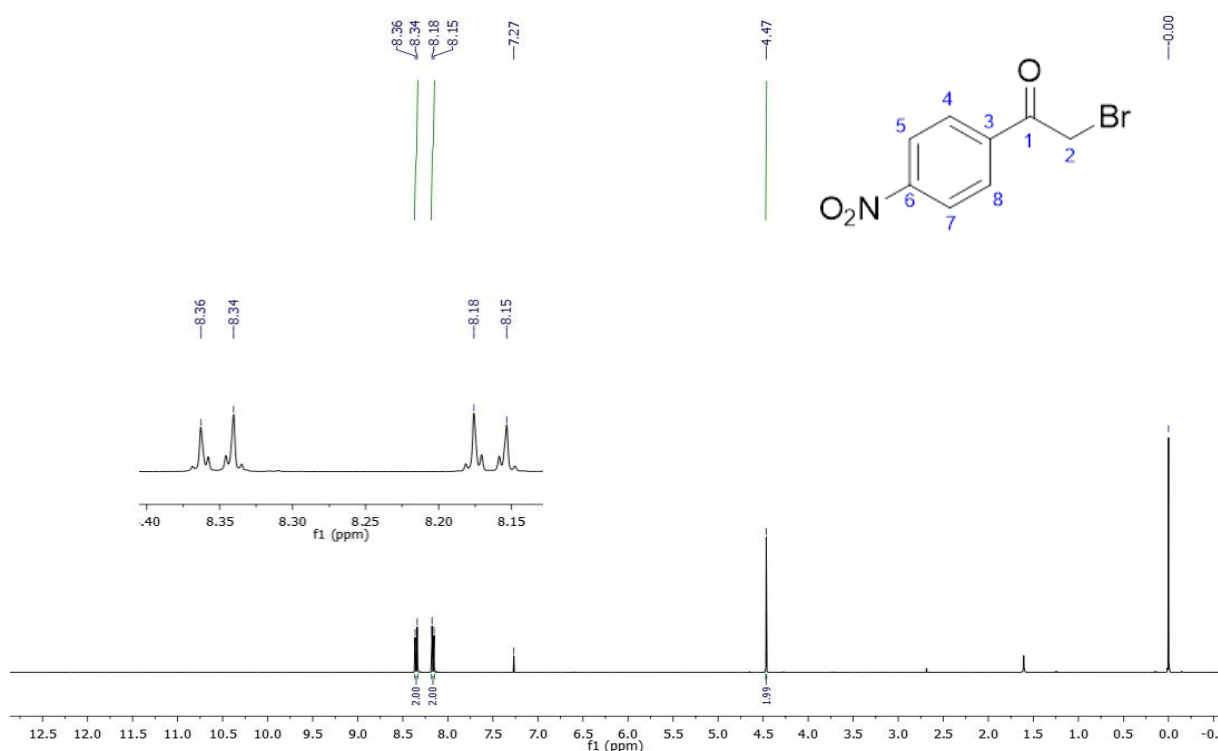


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.3 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H DO COMPOSTO (9b)

No espectro de RMN ^1H do composto **9b** (Figura 14), observou-se um singlete para dois prótons metilênicos em 4,47 referente ao H-2. Na região dos sinais dos aromáticos é observado um deslocamento químico característico de um sistema AA'BB', sendo um duplete em 8,35 ppm ($J = 9.0$ Hz) referente ao H-5 e H-7 e outro duplete em 8,16 ppm ($J = 9.0$ Hz) referente aos H-4 e H-8.

Figura 14: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'-nitroacetofenona (**9b**)

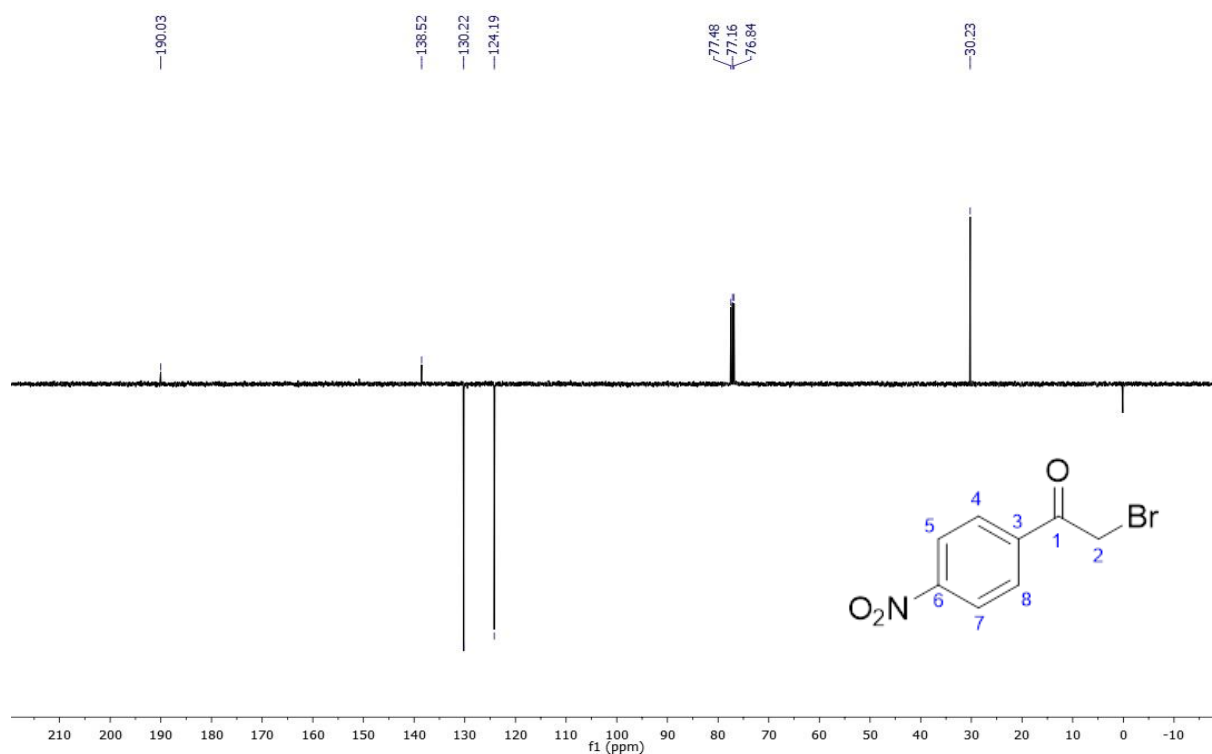


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.4 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^{13}C DO COMPOSTO (**9b**)

No espectro de RMN ^{13}C (APT) do composto **9b** (Figura 15), observou-se em 190,03 ppm (C-1), um sinal referente ao carbono da carbonila, em 124,19 ppm (C-5 e C-7), e 130,22 ppm (C-4 e C-8), referente aos carbonos aromáticos, em 30,23 ppm (C-2) o carbono metilênico ligado ao bromo.

Figura 15: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'-nitroacetofenona (**9b**)

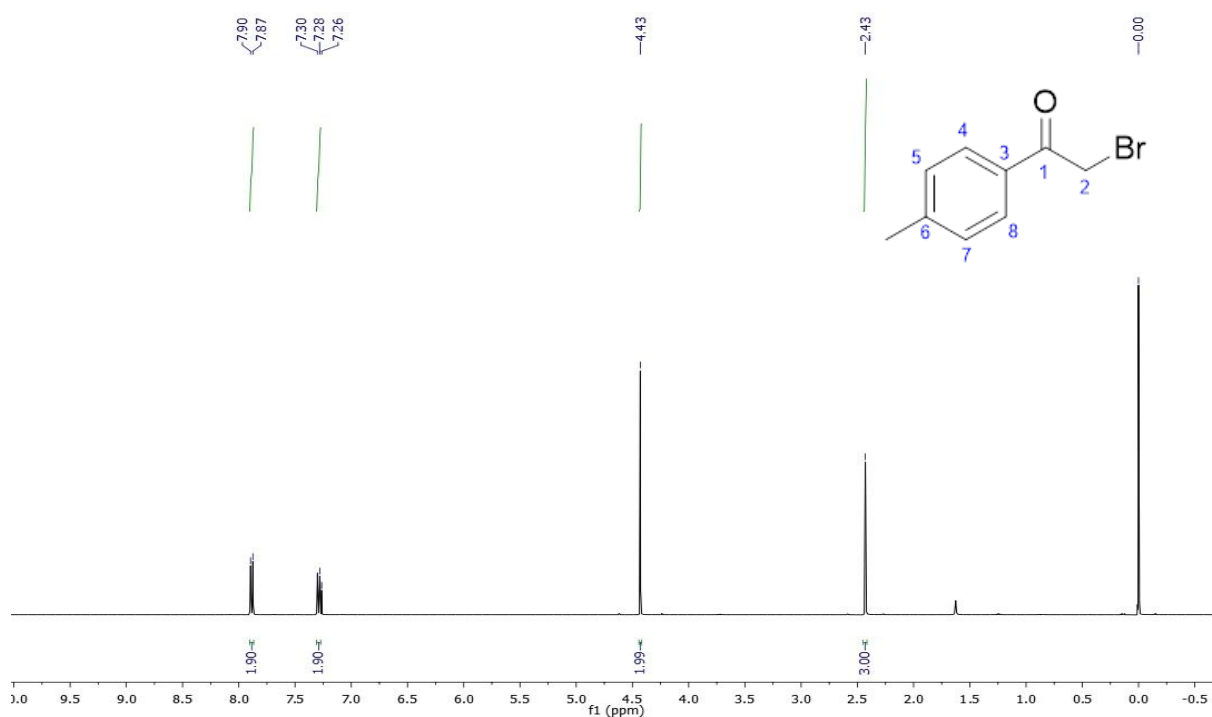


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.5 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^1H DO COMPOSTO (**9c**)

No espectro de RMN ^1H do composto **9c** (Figura 16), foram observados dois singletos, um no sinal 4,43 ppm referente ao H-2 e o outro no sinal 2,43 ppm referente aos hidrogênios do grupo metil. Na região dos sinais dos aromáticos é observado um deslocamento químico característico, sendo um duplete em 7,89 ppm referente ao H-5 e H-7 e outro duplete em 7,29 ppm referente aos H-4 e H-8.

Figura 16: Espectroscopia de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-3'- metilacetofenona (**9c**)

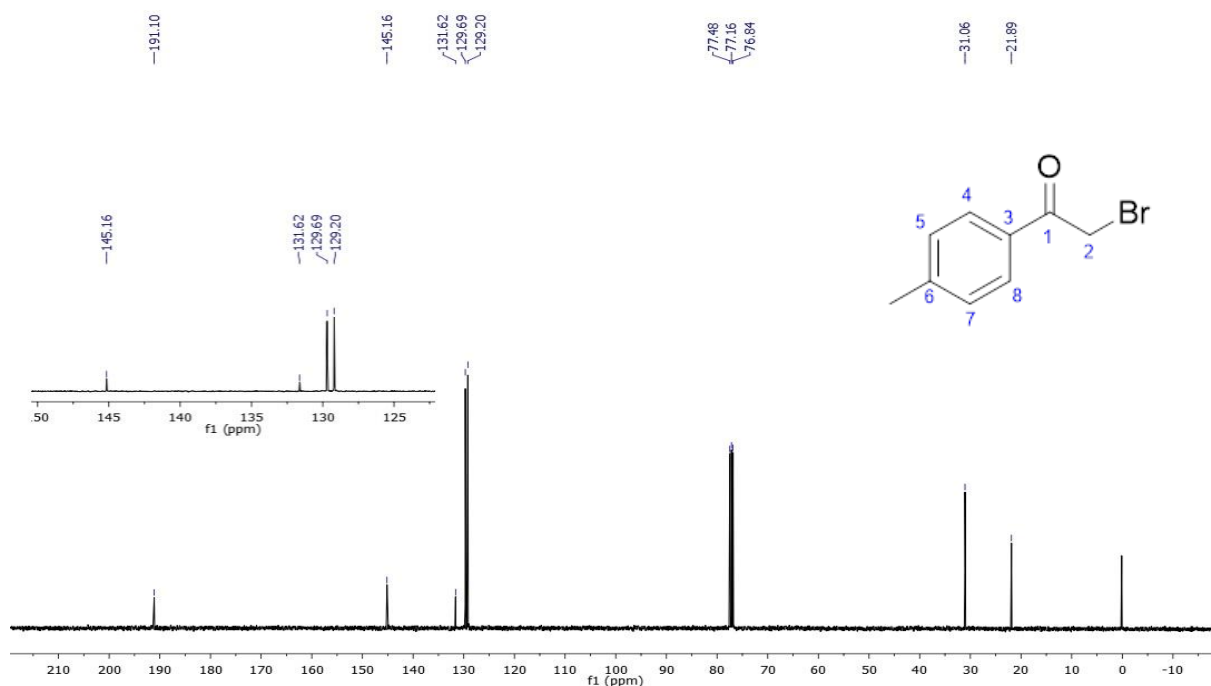


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.2.6 ESPECTROSCOPIA DE RMN ^{13}C DO COMPOSTO (**9c**)

No espectro de RMN ^{13}C do composto **9b** (Figura 17), observou-se em 191,10 ppm (C-1), um sinal referente ao carbono da carbonila, em 129,69 ppm (C-5 e C-7), e 129,20 ppm (C-4 e C-8), referente aos carbonos aromáticos, em 31,06 ppm (C-2) o carbono metilênico ligado ao bromo, em 21,89 ppm o sinal referente ao grupo metil.

Figura 17: Espectroscopia de RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3) do 2-Bromo-4'-mitilacetofenona (**9c**)

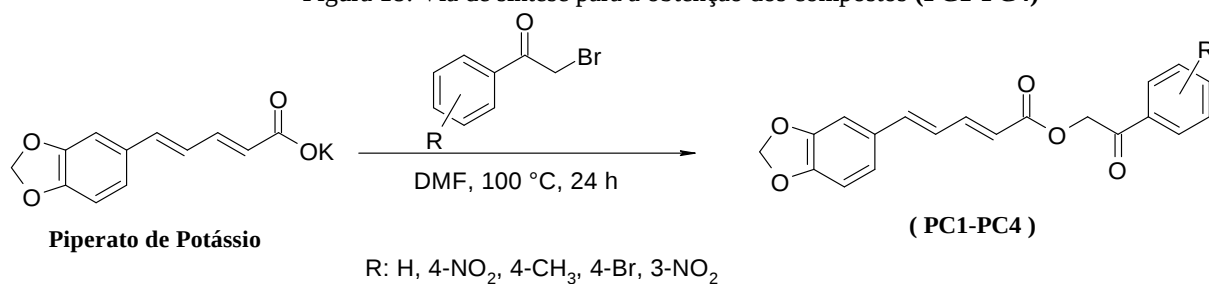


Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.3 ESTUDOS QUÍMICOS DOS DERIVADOS DA PIPERINA (**PC1-PC4**)

Os compostos **PC1-PC4** foram obtidos da reação de substituição nucleofílica $\text{S}_{\text{N}}2$ entre o piperato de potássio e as bromoacetofenonas (9a-d) tendo a dimetilformamida (DMF) como solvente e a uma temperatura de 100 °C por 24 horas (Figura 18). Os produtos obtidos foram filtrados a vácuo, lavados com água gelada e secos ao ar dando rendimento bruto variando entre 50-65 % e foram purificados usando o método de recristalização em uma mistura de solvente de DMF / água (8:2).

Figura 18: Via de síntese para a obtenção dos compostos (**PC1-PC4**)



Os dados de rendimento, massa molar e ponto de fusão dos quatro compostos finais (**PC1-PC4**) podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5: Características dos compostos finais (Rendimento, Massa Molar, P.F dos substituintes usados)

Compostos	R	MM(g/mol)	P.F(°C)	Rendimento (%)
PC1	H	336,34	167-169	60
PC2	4-NO ₂	381,30	209-211	50
PC3	4-CH ₃	350,40	187-189	65
PC4	4-Br	415,23	213-215	58

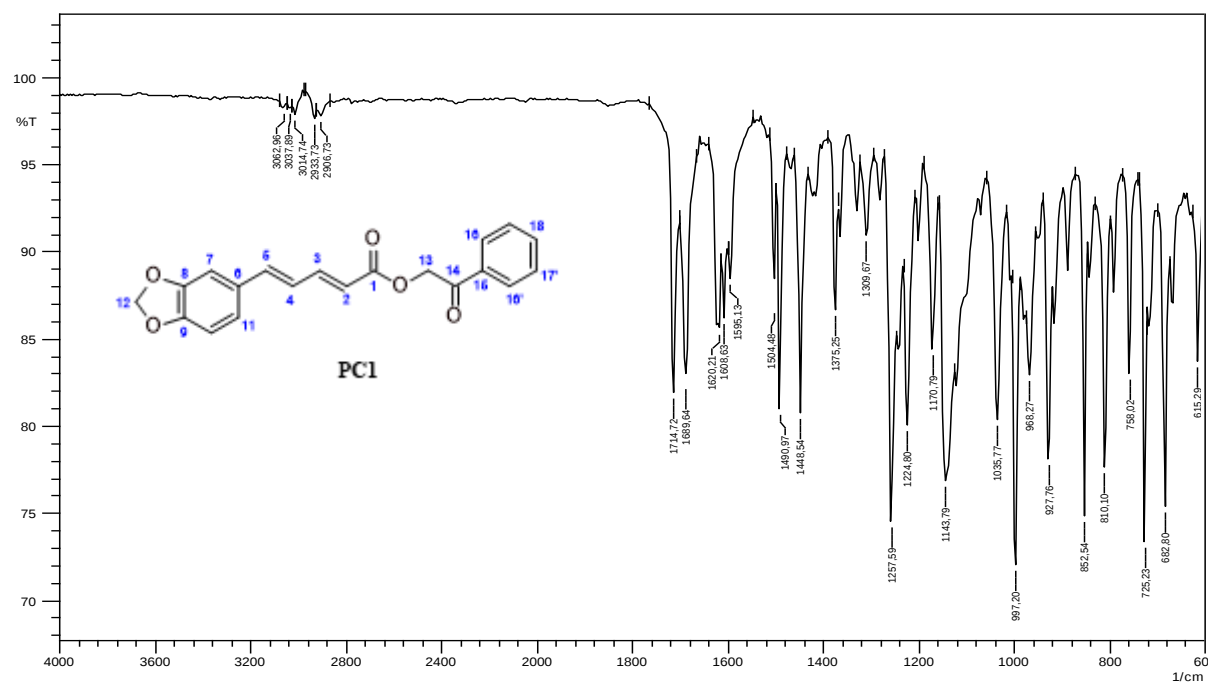
Fonte: Próprio autor, 2021

As estruturas químicas dos compostos finais (**PC1-PC4**) foram caracterizados por técnicas de espectroscopia de IV, RMN de ¹H e ¹³C.

4.2.3.1 COMPOSTO 2-OXO-2-FENILETIL-PIPERATO (**PC1**)

Espectroscopia de Infravermelho

No espectro de infravermelho do composto **PC1** (figura 19), foram observadas bandas de absorção de carbonila referente ao grupo éster na faixa de 1714 cm⁻¹ e cetona na faixa de 1689 cm⁻¹. As bandas de absorção referente ao sistema de carbonos insaturados (tipo dieno) pode ser visto na faixa de 1620 cm⁻¹. A banda de absorção comum aos derivados da piperina (O-CH₂-O) pode ser visto na faixa de 1257-1143 cm⁻¹.

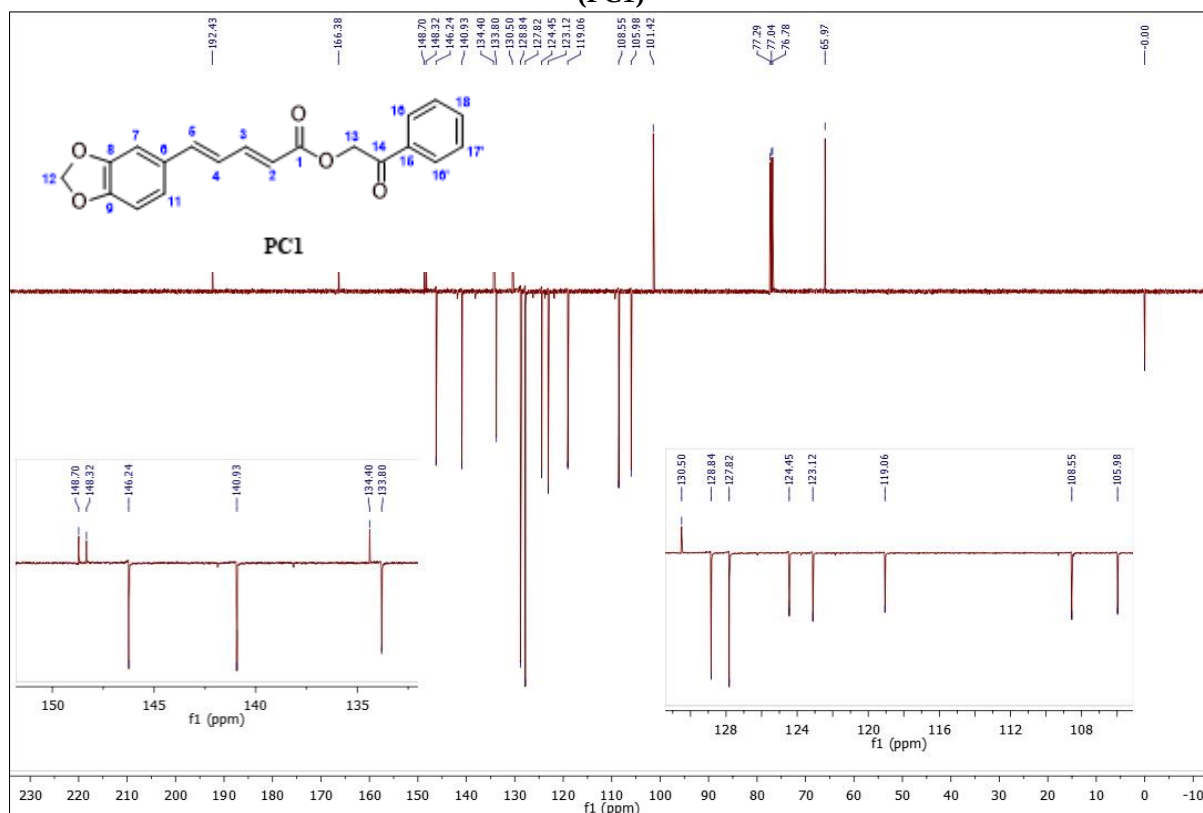
Figura 19: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2-oxo-2-feniletíl-piperato (**PC1**)

Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^{13}C

No espectro de RMN ^{13}C (figura 20), o sinal correspondente ao carbono da carbonila (C-14) correspondente à cetona pode ser visto em 192 ppm e a carbonila correspondente ao éster apresentou sinal na faixa de 166 ppm. O carbono do metileno aparece na faixa 65,97 ppm referente ao C-13. Outro pico característico da piperina se encontra no C-12 (metilenodioxi) na faixa de 101,42 ppm. As olefinas podem ser encontradas entre na faixa de 119,06 – 140,93 ppm. Já os carbonos aromáticos podem ser vistos na faixa de 128,84 ppm (C-16 e C-16') e em 127,82 ppm referente aos carbonos (C-17 e C-17').

Figura 20: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) do composto 2-oxo-2-feniletíl-piperato (PC1)

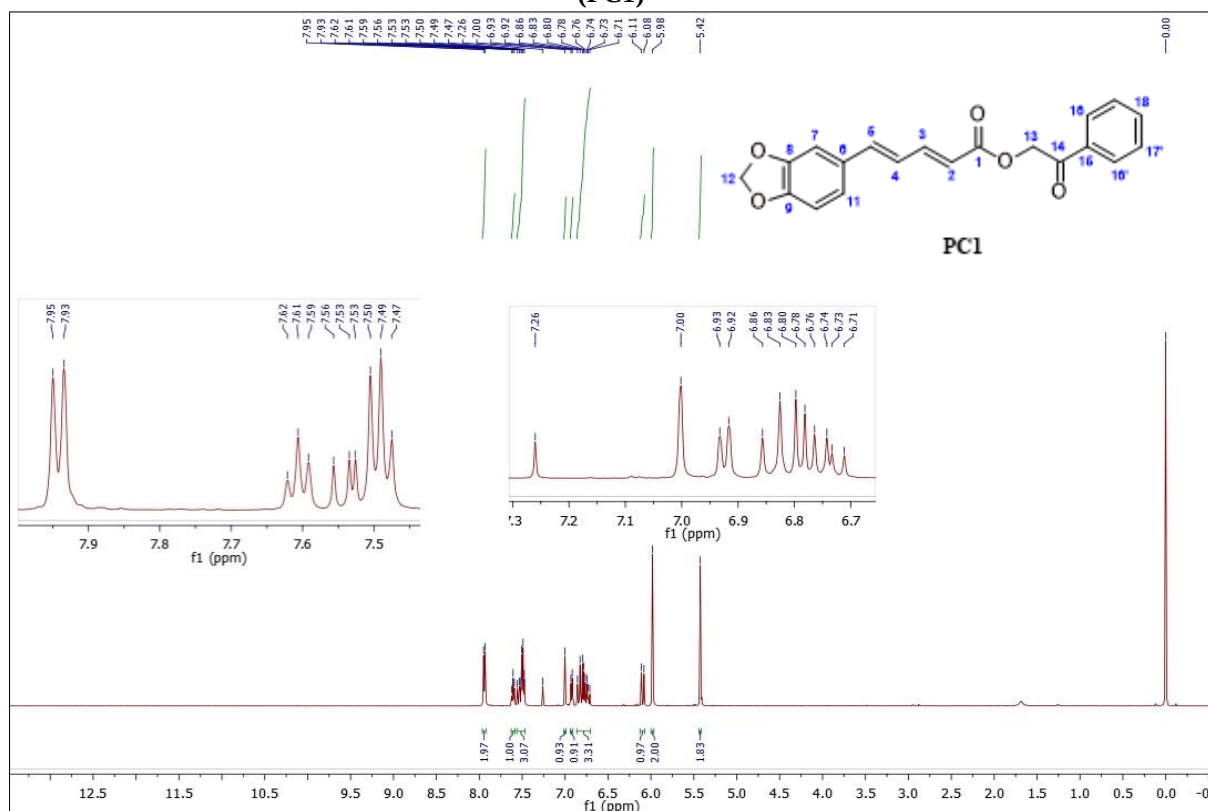


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^1H

No espectro de RMN ^1H (figura 21), foi observado sinal característico na forma de singlete para dois hidrogênios metilênicos H-13 na faixa de 5,42 ppm, outro singlete característico da função metilenodioxi (H-12) é visto na faixa de 5,98 ppm. Os hidrogênios do anel aromático estão na faixa de 7,94 ppm – 7,51ppm, em 7,61 ppm é observado um tripleto referente H-18.

Figura 21: Espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do composto 2-oxo-2-feniletíl-piperato (**PC1**)



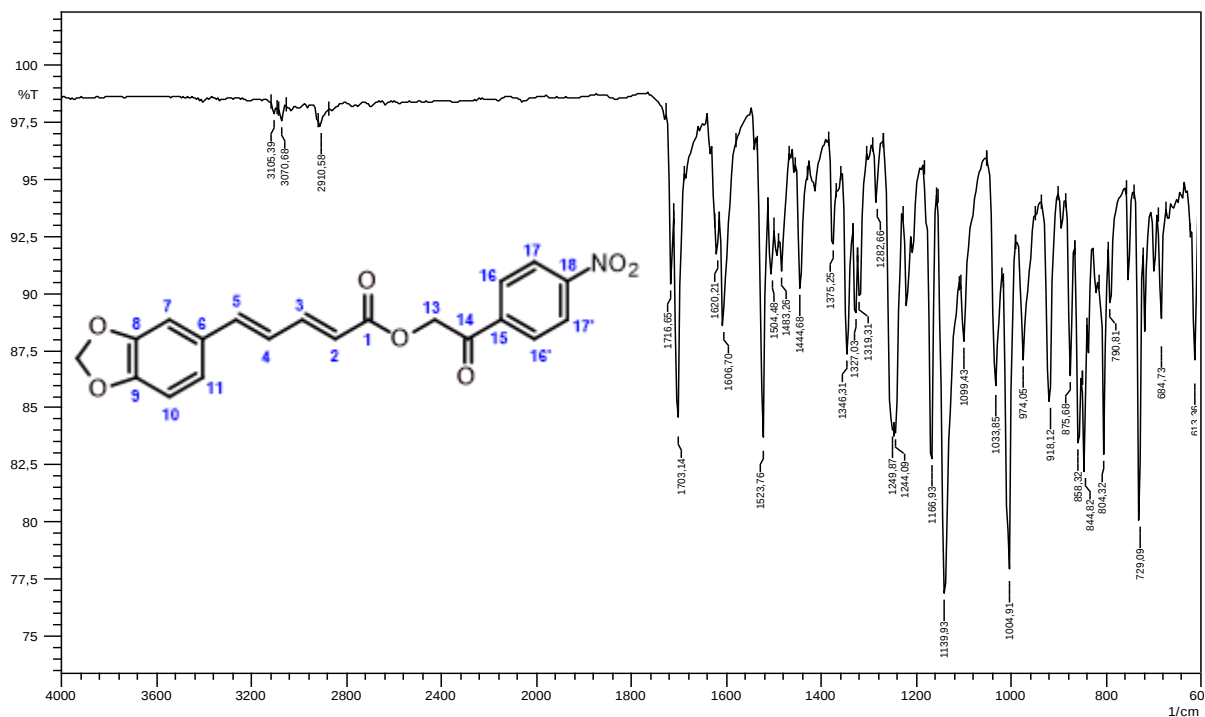
Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.3.2 COMPOSTO 2-(4-NITROFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (**PC2**)

Espectroscopia de Infravermelho

No espectro de infravermelho do composto **PC2** (figura 22), foram observadas bandas de absorção de carbonila referente ao grupo éster na faixa de 1716 cm^{-1} e cetona na faixa de 1703 cm^{-1} . As bandas de absorção referente ao sistema de carbonos insaturados (tipo dieno) pode ser visto na faixa de 1620 cm^{-1} . A banda de absorção comum aos derivados da piperina ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$) pode ser visto na faixa de $1249-1139\text{ cm}^{-1}$. O alongamento assimétrico e simétrico em torno de 1523 e 1346 cm^{-1} pode ser observado, respectivamente para o grupo NO_2 .

Figura 22: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil-piperato (**PC2**)

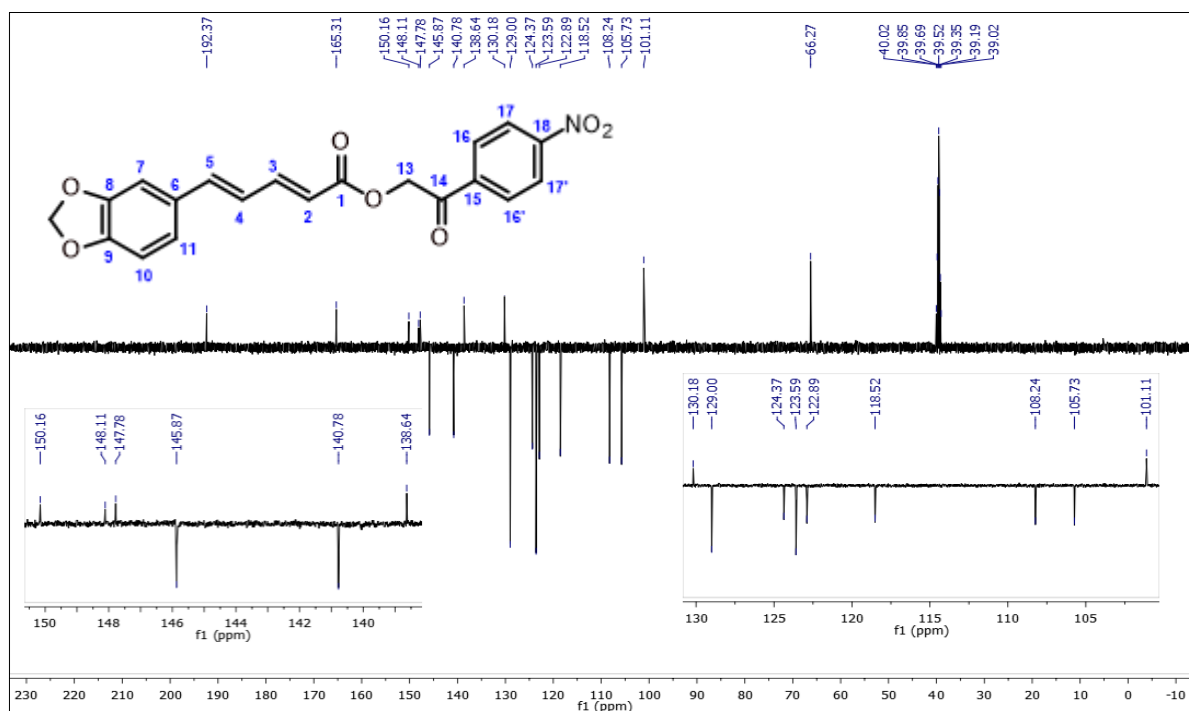


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^{13}C

No espectro de RMN de ^{13}C (figura 23), o carbono do carbonila correspondente à cetona foi caracterizado em 192,37 ppm e o carbonila correspondente ao éster foi caracterizado em 165,31 ppm. Outro pico característico da piperina se encontra no C-12 (metilenodioxi) na faixa de 101,11 ppm. O carbono (C-18) que contém o grupo NO_2 pode ser identificado na faixa de 150,16 ppm.

Figura 23: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) do composto 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil-piperato (**PC2**)

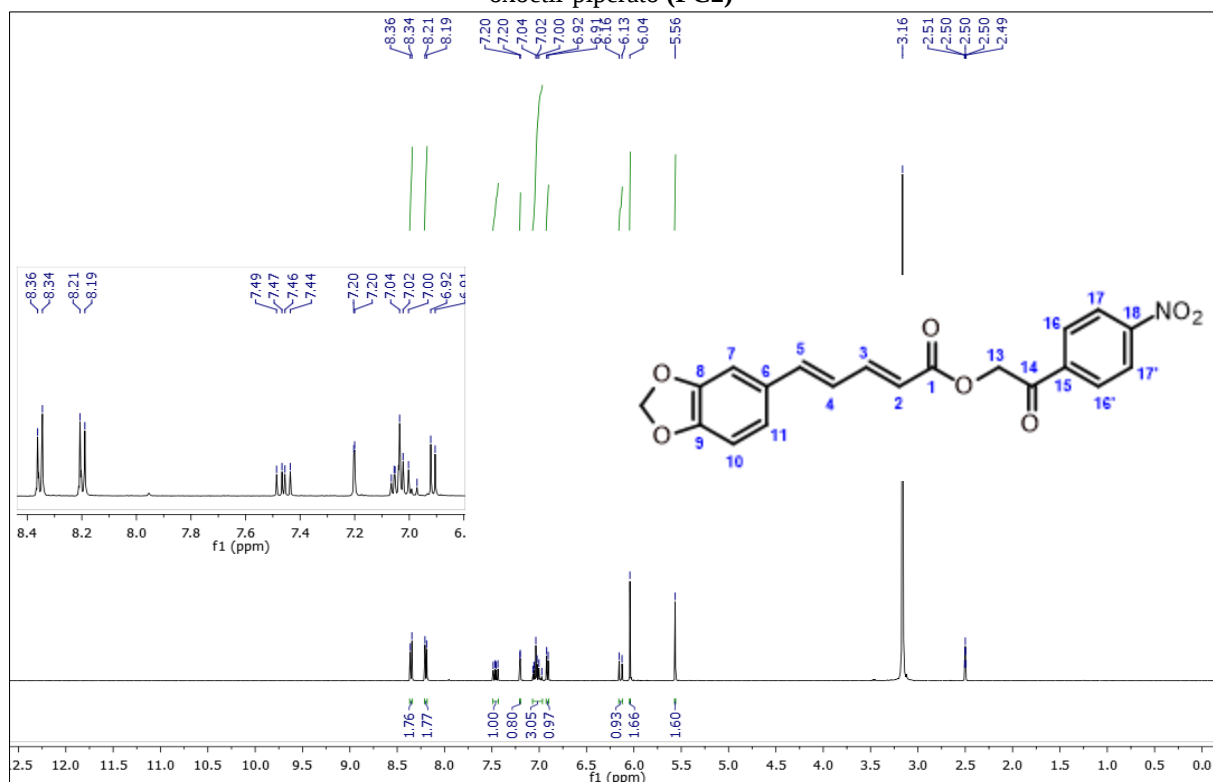


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^1H

No espectro de RMN de ^1H (figura 24), foi observado sinal característico na forma de singlete para dois hidrogênios metilênicos H-13 na faixa de 5,56 ppm, outro singlete para o metilenodioxí (H-12) na faixa de 6,04 ppm. Os hidrogênios do anel aromático se encontram na faixa de 8,35ppm (H-17 e H-17') e 8,20 ppm. para os H-16 e H-16'.

Figura 24: Espectroscopia de RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil-piperato (**PC2**)



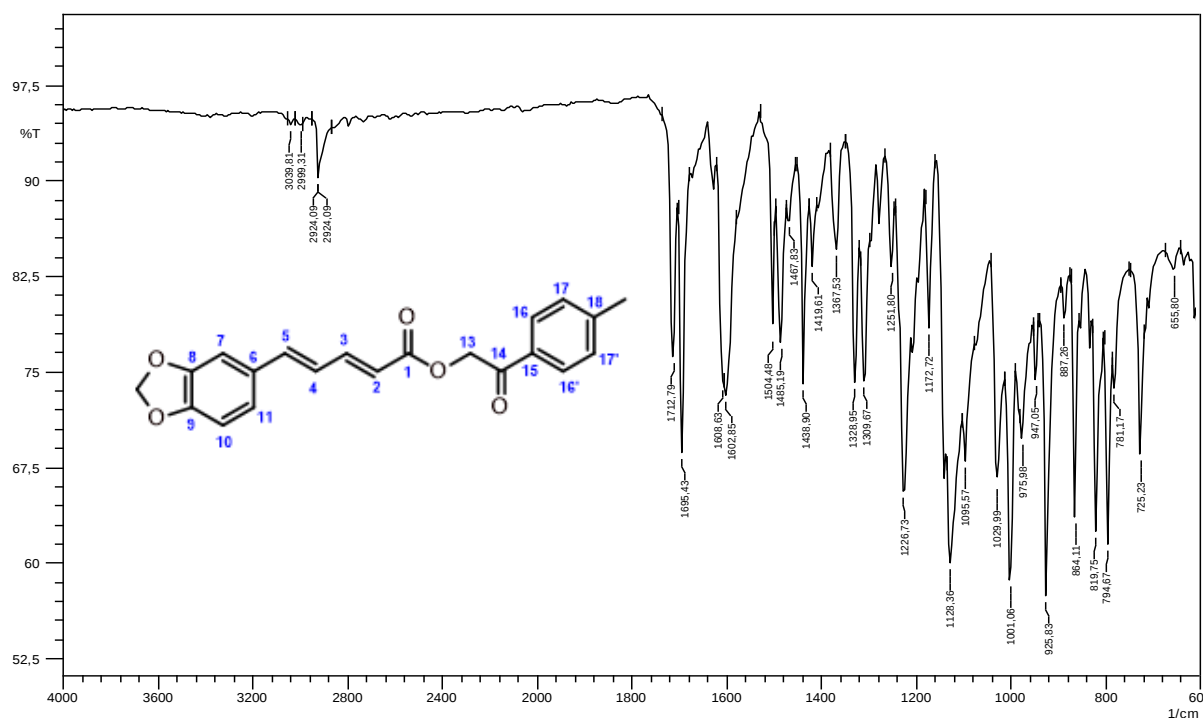
Fonte: Próprio autor, 2021

4.2.3.3 COMPOSTO 2-OXO-2-(4-TOLIL) ETIL-PIPERATO (**PC3**)

Espectroscopia de Infravermelho

No espectro infravermelho do composto **PC3** (figura 25), foram observadas bandas de absorção de carbonila referente ao grupo éster na faixa de 1712 cm^{-1} e cetona na faixa de 1695 cm^{-1} . As bandas de absorção referente ao sistema de carbonos insaturados (tipo dieno) pode ser visto na faixa de 1608 cm^{-1} . A banda de absorção comum aos derivados da piperina ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$) característico dos derivados da piperina pode ser visto na faixa de $1226\text{--}1128\text{ cm}^{-1}$. A banda de absorção dos aromáticos aparecem na faixa de $1602\text{--}1485\text{ cm}^{-1}$.

Figura 25: Espectroscopia de IV (ATR) do composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (**PC3**)

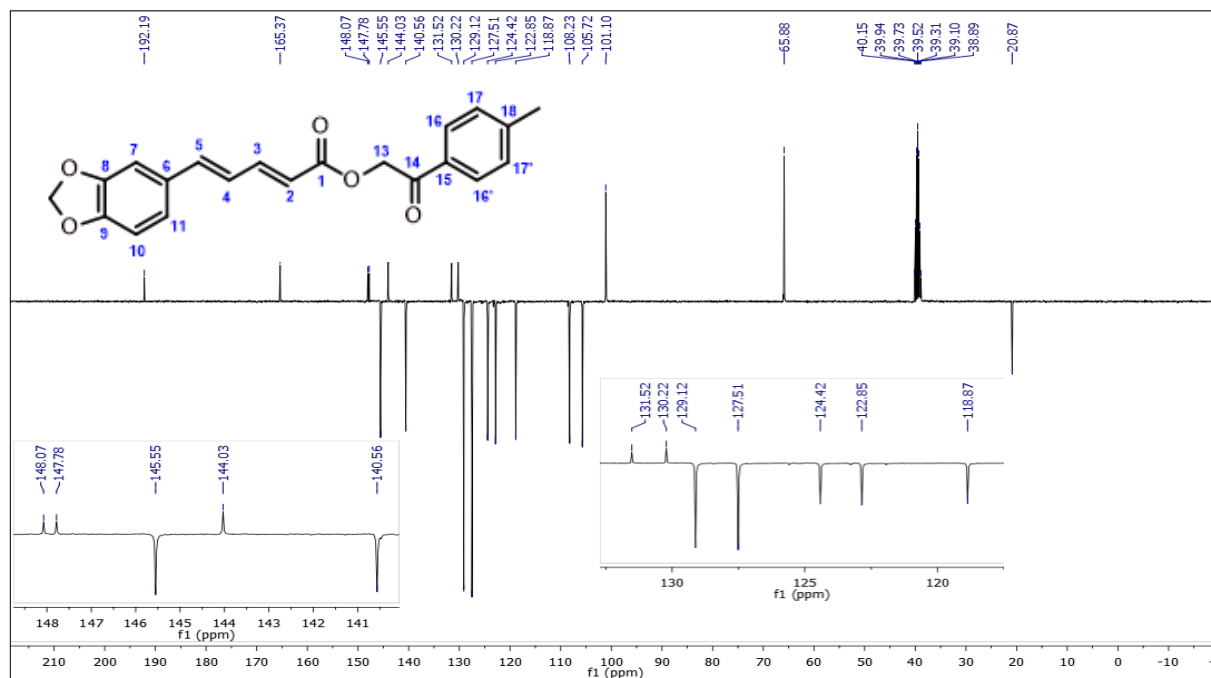


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^{13}C

No espectro de RMN ^{13}C (figura 26), o carbono da carbonila correspondente à cetona foi caracterizado em 192,19 ppm e o carbonila correspondente ao éster foi caracterizado em 165,37 ppm. Outro pico característico da piperina se encontra no C-12 (metilenodioxio) na faixa de 101,10 ppm. Foi observado um sinal adicional na região alifática a 28,87 ppm para o carbono do grupo metil.

Figura 26: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO-d₆) composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (**PC3**)

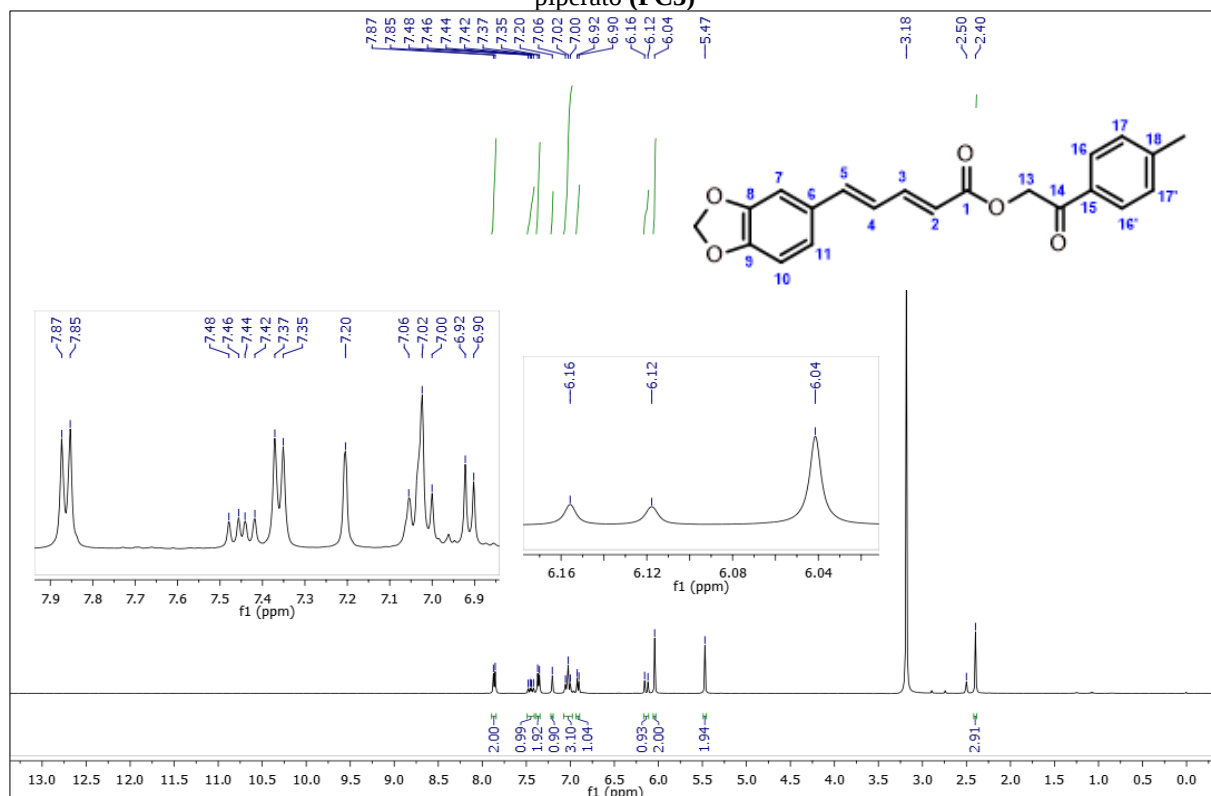


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^1H

No espectro de ^1H (figura 27), foi observado sinal característico na forma de singlete para dois hidrogênios metilênicos H-13 na faixa de 5,47 ppm, outro singlete para o metilenodioxí (H-12) na faixa de 6,04 ppm. Os hidrogênios do anel aromático ressoaram na faixa de 7,86 ppm (H-17 e H-17') e 7,38 ppm para o (H-16 e H-16'). Para esse composto também foi possível observar um pico característico de singlete referente a três hidrogênios do grupo metil (CH_3) em 2,40 ppm

Figura 27: Espectroscopia de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) do composto 2-oxo-2- (4-tolil) etil-piperato (**PC3**)



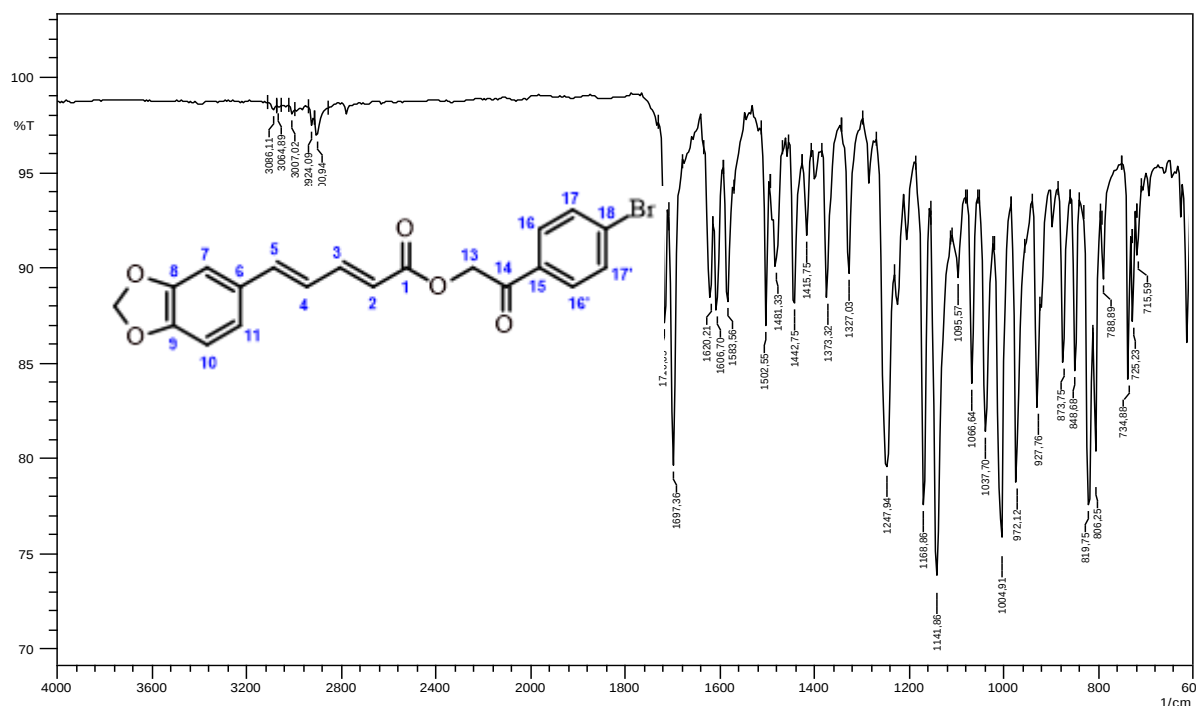
Fonte : Próprio autor, 2021

4.2.3.4 COMPOSTO 2- (4-BROMOFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (**PC4**)

Espectroscopia de Infravermelho

No espectro infravermelho do composto **PC4** (figura 28), foram observadas bandas de absorção de carbonila referente ao grupo éster na faixa de 1716 cm^{-1} e cetona na faixa de 1697 cm^{-1} . As bandas de absorção referente ao sistema de carbonos insaturados (tipo dieno) pode ser visto na faixa de 1620 cm^{-1} . A banda de absorção comum aos derivados da piperina ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}$) característico dos derivados da piperina pode ser visto na faixa de $1247 - 114\text{ cm}^{-1}$. A banda de absorção dos aromáticos aparecem na faixa de $1606 - 1502\text{ cm}^{-1}$.

Figura 28: Espectroscopia de IR (ATR) do composto 2-(4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4)

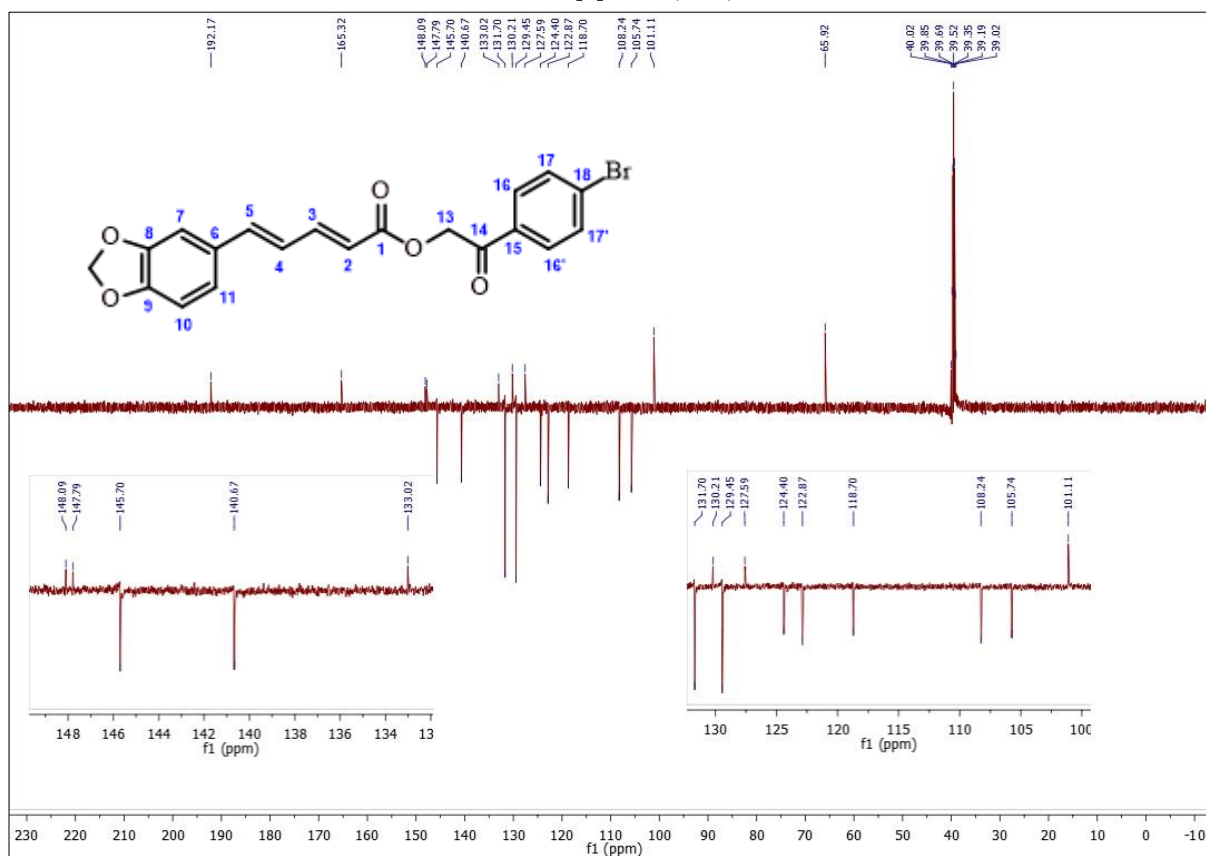


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^{13}C

No espectro de RMN ^{13}C (figura 29), o carbono da carbonila (C-14) correspondente à cetona foi caracterizado em aproximadamente 192,19 ppm e o carbonila correspondente ao éster foi caracterizado em aproximadamente 165,32 ppm (C-1). Outro pico característico da piperina se encontra no C-12 (metilenodioxi) na faixa de 101,11 ppm. Foi observado um sinal de 127,59 ppm na região do (C-18) ao qual o bromo está ligado.

Figura 29: Espectroscopia de RMN ^{13}C (126 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (**PC4**)

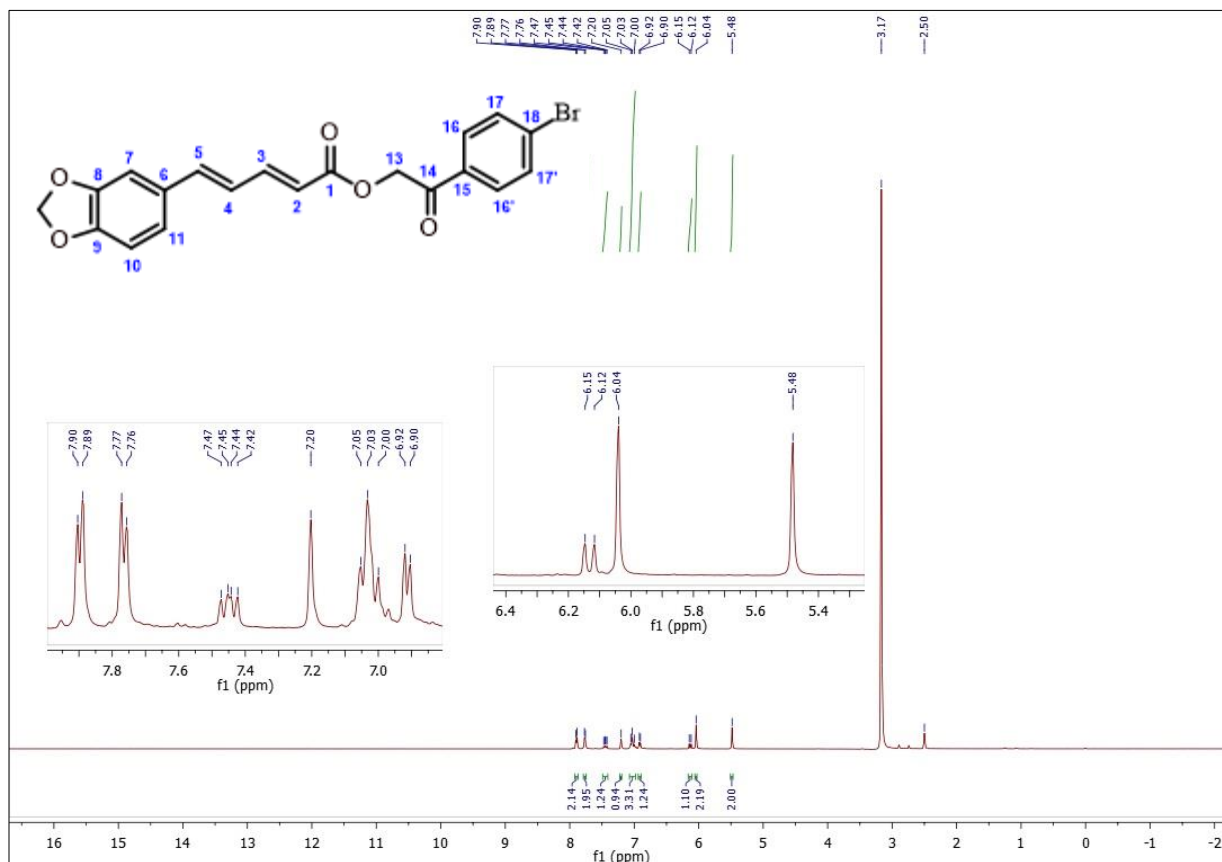


Fonte: Próprio autor, 2021

Espectroscopia de RMN ^1H

No espectro de RMN ^1H (figura 30), foi observado sinal característico na forma de singlete para o metilenodioxo (H-12) na faixa de 6,04 ppm. Dois dupletos podem ser vistos na faixa de 7.90-7.76 ppm para os hidrogênios do anel aromático.

Figura 30: RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6) do composto 2- (4-bromofenil) -2-oxoetil-piperato (PC4)



Fonte: Próprio autor, 2021

4.4 ANALISE CONFORMACIONAL

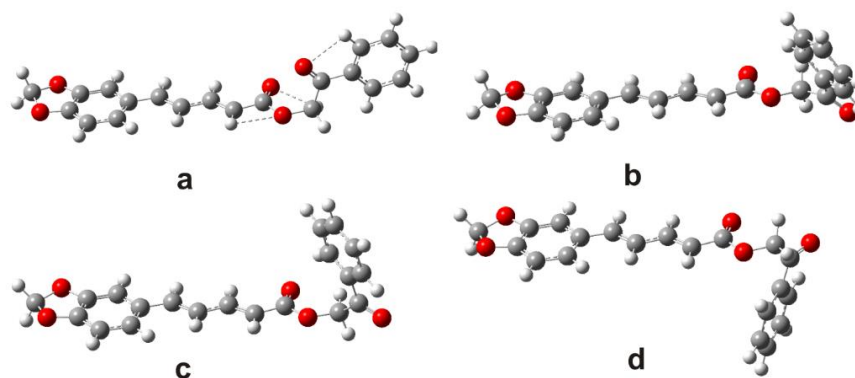
A compreensão da conformação molecular demonstrou ser fundamental para a espectroscopia, ciências dos materiais, síntese orgânica e bioquímica. A conformação do composto PC1 foi observada a partir de cálculos de mecânica quântica e em seguida as superfícies de energia potencial foram calculadas pelo método B3LYP/6-31G(d,p) com contribuição de dispersão obtida da correção D3 e são mostradas no tópico 8 (anexos). Os conformadores de energia mais baixos foram otimizados usando o método B3LYP-D3/6-311+G(2d,p) em solução de clorofórmio e são mostrados na figura 31. Somente foram consideradas as conformações que estão no mesmo plano π . As energias relativas de Gibbs, a população de Boltzmann e os ângulos diédricos selecionados para os confômeros estão listados na Tabela 6 abaixo.

Tabela 6: Energia relativa de Gibbs, população de Boltzmann (a 298,15 K) e ângulo diédrico dos confômeros de menor energia do composto PC1 calculado pelo método B3LYP-D3 / 6-311 + G (2d, p).

Conformações	$\Delta G(\text{KJ mol}^{-1})$	População (%)	C-C-O-C anglo ($^{\circ}$)
a	0,00	95,56	85,2
b	7,72	0,00	169,4
c	8,88	0,56	137,2
d	10,04	0,13	69,4

Fonte: Próprio autor, 2021

Figura 31: Geometrias otimizadas das quatro conformações de menor energia do composto PC1, calculados por B3LYP-D3 / 6-311 + G (2d, p) em



Fonte: Próprio autor, 2021

A conformação **a** foi previsto pelo cálculo da DFT como sendo cerca de 7,8-10,0 kJ mol⁻¹ mais estável do que outras conformações e contribui com cerca de 95,6% da população de Boltzmann a 298,15 K (consulte a Tabela 6). Os principais fatores que determinam a estabilidade das conformações são aparentemente as interações intramoleculares C = O ... H e C₂O ... H, veja a **Figura 33 (a)** e os efeitos estérico do grupo 2-f enil-2-oxoetil. Além disso, a conjugação pronunciada na porção piperato desempenha papel importante para determinar a estabilidade das conformações.

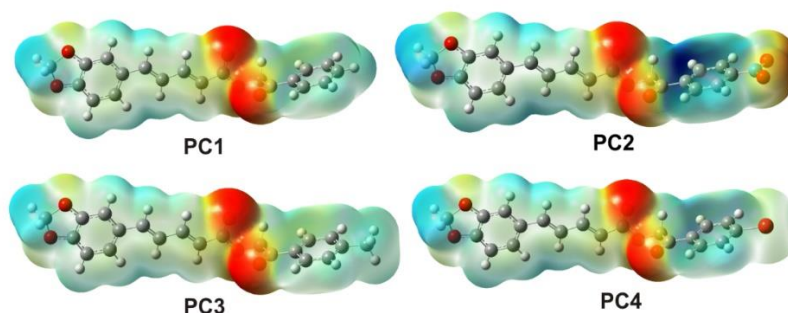
A partir do modelo mais estável **a**, as estruturas dos compostos **PC2**, **PC3** e **PC4** foram construídas pela adição dos substituintes NO₂, CH₃ e Br no anel fenil, respectivamente. Suas geometrias foram otimizadas na fase gasosa e no solvente DMSO usando o método B3LYP-D3 / 6-311 + G (2d, p) e usadas no cálculo de suas propriedades eletrônicas e espectroscópicas.

4.5 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS DOS COMPOSTOS (**PC1- PC4**)

As propriedades eletrônicas dos análogos da piperina foram calculadas no nível teórico B3LYP / 6-311 + G (2d, p), a fim de obter informações sobre reatividade, estabilidade e as regiões eletrofílicas e nucleofílicas nas moléculas.

O potencial eletrostático molecular (MEP) fornece informações sobre a distribuição de cargas nas moléculas e é muito útil para entender as regiões dos ataques eletrofílicos e da reação nucleofílica no estudo do processo de reconhecimento biológico e das interações das ligações de hidrogênio. Para prever a reatividade das moléculas, os potenciais eletrostáticos moleculares -MEPs para os compostos estudados foram calculados e são mostrados na Figura 32.

Figura 32: Potencial eletrostático molecular para derivados de piperina, calculado no nível B3LYP / 6-311 + G (2d, p).



Fonte: Próprio autor, 2021

As regiões negativas em vermelho estão relacionadas à reatividade eletrofílica e região positiva em azul está relacionada com a reatividade nucleofílica. Como se pode ver nos MEP dos compostos, as regiões negativas incluem grupos carbonila. As regiões positivas estão acima do CH₂ no grupo 1,3-benzodioxol. Para a molécula de **PC2**, a região mais positiva cobre as ligações C–C no grupo 4-nitrofenil. Estes resultados mostram que o substituinte NO₂ no **PC2** aumenta sua reatividade nucleofílica em comparação com outros derivados de piperina.

Na Figura 33, são mostrados os HOMO e LUMO para os compostos **PC1** e **PC2**. Como pode ser visto, na molécula **PC1**, seus orbitais de fronteira HOMO e LUMO são deslocalizados sobre a fração de piperato. Orbitais de fronteira semelhantes são observados para as moléculas **PC1**, **PC3** e **PC4** (veja a Figura 33 e 34). Por outro lado, o LUMO do **PC2** está localizado na porção 2- (4-nitrofenil) -2-oxoetil (Figura 35). Portanto, a transição HOMO-LUMO no

composto **PC2** implica uma transferência de densidade eletrônica do piperato para a fração 2-(4-nitrofenil) -2-oxoetil.

Figura 33: Gráficos HOMO e LUMO para compostos PC1, PC2.

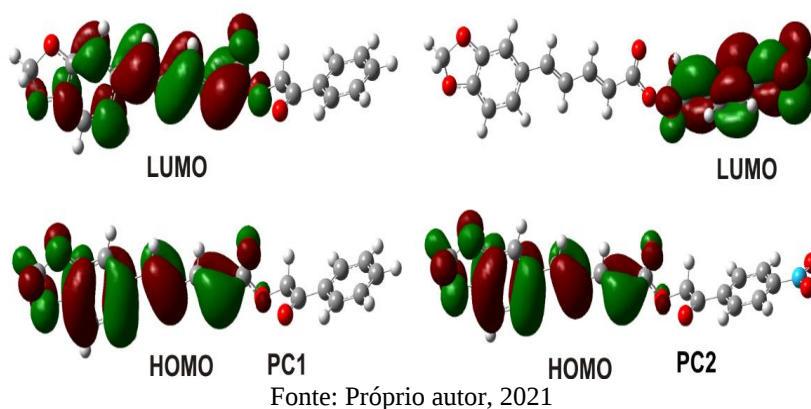
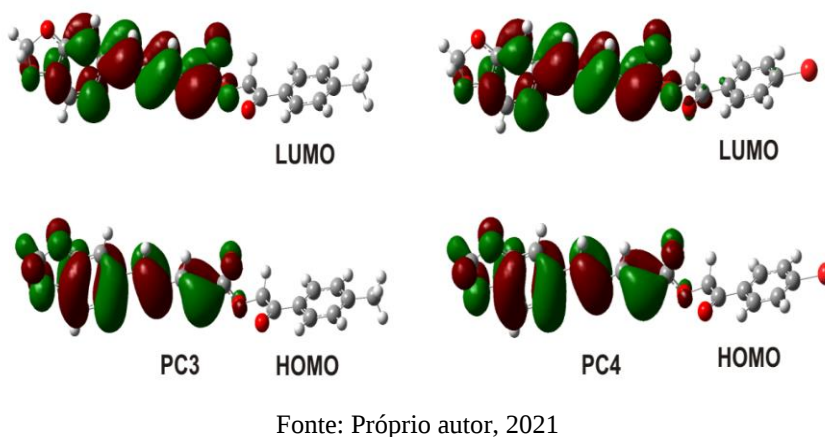


Figura 34: Gráficos HOMO e LUMO para compostos PC3 e PC4.



Os descritores de reatividade química DFT dos compostos foram calculados por meio do método B3LYP/6-311+G(2d, p) e estão listados na Tabela 7. As energias orbitais HOMO e LUMO estão associadas às capacidades do doador de elétrons e do aceitador da molécula, respectivamente. Em geral, quanto maior a energia HOMO (valor negativo menor), maior a capacidade de doar elétrons. A menor diferença de energia HOMO-LUMO (ΔE) para o composto PC2, aumenta sua natureza reativa e polarizável.

O índice global de eletrofilicidade (ω), proposto por Parr et al (1999). É uma medida da estabilização da energia da molécula quando ela é adquirida uma carga eletrônica adicional do ambiente. O índice de eletrofilicidade ω , engloba tanto a tendência de um eletrófilo a adquirir uma densidade extra de elétrons (potencial químico, μ) quanto a resistência de uma molécula a

trocar densidade de elétrons com o meio ambiente (dureza, η). Ele contém informações sobre transferência de elétrons, dadas por μ , e estabilidade molecular, dadas por η . Os derivados de piperina mostram valores de eletrofilicidade similares (2,42-2,47 eV), exceto o composto **PC2**, que é o mais forte eletrofílico entre as moléculas investigadas devido o grupo substituinte ser o NO_2 , ele atrai a maior densidade eletrônica e por isso o composto **PC2** se torna o mais eletrofílico entre todos os compostos sintetizados.

Tabela 7: Descritores de DFT calculados no nível B3LYP / 6-311 + G (2d, p).

Compostos	Descritores Quânticos					
	E_{Homo}	E_{Lumo}	ΔE	η	μ	ω
PC1	-5,78	-2,24	3,54	1,77	-2,93	2,42
PC2	-5,83	-3,43	2,40	1,20	-2,98	3,69
PC3	-5,74	-2,21	3,54	1,77	-2,91	2,40
PC4	-5,82	-2,30	3,52	1,76	-2,95	2,47

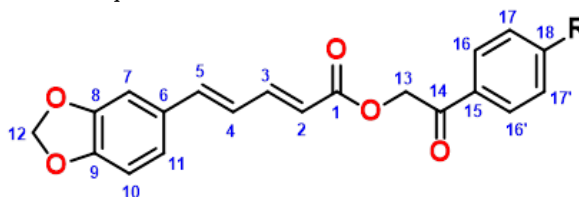
Fonte: Próprio autor, 2021

η = dureza, μ = potencial químico eletrônico, ω = eletrofilicidade

4.6 CÁLCULOS DE RMN

Os espectros experimentais ^1H e ^{13}C do análogo de piperina foram registrados em clorofórmio deuterado e solução DMSO com tetrametisilano (TMS) como padrão interno. Os deslocamentos químicos foram calculados usando o B3LYP funcional com 6-311+G (2d,p) base ajustada em clorofórmio para composto PC1 e DMSO (PC2-PC4) na estrutura do modelo de solvente IEFPCM. Os deslocamentos químicos ^{13}C e ^1H calculados pelo método DFT e ajustados por fatores de escala foram comparados com valores experimentais. Na Tabela 8 são listados os deslocamentos químicos ^{13}C para derivados de piperina e a numeração de cada átomo utilizado na investigação é mostrada na Figura 35.

Figura 35: O sistema de numeração utilizado em derivados de piperina para análise ^1H e ^{13}C RMN, em que R= H, NO₂, CH₃, Br.



Fonte: Próprio autor, 2021

Tabela 8: Deslocamento químico (experimental e calculado) dos carbonos (C1-C18) RMN ^{13}C dos derivados de piperina em clorofórmio e solventes DMSO usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p).

	PC1		PC2		PC3		PC4	
Carbonos	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.
C1	166,2	166,4	165,6	165,3	165,7	165,4	165,6	165,3
C2	115,0	119,1	112,7	118,5	113,3	118,9	113,0	118,7
C3	148,6	146,9	147,7	145,9	147,1	145,6	147,4	145,7
C4	117,5	124,5	120,7	124,4	120,8	124,4	120,8	124,4
C5	143,5	140,9	143,7	140,8	143,4	140,6	143,6	140,7
C6	127,2	130,5	127,9	130,2	127,9	130,2	128,1	130,2
C7	106,9	106,0	109,3	105,7	108,8	105,7	108,9	105,7
C8	147,5	148,3	146,6	147,8	146,5	147,8	146,6	147,8
C9	147,6	148,7	148,7	148,1	148,0	148,1	148,3	148,1
C10	109,6	108,6	106,1	108,2	106,1	108,2	106,0	108,2
C11	126,8	123,1	117,4	122,9	117,0	122,9	117,0	122,9
C12	103,1	101,4	102,8	101,1	102,7	101,1	102,5	101,1
C13	65,7	66,0	65,7	66,3	65,4	65,9	65,4	65,9
C14	191,2	192,4	191,4	192,4	190,7	192,2	190,7	192,2
C15	132,9	134,4	135,7	138,6	127,5	131,5	129,3	133,0
C16	124,3	128,8	127,0	129,0	126,0	127,5	127,2	129,5
C17	128,0	127,8	123,1	123,6	126,6	129,1	129,1	131,7
C18	131,6	133,8	148,5	150,2	146,3	144,0	146,5	127,6
CH ₃					20,7	20,9		
MAD		2,1		2,2		2,4		3,3

Fonte: Próprio autor, 2021

Os dados de deslocamento químico de carbono para todos os compostos mostraram resultados similares, com desvio médio absoluto (MAD) na faixa entre 2,1-3,3 ppm. O maior MAD foi obtido para o composto **PC4**, e associado à má previsão do sinal de carbono C-18 pelo cálculo do DFT (desvio de 19,0 ppm). Quando o sinal de carbono C-18 para este composto é excluído no cálculo do MAD, o novo valor é de 2,4 ppm. O carbono C-18 é ligado ao átomo

de bromo, portanto esta diferença pode ser atribuída à falta de compostos halogenados no conjunto de referência usados para calcular os fatores de escala RMN ^{13}C . Esta limitação destaca a importância da seleção de um conjunto de moléculas com diferentes funções orgânicas para melhorar a qualidade dos fatores de escala de RMN.

Para outros derivados de piperina, o maior desvio foi associado aos carbonos C-2, C-4 e C-11. No composto **PC1**, o desvio máximo foi para o carbono C-4 a 7,0 ppm enquanto para o **PC2** foi associado ao carbono C-2 a 5,8 ppm. Para o composto **PC3**, o desvio máximo foi para o carbono C-11 a 5,9 ppm. Estes desvios podem ser atribuídos principalmente ao uso do modelo de solvente implícito (IEFPCM) no cálculo de deslocamento químicos de RMN. Este modelo negligencia as interações soluto-solvente presentes nas medições experimentais.

Para os compostos sintetizados foram obtidos os coeficientes de determinação do ^{13}C que podem ser vistos na tabela 9. Como pode ser observado, entre os compostos sintetizados aquele que possui maior R^2 foi o **PC3**, logo ele apresenta uma melhor correlação entre os resultados teóricos e experimentais, já o **PC4** apresenta o menor R^2 devido a presença do halogênio que faz com que a diferença de deslocamento entre o experimental e o teórico seja maior do que os outros substituintes.

Tabela 9: Coeficientes angulares, lineares, e de determinação, referentes à equação da reta de cada abordagem para o ^{13}C .

Compostos sintetizados	Coeficiente angular	Coeficiente linear	R^2
PC1	0,9997	0,7874	0,9904
PC2	0,9928	2,0489	0,9911
PC3	0,9986	1,136	0,9948
PC4	0,9638	4,8036	0,9602

Fonte: Próprio autor, 2021

O desvio médio entre os deslocamentos químicos experimentais de RMN ^1H e seus correspondentes valores calculados para derivados da piperina foram elevados quando utilizado o solvente DMSO do que em clorofórmio como pode ser visto na tabela 10. Os resultados sugerem que as interações intermoleculares soluto-solvente são mais fortes em DMSO. Para ambos os compostos, os maiores desvios observados na faixa de 0,33-0,62 ppm foram para prótons H-7 e H-11 do grupo 1,3-benzodioxol. Para o composto **PC1**, o maior desvio foi para

o próton H-11 a 0,62 ppm enquanto para o **PC2**, **PC3** e **PC4**, eles foram associados ao próton H-7 a 0,55, 0,61 e 0,59 ppm, respectivamente.

Tabela 10: Deslocamento químico dos RMN ^1H (experimental e calculado) dos derivados da piperina em clorofórmio e solventes DMSO usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p).

	PC1		PC2		PC3		PC4	
Hidrogênios	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.
H2	5,97	6,10	5,92	6,14	5,93	6,14	5,93	6,13
H3	7,53	7,51	7,55	7,46	7,52	7,45	7,52	7,45
H4	6,91	6,78	6,95	7,03	6,93	7,03	6,95	7,03
H5	6,79	6,78	6,83	7,03	6,81	7,03	6,81	7,03
H7	6,58	7,00	6,65	7,20	6,59	7,20	6,61	7,20
H10	6,72	6,92	6,69	6,91	6,71	6,91	6,69	6,91
H11	7,40	6,78	7,36	7,03	7,41	7,03	7,39	7,03
H12	5,98	5,98	5,97	6,04	5,96	6,04	5,96	6,04
H13	5,44	5,42	5,39	5,56	5,37	5,47	5,34	5,48
H16	7,98	7,94	8,08	8,20	7,82	7,36	7,82	7,90
H17	7,44	7,51	8,41	8,35	7,34	7,86	7,47	7,76
H18	7,58	7,61	-	-	-	-	-	-
CH ₃	-	-	-	-	2,20	2,40	-	-
MAD	-	0,14	-	0,19	-	0,27	-	0,21

Fonte: Próprio autor, 2021

Como pode ser observado, para todos os derivados de piperina há um bom acordo entre os deslocamentos experimentais e os deslocamentos químicos ^1H calculados ($\text{MAD} < 0,3$ ppm). O baixo MAD para composto PC1 indica melhor desempenho do cálculo do DFT em solvente clorofórmio.

Para os compostos sintetizados foram obtidos os coeficientes de determinação do ^1H que podem ser vistos na tabela 11. Como pode ser observado, entre os compostos sintetizados aquele que possui maior R^2 foi o **PC3**, logo ele apresenta a melhor correlação entre o deslocamento químico experimental e o teórico. Contudo, é notório que os valores referentes aos coeficientes de determinação tanto para o ^{13}C quanto para o ^1H foram satisfatórios,

entretanto os valores do ^{13}C foram ainda melhores evidenciando pequenos erros aleatórios. Os gráficos aqui citados estarão disponíveis no Capítulo 8 (anexo) deste trabalho.

Tabela 11: Coeficientes angulares, lineares, e de determinação referentes à equação da reta de cada abordagem para o ^1H .

Compostos sintetizados	Coeficiente angular	Coeficiente linear	R²
PC1	0,9069	0,6528	0,9026
PC2	0,8894	0,8638	0,9447
PC3	0,9672	0,3223	0,9795
PC4	0,9129	0,7245	0,9163

R – Coeficiente de determinação.

Fonte: Próprio autor, 2021

4.7 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

O estudo da atividade antifúngica *in vitro* de compostos derivados da piperina PC1-PC4 foi avaliado pelo método de microdiluição com 10 cepas de fungos patogênicos divididas em: Leveduras (*Candida albicans* ATCC 76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM-122, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-04, *C. krusei* LM-656, *C. krusei* LM-13) e fungos filamentosos (*T. rubrum* LM-49, *Microsporum canis* LM-12, *M. gypseum* LM-512) usando Anfotericina B ($0,034 \mu\text{mol mL}^{-1}$) como droga padrão. Dos quatro compostos testados, apenas o composto PC4 mostrou atividade antifúngica em sete das dez cepas testadas (Tabela 12).

O composto PC4 mostrou uma concentração inibitória mínima de $2,46 \mu\text{mol mL}^{-1}$ para todas as cepas de *C. albicans* (ATCC 76645, LM-111 e LM-122). Para as cepas de *C. krusei* (LM-656 e LM-13) o MIC foi $1,23 \mu\text{mol mL}^{-1}$. Para fungos filamentosos, o composto apresentou uma concentração inibitória mínima de $1,23 \mu\text{mol mL}^{-1}$ somente para *M. canis* LM-12 e *M. gypseum* LM-512. Entretanto, para todas as situações acima mencionadas, é possível observar o potencial bioativo que o composto PC4 possui, o que também foi evidenciado ao revelar uma excelente concentração mínima inibitória (MIC) contra leveduras e fungos filamentosos para este trabalho. Com a necessidade de investigar mais aspectos no que diz

respeito à dimensão real de seu potencial antifúngico, foi realizado o ensaio de Concentração Fungicida Mínima (CFM) cujo os resultados podem ser vistos na tabela 12.

O CFM para o composto PC4 contra as cepas em estudo variou entre 9,84-19,68 $\mu\text{mol mL}^{-1}$. Este comportamento de sensibilidade diferente das cepas está relacionado às particularidades individuais de cada espécie e cepa. Uma substância com atividade antifúngica pode ter um efeito fungistático ou fungicida, sendo considerada fungistática quando é capaz de inibir ou retardar o crescimento fúngico e fungicida quando promove a morte celular. Segundo Siddiqui et al, (2013) se a relação CFM/CIM resultar em um valor ≤ 4 , o efeito é fungicida. Entretanto, se esta razão for > 4 , a substância tem um perfil fungistático. Ao analisar a natureza da ação antifúngica do composto PC4, foi revelado que ele é do tipo fungistático, já que a relação obtida entre CFM/MIC foi 8.

Em um segundo momento do trabalho, como pode ser visto na tabela 12, foram analisadas as cepas *Aspergillus flavus* (LM-171 e LM-248); *Aspergillus niger* LM-22; *Penicillium citrinum* LM-278, LM-161; *Cladosporium sp.* LM-283. O composto PC1, teve crescimento de microrganismos em todas as cepas, já o PC2 tem o MIC para todas as cepas de 2,68 $\mu\text{mol mL}^{-1}$. O PC3 teve como valor do MIC igual a 2,92 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, enquanto que o PC4 resultou em um MIC de 2,46 $\mu\text{mol mL}^{-1}$. Nesse segundo momento a concentração fungicida mínima não foi calculada, logo não se pode concluir a relação CFM/CIM.

Tabela 12: Atividade antifúngica (valores MIC e MFC em $\mu\text{mol mL}^{-1}$) dos compostos PC1-PC4.

	PC1		PC2		PC3		PC4	
Microorganismos	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM	CIM	CFM
<i>C. a.</i> ATCC 76645	+	+	+	+	+	+	2.46	19.68
<i>C. a.</i> LM-111	+	+	+	+	+	+	2.46	19.68
<i>C. a.</i> LM-122	+	+	+	+	+	+	2.46	19.68
<i>C. t.</i> ATCC-13803	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. t.</i> LM-04	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>C. k.</i> LM-656	+	+	+	+	+	+	1.23	9.84
<i>C. k.</i> LM-13	+	+	+	+	+	+	1.23	9.84
<i>T. r.</i> LM-49	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. c.</i> LM-12	+	+	+	+	+	+	1.23	9.84
<i>M. g.</i> LM-512	+	+	+	+	+	+	1.23	9.84
<i>A. f.</i> LM-171	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*
<i>A. f.</i> LM-248	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*
<i>A. n.</i> LM-22	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*
<i>P. c.</i> LM-278	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*
<i>P. c.</i> LM-161	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*
<i>C. sp.</i> LM-283	+	*	2.68	*	2.92	*	2.46	*

(*C. a.*): *Candida albicans*; (*C. t.*): *Candida tropicalis*; (*C. k.*): *Candida krusei*; (*T. r.*): *Trichophyton rubrum*; (*M. c.*): *Microsporum canis*; (*M. g.*): *Microsporum gypseum*. (*A. f.*): *Aspergillus flavus*. (*A. n.*): *Aspergillus niger*. (*P. c.*): *Penicillium citrinum*. (*C. sp.*): *Cladosporium sp.* (+): indica crescimento do microrganismo. (*): não foi calculado.

CAPÍTULO 5

Conclusão

5. CONCLUSÃO

- Os quatro compostos finais (**PC1-PC4**), apresentaram uma rota sintética simples e eficaz, com rendimento entre (50-65%).
- Todos os compostos foram avaliados *in vitro* contra diferentes fungos e apenas o composto **PC4** apresentou inibição contra (*C. a.*): *Candida albicans*; (*C. t.*): *Candida tropicalis*; (*C. k.*): *Candida krusei*; (*T. r.*): *Trichophyton rubrum*; (*M. c.*): *Microsporum canis*; (*M. g.*): *Microsporum gypseum*, logo o composto **PC4** apresentou concentração inibitória mínima (CIM) variando de 1,23-2,46 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ e com isso apresentou um efeito fungicida.
- As cepas de (*A. f.*): *Aspergillus flavus*. (*A. n.*): *Aspergillus niger*. (*P. c.*): *Penicillium citrinum*. (*C. sp.*): *Cladosporium sp*, foram estudadas, mas não se pode concluir o feito causado, uma vez que é necessário o cálculo da concentração fungicida mínima (CFM), mas como pode ser observado na tabela 13, as cepas apresentaram uma concentração inibitória mínima de 2,46 $\mu\text{mol mL}^{-1}$, ou seja, o composto **PC4** conseguiu inibir o crescimento.
- O método quântico DFT, com a base 6-311+G(2d,p) e o funcional B3LYP, foi bastante eficiente na otimização das moléculas dos quatro compostos finais, onde foi possível determinar a conformação mais estável do composto **PC1** e a partir dela foi possível construir as estruturas dos compostos **PC2**, **PC3**, **PC4**.
- O cálculo DFT indica que os substituintes metil e bromo no anel fenil não influenciam significativamente a reatividade química e a estabilidade de seus compostos. Por outro lado, o grupo nitro contribui para a alta reatividade do composto **PC2**.

CAPÍTULO 6

Metodologia

6. METODOLOGIAS

6.1 EQUIPAMENTOS E MATERIAIS

Todos os reagentes e solventes usados foram adquiridos de fontes comerciais (Sigma-Aldrich®, São Paulo, Brasil) e utilizados sem uma purificação adicional. A purificação dos compostos foi realizada por recristalização em uma mistura de DMF/Água e confirmada pela determinação da faixa de fusão em uma placa de aquecimento MQAPF-302 (Microquímica). Os espectros de RMN ^1H e ^{13}C foram obtidos em duas máquinas diferentes: um Bruker Avance Ultrashield TM (400 MHz para ^1H e 101 MHz para ^{13}C) e Bruker Avance Ultrashield TM (500 MHz para ^1H e 126 MHz para ^{13}C). Clorofórmio deuterizado (CDCl_3) e dimetil sulfóxido de deuterado (DMSO-d_6) foi usado como solvente, e tetrametilsilano (TMS) foi usado para o padrão interno. Os desvios químicos (δ) foram medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J), em hertz (Hz). Os espectros de espectroscopia de infravermelho (IR) foram obtidos em um espectrômetro Shimadzu modelo IR Prestige-21 FTIR com um acessório de reflexão total atenuada (RTA).

6.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO

A extração de compostos orgânicos utilizando solvente, através de aquecimento e refluxo é uma técnica muito utilizada e tradicional que também pode ser otimizada quando se utiliza ultrassom ou líquidos iônicos orgânicos (FERREIA, 2012). A extração da piperina realizada neste trabalho foi baseada na técnica de extração utilizando Soxhlet devido ao baixo custo, redução do tempo e melhores rendimentos.

No processo de extração do composto foi utilizado um extrator Soxhlet, que consiste na utilização de refluxo de solvente para extração. Após a extração, o isolamento e purificação da piperina pode ser realizado por técnicas como cromatografia ou por técnicas simples como precipitação. Segundo Ferreira (2012), além de técnicas convencionais, ela pode ser obtida através de produção natural da amida em cultura líquida que ocorre por indução fúngica

endofílica, que é realizada quando se utiliza outra variante da pimenta que é a *Piper Longum*. Essa técnica possibilita a preservação das plantas fitoterápicas e mantém a sua estrutura física intacta. Abaixo, a figura 36, mostra os equipamentos utilizados para a extração da piperina.

Figura 36: Extração da piperina



Fonte: Próprio autor, 2021

6.2.1 PROCEDIMENTOS PARA EXTRAÇÃO DA PIPERINA

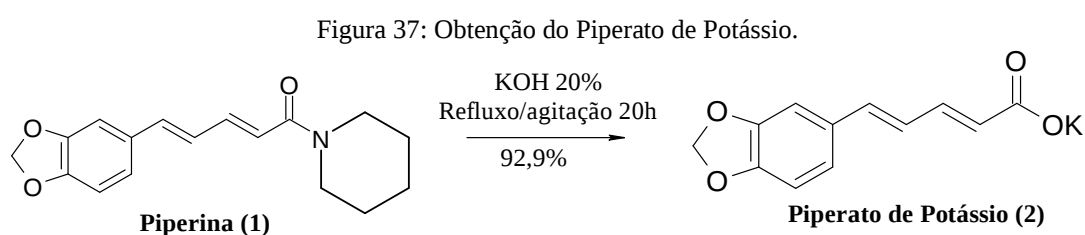
200 g de pimenta preta secas foram moídas até obter um pó fino que foi colocada em um aparelho de soxhle tendo 1000 mL de etanol a 95% como solvente extrator o sistema foi utilizado por 2 horas em seguida o álcool usado na extração teve o volume reduzido para 200 mL a pressão reduzida em um rotaevaporador ocorrendo a formação de um precipitado. A essa solução foi adicionado 200 mL de uma solução de KOH alcoólico a 10% e em seguida o material sólido foi separado por filtração fornecendo uma solução amarelada a qual foi adicionado uma pequena quantidade de água destilada, suficiente para tornar a solução turva, esta foi deixada em repouso durante toda noite então foi obtido um precipitado na forma de cristais amarelados. O sólido cristalino assim obtido foi filtrado a vácuo e lavado com uma pequena quantidade de água gelada e finalmente seco ao ar. Foram obtidos 7,0 g de piperina (3,5% de rendimento) e ponto de fusão de 126-128 °C; RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,38

(ddd, $J = 4,7; 8,7; 1,5$ Hz, 1H, =C-H), 6,96 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, C-H_{Ar}), 6,87 (dd, $J = 8,0, 1,7$ Hz, 1H, C-H_{Ar}), 6,72 (m, 3H, =C-H e C-H_{Ar}), 6,42 (d, $J = 14,7$ Hz, 1H, =C-H), 5,95 (s, 2H, OCH₂O), 3,57 (d, $J = 52,5$ Hz, 4H, CH₂), 1,65 (m, 2H, CH₂), 1,57 (dt, $J = 11,2, 5,6$ Hz, 4H, CH₂). **RMN ¹³C (126 MHz, CDCl₃):** δ 165,53, 148,30, 148,21, 142,55, 138,29, 131,14, 125,48, 122,57, 120,19, 108,58, 105,79, 101,37, 24,77.

6.3 PREPARAÇÃO DOS INTERMEDIÁRIOS SINTÉTICOS PIPERATO DE POTÁSSIO E OS COMPOSTOS (9a – 9d).

6.3.1 PROCESSO DE OBTENÇÃO DO PIPERATO DE POTÁSSIO

Em um balão de 100 mL, 6,0 g (0,021 mol) de piperina foram suspensos em 60 mL de solução etanólica de KOH a 20%. A mistura de reação foi mantida sob refluxo e agitação por 20 horas. Após a conclusão da reação, a mistura foi filtrada, lavada com etanol, seca e foram obtidos 5,0g (rendimento de 92,9%) de um sólido granular marrom (Figura 37). Caracterização: **RMN ¹H (400 MHz, D₂O):** δ 7,05 (dd, $J = 15,5, 9,6$ Hz, 1H, =C-H), 6,86 (d, $J = 1,6$ Hz, 1H, C-H_{Ar}), 6,82 (dd, $J = 8,2, 1,6$ Hz, 1H, C-H_{Ar}), 6,73 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H, C-H_{Ar}), 6,60 (m, 2H, =C-H), 5,92 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, =C-H), 5,88 (s, 2H, O-CH₂-O).

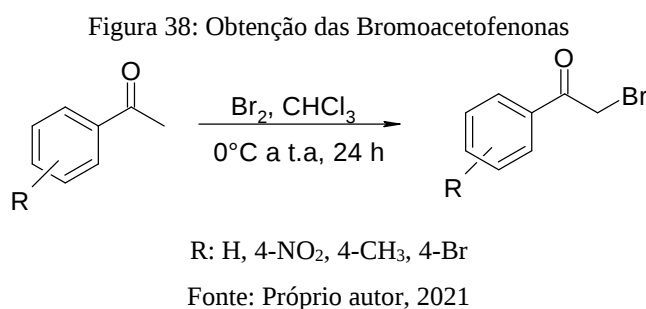


Fonte: Próprio autor, 2021

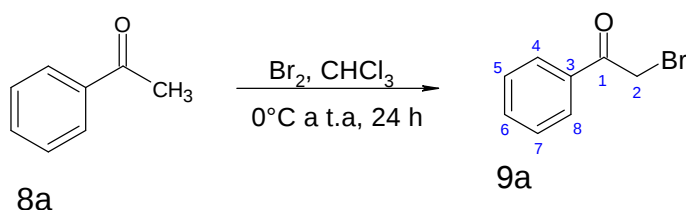
6.3.2 PROCEDIMENTO GERAL DE SÍNTESES DAS BROMOCETOFENONAS (9a-d)

Em um balão de 100 mL contendo uma solução de bromo (0,018 mol) em clorofórmio (5 mL) foi adicionada gota a gota uma acetona aromática substituída (0,016 mol) em clorofórmio (50 mL) a 0 ° C. A mistura de reação foi agitada por mais 24 h em temperatura

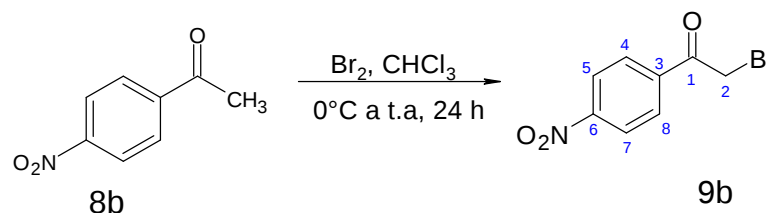
ambiente em seguida a mistura de reação foi colocada em um funil de separação, lavada com uma solução saturada de NaHCO_3 (3 x 100 mL), uma solução saturada de NaCl (2 x 50 mL) e seca sobre sulfato de sódio anidro. A fase orgânica foi filtrada e concentrada sob a pressão reduzida em rotaevaporador. Os sólidos assim obtidos foram recristalizados em uma solução de etanol/água (8:2). A figura 38 exemplifica o processo de síntese para a obtenção das bromoacetofenonas (9a-d).



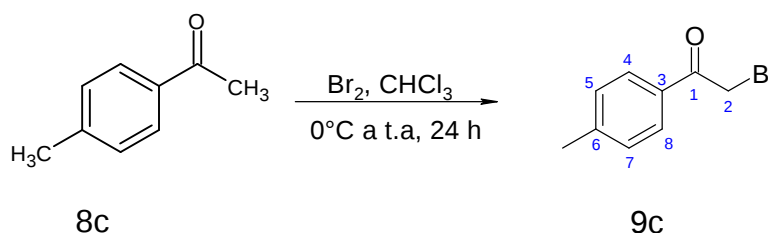
6.3.3 SÍNTESE DO 2-BROMOACETOFENONA (9a)



Usando o método geral, foi utilizado 1,92g (0,016 mol) do composto 1-feniletan-1-ona (**8a**) e foram obtidos 2,44g (0,018 mol) do composto 2-bromoacetofenona (**9a**) com rendimento de 77%, ponto de fusão 51-53°C (lit: 51-52°C, Zhuravlev et al, (2010), apresentou a formação de cristais na coloração branca. Caracterização: **RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3)**: δ 7,99 (dd, J = 8,4, 1,3 Hz, 2H, H-4 e H-8), 7,61 (m, 1H, H-6), 7,49 (t, J = 7,7 Hz, 2H, H-5 e H-7), 4,46 (s, 2H, H-2). **RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3)** δ 191,40 (C-1), 134,07 (C-6), 129,04 (C-4 e C-8), 128,98 (C-5 e C-7), 31,05 (C-2).

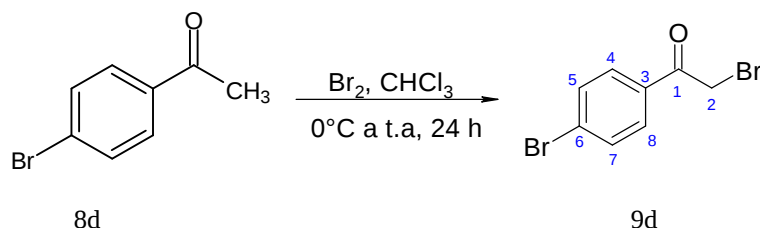
6.3.4 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-NITROACETOFENONA (**9b**)

Usando o método geral, foi utilizado 2,64g (0,016 mol) do composto 1-(4-nitrofenil)etan-1-ona (**8b**) e foram obtidos 2,96g (0,018 mol) do composto 2-bromo-4'-nitroacetofenona (**9b**) com rendimento de 76%. Ponto de fusão 98-100°C (lit: 99-100°C, Jakhar et al, 2008). Apresentou a formação de cristais na coloração amarelo-pálido. Caracterização: **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 8,35 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-5 e H-7), 8,16 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H, H-4 e H-8), 4,47 (s, 2H, H-2), **RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃)**: δ 190,03 (C-1), 138,52 (C-3), 130,22 (C-4 e C-8), 124,19 (C-5 e C-7), 30,23 (C-2).

6.3.5 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-METILACETOFENONA (**9c**)

Usando o método geral, foi utilizado 2,15g (0,016 mol) do composto 1- (4-metifenil)etan-1-ona (**8c**) e foram obtidos 2,73g (0,018 mol) do composto 2-bromo-4'-metilacetofenona (**9c**) com rendimento de 80%, ponto de fusão 46-48°C (lit: 44-46 °C Jakhar et al, 2008). O composto **9c** apresentou cristais na coloração branca Caracterização: **RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃)**: δ 7,89 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H, H-7 e H-5), 7,29 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H, H-4 e H-8), 4,43 (s, 2H, H-2), 2,43 (s, 3H, CH₃), **RMN ¹³C (101 MHz, CDCl₃)**: δ 191,10 (C-1), 145,16 (C-6), 131,62 (C-3), 129,69 (C-5 e C-7), 129,20 (C-4 e C-8), 31,06 (C-2), 21,89 (CH₃).

6.3.6 SÍNTESE DO 2-BROMO-4'-BROMOACETOFENONA (**9d**)

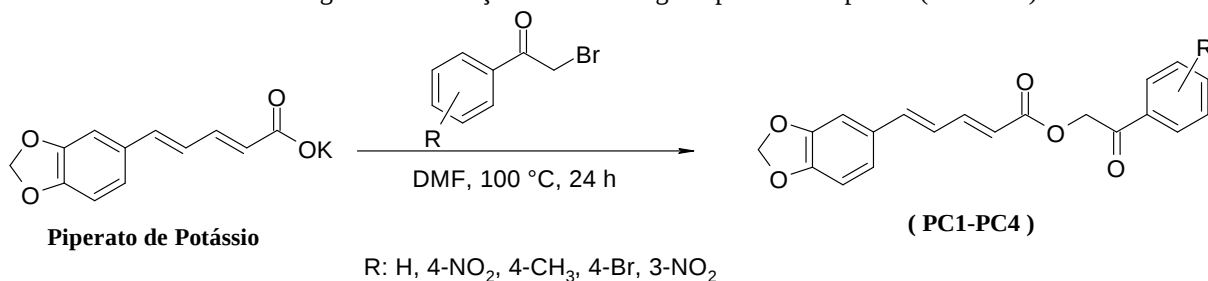


Usando o método geral, foi utilizado 3,18g (0,016 mol) do composto 1-(4-bromofenil)etan-1-ona (**8d**) e foram obtidos 3,33g (0,018 mol) do composto 2-bromo-4'-bromoacetofenona (**9d**) com rendimento de 75%, ponto de fusão 109-111°C (lit: 110-111°C, Safaei-Ghomi et al, 2011). O composto **9d** apresentou cristais na coloração branca.

6.4 PROCEDIMENTO GERAL DE SÍNTESE DOS DERIVADOS DA PIPERINA (PC1-PC4)

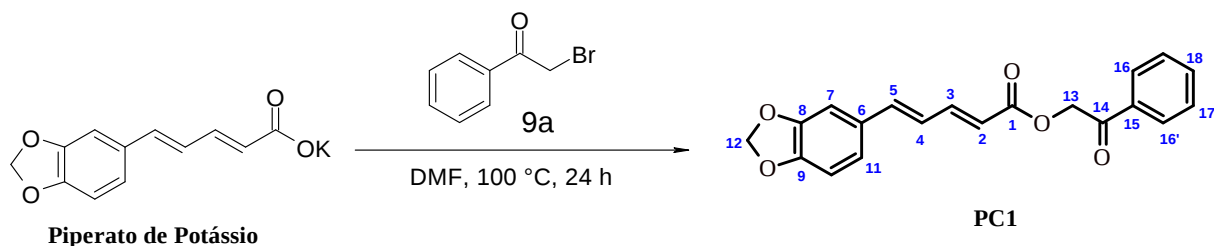
Em um balão de 50 mL contendo uma mistura de 1,28g (5 mmol) de piperato de potássio e massa variando entre (0,760g - 0,963g) que corresponde a (4 mmol) de brometoacetofenona em 10 mL de DMF, a mistura obtida foi agitada a uma temperatura de 100 ° C por 24 h, em seguida foi resfriada a temperatura ambiente e então adicionado (30 ml) de água gelada e o sólido formado foi separado por filtração a vácuo e lavado com água destilada e secos ao ar. O produto bruto foi recrystalizado em uma mistura DMF/água (8:2). A figura 39 exemplifica o processo de síntese para a obtenção dos compostos derivados da piperina (PC1-PC4).

Figura 39: Obtenção da estrutura geral para os compostos (PC1-PC4)



Fonte: Próprio autor, 2021

6.4.1 SÍNTESE DO 2-OXO-2-FENILETIL-PIPERATO (PC1)



Usando o procedimento geral em 6.2.4, utilizando 1,28g (5 mmol) de piperato de potássio e 0,796g (4 mmol) do 2-bromoacetofenona (9a) e foram obtidos 0,804g do composto (PC1) após a recristalização. O composto PC1 apresentou a formação de cristais com coloração amarelo pálido com rendimento de 60% e ponto de fusão de 167-169 °C.

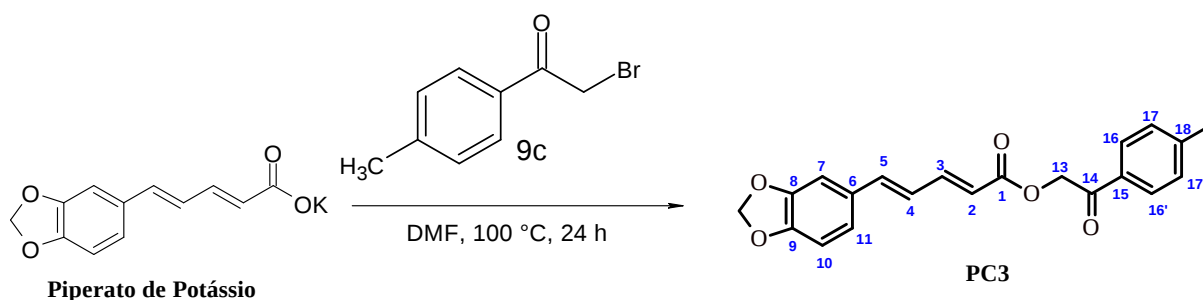
Caracterização:

Espectroscopia de IV (ATR) ν / cm^{-1} : 3062 (ν C-H_{Alke}), 3037, 3014 (ν C-H_{Ar}), 2933, 2906 (C-H), 1714 (ν C=O, éster), 1689 (ν C=O, cetona), 1620 (ν C=C), 1608 e 1490 (ν C=C_{Ar}), 1257 e 1143 (ν O-CH₂-O), 927, 852, 752 (ν C-H_{Ar}).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,94 (d, J = 7,7 Hz, 2H, H-16 e H-16'), 7,61 (t, J = 7,4 Hz, 1H, H-18), 7,51 (dt, J = 15,0, 9,3 Hz, 3H, H-3, H-17 e H-17'), 7,00 (s, 1H, H-7), 6,92 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-10), 6,78 (ddd, J = 26,3, 22,5, 13,2 Hz, 3H, H-4, H-5 e H-11), 6,10 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 5,98 (s, 2H, H-12), 5,42 (s, 2H, H-13).

RMN ^{13}C (126 MHz, CDCl_3): δ 166,38 (C-1), 119,06 (C-2), 146,94 (C-3), 124,45 (C-4), 140,93 (C-5), 130,50 (C-6), 105,98 (C-7), 148,32 (C-8), 148,70 (C-9), 108,55 (C-10), 123,12 (C-11), 101,42 (C-12), 65,97 (C-13), 192,43 (C-14), 134,40 (C-15), 128,84 (C-16 e C-16'), 127,82 (C-17 e C-17'), 133,80 (C-18).

6.4.3 SÍNTESE DO 2-OXO-2-(4-TOLIL)-ETIL-PIPERATO (PC3)



Usando o procedimento geral em 6.2.4, utilizando 1,28g (5 mmol) de piperato de potássio e 0,852g (4 mmol) do 2-bromo-4'-metilacetofenona (9c) e foram obtidos 0,910g do composto 2-oxo-2-(4-tolil)-etil-piperato (PC3) após a recristalização. O composto PC3 apresentou a formação de cristais com coloração laranja com rendimento de 65% e ponto de fusão de 187-189 °C.

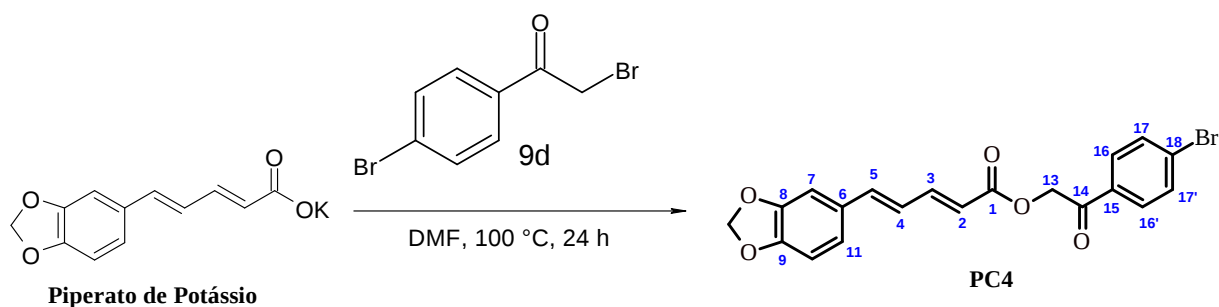
Caracterização:

Espectroscopia de IV (ATR) ν/cm^{-1} : 3039 (ν C-H), 3000 (ν C-H_{Ar}), 2924 (ν C-H), 1712 (ν C=O, ester), 1695 (C=O, cetona), 1608 (ν C=C), 1602 e 1485 (ν C=C_{Ar}), 1226 e 1128 (ν O-CH₂-O), 925, 864, 819 (ν C-H_{Ar}).

RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 7,86 (d, J = 8,0 Hz, 2H, H-17 e H-17'), 7,45 (dd, J = 15,3, 9,3 Hz, 1H, H-3), 7,38 (d, J = 8,0 Hz, 2H, H-16 e H-16'), 7,20 (s, 1H, H-7), 7,03 (t, J = 11,0 Hz, 3H, H-4, H-5 e H-11), 6,91 (d, J = 8,0 Hz, 1H, H-10), 6,14 (d, J = 15,2 Hz, 1H, H-2), 6,04 (s, 2H, H-12), 5,47 (s, 2H, H-13), 2,40 (s, 3H, CH₃).

RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO- d_6): δ 165,37 (C-1), 118,87 (C-2), 145,55 (C-3), 124,42 (C-4), 140,56 (C-5), 130,22 (C-6), 105,72 (C-7), 147,78 (C-8), 148,07 (C-9), 108,23 (C-10), 122,85 (C-11), 101,10 (C-12), 65,88 (C-13), 192,19 (C-14), 131,52 (C-15), 127,51 (C-16 e C-16'), 129,12 (C-17 e C-17'), 144,03 (C-18), 20,87 (CH₃).

6.4.4 SÍNTESE DO 2-(4-BROMOFENIL)-2-OXOETIL-PIPERATO (**PC4**)



Usando o procedimento geral em 6.2.4, utilizando 1,28g (5 mmol) de piperato de potássio e 1,11g (4 mmol) do 2-bromo-4'-bromoacetofenona (9d) e foram obtidos 0,963g do composto 2-(4-bromofenil)-2-oxoetil-piperato (**PC4**) após a recristalização. O composto **PC4** apresentou a formação de cristais com coloração amarelo pálido com rendimento de 58% e ponto de fusão de 213-215 °C.

Caracterização:

Espectroscopia de IV (ATR) ν/cm^{-1} : 3086, 3064 (C–H), 3007 (C–H_{Ar}), 2924, 2900 (C–H), 1716 (C=O, éster), 1697 (C=O, cetona), 1620 (C=C), 1606 e 1502 (C=C_{Ar}), 1444 (CH₂), 1247 e 1141 (O–CH₂–O), 927, 819, 808 (ν C–H_{Ar}).

RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆): δ 7,90 (d, J = 7,7 Hz, 2H, H-16 e H-16'), 7,76 (d, J = 7,2 Hz, 2H, H-17 e H-17'), 7,45 (dd, J = 14,8, 10,1 Hz, 1H, H-3) 7,20 (s, 1H, H-7), 7,03 (t, J = 13,3 Hz, 3H, H-4, H-5 e H-11), 6,91 (d, J = 7,9 Hz, 1H, H-10), 6,13 (d, J = 15,0 Hz, 1H, H-2), 6,04 (s, 2H, H-12), 5,48 (s, 2H, H-13).

RMN ¹³C (126 MHz, DMSO-*d*₆): δ 165,32 (C-1), 118,70 (C-2), 145,70 (C-3), 124,40 (C-4), 140,67 (C-5), 130,21 (C-6), 105,74 (C-7), 147,79 (C-8), 148,09 (C-9), 108,24 (C-10), 122,87 (C-11), 101,11 (C-12), 65,92 (C-13), 192,17 (C-14), 133,02 (C-15), 129,45 (C-16 e C-16'), 131,70 (C-17 e C-17'), 127,59 (C-18).

6.5 ESTUDOS COMPUTACIONAIS

Para este trabalho o método teórico utilizado foi basicamente o DFT (Teoria do funcional de densidade). Neste método as propriedades de um sistema com muitos elétrons podem ser determinadas aplicando funcionais, funções que recebem como argumento uma outra função, sobre a densidade eletrônica, o que origina o seu nome (GOMES, 2019).

Basicamente as funcionais aparecem de três tipos: aproximação de densidade local (LDA), aproximação do gradiente generalizado (GGA) e os funcionais híbridos. Para este trabalho foi utilizado o funcional híbrido B3LYP, ele contém em sua formulação funcionais GGA de troca e correlação e que inclui uma contribuição vinda do método de HF (Hartree-Fock). Segundo Ortolan (2014), A nomenclatura do híbrido tem a seguinte relação:

- Letra B – porque foi desenvolvido por Becke.
- As letras LYP - é um termo de correlação desenvolvido por Lee, Yang e Parr.
- O numeral 3 - indica três parâmetros empíricos (eletrofilicidade-0,20; potencial químico-0,72; dureza- 0,81) escolhidos para otimizar a performance.

A função de base é outro aspecto que deve ser evidenciado devido a sua importância já que leva em consideração a molécula como um todo. Para esse projeto a base utilizada foi a B3LYP/6-31G(d,p) onde segundo Ortolan (2014), esta base indica 2 funções de base, uma com 3 funções primitivas e uma com 1 função primitiva. O **(d,p)** - são incluídos orbitais “d” nos heteroátomos e orbitais “p” nos átomos de hidrogênio.

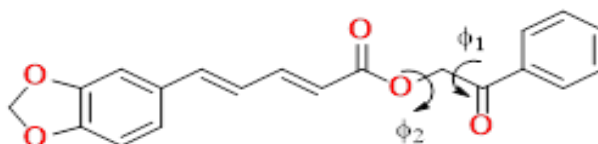
Todos os cálculos de DFT foram realizados com o Gaussian 09, versão C.0122, no Centro Nacional de Computação de Alto Desempenho de São Paulo (CENAPAD-SP). O programa GaussView 5.0.823 foi utilizado para construir estruturas moleculares, orbitais moleculares de fronteira e superfície de potencial eletrostático molecular.

6.5.1 ESTUDO CONFORMACIONAL E OTIMIZAÇÃO DA GEOMETRIA

O protocolo de busca conformacional foi aplicado para o composto **PC1** usando o método B3LYP/6-31G(d,p) em combinação com a correção de dispersão funcional de densidade Grimme (DFT-D3). As correções D3 foram aplicadas para uma melhor descrição

das interações intramoleculares no composto em fase gasosa. Os ângulos diédricos O–C–C–O (ϕ_1) e C–C–O–C (ϕ_2), (ver Figura 40), foram escaneados em sua faixa completa usando um intervalo de 10° entre pontos, gerando uma superfície de energia potencial (PES) com 36 pontos através de uma varredura relaxada do ângulo diedral.

Figura 40: Estrutura do composto PC1 com definição dos ângulos diedrais

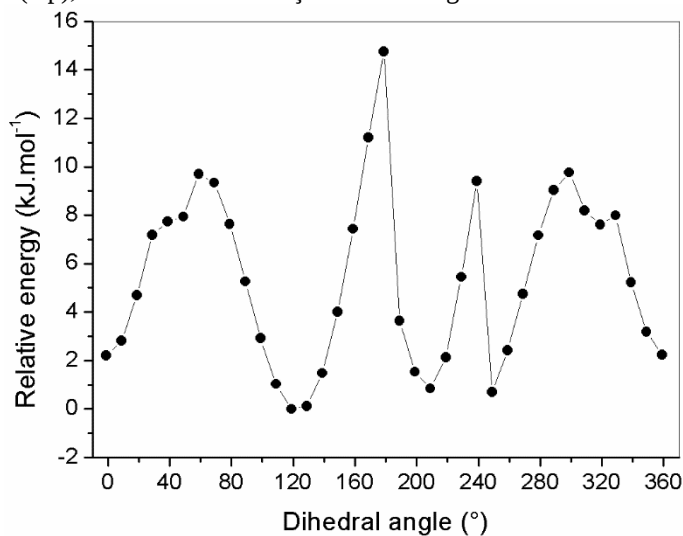


Fonte: Próprio autor, 2021

As quatro conformações de energia mais baixa foram otimizadas em solução de clorofórmio por meio do método B3LYP-D3/6-311+G(2d,p) e usando o solvente modelo contínuo IEFPCM. As energias livres de Gibbs dos conformadores foram computadas no mesmo nível teórico para calcular as populações de Boltzmann.

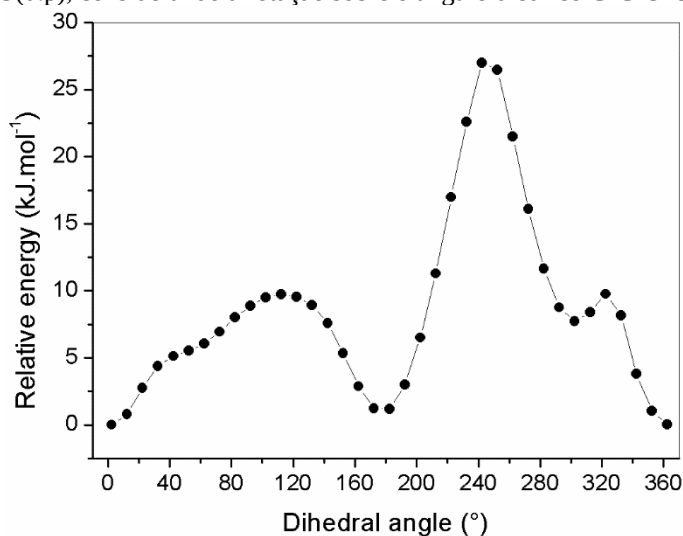
A partir do conformador **PC1** mais estável, as estruturas dos compostos **PC2**, **PC3** e **PC4** foram construídas pela adição dos substitutos, NO₂, CH₃ e Br no anel fenil, respectivamente. Suas geometrias foram otimizadas em fase gasosa e DMSO usando o método B3LYP-D3/6-311+G(2d,p) e o modelo de solvente IFPCM. A frequência vibracional foi calculada para garantir que as estruturas sejam mínimas na superfície de energia potencial. Abaixo (nas figuras 41 e 42), é possível ver superfícies de energia potencial do composto PC1 considerando a rotação do ângulo diédrico O-C-CO e C-C-O-C, calculado a partir da base B3LYP-D3 / 6 e Método 31G(d,p).

Figura 41: Superfície de energia potencial do composto PC1 calculado por B3LYP-D3 / 6-Método31G(d,p), considerando a rotação sobre o ângulo diédrico O-C-CO



Fonte: Próprio autor, 2021

Figura 42: Superfície de energia potencial do composto PC1 calculado por B3LYP-D3 / 6-Método31G(d,p), considerando a rotação sobre o ângulo diédrico C-C-O-C



Fonte: Próprio autor, 2021

6.5.2 PROPRIEDADES ELETRÔNICAS

Potencial eletrostático molecular, orbitais moleculares de fronteira (HOMO e LUMO) e descritores de reatividade química DFT dos compostos foram calculados a partir de um único ponto, usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p). As superfícies de potencial eletrostático molecular (MEPS) foram obtidas com valores fixos de densidade eletrônica (isosuperfície) de 0,001 e/bohr³. Este valor de densidade eletrônica foi recomendado por Barde et al (1999) e é considerado padrão no cálculo do MPES de várias moléculas orgânicas. Os descritores globais

de reatividade química, tais como dureza química (η), potencial químico eletrônico (μ) e eletrofilicidade (ω), foram avaliados a partir das energias HOMO e LUMO, usando as seguintes equações da figura 43.

Figura 43: Equações utilizadas para avaliar os descritores dureza química (η), potencial químico eletrônico (μ) e eletrofilicidade (ω), a partir das energias HOMO e LUMO

$$\eta = \frac{E_{\text{LUMO}} - E_{\text{HOMO}}}{2} \quad (1)$$

$$\mu = \frac{E_{\text{LUMO}} + E_{\text{HOMO}}}{2} \quad (2)$$

$$\omega = \frac{\mu^2}{2\eta} \quad (3)$$

Fonte: Próprio autor, 2021

6.5.3 CÁLCULO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Os deslocamentos químicos ^1H e ^{13}C RMN foram obtidos a partir do cálculo de ponto único usando o método B3LYP/6-311+G(2d,p), a partir das geometrias otimizadas no mesmo nível teórico e usando o modelo orbital atômico invariante (GIAO). Estudos anteriores mostram que esta funcionalidade em combinação com o conjunto de bases fornece bons resultados no cálculo dos turnos químicos RMN. O formalismo do modelo IEFPCM para o clorofórmio e solventes DMSO foram usados no cálculo de RMN. Os tensores de proteção RMN calculados foram convertidos em turnos químicos pelo uso de fatores de escala empírica derivados da análise de regressão linear para um conjunto de moléculas. Para avaliar o desempenho do método DFT na previsão de deslocamentos químicos RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos investigados, foi utilizado o desvio médio absoluto (MAD), cuja a equação que a define é mostrada na figura 44 abaixo.

Figura 44: Equação de desvio médio absoluto (MAD)

$$\text{MAD} = \frac{1}{N} \sum_i^N |x_i^{\text{cal}} - x_i^{\text{exp}}|$$

Fonte: Próprio autor, 2021

onde x_i^{cal} e x_i^{exp} são, respectivamente, os desvios químicos calculados pelo método DFT e seu valor experimental correspondente, o N é o total de mudanças químicas em cada estrutura molecular.

6.6 ESTUDOS DE ATIVIDADES ANTIFÚNGICAS

6.6.1 SUBSTÂNCIAS TESTE

Foi avaliada a atividade antifúngica das substâncias: **PC1, PC2, PC3, PC4**. Os produtos foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de fungos filamentosos. As substâncias foram pesadas e devidamente solubilizadas em dimetil-sulfóxido (DMSO) a 5% e tween 80 a 2% (Sigma-Aldrich®, São Paulo, Brasil), completando-se o volume final com água destilada esterilizada de forma a se obter uma emulsão dos produtos na concentração inicial de 1024µg/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

6.6.2 MEIOS DE CULTURA

Os meios de cultura usados para manter as cepas fúngicas foram Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Difco Laboratories Ltd, Detroid, EUA). Para os testes de atividade biológica, o meio RPMI-1640 foi utilizado com glutamina e sem bicarbonato de sódio (Difco Laboratories Ltd, Detroid, EUA e INLAB, São Paulo, Brasil). Os meios de cultura foram preparados de acordo com as instruções do fabricante.

6.6.3 MICROORGANISMOS

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos de teste, foram utilizadas as seguintes linhagens: *Candida albicans* ATCC 76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM-122,

C. tropicalis ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-04, *C. krusei* LM-656, *C. krusei* LM-13, *Trichophyton rubrum* LM-49, *Microsporum canis* LM-12, *M. gypseum* LM-512, *Aspergillus flavus* LM-171, LM-248, *Aspergillus niger* LM-22, *Penicillium citrinum* LM-278, LM-161, *Cladosporium* sp. LM-283. 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 ASD à temperatura de 4°C. Para utilização nos ensaios, os fungos foram repicados em ASD com incubação a $28 \pm 2^\circ\text{C}$ por 7-14 dias.

6.6.4 INÓCULO

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas em meio ASD foram suspensas em solução fisiológica a 0,9% estéril e ajustadas de acordo com o tubo 0,5 da escala padrão de Mc Farland para obtenção de 10^6 UFC/mL (CLSI, 2015; CLSI^a, 2008; HADACECK; GREEGER, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ANTUNES et al., 2006; ABERKUME et al., 2002; FREIRE et al., 2014).

6.6.5 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO INIBITÓRIA MÍNIMA (MIC)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland & Squires (1991), Eloff (1998) e CLSI (2008). A determinação da MIC das substâncias sobre cepas fúngicas foi realizada através da técnica de microdiluição em meio líquido em placa para cultura de células (TPP/SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços com fundo em “U”. Inicialmente, foram distribuídos 100µL de caldo RPMI duplamente concentrado nos poços das placas de microdiluição. Em seguida, 100µL das substâncias foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foram obtidas concentrações de 1024µg/mL até 16µg/mL. Por fim, foi adicionado 10µL das suspensões das cepas fúngicas nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma espécie. Paralelamente, foram realizados os controles para comprovação de viabilidade das cepas (RPMI + fungos filamentosos) e esterilidade do meio de cultura (RPMI). Também foi feito o controle negativo com anfotericina B (32µg/mL) para inibição dos fungos. As placas preparadas foram fechadas assepticamente e incubadas a uma

temperatura de 35 ± 2 °C durante 24-48 horas para fungos da levedura e 28 ± 2 °C para fungos filamentosos. A MIC para cada produto foi definida como a menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento microbiano.

6.6.6 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO FUNGICIDA MÍNIMA (MFC)

Após a leitura do MIC, alíquotas de 10 µL dos sobrenadantes foram retiradas dos poços das placas de microdiluição nas concentrações correspondentes a MIC, MIC x 2, MIC x 4 e MIC x 8 de cada produto para cada linhagem e inoculadas em novas placas de micródulo contendo apenas o meio RPMI. O ensaio foi realizado em triplicata. As placas foram incubadas a 35 ± 2 °C durante 24-48 h para leveduras e 28 ± 2 °C durante 7-14 dias para fungos filamentosos e depois foi observado o crescimento de fungos. O MFC foi definido como a menor concentração capaz de causar inibição completa do crescimento fúngico.

Referências

REFERÊNCIAS

- A cultura da-pimenta-do-reino / Embrapa Amazônia Oriental; [Maria de Lourdes Reis Duarte... et al.]. – 2. ed. rev. amp. – Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. 73 p.: il. – (Coleção Plantar, 55).
- ALBUQUERQUE, Taira Endi de Flaviano. Extração, caracterização e avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante da piperina proveniente da *Piper Nigrum*. 2020.
- Aldholmi, M.; Marchand, P.; Ourliac-Garnier, I.; Le Pape, P.; Ganesan, A.; *Pharmaceuticals* **2019**, *12*, 182.
- AMARAL, Antonia Tavares do et al. A evolução da Química Medicinal no Brasil: Avanços nos 40 anos da Sociedade Brasileira de Química. *Química Nova*, v. 40, p. 694-700, 2017.
- Ameh, S. J.; Obodozie, O. O.; Inyang, U.S.; Abubakar, M. S.; Garba, M. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 1th ed.; Academic Press, San Diego, United States, 2011, p. 333.
- Antonio, A. S.; Fonseca, D. G.; Mendes, A. J. B.; Wiedemann, L. S. M; Veiga-Junior, V. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30*, 1115.
- Arif, T.; Bhosale, J. D.; Kumar, N.; Mandal, T. K.; Bendre, R. S.; Lavekar, G. S.; Dabur, R.; *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2009**, *11*, 621.
- Bader, R. F.; *Atoms in Molecules. A Quantum Theory*; Oxford University Press: Oxford, U.K., 1999.
- BENASSI, Enrico. Benchmarking of density functionals for a soft but accurate prediction and assignment of ¹H and ¹³C NMR chemical shifts in organic and biological molecules. *Journal of computational chemistry*, v. 38, n. 2, p. 87-92, 2017.
- BENTO, Camila Vieira; DE ALMEIDA, João Batista. Elementos biotecnológicos fundamentais no processo cervejeiro: 1º Parte—As Leveduras. *Revista Analytica*, v. 25, p. 36-42, 2006.
- CARDOSO, JOÃO FELIPE RITO et al. Avaliação do efeito tóxico da Piperina isolada da pimenta do reino (*Piper nigrum* L) em camundongos. *Revista Universidade Rural*, v. 25, n. 1, p. 85-91, 2005.
- Carnevalli, Denise Bertin e Ana Paula Serra Araújo. “Atividade Biológica da Pimenta Preta (*Piper nigrum* L.): Revisão de Literatura.” (2015).
- CHAHAD, Alexandre Pereira. **Estudo de um formalismo para discretizar eficientemente as equações integrais do Método da Coordenada Geradora Hartree-Fock**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- Chandra, H.; Bishnoi, P.; Yadav, A.; Patni, B.; Mishra, A. P.; Nautiyal, A. R.; *Plants* **2017**, *6*, 16.
- Cleeland, R.; Squires, E. In *Evaluation of New Antimicrobials in vitro and in Experimental Animal Infections*; Lorian, V., ed.; Antibiotics in Laboratory Medicine, Lippincott Williams & Wilkins: Baltimore, 1991, p. 739.

Dennington, R.; Keith, T.; Millam J.; *Gauss View*, version 5.0.8, Semichem. Inc.: Shawnee Mission, KS, 2008.

Dhargawe, N.; Mahakalkar, S.; Mohod, B.; Raj, J. P.; *Pharmacogn. Res.* **2020**, *12*, 176.

Domingo, L. R.; Ríos-Gutiérrez, M.; Pérez, P.; *Molecules* **2016**, *21*, 784.

DUARTE, M. Cultivo da pimenteira-do-reino na Região Norte. **Embrapa Amazônia Oriental-Sistema de Produção (INFOTECA-E)**, 2004.

DUARTE, M. Cultivo da pimenteira-do-reino na Região Norte. Embrapa Amazônia Oriental-Sistema de Produção (INFOTECA-E), 2004.

DUKE, J.A. CRC Handbook of Medicinal Herbs. CRC Press International Inc., p. 272-276, 1985.

Elejalde, N-R.; Macías, M.; Castillo, J-C.; Sortino, M.; Svetaz, L.; Zacchino, S.; Portilla, J.; *ChemistrySelect* **2018**, *3*, 5220.

EMBRAPA. Manual segurança e qualidade para a cultura da pimenta-do-reino. Brasília: Embrapa, 2004.

Espinel-Ingroff, A.; Chaturvedi, V.; Fothergill, A.; Rinaldi, M. G.; *J. Clin. Microbiol.* 2002, *40*, 3776.

Feng, G.; Chen, M.; Ye, H. C.; Zhang, Z. K.; Li, H.; Chen, L. L.; Chen, X. L.; Yan, C.; Zhang, J.; *Ind. Crop. Prod.* **2019**, *132*, 41.

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.; Souza, T. K. G.; De Abrantes, R. A.; Trintade, E. O.; Athayde-Filho, P. F.; Brandão, M. C. R.; Medeiros, K. C. P.; Farias, D. F.; Sobral, M. S.; *Biomed. Pharmacother.* **2020**, *128*, 110247.

FERREIRA, Welisson da Silva et al. Planejamento, síntese e avaliação das atividades antifúngica e tripanocida da piperina e derivados do núcleo 1, 3, 4-Oxadiazol-2-Tiona. 2014.

FERREIRA, Welisson S. et al. Piperina, seus análogos e derivados: potencial como antiparasitários. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 3, p. 208-224, 2012.

Fleming, I. *Molecular Orbitals and Organic Chemical Reactions*. ed; John Wiley & Sons, Ltd., Department of Chemistry, University of Cambridge, UK, 2010.

Franklin, T. N.; Freire-de-Lima, L.; Chaves, O. A.; LaRocque-de-Freitas, I. F.; Silva-Trindade, J. D.; Netto-Ferreira, J. C.; Freire-de-Lima, C. G.; Decoté-Ricardo, D.; Previato, J. O.; Mendonça-Previato, L.; Lima, M. E. F.; *J. Braz. Chem. Soc.* **2019**, *30*, 1378.

GARCIA, J. et al. Superação de dormência em sementes de pimenta-do-Reino (*Piper nigrum* L.). Pesquisa Agropecuária Tropical, v.30, n.2, p.51-54, 2000.

GOMES, Eduardo O. et al. Computational procedure to an accurate DFT simulation to solid state systems. **Computational Materials Science**, v. 170, p. 109176, 2019.

Grimme, S.; Antony, J.; Ehrlich, S.; Krieg, H.; *J. Chem. Phys.* **2010**, *132*, 154104. Hadacek, F.; Greger, H.; *Phytochem. Anal.* 2000, *11*, 137.

Ikan, R.; *Natural Products: A Laboratory Guide*, 2th ed.; Academic Press: San Diego, USA, 1991.
JAKHAR, K .; MAKRANDI, JK Uma brominação oxidativa ecológica de alcanonas por uma técnica de moagem aquosa. **Green Chemistry Letters and Reviews** , v. 1, n. 4, pág. 219-221, 2008.

Jeon, H. J.; Kim, K.; Kim, Y. D.; Lee, S. E.; *Appl. Biol. Chem.* **2019**, 62, 63.

Jumpa-ngern, P.; Kietinun, S.; Sakpakdeejaroen, I.; Cheomung, A.; Na-Bangchang, K.; *Afr. J. Pharm. Pharmacol.* **2013**, 7, 560.

Kharbanda, C.; Alam, M. S.; Hamid, H.; Javed, K.; Bano, S.; Ali, Y.; Dhulap, A.; Alan, P.; Pasha, M. A. Q.; *Chem. Biol. Drug Des.* **2016**, 88, 354.

LINDGREN, Eric B.; LEAL, Katia Z. Aplicação da química computacional no cálculo dos deslocamentos químicos de RMN de ¹³C de moléculas orgânicas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 2, p. 235-242, 2013.

Marquez, L.; Quave, C. L.; *Antibiotics* **2020**, 9, 150.

Mary, Y. S.; Raju, K.; Panicker, C. Y.; Al-Saadi, A. A.; Thiemann, T.; *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.* **2014**, 131, 471.

MENEZES, Camilla Pinheiro; DE LIMA PEREZ, Ana Luiza Alves; OLIVEIRA, Edeltrudes Lima. *Cladosporium spp: Morfologia, infecções e espécies patogênicas. Acta Brasiliensis*, v. 1, n. 1, p. 23-27, 2017.

Mgbeahuruike, E. E.; Stålnacke, M.; Vuorela, H.; Holm, Y.; *Antibiotics* **2019**, 8, 55.

Nascimento, P. F. C.; Nascimento, A. C.; Rodrigues, C. S.; Antonioli, A. R.; Santos, M. P. O.;

Júnior, A. M. B.; Trindade, R. C.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2007**, 17, 108.

National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS); *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, 7th ed.; NCCLS: Villanova, 2000.

Oliveira, R. et al. “A influência da piperina na biodisponibilidade de fármacos: uma abordagem molecular.” *Química Nova* 37 (2014): 69-73.

ORTOLAN, Alexandre Osmar. **Apostila de práticas de química computacional**. 2014. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Parr, R. G.; Szentpály, L. V.; Liu, S.; *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 1922.

Pereira, F. O.; Mendes, J. M.; Lima, I. O.; Mota, K. S. L.; Oliveira, W. A.; Lima, E. O.; *Pharm. Biol.* **2014**, 53, 1.

Pierens, G. K.; *J. Comput. Chem.* **2014**, 35, 1388.

Pierens, G. K.; Venkatachalam, T. K.; Reutens, D. C.; *Sci. Rep.* **2017**, 7, 1.

PISSINATE, K. Atividade citotóxica de *Piper nigrum* e *Struthanthus marginatus*. Estudo preliminar da correlação entre a citotoxicidade e hidrofobicidade da piperina e derivados sintéticos. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2006.

QUEIROZ, Cibele; DE SOUSA, Adna Cristina Barbosa. Produção de enzimas hidrolíticas por fungos filamentosos em diferentes substratos sólidos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 7, p. 51849-51860, 2020.

RAFAEL, Pablo. Hans Christian Oersted. **Projeto física e cidadania**, 2013. Disponível em: < <https://www.ufjf.br/fisicaecidadania/ciencia-uma-construcao-humana/mentes-brilantes/hans-christian-oersted> > .Acesso em 19 de Fev. De 2021.

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

SAFAEI-GHOMI, Javad; HAJIPOUR, Abdol R. Mild Oxidative Deprotection of Aromatic Hydrazones and Semicarbazones with KMnO_4 in Ionic Liquid Medium. **Organic Preparations and Procedures International**, v. 43, n. 4, p. 372-376, 2011.

Samuel, M.; Oliver, S. V.; Coetzee, M.; Brooke, B. D.; *Parasites Vectors* **2016**, 9, 238.

Santos, J.; Brito, M.; Ferreira, R.; Moura, A. P.; Sousa, T.; Batista, T.; Manguiera, V.; Leite, F.; Cruz, R.; Vieira, G.; Lira, B.; Athayde-Filho, P.; Souza, H.; Costa, N.; Veras, R.; Barbosa-Filho, J. M.; Magalhães, H.; Sobral, M.; *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, 19, 2594.

Siddiqui, Z. N.; Farooq, F.; T.N. Mohammed Musthafa, T. N. M.; Ahmad, A.; Khan, A. U. *J. Saudi Chem. Soc.* **2013**, 17, 237.

Sjoberg, P.; Politzer, P.; *J. Phys. Chem.* **1990**, 94, 3959.

SUNILA, E. S.; KUTTAN, G. J. **Ethnopharmacol.** 90, 339, 2004.

Tiwari, A.; Mahadik, K. R.; Gabhe, S. Y.; *Medicine in Drug Discovery*, DOI: [10.1016/j.medidd.2020.100027](https://doi.org/10.1016/j.medidd.2020.100027).

Tomasi, J.; Mennucci, B.; Cance, E.; *J. Mol. Struct. (Theochem)* **1999**, 464, 211.

Tormena, C. F.; *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **2016**, 96, 73.

TRINDADE, Emmely O. et al. Synthesis, in silico Study and Antimicrobial Activity of New Piperine Derivatives Containing Substituted δ -Esters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 12, p. 2590-2602, 2020.

Vieira-Araújo, F. M.; Rondon, F. C. M.; Vieira, I. G. P.; Mende, F. N. P.; Freitas, J. C. C.; Morais, S. M.; *Exp. Parasitol.* **2018**, 188, 79.

WAHAB, Aneela et al. Synthesis, Antimicrobial, Antioxidant and Nematicidal Activity of (2E, 4E)-5-(Benzo [d][1, 3] dioxol-5yl) penta-2, 4-dienamides. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 37, n. 5, 2015.

Wang, J.; Wang, W.; Xiong, H.; Song, D.; Cao, X.; *BMC Chem.* **2020**, *14*, 24.

WERMUTH, C-G. Em The Practice of Medicinal Chemistry., ed.; Academic Press: New York, 1996, p. 3; Ratti, E.; Trist, D.; **Il Farmaco**, 56, 13, 2001.

Wolinski, K.; Hinton, J. F.; Pulay, P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 8251.

YANG, Ruige; LV, Min; XU, Hui. Synthesis of piperine analogs containing isoxazoline/pyrazoline scaffold and their pesticidal bioactivities. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 43, p. 11254-11264, 2018.

ZHURAVLEV, O. E.; VEROLAINEN, N. V.; VORONCHIKHINA, L. I. Effect of structure of nucleophile and substrate on the quaternization of heterocyclic amines. **Russian Journal of General Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 1025-1028, 2010.

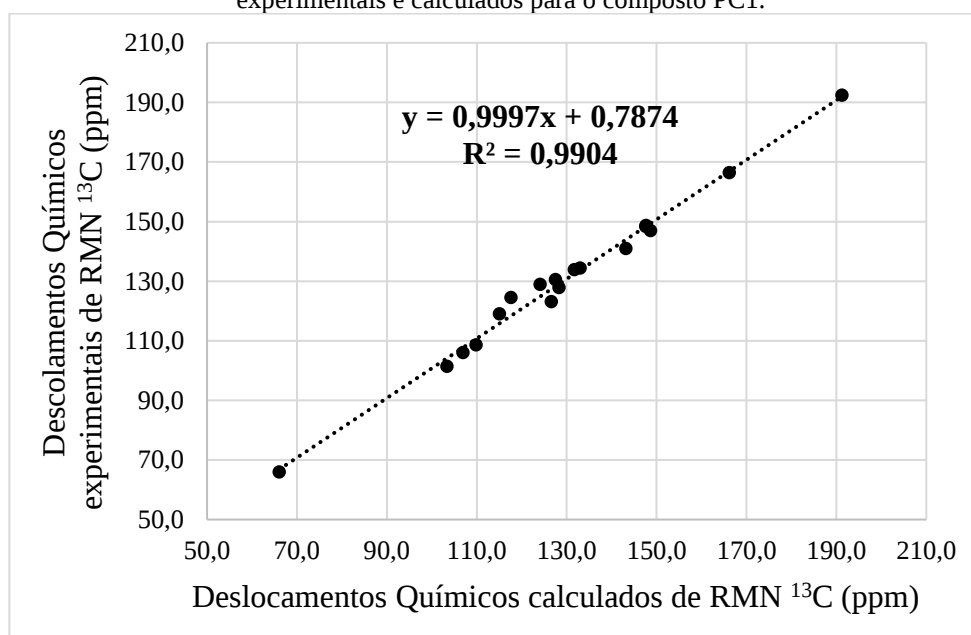
Anexo

ANEXO

GRÁFICOS DE COEFICIENTE DE DETERMINAÇÃO DOS COMPOSTOS (PC1-PC4)

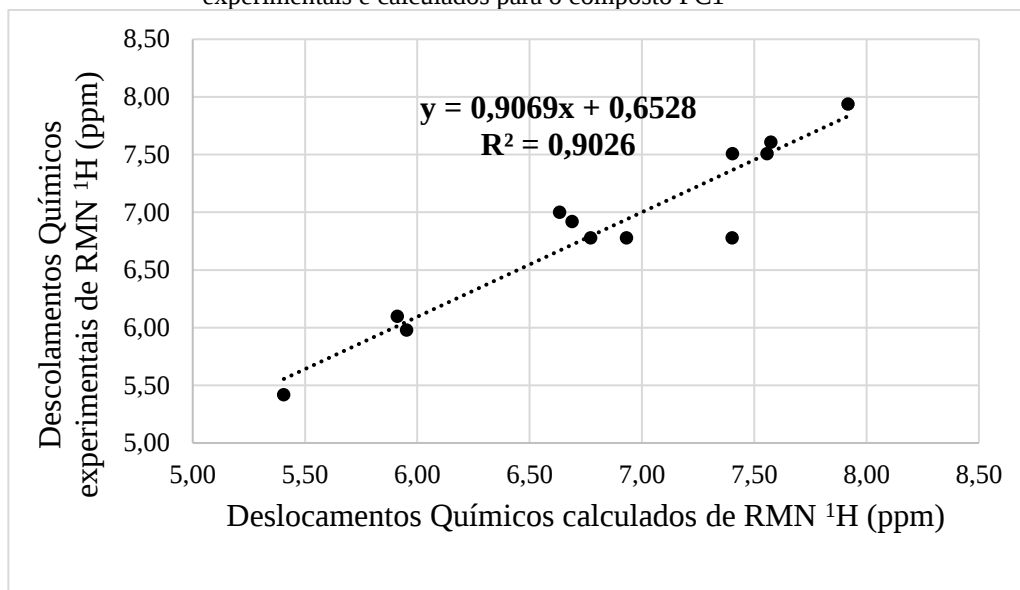
GRÁFICO – PC1

Figura 45: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC1.



Fonte: Próprio autor, 2021

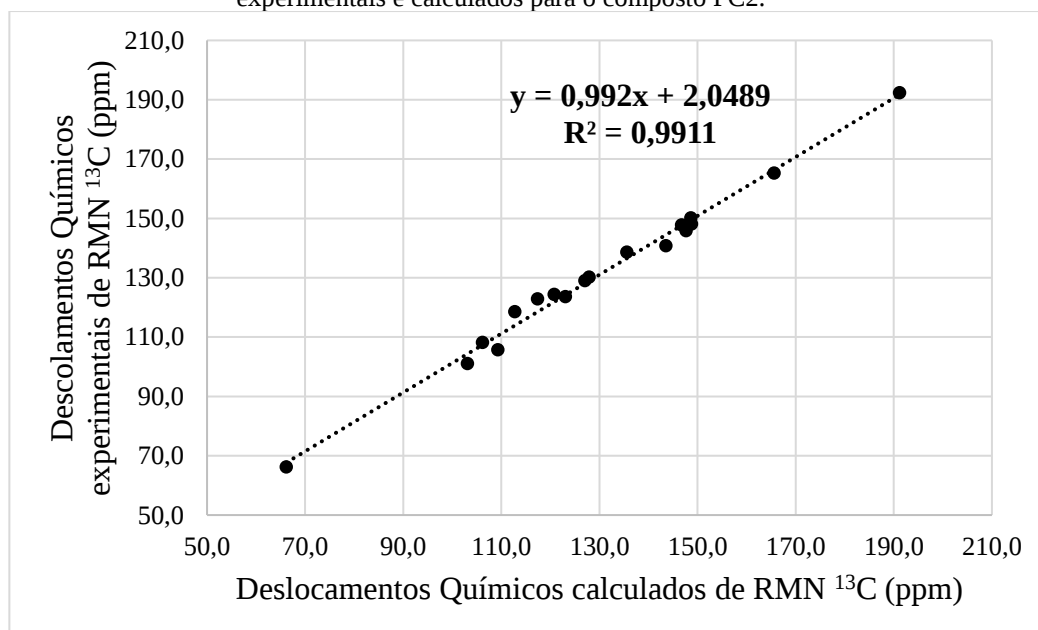
Figura 46: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC1



Fonte: Próprio autor, 2021

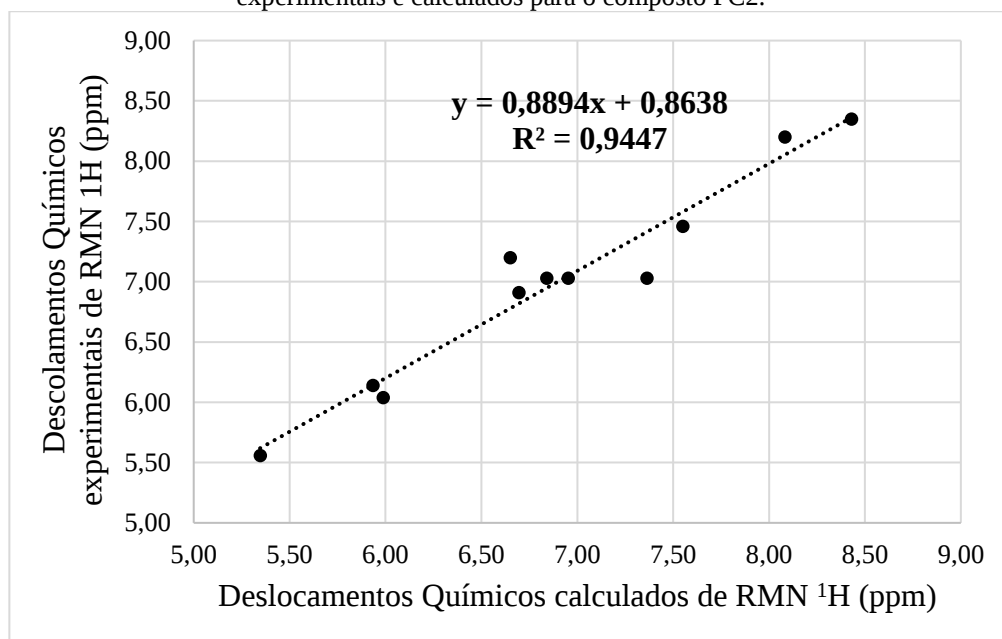
GRÁFICO – PC2

Figura 47: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC2.



Fonte: Próprio autor, 2021

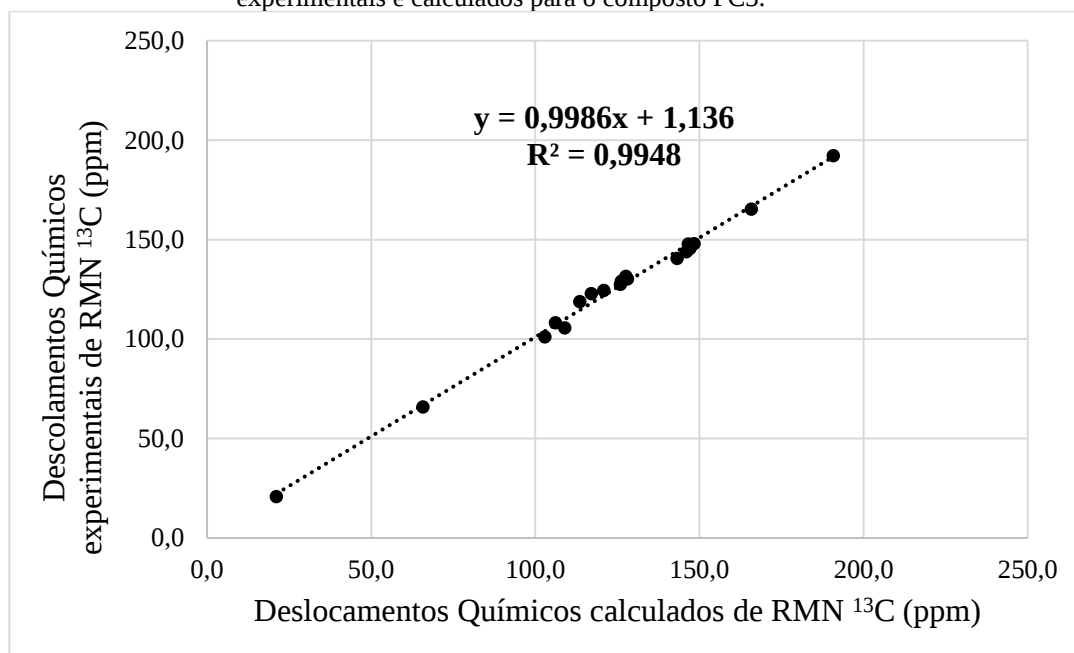
Figura 48: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC2.



Fonte: Próprio autor, 2021

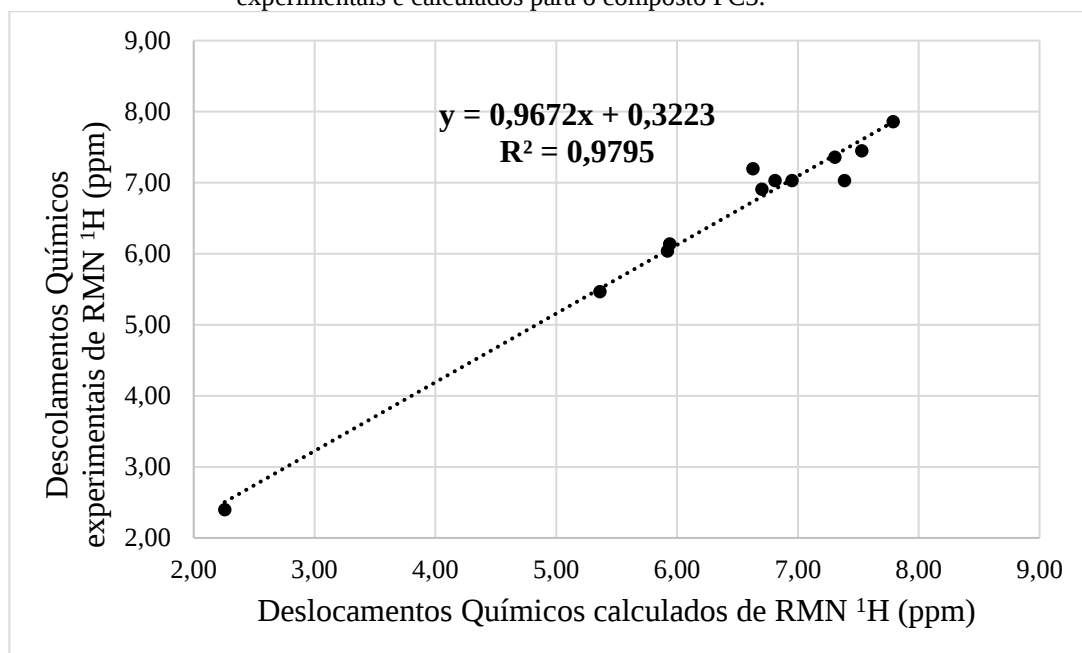
GRÁFICOS – PC3

Figura 49: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC3.



Fonte: Próprio autor, 2021

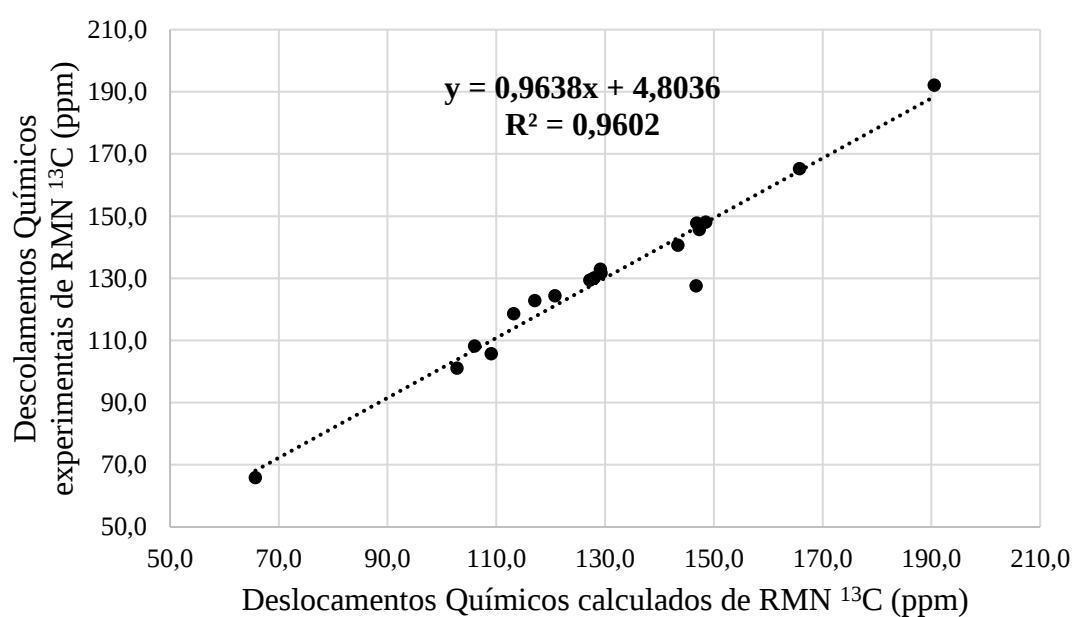
Figura 50: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC3.



Fonte: Próprio autor, 2021

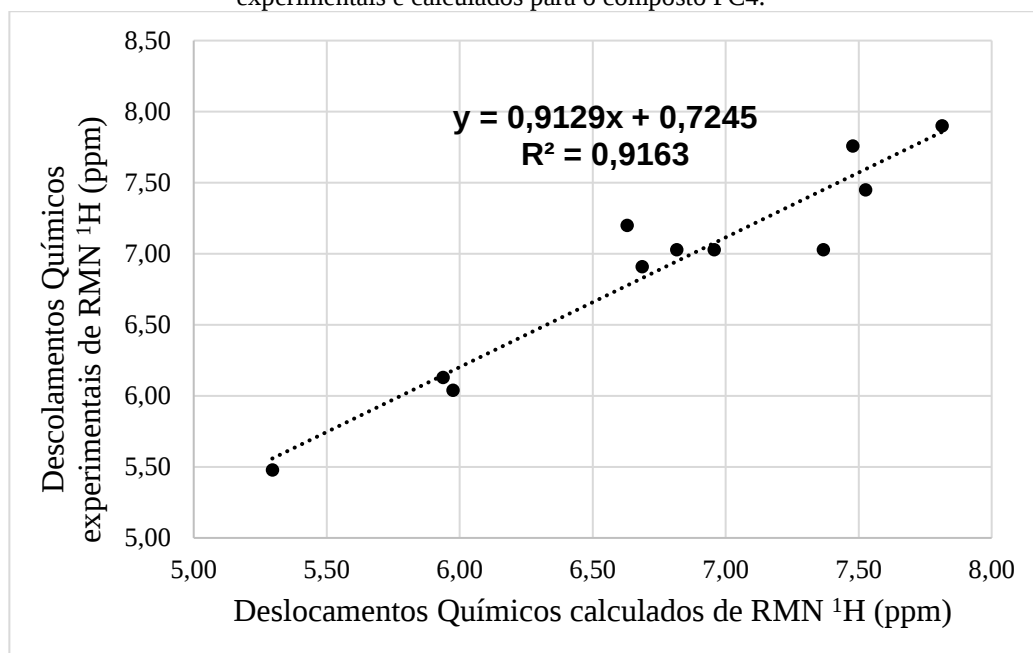
GRÁFICO – PC4

Figura 51: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C experimentais e calculados para o composto PC4.



Fonte: Próprio autor, 2021

Figura 52: Gráfico de Correlação linear entre os deslocamentos químicos de RMN de ^1H experimentais e calculados para o composto PC4.



Fonte: Próprio autor, 2021