



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MARIZA SEVERINA DE LIMA SILVA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE
DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLAS BASEADOS NA PIPERINA FRENTE ÀS
LARVAS DE *Aedes aegypti***

Recife
2023

MARIZA SEVERINA DE LIMA SILVA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE
DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLAS BASEADOS NA PIPERINA FRENTE ÀS
LARVAS DE *Aedes aegypti***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes

Co orientador: Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

S586p	<p>Silva, Mariza Severina de Lima Planejamento, síntese e avaliação da atividade larvicida de derivados 1,3-benzodioxolas baseados na piperina frente às larvas de <i>Aedes aegypti</i> / Mariza Severina de Lima Silva. – 2023. 196 p. ; il.</p> <p>Orientador: Alexandre José da Silva Góes. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2023. Inclui referências, apêndice e anexo.</p> <p>1. Inseticida. 2. <i>Aedes aegypti</i>. 3. <i>Piper nigrum</i>. 4. 1,3-benzodioxola. 5. Piperina. I. Góes, Alexandre José da Silva (orientador). II. Título.</p> <p>617.6 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2023 - 158)</p>
-------	---

MARIZA SEVERINA DE LIMA SILVA

**PLANEJAMENTO, SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE LARVICIDA DE
DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLAS BASEADOS NA PIPERINA FRENTE ÀS
LARVAS DE *Aedes aegypti***

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do Título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e medicamentos

Aprovada em: 27/02/2023

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre José da Silva Góes (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza (Examinadora interna)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. José Gildo de Lima (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Ricardo Oliveira da Silva (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dr. Luiz Alberto de Lira Soares (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dedico este trabalho, a todos que, de alguma forma se fizeram presente neste processo, em especial à minha mãe (*in memoriam*), por ter sido meu maior exemplo de força e fé.
Gratidão!

AGRADECIMENTOS

Porque dEle, por Ele e para Ele são todas as coisas. Não poderia deixar de começar agradecendo ao meu Deus, por toda maravilhosa graça, e uma desta na minha vida, é poder ter chegado até aqui. QUE SONHO!

Ao Prof. Alexandre Góes por mais uma vez está me orientando, me ensinando e apoiando em toda fase e processo dessa caminhada. Sou muito grata a Deus por sua existência, que além de um grande orientador ganhei um amigo inestimável. Gratidão!

Ao Prof. Rafael Ximenes por todo apoio e coorientação neste processo. Meu muito obrigada!

Ao professor Thiago Aquino e Ricardo Oliveira por contribuir com as análises espectrais.

À Rômulo e Marcilene, que se dispuseram a estar comigo nos ensaios biológicos do começo ao fim. Obrigada por segurarem as minhas mãos nesta caminhada e serem abrigo nos momentos que mais precisei. Não tenho palavras para mensurar tudo que vocês representam para mim. MUITOOOOO obrigadaaaa! Também não podia deixar de agradecer a Karine, Michel e Lidiane pela grande ajuda durante minha passagem pelo laboratório.

À Profa Ivone por ter aceitado essa parceria e sido sempre presente quando precisei. Obrigada.

À Beatriz (Bia), pelo apoio constante, contribuição e amizade concedida durante este processo. Obrigada por tudo!

Agradeço a minha família por sempre estar comigo, me incentivando a não desistir, desde a graduação até a finalização do doutorado. Em especial à minha tia Cecília, que é minha segunda mãe e meu auxílio diário.

A todos os meus amigos que permaneceram firmes mesmo diante da minha ausência, compreendendo e incentivando nos momentos que eu mais precisei. Em especial a Thay, que em todo tempo não cansou de incentivar, orar e respeitar minha ausência. Obrigada por tanto!

À CAPES pelo auxílio financeiro para a execução deste trabalho.

RESUMO

O *Aedes aegypti*, natural do continente africano, é um mosquito pertencente à família Culicidae, pelo qual tornou-se o principal vetor de arboviroses que acometem os humanos e é considerado um problema de saúde pública. As doenças transmitidas por esses mosquitos são prevalentes em mais de cem países em todo o mundo, infectando mais de 700 milhões de pessoas. Diante dessa problemática, se faz necessário a descoberta de novos compostos bioativos de origem natural ou sintético, que possam ser usados como larvicidas, e sejam eficazes e seguros no controle e combate a esse vetor. Com base na estrutura dos produtos naturais, o grupo 1,3-benzodioxola e a função amida, foram identificados como um farmacóforo relevante para a atividade inseticida. Neste sentido, este estudo visou sintetizar e avaliar a atividade toxicológica de derivados 1,3- benzodioxolas baseados na estrutura química da piperina contra as larvas do *Ae. aegypti*. Em relação a atividade larvicida, na série das amidas, a piperina e a tetraidropiperina, foram as mais ativas, apresentando concentração letal (CL50) de 78,85 e 54,52 (μM), respectivamente. Além disso, na avaliação da toxicidade aguda, a tetraidropiperina é menos tóxica que a piperina na dose de 300 mg.kg⁻¹, não apresentando sinais clínicos significativos de toxicidade. Na série dos ácidos 1,3-benzodioxolas, o composto **94** foi o mais ativo, apresentando mortalidade de 74% das larvas, em 1h de exposição. Nos testes de toxicidade aguda, mostrou sinais clínicos suaves em camundongos tratados com 2000 mg.kg⁻¹, sem quaisquer sinais estruturais de toxicidade em órgãos como o rim, fígado, baço e pulmões. Dentre os ésteres sintetizados, o LASSINT-22 foi o mais ativo, apresentando mortalidade mais de 90% na concentração de 700,0 μM em 24h de exposição. Diante do exposto, estes resultados mostraram que tanto a subunidade 1,3-benzodioxola, o tamanho do espaçador, quanto a saturação/insaturação na cadeia alifática são relevantes para a atividade biológica. Portanto, esses compostos parece ser uma excelente estratégia de controle a este vetor, podendo ser um produto de grande utilidade em saúde pública.

Palavras-chave: inseticida; *Aedes aegypti*; *Piper nigrum*; 1,3-benzodioxola; piperina.

ABSTRACT

Aedes aegypti, native to the African continent, is a mosquito belonging to the family Culicidae. It is known as the main vector of arboviruses that affect humans and is considered a public health problem. Diseases transmitted by these mosquitoes are prevalent in more than 100 countries worldwide, infecting more than 700 million people. Thus, it is urgent to search for new bioactive compounds of natural or synthetic origin that can be used as larvicides to effectively and safely control this vector. Based on the structure of the natural products, the 1,3-benzodioxole group and the amide function have been identified as a pharmacophore relevant for insecticidal activity. This study aimed to synthesize and evaluate the toxicological activity of 1,3- benzodioxole derivatives based on the chemical structure of piperine against *A. aegypti* larvae. Among the amide series, piperine and tetrahydropiperine were the most active, showing a lethal concentration (LC50) of 78.85 and 54.52 (μM), respectively. Furthermore, in the acute toxicity evaluation, tetrahydropiperine showed lower toxicity than piperine at a dose of 300 mg.kg⁻¹, with no significant clinical signs of toxicity. In the 1,3-benzodioxole acid series, compound 94 demonstrated the highest activity, causing 74% larval mortality within 1h of exposure. In acute toxicity tests, it showed mild clinical signs in mice treated with 2000 mg.kg⁻¹, without any structural signs of toxicity in organs such as the kidney, liver, spleen and lungs. Among the esters synthesized, LASSINT-22 exhibited the highest activity, with over 90% mortality at the concentration of 700.0 μM in 24h of exposure. Overall, these results indicate that the 1,3-benzodioxole subunit, the spacer size, and the saturation/unsaturation in the aliphatic chain are relevant to the biological activity. Therefore, these compounds appear to be an excellent strategy for controlling this vector, and can be a valuable product in public health.

Keywords: insecticide; *Aedes aegypti*; *Piper nigrum*; 1,3-benzodioxole; piperine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Planejamento dos derivados 1,3-benzodioxolas baseados na piperina.....	26
Figura 2- A) <i>Piper nigrum</i> ; B) <i>Piper longum</i> e C) <i>Piper betle</i>	28
Figura 3- Plantação de pimenta do reino (<i>Piper nigrum</i>), com espigões.....	29
Figura 4- Estrutura química da piperina 1 e dos seus isômeros isopiperina 2 , chavicina 3 e isochavicina 4 . Fonte: A autora (2023).....	30
Figura 5- Estrutura química dos principais constituintes do óleo essencial da <i>Piper nigrum</i> L.....	32
Figura 6- Composição estrutural da piperina por seus grupamentos funcionais.....	34
Figura 7- Método utilizado para isolamento da biflorina (SILVA, 2019).....	37
Figura 8- Estrutura química de fármacos que aumentam a biodisponibilidade, quando coadministrados com a piperina 1 : Neviparina (15), Propanolol (16), Fenitoína (17), Carbamazepina (18), Pirazinamida (19), Teofilina (20) Esparteína (21), Nimesulida (22) (OLIVEIRA; ALENCAR-FILHO; VASCONCELLOS, 2014).....	39
Figura 9- Estrutura química dos híbridos mais ativos sintetizados a partir da piperina (SINGH et al., 2010).....	44
Figura 10- Estudo da relação estrutura atividade das amidas sintetizadas.....	44
Figura 11- Estrutura química dos análogos mais ativos contra pragas agrícolas (YANG, LV, XU, 2018).....	47
Figura 12- Características morfológicas do mosquito <i>Ae. aegypti</i> . Fonte: Biogents AG.....	50
Figura 13- Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i> . Fonte: Biogents AG	51
Figura 14- Curva epidêmica de casos prováveis de dengue no Brasil, entre os anos de 2019-2022 (OMS, 2022).....	53
Figura 15- Curva epidemiológica da CHIKV nos anos de 2019-2022 (OMS, 2022).	55
Figura 16- Curva epidemiológica da incidência do zika vírus nos anos de 2019-2022 (OMS, 2022).....	56
Figura 17- Estrutura química do inseticida organoclorado, dicloro-difenil-tricloroetano (DDT).....	58

Figura 18- Estrutura química do organofosforado temefós.....	59
Figura 19- Estrutura química do carbaril, um inseticida da classe dos carbamatos.	60
Figura 20- Estrutura química dos inseticidas utilizados no Brasil, aprovados pela ANVISA.....	62
Figura 21- Estrutura química das amidas isoladas com atividade larvicida.....	64
Figura 22- Estrutura química de fenilpropanoides isolados de óleos essenciais, com atividade larvicida.....	65
Figura 23- Estrutura química do timol 79 e carvacrol 80.....	66
Figura 24- Estrutura química dos monoterpenos e dos seus derivados acetilados.....	67
Figura 25- Estrutura química do derivado indólico.....	68
Figura 26- Sistema para obtenção de H ₂ em laboratório via rota alcalina (dos autores Silva e Góes).....	74
Figura 27- Dados obtidos das amidas sintetizadas em todas as concentrações testada (μM) em 24h de exposição.....	132
Figura 28- Estruturas químicas de derivados ácidos de 1,3-benzodioxolas.....	134
Figura 29- Dados obtidos dos ácidos sintetizadas em todas as concentrações testada (μM) em 24h de exposição.....	134
Figura 30- Dados obtidos dos fenóis bioativos em todas as concentrações testada (μM) em 24 h de exposição.....	136
Figura 31- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do LASSINT-1 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição.....	137
Figura 32- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-7 em todas as concentrações testadas (μM) em 24 h de exposição.....	138
Figura 33- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do composto 94 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição...	139

Figura 34- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do LASSINT-18 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição as larvas de <i>Ae. aegypti</i>	139
Figura 35- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do composto 97 em todas as concentrações testadas (μM) em 24 h de exposição as larvas de <i>Ae. aegypti</i>	140
Figura 36- Dados referente aos ésteres mais ativos em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição as larvas de <i>Ae. aegypti</i>	141
Figura 37- Fotomicrografias representativas dos órgãos principais de camundongos tratados com ácido cinâmico 3,4-(metilenodioxi) (2000 mg.kg ⁻¹). a) rim; b) fígado; c) baço; e d) pulmão.....	145

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1- Proposta biossintética da piperina (GEISSMAN, CROUT, 1996).....	35
Esquema 2- Rota sintética empregada para obtenção dos compostos 29a-29e , utilizando aminoácidos e anilina substituída (UMADEVI, DEEPTI, VENUGOPA, 2013).....	45
Esquema 3- Rota sintética empregada para obtenção dos derivados triazólicos 30a-30s a partir da piperina.	46
Esquema 4- Condições e reagentes: I) 20% KOH, MeOH, 24h. II) EDCI, HCl, HOBt, THF, 0°C a t.a, 16h, anilina, 2,4-dimetoxianilina e 2,5-dimetoxianilina (WANSRI et al., 2022).....	48
Esquema 5- Hidrogenação da piperina, para obtenção da tetraidropiperina (91). ...	73
Esquema 6- Rota de síntese empregada na preparação das amidas (LASSINT- 29-31).....	76
Esquema 7- Hidrólise básica da piperina para obtenção do composto LASSINT-1.....	79
Esquema 8- Rota sintética empregada para obtenção do composto LASSINT-2.	80
Esquema 9- Rota sintética empregada, para obtenção dos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-1.....	83
Esquema 10- Esquema da hidrogenação do ácido pipérico (LASSINT-1), para obtenção do composto LASSINT-7.....	89
Esquema 11- Rota sintética para obtenção dos ésteres a partir do LASSINT-7.....	91
Esquema 12- Rota de síntese empregada para obtenção dos ésteres a partir do 2,3-(metilenodioxo) ácido cinâmico (94).....	97
Esquema 13- Esquema de síntese da hidrogenação do 2,3-(metilenodioxo) ácido cinâmico (94).....	103
Esquema 14- Esquema do planejamento de síntese para obtenção dos ésteres a partir do 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) Ácido propanoico.....	105
Esquema 15- Esquema do planejamento de síntese para obtenção dos ésteres a	

partir do ácido piperonílico.	111
Esquema 16- Mecanismo de reação para a formação de ésteres, através da esterificação de Steglich.	125
Esquema 17- Mecanismo de reação para a formação do cloreto de acila a partir dos ácidos utilizados neste trabalho.	126
Esquema 18- Mecanismo de reação para a formação dos ésteres a partir do cloreto de ácido formado.....	127

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1- Espectro de RMN ^1H do subproduto 92 formado na síntese para obtenção do LASSINT-2.....	82
Espectro 2- Espectro de RMN ^1H da piperina e ácido pipérico. As setas em azul, destacam os sinais referentes ao hidrogênio do anel piperidina, presente na estrutura da piperina.....	124
Espectro 3- Espectro de RMN ^1H comparativo entre o LASSINT-1 e o produto de síntese LASSINT-2.....	129
Espectro 4- Espectro de IV da piperina (400 MHz, CDCl_3).....	158
Espectro 5- Espectro de ^1H RMN da piperina (400 MHz, CDCl_3).....	158
Espectro 6- Espectro de ^{13}C -APT RMN da piperina (100 MHz, CDCl_3).....	159
Espectro 7- Espectro de COSY da piperina (CDCl_3).....	159
Espectro 8- Espectro de HMBC da piperina (CDCl_3).....	160
Espectro 9- Espectro de HSQC da piperina (CDCl_3).....	160
Espectro 10- Espectro de Massa de alta resolução da Piperina.....	161
Espectro 11- Espectro de ^1H RMN da tetraidropiperina (600 MHz, CDCl_3).....	161
Espectro 12- Espectro de ^{13}C RMN da tetraidropiperina (150 MHz, CDCl_3).....	162
Espectro 13- Espectro de Massa de alta resolução da tetraidropiperina.....	162
Espectro 14- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-29 (600 MHz, CDCl_3).....	163
Espectro 15- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-29 (150 MHz, CDCl_3).....	163
Espectro 16- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-29.....	164
Espectro 17- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-30 (600 MHz, CDCl_3).....	164
Espectro 18- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-30 (600 MHz, CDCl_3).....	165
Espectro 19- Espectro de Massa de alta resolução do composto LASSINT-30.....	165
Espectro 20- Espectro de ^1H RMN LASSINT-31 (600 MHz, CDCl_3).....	166
Espectro 21- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-31.....	166
Espectro 22- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-1 (600 MHz, DMSO).....	167
Espectro 23- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-1 (600 MHz, DMSO).....	167
Espectro 24- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-1.....	168
Espectro 25- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-2 (400 MHz, CDCl_3).....	168
Espectro 26- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-2 (100 MHz, CDCl_3).....	169
Espectro 27- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-3 (400 MHz, CDCl_3).....	169

Espectro 28-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-3 (100 MHz, CDCl_3).....	170
Espectro 29-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-4 (400 MHz, CDCl_3).....	170
Espectro 30-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-4 (100 MHz, CDCl_3).....	171
Espectro 31-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-5 (600 MHz, CDCl_3).....	171
Espectro 32-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-5 (150 MHz, CDCl_3).....	172
Espectro 33-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-6 (600 MHz, CDCl_3).....	172
Espectro 34-	Espectro de ^{13}C -APT do LASSINT-6 (150 MHz, CDCl_3).....	173
Espectro 35-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-7 (600 MHz, CDCl_3).....	173
Espectro 36-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-7 (150 MHz, CDCl_3).....	174
Espectro 37-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-8 (600 MHz, CDCl_3).....	174
Espectro 38-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-8 (150 MHz, CDCl_3).....	175
Espectro 39-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-9 (600 MHz, CDCl_3).....	175
Espectro 40-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-9 (150 MHz, CDCl_3).....	176
Espectro 41-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-10 (600 MHz, CDCl_3).....	176
Espectro 42-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-10 (150 MHz, CDCl_3).....	177
Espectro 43-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-11 (600 MHz, CDCl_3).....	177
Espectro 44-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-11 (150 MHz, CDCl_3).....	178
Espectro 45-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-12 (600 MHz, CDCl_3).....	178
Espectro 46-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-12 (150 MHz, CDCl_3).....	179
Espectro 47-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-13 (600 MHz, CDCl_3).....	179
Espectro 48-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-13 (150 MHz, CDCl_3).....	180
Espectro 49-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-14 (600 MHz, CDCl_3).....	180
Espectro 50-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-14 (150 MHz, CDCl_3).....	181
Espectro 51-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-15 (600 MHz, CDCl_3).....	181
Espectro 52-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-15 (150 MHz, CDCl_3).....	182
Espectro 53-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-16 (600 MHz, CDCl_3).....	182
Espectro 54-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-16 (150 MHz, CDCl_3).....	183
Espectro 55-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-17 (600 MHz, CDCl_3).....	183
Espectro 56-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-17 (150 MHz, CDCl_3).....	184
Espectro 57-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-18 (600 MHz, CDCl_3).....	184
Espectro 58-	Espectro de ^{13}C -APT RMN do LASSINT-18 (150 MHz, CDCl_3).....	185
Espectro 59-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-19 (600 MHz, CDCl_3).....	185

Espectro 60-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-19 (150 MHz, CDCl_3).....	186
Espectro 61-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-20 (600 MHz, CDCl_3).....	186
Espectro 62-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-20 (150 MHz, CDCl_3).....	187
Espectro 63-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-21 (600 MHz, CDCl_3).....	187
Espectro 64-	Espectro de ^{13}C do LASSINT-21 (150 MHz, CDCl_3).....	188
Espectro 65-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-22 (600 MHz, CDCl_3).....	188
Espectro 66-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-22 (150 MHz, CDCl_3).....	189
Espectro 67-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-23 (600 MHz, CDCl_3).....	189
Espectro 68-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-23 (150 MHz, CDCl_3).....	190
Espectro 69-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-24 (400 MHz, CDCl_3).....	190
Espectro 70-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-24 (100 MHz, CDCl_3).....	191
Espectro 71-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-25 (600 MHz, CDCl_3).....	191
Espectro 72-	Espectro de ^{13}C do LASSINT-25 (150 MHz, CDCl_3).....	192
Espectro 73-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-26 (600 MHz, CDCl_3).....	192
Espectro 74-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-26 (150 MHz, CDCl_3).....	193
Espectro 75-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-27 (600 MHz, CDCl_3).....	193
Espectro 76-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-27 (150 MHz, CDCl_3).....	194
Espectro 77-	Espectro de ^1H RMN do LASSINT-28 (600 MHz, CDCl_3).....	194
Espectro 78-	Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-28 (150 MHz, CDCl_3).....	195

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Métodos de isolamento da piperina (TIWARI, MAHADIK, GABHE et al., 2020).....	36
Tabela 2- Principais atividades farmacológicas da piperina (UI HAQ et al., 2020). ..	40
Tabela 3- Dados espectrométricos da piperina 1.....	121
Tabela 4- Dados espectrométricos da tetraidropiperina 91	122
Tabela 5- Concentrações letais 50 e 90 dos compostos 1 , 91 , e LASSINT-29, contra larvas de <i>Aedes aegypti</i> , em 24 horas de exposição.....	131
Tabela 6- Mortalidade (%) larval em 8h de exposição aos compostos 1 e 91	133
Tabela 7- Mortalidade por tempo de observação do composto 94 exposto as larvas do <i>Ae. aegypti</i>	135
Tabela 8- Média e desvio padrão do consumo de água, ração e variação de peso durante os 14 dias de observação da dose de 300 mg.kg ⁻¹	142
Tabela 9- Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina e ureia de camundongos do grupo controle Tween™ 80 5% (control2, 10 mL.kg ⁻¹) e do grupo tratado com tetraidropiperina por via oral após 14 dias da administração da dose de 300 mg.kg ⁻¹	143
Tabela 10- Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina e ureia de camundongos do grupo controle Tween™ 80 5% (controle, 10 mL.kg ⁻¹) e do grupo tratado com o composto 4 por via oral após 14 dias da administração da dose de 2000 mg.kg ⁻¹	144

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

Ache	Acetilcolinesterase
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
CA	Carbamatos
CCD	Cromatografia em camada delgada
CDCl ₃	Clorofórmio deuterado
CHIKV	Chikungunya
DCC	N, N'-Diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DCU	Diciclohexiureia
DDT	Ciclorodifeniltricloroetano
DENV	Dengue
DMAP	4-dimetilaminopiridina
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EROS	Éspécies reativas de oxigênio
Et ₃ N	Trietilamina
HCl	Ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
Kir	Retificador de potássio
KOH	Hidróxido de potássio
NCT	Nanocápsulas à base de timol
OC	Organoclorados
OE	Óleo essencial
OECD	Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico
OMS	Organização Mundial de Saúde
OP	Organofosforados
PI	Piretroides
PMM	Potencial de membrana mitocondrial
REA	Relação estrutura atividade

SE	Semana epidemiológica
SNA	Sistema nervoso autônomo
SNC	Sistema Nervoso Central
SOCl_2	Cloreto de tionila
TMS	Tetrametilsilano
ZIKV	Vírus Zika

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	24
2	OBJETIVOS	27
2.1	GERAL.....	27
2.2	ESPECÍFICOS.....	27
3	REFERENCIAL TEÓRICO	28
3.1	<i>Piper nigrum</i> L.....	28
3.2	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA <i>Piper nigrum</i> L.	30
3.3	ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA <i>Piper nigrum</i> L.	32
3.4	AMIDA NATURAL: A PIPERINA	33
3.4.1	Estudos farmacológicos da piperina	37
3.4.2	Modificações estruturais na piperina	42
3.4.2.1	Química medicinal.....	42
3.4.2.2	Estudos de modificações estruturais na piperina	43
3.5	<i>Aedes aegypti</i> L.	49
3.5.1	Características	49
3.5.2	Ciclo de vida do <i>Ae. aegypti</i>	50
3.5.3	Doenças causadas pelo <i>Ae. aegypti</i>	52
3.5.3.1	Dengue	52
3.5.3.2	Chikungunya (CHIKV).....	54
3.5.3.3	Zika Vírus.....	55
3.5.3.4	Febre amarela (FA).....	56
3.6	CONTROLE DE VETORES	57
3.7	A BUSCA POR NOVOS INSETICIDAS DE ORIGEM NATURAL	63
4	MATERIAIS E MÉTODOS	70
4.1	MATERIAIS.....	70

4.1.1	Reagentes e Solventes	70
4.1.2	Equipamentos (Ensaio químicos)	70
4.1.3	Pontos de fusão	71
4.1.4	Infravermelho (IV)	71
4.1.5	Espectrometria de Massas (MS)	71
4.1.6	Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)	71
4.2	MÉTODOS	71
4.2.1	Método de extração	72
4.2.1.1	Isolamento da piperina.....	72
4.2.2	Metodologia sintética	73
4.2.2.1	Obtenção da 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) pentan-1-ona (tetraidropiperina)	73
4.2.2.2	Procedimento geral para obtenção dos compostos LASSINT-29-31.....	75
4.2.2.2.1	<i>(E)</i> -3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) prop-2-en-1-ona (LASSINT-29).....	76
4.2.2.2.2	3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) propan-1-ona (LASSINT-30).....	77
4.2.2.2.3	Benzo[d] [1,3] dioxol-5-il (piperidin-1-il) metanona (LASSINT-31).....	78
4.2.2.3	Hidrólise básica para obtenção do LASSINT-1 a partir da piperina 1.....	78
4.2.2.4	Esterificação de Steglich para obtenção do LASSINT- 2.....	80
4.2.2.5	Procedimento geral para obtenção dos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-1.	82
4.2.2.5.1	<i>(2E,4E)</i> -2-isopropil-5-metilfenil5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)penta-2,4-dienoato (LASSINT-2)	83
4.2.2.5.2	<i>(2E,4E)</i> -5-isopropil-2-metilfenil5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)penta-2,4-dienoato (LASSINT-3)	84

4.2.2.5.3	(2E,4E) -4-alil-2-metoxifenil 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) penta-2,4-dienoato (LASSINT-4).....	85
4.2.2.5.4	(2E,4E) -4-acetamidofenil 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) penta-2,4-dienoato.....	86
4.2.2.5.5	(2E,4E) -2-acetoxifenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) penta-2,4-dienoato (LASSINT-6).....	87
4.2.2.6	Procedimento para obtenção do 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) ácido pentanoico (Ácido tetraidropiperínico)- LASSINT-7.	89
4.2.2.6.1	Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do LASSINT-7.....	91
4.2.2.6.2	2-isopropil-5-metilfenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-8).....	92
4.2.2.6.3	5-isopropil-2-metilfenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-9).....	93
4.2.2.6.4	4-alil-2-metoxifenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-10).....	94
4.2.2.6.5	4-Acetamidofenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-11).....	95
4.2.2.6.6	metil 2-((5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) pentanoil) oxi) benzoato (LASSINT-12).....	95
4.2.2.7	Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do 2,3-(metilenodioxo) ácido cinâmico (94).	97
4.2.2.7.1	(E)-2-isopropil-5-metilfenil 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)acrilato (LASSINT-13).....	98
4.2.2.7.2	(E)-5-isopropil-2-metilfenil 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT-14).....	99
4.2.2.7.3	(E)-4-alil-2-metoxifenil 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT-15).....	100
4.2.2.7.4	(E)-4-acetamidofenil 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT-16).....	101

4.2.2.7.5	<i>(E)</i> -metil-2-((3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acriloil)oxi)benzoato (LASSINT-17)	102
4.2.2.8	Procedimento para obtenção do 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) Ácido propanóico (LASSINT-18)	103
4.2.2.9	Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) ácido propanoico (LASSINT-18).	104
4.2.2.9.1	2-isopropil-5-metilfenil 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-19)	106
4.2.2.9.2	5-isopropil-2-metilfenil 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-20)	107
4.2.2.9.3	4-alil-2-metoxifenil 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-21)	108
4.2.2.9.4	4-Acetamidofenil 3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-22)	109
4.2.2.9.5	Metil 2-((3-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) propanoil) oxi) benzoato (LASSINT-23)	110
4.2.2.10	Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do ácido piperonílico (97)	111
4.2.2.10.1	2-isopropil-5-metilfenil benzo[d] [1,3] dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-24)	112
4.2.2.10.2	5-isopropil-2-metilfenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-25)	113
4.2.2.10.3	4-alil-2-metoxifenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-26)	114
4.2.2.10.4	4-Acetamidofenil benzo[d] [1,3] dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-27)	115
4.2.2.10.5	2-(metoxicarbonil) fenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-28)	116
4.2.3	Metodologia biológica	117
4.2.3.1	Avaliação da atividade larvica	117

4.2.3.2	Avaliação de toxicidade aguda	117
4.2.3.3	Análise estatística.....	119
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	120
5.1	ISOLAMENTO DA PIPERINA.....	120
5.1.1	Hidrogenação catalítica da piperina	121
5.2	OBTENÇÃO DO ÁCIDO PIPÉRICO POR HIDRÓLISE BÁSICA	123
5.3	ENSAIOS DE SÍNTESE	124
5.3.1	Obtenção dos ésteres por esterificação de Steglich	124
5.3.2	Obtenção dos ésteres por esterificação via cloreto de ácido	126
5.4	OBTENÇÃO DE HIDROGÊNIO ATRAVÉS DA REAÇÃO ENTRE O ALUMÍNIO E SOLUÇÃO AQUOSA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NaOH).....	128
5.5	CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS OBTIDOS.....	128
5.5.1	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ¹H e C¹³	128
5.6	ATIVIDADE BIOLÓGICA	130
5.6.1	Avaliação da atividade larvicida	130
5.6.1.1	Série dos derivados amídicos 1,3-benzodioxolas	130
5.6.1.2	Série dos derivados ácidos de 1,3-benzodioxolas	133
5.6.1.3	Série dos derivados ésteres 1,3-benzodioxolas.....	135
5.6.2	Avaliação da toxicidade aguda	141
6	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	146
	REFERÊNCIAS	148
	APÊNDICE A- ESPECTROS DOS DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLAS	158
	ANEXO A- CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)	196

1 INTRODUÇÃO

Dentre a diversidade de vírus existentes, alguns são transmitidos por artrópodes (arbovírus). Sabendo disso, cerca de trinta vírus são relatados como responsáveis por causarem doenças em seres humanos (CLETON et al., 2012), e quatro desses, causam arboviroses que afetam severamente a espécie humana. Historicamente, o *Aedes aegypti* é o principal vetor de doenças epidêmicas como a Dengue, Chikungunya, Zika, e Febre Amarela, e por isso, atualmente é considerado um grave problema de saúde pública (OPAS, 2021). Em muitos países, com diferentes características econômicas, climáticas e sociais, estas doenças propagaram um aumento significativo da morbidade e mortalidade humana.

Conseqüentemente, vários estudos têm sido desenvolvidos para viabilizar estratégias de combate e controle aos mosquitos, bem como para o tratamento das doenças por eles transmitidas. Todavia, não existe um tratamento específico para as arboviroses, sendo a redução da transmissão do patógeno através do combate ao *Aedes aegypti*, a medida de controle mais eficaz. Sabendo disso, habitualmente, o controle e combate a este vetor é fundamentado na aplicação de inseticidas sintéticos, como diclorodifeniltricloroetano (DDT), temefós, piretroides, dentre outros. Apesar destes agentes químicos serem a forma mais eficaz de controle dos mosquitos, e por décadas seu uso excessivo, tornou possível o desenvolvimento de resistência (GHOSH et al., 2012; GEORGE et al., 2014; WILKE & MARRELLI, 2015). Além disso, causa negativo impacto ambiental, intoxicação em seres humanos e o aparecimento de doenças crônicas (SABARWAL et al., 2018; SMITH et al. 2016; YANG et al. 2020).

Diante das problemáticas causadas pelo *Aedes aegypti*, o surto ocasionado pelo Zika, levantou questões éticas no âmbito da ciência (LESSER; KITRON, 2016), incentivando pesquisadores a descobrirem novos compostos bioativos de origem natural ou sintético, que possam ser usados como inseticidas, com eficácia e segurança no controle e combate a esse mosquito. A propósito, esses compostos, apresentam biodegradabilidade, ação e degradação rápida, baixa toxicidade, baixa fitotoxicidade, e maior seletividade (GEORGE et al., 2014; WILKE & MARRELLI, 2015; HERMAN et al., 2019). A partir dessas considerações, relatos na literatura demonstram a escassez de compostos biologicamente ativos, oriundos dos

vegetais, para o controle e combate ao *Aedes aegypti*, incitando a busca por novos agentes inseticidas. Dentre a diversidade vegetal existente, o gênero *Piper* destaca-se como um dos mais investigados e conseqüentemente promissor, pela gama de propriedades biológicas comprovadas, principalmente no campo da saúde e da agricultura (NAHAK; SAHU, 2011; RODRIGUES; OLIVEIRA, 2021; MARQUES et al., 2021). Do ponto de vista científico, uma das classes químicas mais importantes para a atividade inseticida, são as amidas.

A piperina **1**, é uma amida natural, isolada dos frutos secos da *Piper nigrum* L., que apresenta grande importância biológica, por possuir diversas bioatividades (UL HAQ I et al., 2020). No que diz respeito às investigações da atividade inseticida da piperina, alguns estudos revelam seu potencial contra cepas resistentes, causando toxicidade e mortalidade em *Anopheles gambiae* e *Anopheles funestus* (SAMUEL et al., 2016), além de ser ativo contra *Aedes aegypti* (CUSTÓDIO et al., 2016). Além da função amida como núcleo bioativo, a subunidade 1,3-benzodioxol, também foi destacada pela sua atividade inseticida, no qual está presente na estrutura química de substâncias como a asaricina (HEMATPOOR et al., 2016), safrol e os seus isômeros (BHARDWAJ et al., 2010).

Tendo em vista essa necessidade, de obtenção de um composto bioativo seguro e eficaz para combate e controle ao *Aedes aegypti*, tivemos com esse estudo, o objetivo de inserir núcleos bioativos, que são comprovados por sua atividade inseticida, assim como a função amida, a subunidade 1,3-benzodioxola e fenóis bioativos aos compostos planejados. Em adição, responder ao seguinte questionamento: Será que a presença/ausência de insaturações, bem como a diminuição desses espaçadores, contribuem para o aumento ou diminuição da atividade biológica? Portanto, realizamos a síntese de derivados 1,3- benzodioxolas baseados na estrutura química da piperina, para a avaliação da atividade larvicida (Figura 1).

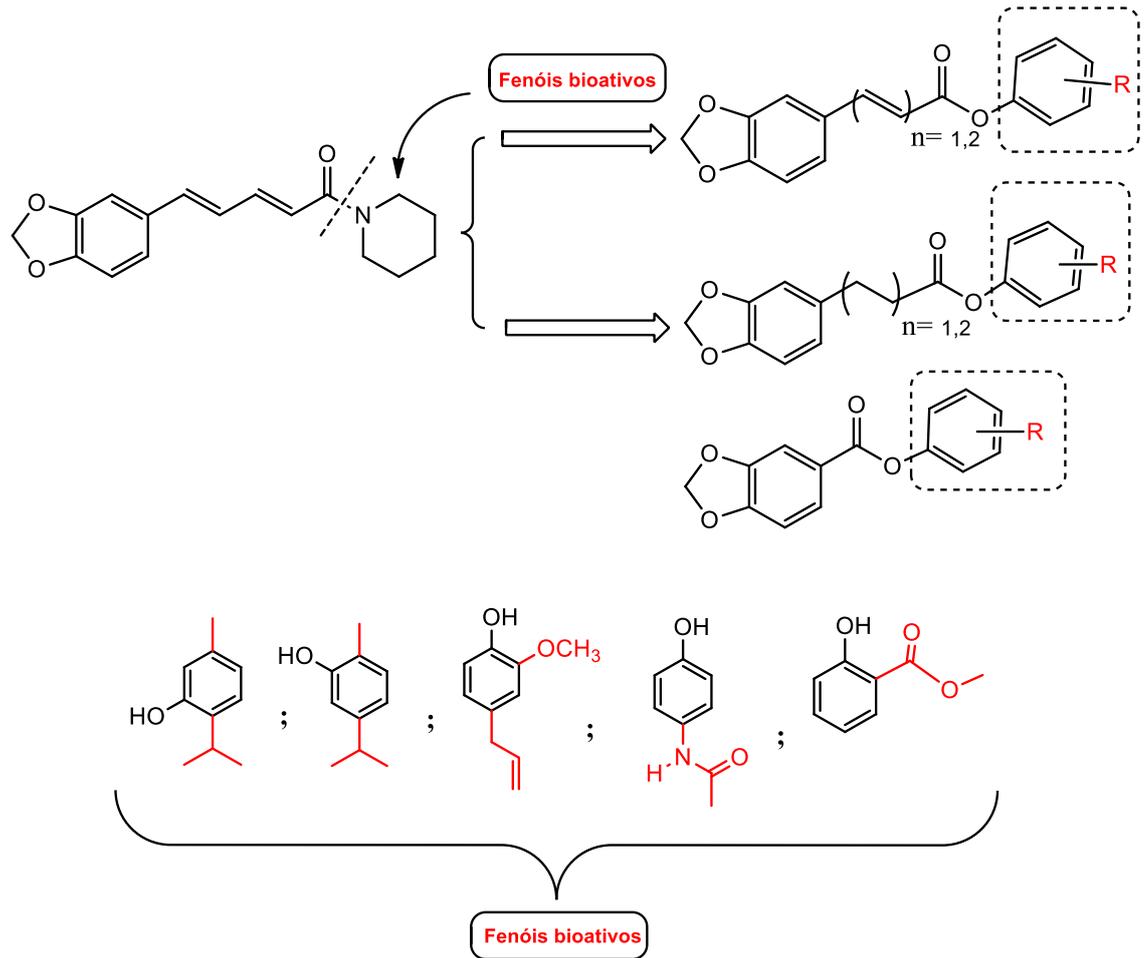


Figura 1- Planejamento dos derivados 1,3-benzodioxolas baseados na piperina.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

O presente estudo tem por finalidade o planejamento, síntese e avaliação da atividade larvicida de derivados 1,3-benzodioxolas.

2.2 ESPECÍFICOS

- Isolar a piperina através do método de extração e purificação simultânea;
- Sintetizar os derivados 1,3-benzodioxolas;
- Caracterizar estruturalmente os compostos obtidos por meio de Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN ^1H), Ressonância Magnética Nuclear de carbono treze (RMN ^{13}C), e determinar a massa molecular através de espectrometria de massa de alta resolução (HRMS);
- Avaliar o potencial da atividade larvicida e toxicológica dos compostos obtidos.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Piper nigrum* L.

O gênero *Piper* pertence à família Piperaceae, e possui 2.169 espécies aceitas (WFO Plant List, 2021). Dentre as espécies catalogadas, *P. nigrum*, *P. longum* e *P. betle* (Figura 2), são as mais conhecidas (KHAN et al., 2010). *Piper nigrum* (pimenta preta) é uma planta trepadeira perene, lenhosa, crescem facilmente à sombra com árvores de apoio e podem chegar a 10 metros. Os frutos da pimenta preta são pequenos, medindo de 3 a 4 mm de diâmetro, do tipo drupa e fincados em espigões de 7-15 cm (DAMANHOURI, AHMAD, 2014). Além disso, no caule, contém de 20 a 30 espigões, o qual são recolhidos e secos ao sol, o intuito de separar os grãos da pimenta do reino. A saber que, um fruto contém uma única semente e começam a ser colhidos no 4º ou 5º ano, por aproximadamente sete anos (Figura 3).



Figura 2- A) *Piper nigrum*; B) *Piper longum* e C) *Piper betle*.

Devido a sua característica pungente, a espécie *Piper nigrum* L. é considerada a especiaria mais utilizada no mundo, originária das regiões tropicais da Índia. Além disso, é um dos ingredientes picantes nos alimentos, especialmente nos países asiáticos, e também possui aplicações na medicina tradicional, perfumaria, conservantes e inseticidas (RAJA, SETHURAMAN, 2008). Sobre seu uso nos medicamentos, foi reportada atividade gastrointestinal, antitussígena, dispneia,

disenteria, dores no estômago (GÜLÇIN, 2005) e é utilizado como anti-inflamatório, antipirético, e para tratar epilepsia e mordida de serpentes (MCNAMARA et al., 2005; VASUDEVAN et al., 2000; SZALLASI, 2005), utilizada também para o tratamento de cólera e dispepsia, além de uma variedade de doenças gástricas e distúrbios artríticos (FERREIRA et al., 2012; KHAN et al., 2010).



Figura 3- Plantação de pimenta do reino (*Piper nigrum*), com espigões.

No Brasil, é comumente conhecida como pimenta do reino ou pimenta preta (*Piper nigrum* L.) e seu uso é bastante difundido como condimento e na medicina popular. Atualmente, é cultivada em vários estados brasileiros, alcançando mais de 100 municípios, dentre eles o Pará, Espírito Santo, Bahia, Maranhão, Ceará, Paraíba e Amapá (DUARTE & ALBUQUERQUE, 2005). Em 2018, o estado do Espírito Santo tornou-se o maior em produção de pimenta-do-reino. Historicamente, o Brasil ficou entre os cinco maiores produtores mundiais e entre os três maiores exportadores de pimenta-do-reino. A produção em 2019, segundo a pesquisa do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas (IBGE), atingiu o recorde de 109.400 toneladas (IBGE, 2019).

3.2.COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA *Piper nigrum* L.

Investigações fitoquímicas realizadas nas últimas décadas, revelaram que esta especiaria possui diversos metabólitos e que se distribuem em diferentes classes, dentre elas, amidas/alcaloides, propenilfenalinas, dentre outras (BOMTEMPO, 2007; BONG et al., 2010). Dentre as substâncias que compõe a pimenta do reino, a piperina **1** é seu principal constituinte químico, ocorrendo em maior proporção nos frutos da planta (SEMLER & GROSS, 1988), apresentando concentração de 3-7% (ROMÃO et al., 2008). Devido a maior ocorrência da piperina nos frutos, a pimenta-do-reino apresenta-se como uma fonte renovável para esse composto, uma vez que o manejo efetivo viabiliza colher várias vezes ao ano, sem prejudicar a planta. Vale salientar, que a piperina foi reportada como tendo isômeros, que são eles a isopiperina **2**, chavicina **3** e isochavicina **4** (Figura 4). Todavia são lentamente transformados em piperina sob efeito da luz, acarretando a perda da pungência dos frutos da *P. nigrum* (MEGHWAL; GOSWAMI, 2013; KOZUKUE et al., 2007).

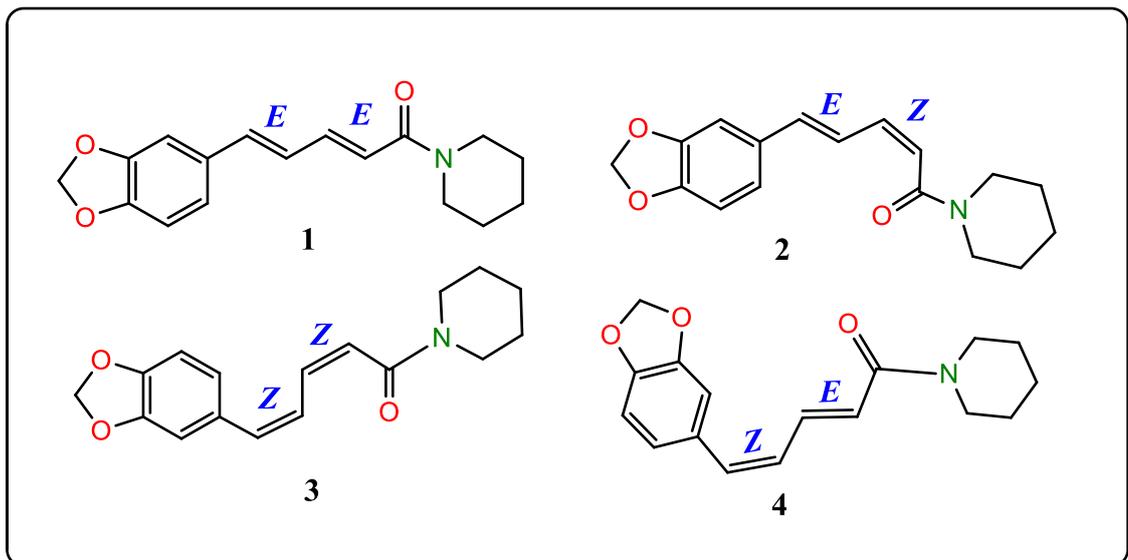


Figura 4- Estrutura química da piperina **1** e dos seus isômeros isopiperina **2**, chavicina **3** e isochavicina **4**. Fonte: A autora (2023).

O óleo essencial (OE) da pimenta preta constitui em média 0,4-7% do peso seco das drupas e é importante para tratar reumatismo, cansaço, dores musculares e infecções. Além de ter sido utilizado para melhorar a circulação sanguínea

(PETER, 2000; PETER, 2006). Em termos de composição química, encontram-se distribuídos nessa especiaria, minerais, vitaminas e nutrientes. Em 100 g de sementes de pimenta preta, algumas concentrações de minerais foram identificadas, como 400 mg de cálcio, 235-250 mg de Magnésio, 1200 mg de potássio, 160 mg de fósforo e menores concentrações de sódio, ferro e zinco (TAINTER, GRENIS 2001; NWOPIA, KELECHUKWU, NWOPIA, 2013), bem como 66,5 g de hidratos de carbono, 10 g de proteínas e 10,2 g de gordura (TAINTER, GRENIS 2001). Além disso, a pimenta preta também tem uma concentração significativa de vitaminas, tais como vitamina C, B1, B2 e B3. Outros fitoquímicos também encontrados nesta planta são os flavonoides tais como catequina, quercetina e miricetina, além de carotenoides (ASHOKKUMAR et al., 2015).

É constatado que há variação perceptível nos metabólitos principais da pimenta preta, principalmente no que diz respeito ao óleo essencial (ASHOKKUMAR et al., 2021). O perfil do OE presentes nos frutos da pimenta do reino do sul da Índia, predominantemente encontram-se β -cariofileno, limoneno, sabineno, α -pineno, β -bisaboleno, α -copaeno, α -cadinol, α -tujeno e α -humuleno (UTPALA et al., 2008; SRUTHIE et al., 2013). Em Bangladesh, é constituído por β -cariofileno, α -pineno, limoneno, β -pineno, β -feliandreno, copaeno, 1-naftalenol e β -mirceno (AZIZ et al., 2012). Contudo, Sri Lanka, Malásia, e Brasil mostraram algumas variações nesses metabólitos (ASHOKKUMAR et al., 2021). Os principais constituintes do OE da pimenta preta, são os que estão representados na Figura 5.

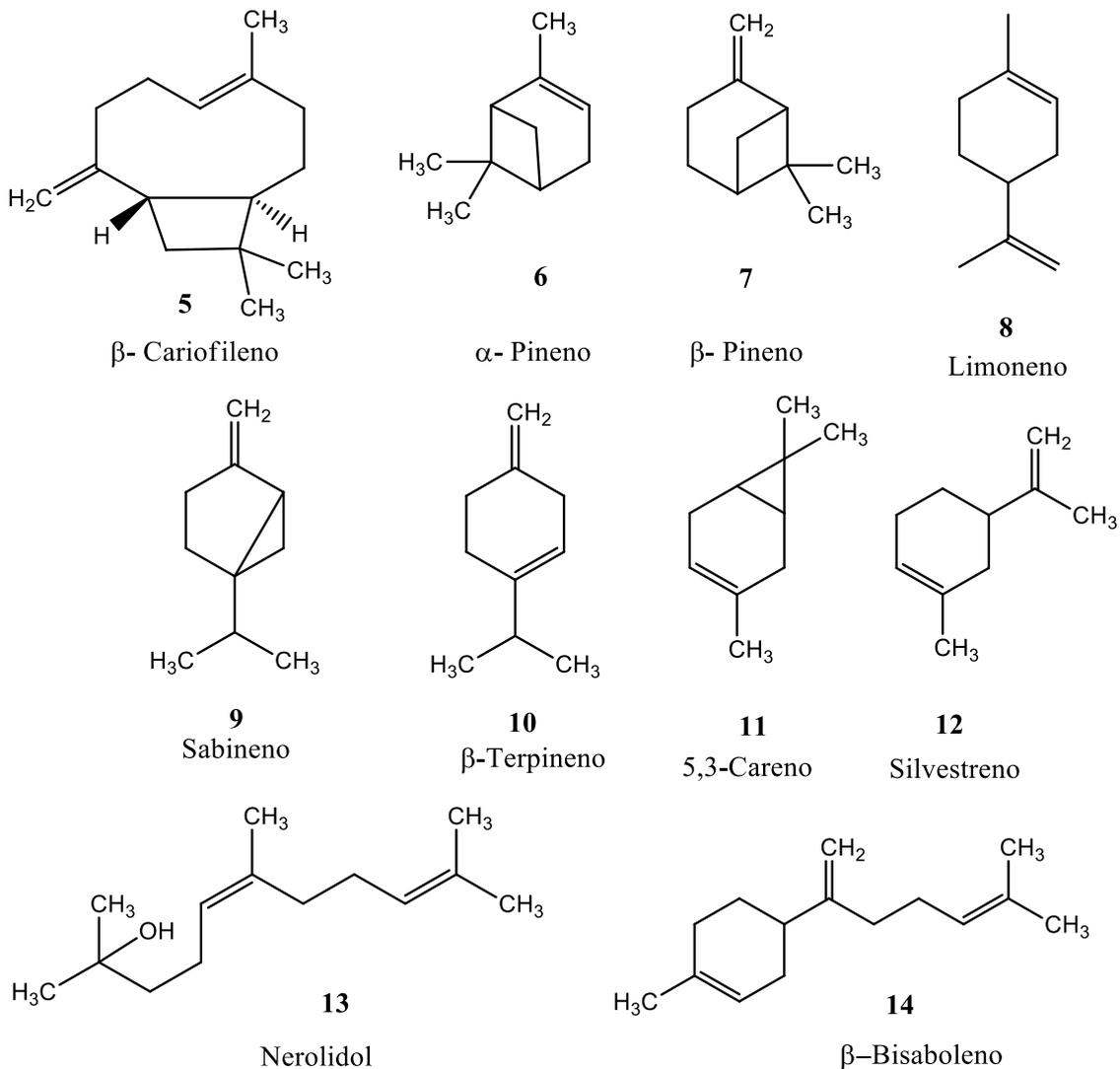


Figura 5- Estrutura química dos principais constituintes do óleo essencial da *Piper nigrum* L.

3.3. ATIVIDADES BIOLÓGICAS DA *Piper nigrum* L.

As plantas em geral, produzem metabólitos primários e secundários que auxiliam no metabolismo do corpo humano e são, naturalmente, usados como sistema de defesas contra patógenos. Além das plantas medicinais, as de especiarias que são caracterizadas por substâncias aromáticas e/ou pungentes, também possuem uma grande influência na história mundial, pois foram bastante utilizadas para tratar diversas doenças, assim como, são bastante utilizadas para dar sabor aos alimentos (OZCAN, EREL, HERKEN 2009; NASCIMENTO et al., 2020).

A família Piperaceae, desde os primórdios, tem sido fonte de especiarias e de agentes terapêuticos. Contudo, o gênero *Piper* se destaca pela composição de metabólitos com uma variedade de atividades biológicas, principalmente inseticida (SCOTT et al., 2008; TAKOOREEUM et al., 2019), além de apresentar potencial biotecnológico para a saúde e agricultura (NAHAK; SAHU, 2011). Além de algumas atividades biológicas citadas anteriormente, o óleo essencial da pimenta preta também apresenta efeito inseticida (AGBOR et al., 2012; DOUCETTE et al., 2013), larvicida (MAKHOV et al., 2012), antioxidante e antimicrobiano (SAMUKUTTY et al., 2013).

A saber, dentre as diferentes atividades farmacológicas que esta espécie apresenta, foram relatadas devido a presença de alguns fitoquímicos. Entre todos os compostos isolados da *P. nigrum*, a piperina, pipeno, piperamida e a piperamina, são os responsáveis por essa gama de bioatividades (PARMAR et al., 1997; AHMAD et al., 2012). Sabendo disso, as amidas e seus derivados representam uma classe de compostos muito importante do ponto de vista biológico, o que destaca a diversidade de propriedades, inclusive a atividade inseticida. E a piperina, constituinte predominante e bioativo da pimenta preta, é um alcaloide piperidínico com abundantes propriedades biológicas.

3.4 AMIDA NATURAL: A PIPERINA

A piperina **1** é uma amida natural presente em diferentes espécies do gênero *Piper*, sendo mais abundante nos frutos de *Piper nigrum*, com concentração de 3-7% (ROMÃO et al., 2008), podendo ser influenciada por modificações nas condições de cultivo, tais como clima, condições de secagem e o local de origem. Esse alcaloide piperidínico foi isolada pela primeira vez dos frutos de *Piper nigrum* em 1819, e posteriormente foi determinada sua estrutura química *N*-[5-(1,3-benzodioxola-4-il-1-oxo-penta-2*E*-dienil)] -piperidina.

A estrutura química da piperina é composta por uma cadeia alifática insaturada que é um espaçador entre a piperidina e a porção 5-(3,4-metilenodioxifenil) (Figura 6). Quanto as suas propriedades físico-químicas, possui duas funções éter e uma amida *N, N'*-di-substituída, o que nos diz que a molécula é quase apolar e insolúvel em água. Sobre sua solubilidade, sabemos que solventes como éter, álcool, clorofórmio e outros polares, solubilizam essa substância. Vale

salientar que em estruturas orgânicas complexas é difícil prever a solubilidade, porém, no geral, quanto maior a cadeia carbônica e menos grupos polares existentes, menor será sua solubilidade em solventes fortemente polares, como é o caso da água (MERCK, 1996).

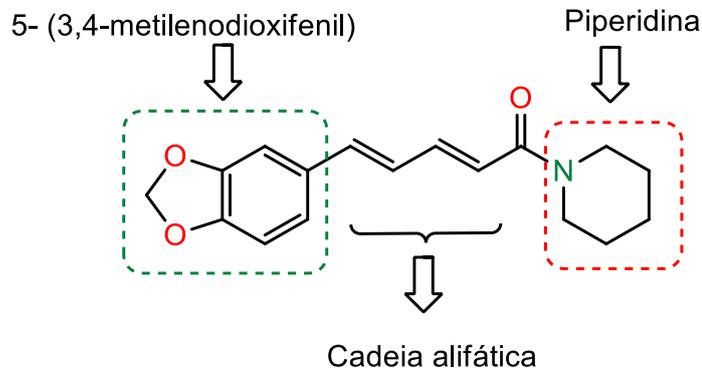
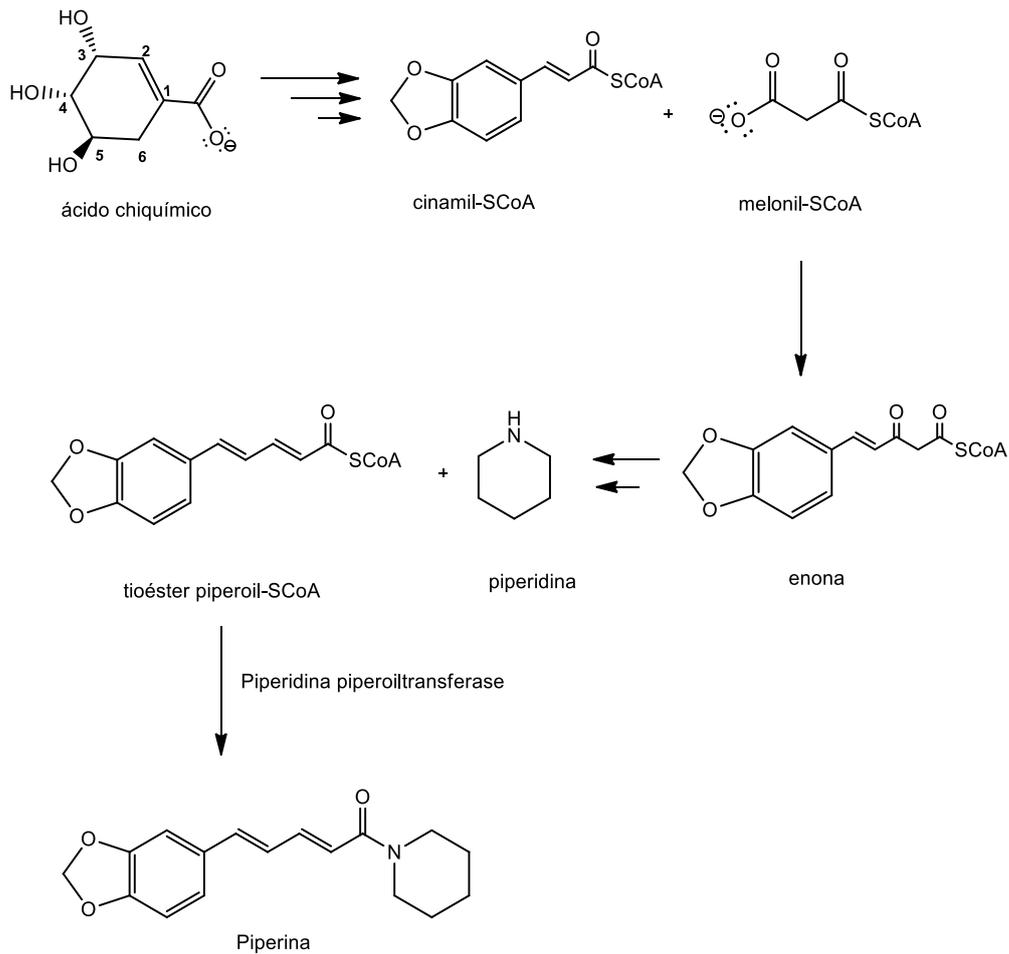


Figura 6- Composição estrutural da piperina por seus grupamentos funcionais.

Em relação a biossíntese da piperina, sabe-se que a porção acil da molécula da piperina, que é o ácido pipérico, tem como precursor o derivado cinamoil-SCoA, pelo qual é biossintetizado a partir do ácido chiquímico, sendo capaz de apresentar oxigenação no anel aromático. Após a obtenção do tioéster piperoil-SCoA, que é formado após reação do derivado cinamoil-SCoA com uma unidade de malonoil-SCoA, seguida da redução da enona e de uma β -eliminação, o mesmo reage com a piperidina para formar a piperina (Esquema 1). Entretanto, mesmo sabendo que a formação da piperina se dava por condensação da piperidina com o tioéster piperoil-SCoA, Geissman e Crout, propuseram uma rota biossintética para a piperina, após a descoberta da enzima piperidina piperoiltransferase, pelo qual mostrou-se específica para a piperidina, atingindo 100% de atividade relativa (GEISSMAN, CROUT, 1996)



Esquema 1- Proposta biossintética da piperina (GEISSMAN, CROUT, 1996).

A piperina é utilizada em terapias tradicionais chinesas, bem como na medicina indiana, principalmente para o tratamento da dor, calafrios, artrite reumática, gripe e febre (TIWARI, MAHADIK, GABHE 2020). O isolamento da piperina pode ser feito através da extração por solventes, através de aquecimento e refluxo, extrações de Soxhlet e Soxhlet modificadas (DBSA), extração de refluxo por microondas, dentre outros que podem ser observados na tabela abaixo (TIWARI, MAHADIK, GABHE et al., 2020).

Tabela 1- Métodos de isolamento da piperina (TIWARI, MAHADIK, GABHE et al., 2020).

	Métodos de extração	Tempo	Rendimento
1	Extração assistida por ultra-sonicação baseada em líquido iônico (IL)	30 min	1,96%
2	Extrações de Soxhlet e Soxhlet modificada (DBSA)	11 ± 1h	4 ± 0,01 %
3	Extração assistida por micro-ondas	2 min	92 ± 1%
4	Extração de fluido supercrítico (SFE)	2-5h	81-98%
5	Extração de ultrassom	5h	3,9%
6	Extrator Naviglio	3h	317,7mg/g
7	Extração de refluxo de micro-ondas	90min	2,058%

O método de extração e purificação simultânea (GÓES, 2018) apresenta-se como uma alternativa eficaz para isolamento de compostos bioativos. Silva e colaboradores aplicaram este método para obtenção da biflorina, apresentando rendimento de 0,6%, sendo este o resultado mais significativo quando comparados aos métodos descritos na literatura (SILVA, 2019). Portanto, para realizar este processo utiliza-se um aparelho de vidro denominado aparelho Góes (Figura 7), onde no interior da coluna preenche-se por uma substância adequada (1) (SiO_2 , Al_2O_3 , dentre outras), na parte superior, do aparelho é adicionado o material a ser analisado (2). E por fim, na terceira parte do corpo do aparelho, será alimentado pelo eluente e/ou sistema ideal (3), através do balão de fundo redondo sob aquecimento. Este processo de extração e purificação simultânea permite a obtenção da substância desejada com rendimento maior, tempo de execução menor, e economia de solventes (SILVA, 2019).

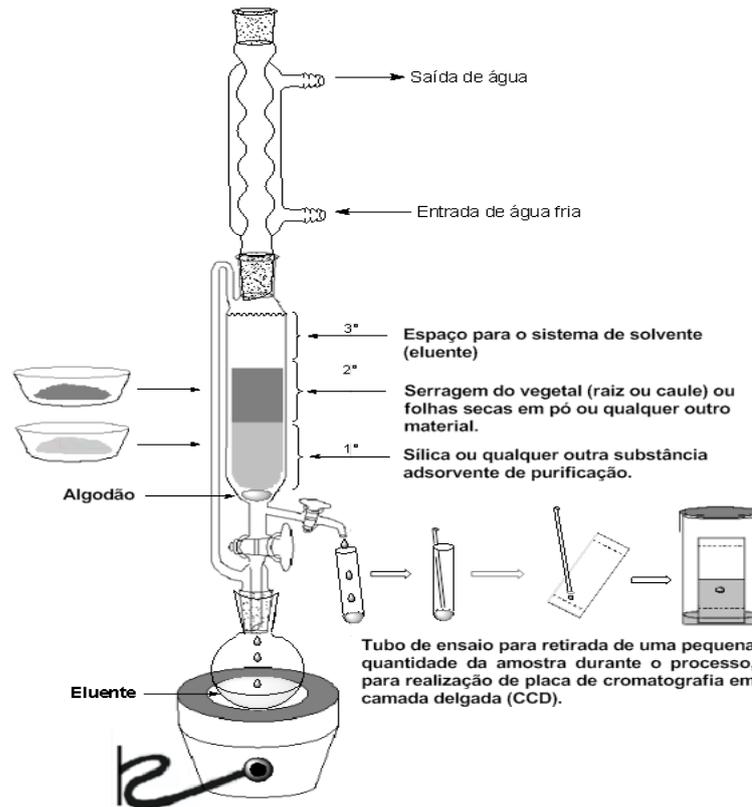


Figura 7- Método utilizado para isolamento da biflorina (SILVA, 2019).

A crescente busca por compostos bioativos, na pesquisa científica, tem incitado o desenvolvimento de novas estratégias para obtenção destes, tendo em vista que, estas moléculas geralmente são isoladas em baixas quantidades e muitas vezes, devido a sua complexidade estrutural, não é facilitado por métodos sintéticos mais rápidos (SANGI, 2016). Desse modo, se faz necessário o desenvolvimento de métodos que sejam mais rápidos e rendam mais, tanto na quantidade isolada quanto na economia de materiais e solventes a serem utilizados. Quanto a piperina, desde que a mesma foi identificada, em 1819, as atividades biológicas relatadas ao seu respeito, no meio científico, são alvos de muitos estudos, tendo em vista seu alto potencial tanto na medicina quanto na agricultura.

3.4.1 Estudos farmacológicos da piperina

Ao analisarmos o potencial biológico da piperina, nota-se que esse composto é essencial tanto como molécula protótipo e/ou precursora para o desenvolvimento

de novos agentes farmacológicos. Além de ser facilmente utilizada para obtenção de compostos sintéticos, também é facilmente isolada, encontrada em grande concentração nos frutos da planta, possui diversas atividades biológicas reportadas, entre outras características relevantes (RIBEIRO, 2004). Quanto as suas atividades biológicas, elas se distribuem em duas áreas importantes: como pesticidas para uso agrícola e como medicamentos para combater infecções, tumores, inflamações, obesidades, diabetes, depressão dentre outras.

Em 2013, estudos realizados por Bukhari e colaboradores avaliaram os efeitos analgésicos e anticonvulsivantes da piperina em modelos de animais, comparando com a indometacina para condições inflamatórias e ácido valproico, carbamazepina e diazepam como anticonvulsivantes de referência. Os resultados obtidos revelaram o potencial analgésico e anticonvulsivante da piperina, tendo em vista que seus resultados foram semelhantes aos fármacos de referência. Desse modo, esses achados podem ser um fator para o uso medicinal da pimenta preta para dor e epilepsia (BUKHARI et al., 2013). A propósito, Mishra e colaboradores, utilizando a técnica de *patch clamp*, mostraram que há um efeito inibitório da piperina nos canais de Na⁺, sugerindo atividade antagonista, contribuindo para explicar o mecanismo de ação desse composto para ações anticonvulsivantes (MISHRA et al., 2015).

Outro aspecto farmacológico importante, é que fármacos coadministrado com a piperina, proporcionam o aumento da biodisponibilidade de diversos fármacos (OLIVEIRA; ALENCAR-FILHO; VASCONCELLOS, 2014). Os exemplos mais citados, estão representados na figura 8.

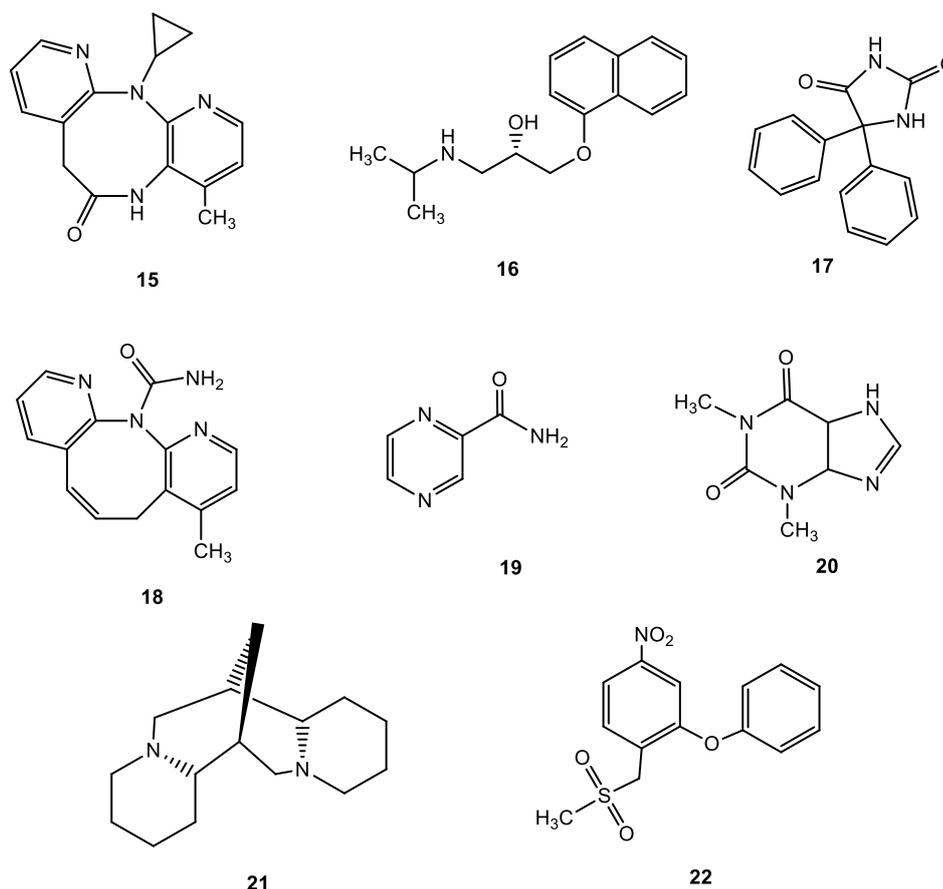


Figura 8- Estrutura química de fármacos que aumentam a biodisponibilidade, quando coadministrados com a piperina **1**: Neviparina (**15**), Propranolol (**16**), Fenitoína (**17**), Carbamazepina (**18**), Pirazinamida (**19**), Teofilina (**20**) Esparteína (**21**), Nimesulida (**22**) (OLIVEIRA; ALENCAR-FILHO; VASCONCELLOS, 2014).

Diante disso, nota-se que a piperina é de relevante importância na prática clínica. Entretanto, uma de suas peculiaridades é o efeito inibidor nas reações de biotransformação enzimática dos medicamentos no fígado. Por esta razão, a mesma inibe fortemente a hidroxilase hepática e intestinal de hidrocarbonetos e arilos e a UDP-glucuronil transferase, o que induz ao aumento da biodisponibilidade dos fármacos, bem como de fitoquímicos (DEROSA, MAFFIOLI, SAHEBKAR, 2016).

Um outro estudo foi realizado em 2014, com objetivo avaliar a eficácia da piperina contra o *Mycobacterium tuberculosis*, agente causador da tuberculose. Foi comparado o uso da rifampicina isoladamente, assim como, a combinação dela com a piperina. Os resultados obtidos demonstraram que essa combinação (1 mg/kg), foi

mais eficaz do que a rifampicina isolada. Desse modo, os autores supõem que a sinergia entre a piperina e a rifampicina é uma alternativa terapêutica em pacientes imunodeprimidos com tuberculose (SHARMA et al., 2014).

Siddiqui e colaboradores avaliaram a eficácia da piperina sob carcinoma escamoso oral humano. Os resultados obtidos nesse trabalho indicam eficiência da piperina na indução da morte celular, através da perda do potencial de membrana mitocondrial (PMM) e espécies reativas de oxigênio (EROS), seguida pela ativação da caspase-3, acarretando a interrupção do ciclo celular (SIDDIQUI et al., 2017). Nota-se que a piperina é um fitoquímico bastante estudado para o tratamento do câncer, incluindo atividades quimiopreventivas sem efeitos citotóxicos significativos em células normais, em doses < 250 µg/mL (ZADOROZHNA, TATARANNI, MANGIERI, 2019). Considerando suas propriedades biológicas, além das descritas acima, a piperina apresenta diversas atividades reportadas na literatura, pelo qual estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2- Principais atividades farmacológicas da piperina (UI HAQ et al., 2020).

Atividades farmacológicas	Referências
Anticâncer	GRINEVICIUS et al., 2016
Antidiabética	KAUR, INVALLY, & CHINTAMANENI, 2016
Antiobesidade	BRAHMANAIDU et al., 2014
Anti-inflamatória	ZHAI et al., 2016
Antimicrobiana	LAKES, RICHARDS, & FLYTHE, 2019
Antialérgica	ASWAR, SHINTRE, CHEPURWAR, & ASWAR, 2015
Imunomoduladora	KUMAR et al., 2015
Antienvelhecimento	YANG, CHEN, LIU, & QU, 2015
Analgésica e anticonvulsivante	SMILKOV et al., 2019
Hepatoprotetora	SETHIYA et al., 2015
Antiartrítica	SMILKOV et al., 2019
Antidepressiva	SMILKOV et al., 2019

Quanto a atividade inseticida, dentre as mais diversas famílias botânicas estudadas com efeito larvicida contra o mosquito *Ae. aegypti*, a Piperaceae destaca-

se como uma das mais investigadas. A piperina, é o principal constituinte químico presente na *Piper nigrum*, e quanto a sua investigação inseticida, Tavares e colaboradores avaliaram o efeito da piperina sobre ovos de *Spodoptera frugiperla* e *Diatraea saccharalis*. A ação da piperina a 1% foi promissora, tanto para mortalidade dos ovos de *S. frugiperla*, quanto para *D. saccharalis*, apresentando 88,80% e 98,90%, respectivamente. Desse modo, concluíram que a piperina parece promissora para o controle desses lepidópteros (TAVARES et al., 2011).

Outro trabalho, utilizando a piperina, foi frente as *Aleurodicus dispels*. Além da piperina, também foi testado o extrato etanólico da *Piper sarmentosum*, planta que também possui a piperina como constituinte químico. Os resultados obtidos, demonstraram que a piperina exibiu atividade inseticida relevante frente as ninfas e adultos de *A. dispels*, apresentando CL₅₀ para os adultos de 28,59 mg/L e para as ninfas 65,91 mg/L. Além disso, foi avaliado também a atividade ovicida utilizando a piperina, na qual mostrou-se ativa, com modos de ação diferentes. A piperina, neste caso, reduziu a taxa de sobrevivência das ninfas recém eclodidas (GANG et al., 2014).

Em 2016, Custodio e colaboradores desenvolveram um dispositivo de liberação controlada de piperina, com o intuito de investigar sua ação frente ao *Ae. aegypti*. Este dispositivo liberou piperina por 16 dias e atividade inseticida residual veio a ocorrer por até 37 dias (CUSTODIO et al., 2016). Em outro estudo, avaliou a atividade da piperina contra várias cepas resistentes a inseticidas, esse composto causou alta mortalidade e mais toxicidade no *Anopheles gambiae* e *Anopheles funestus*, os vetores da malária (SAMUEL et al., 2016).

Recentemente, foi desenvolvido nanoestruturas à base de polímeros carregadas com a piperina, no intuito de melhorar a atividade deste alcaloide frente as larvas de *Ae. aegypti*. Quanto a liberação da piperina carregada nessas nanoestruturas, notaram que o composto ativo foi liberado lentamente ao longo de 48 horas, mostrando o prolongamento da atividade larvicida. Entretanto, a piperina não encapsulada causou maior mortalidade larval nas primeiras horas de exposição, diferindo do sistema de nanoestruturas, que promoveu essa liberação ao longo do tempo. Desse modo, a incorporação de piperina em sistemas nanoestruturados pode ser uma ferramenta eficaz para melhorar o controle larval do *Ae. aegypti* no futuro (OLIVEIRA et al., 2021).

Diversos estudos demonstram o potencial da piperina como precursor ao desenvolvimento de novas moléculas, potencialmente úteis no controle e combate ao *Ae. aegypti*. Até o presente momento, esse composto apresenta todas as condições para o seu uso como molécula protótipo e/ou precursora, desde a sua abundância na planta a variedade em atividades biológicas, como mencionado anteriormente.

3.4.2 Modificações estruturais na piperina

3.4.2.1 Química medicinal

Nas últimas décadas, a combinação de várias estratégias em ciência e tecnologia, resultou no planejamento e descoberta de inovações terapêuticas para o tratamento dos mais variados tipos de doenças. A aplicação da química e da biologia possibilitou a compreensão de mecanismos fisiopatológicos e farmacológicos no reconhecimento molecular e das propriedades farmacocinética e toxicológicas de compostos bioativos. Inquestionavelmente, esses avanços científicos contribuem, principalmente, na qualidade de vida das populações em todo o mundo (HUGHES, KALINDJIAN, PHILPOTT, 2011; AMARAL et al. 2017).

A química medicinal é uma ciência multidisciplinar que investiga os aspectos relacionados ao planejamento, à descoberta, invenção, identificação de substâncias de interesse terapêutico, assim como, os fatores moleculares em relação a ação dos fármacos, englobando o discernimento da relação entre a estrutura química e atividade biológica (SAR) (WERMUTH, 2011). O melhoramento do composto protótipo inclui a etapa de otimização, através de modificações planejadas por técnicas definidas. Quando se determina a atividade farmacológica do ligante, que por sua vez é ativo *in vivo*, preferivelmente por via oral, é considerado composto protótipo (LIMA, 2007). Estas modificações, fornecem informações conformacionais que favorecem o conhecimento do reconhecimento molecular pelo alvo selecionado, tendendo ao aumento da potência, seletividade, diminuição da toxicidade, adequação ao perfil farmacocinético (ADMET) e por fim, definindo a SAR (LIMA, 2007; WERMUTH, 2011, BARREIRO, FRAGA, 2014).

Sobretudo, compreende-se por descoberta o processo proposto à seleção do alvo terapêutico, ao qual se torna indispensável para predizer o tratamento de uma

determinada fisiopatologia. Assim como também, o desenvolvimento de estratégias no planejamento para modificações molecular clássicas na química medicinal, como: bioisosterismo, simplificação e hibridização molecular (WERMUTH, 2011; PAPADATOS, BROWN 2013; BARREIRO; FRAGA 2014), concomitantemente o emprego da modelagem molecular e o QSAR. Como exposto, muitos fármacos interagem com biomoléculas específicas antes mesmo de desempenhar seu efeito terapêutico. Por sua vez, essas interações são conferidas a diversas forças intermoleculares, tais como: ligação de hidrogênio, ligações iônicas, força de van der Waals e interação dipolo, que são geradas na ação entre grupos funcionais (HAMADA, KISO, 2012).

Dentre as estratégias de planejamento para modificações estruturais, a hibridização molecular é bastante utilizada na química medicinal. Existem várias definições agregadas a esta abordagem, entretanto, o conceito mais pertinente é o relatado por Viegas-Junior e colaboradores, no qual evidenciam ser o desenho racional de novos ligantes ou protótipos que é fundamentado no reconhecimento de subunidades farmacofóricas da estrutura molecular de dois ou mais derivados bioativos conhecidos, que mediante a fusão apropriada, resultam em inéditos híbridos que preservam características dos protótipos originais (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). Em outros termos é o desenvolvimento de fármacos que combinam suas porções farmacofóricas, (de diversas substâncias biologicamente ativas), que resultará em um novo composto híbrido com eficácia e interações aprimoradas, em comparação aos compostos originais.

3.4.2.2 Estudos de modificações estruturais na piperina

Existem diversos estudos que utilizam a hibridização molecular na tentativa de aprimorar os efeitos farmacológicos de determinados fármacos. Além disso, otimização estrutural de produtos naturais tornou-se uma das estratégias mais eficazes para o desenvolvimento de novos inseticidas (ZHANG, TIAN, LI, 2022). Utilizando esta estratégia, Singh e colaboradores, prepararam amidas a partir da piperina, com ésteres metílicos de aminoácidos naturais, no intuito de avaliar a atividade leishmanicida (SINGH et al., 2010). A síntese desses híbridos, se deu a partir da hidrólise da piperina e posteriormente a utilização dos ésteres metílicos de diferentes α -aminoácidos (Figura 9).

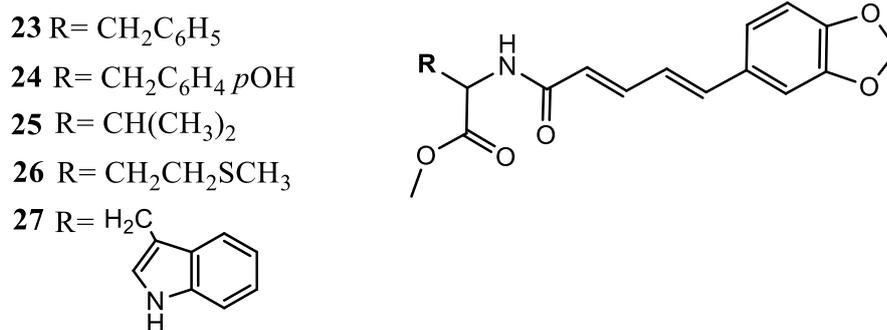


Figura 9- Estrutura química dos híbridos mais ativos sintetizados a partir da piperina (SINGH et al., 2010).

Os compostos obtidos por Singh e colaboradores foram testados para avaliação leishmanicida *in vitro* para as formas promastigotas e amastigotas. Os híbridos sintetizados apresentaram maior atividade que o precursor e os ésteres metílicos de aminoácidos, quando comparados os resultados isoladamente. Dentre essas amidas testadas, o composto 25 apresentou o melhor perfil em atividade anti-amastigota (SINGH et al., 2010). Ainda assim, estudando a relação estrutura atividade (REA), notaram que reduzindo as insaturações da cadeia alifática, entre o anel benzodioxol e a carbonila amídica, desencadeou a diminuição da atividade anti-amastigota e acarretou um aumento significativo da atividade anti-promastigota (Figura 10).

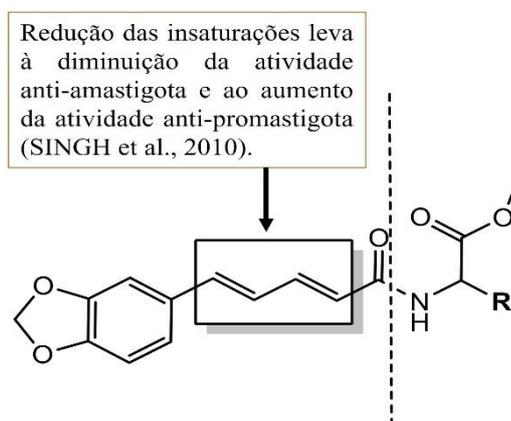
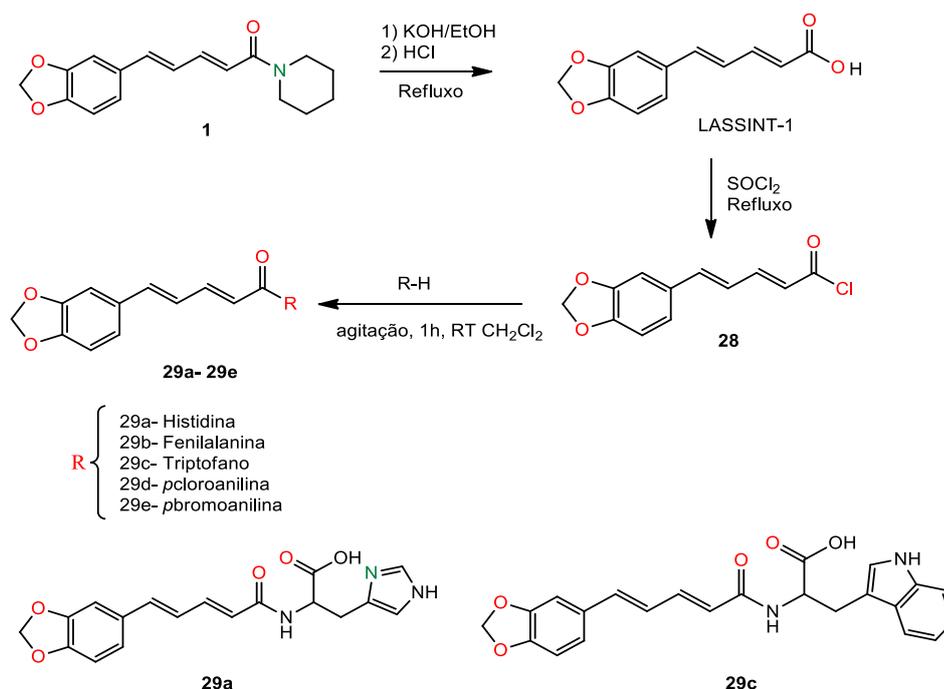


Figura 10- Estudo da relação estrutura atividade das amidas sintetizadas.

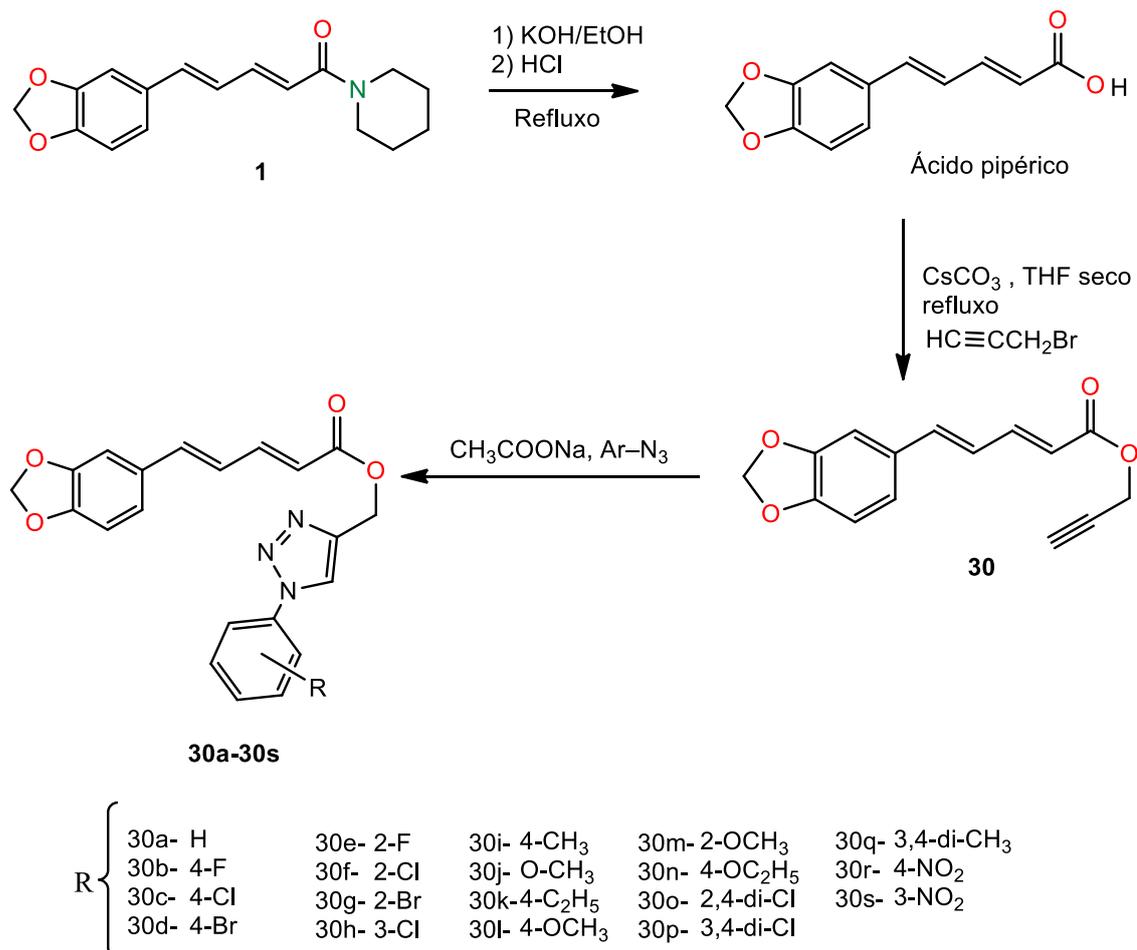
Umadevi e colaboradores planejaram e sintetizaram uma série de compostos utilizando diferentes aminoácidos e anilina substituída, para avaliar a atividade anticancerígena e antibacteriana. Mesmo realizando modificação na região

farmacofórica para atividade anticancerígena, que é a ligação amida (MATSUDA et al., 2009), os compostos **29c** e **29a**, foram os mais ativos da série, exibindo atividade significativa para linhagem Hela e para câncer de mama, respectivamente (Esquema 2). Na avaliação da atividade antibacteriana, os compostos testados também se destacaram, quando comparados ao precursor, a piperina (UMADEVI, DEEPTI, VENUGOPA, 2013).



Esquema 2- Rota sintética empregada para obtenção dos compostos **29a-29e**, utilizando aminoácidos e anilina substituída (UMADEVI, DEEPTI, VENUGOPA, 2013).

Estudos para avaliação da atividade anti-inflamatória de derivados triazólicos a partir da piperina também foram realizados (Esquema 3). Dentre essa série de compostos, o derivado **30g** foi o que mais apresentou atividade anti-inflamatória e analgésica significativa *in vivo*, quando comparado a piperina e indometacina, fármaco de referência (ALI et al., 2015).



Esquema 3- Rota sintética empregada para obtenção dos derivados triazólicos **30a-30s** a partir da piperina.

Em 2018, Yang e colaboradores realizaram a síntese de análogos contendo isoxazolina/pirazolina para a avaliação da atividade pesticida, mais precisamente pragas agrícolas como *Tetranychus cinnabarinus* Boisduval (ácaro), *Mythimna separata* Walker (lagarta do cartucho oriental) e *Plutella xylostella* Linnaeus (mariposa diamante). Dentre a série testada, os compostos **31** e **32** foram 40 vezes mais potentes que o fitoquímico de referência, a piperina, para *T. ceinnabarinus*. Para os resultados contra a mariposa diamante, os compostos **33-35** apresentaram toxicidade oral mais expressiva do que a toosendanina. Assim como, os compostos **34** e **35** apresentaram atividade inibitória de crescimento mais promissora contra *M. separata* do que a toosendanina. Em suma, compostos contendo a porção metilenodioxí e isoxazolina foram importantes para a toxicidade oral e inibição de

crescimento contra *P. xylostella* e *M. separata*, respectivamente (Figura 11). E os núcleos etilenodioxí e isoxazolina foram essenciais para a atividade acaricida (YANG, LV, XU, 2018).

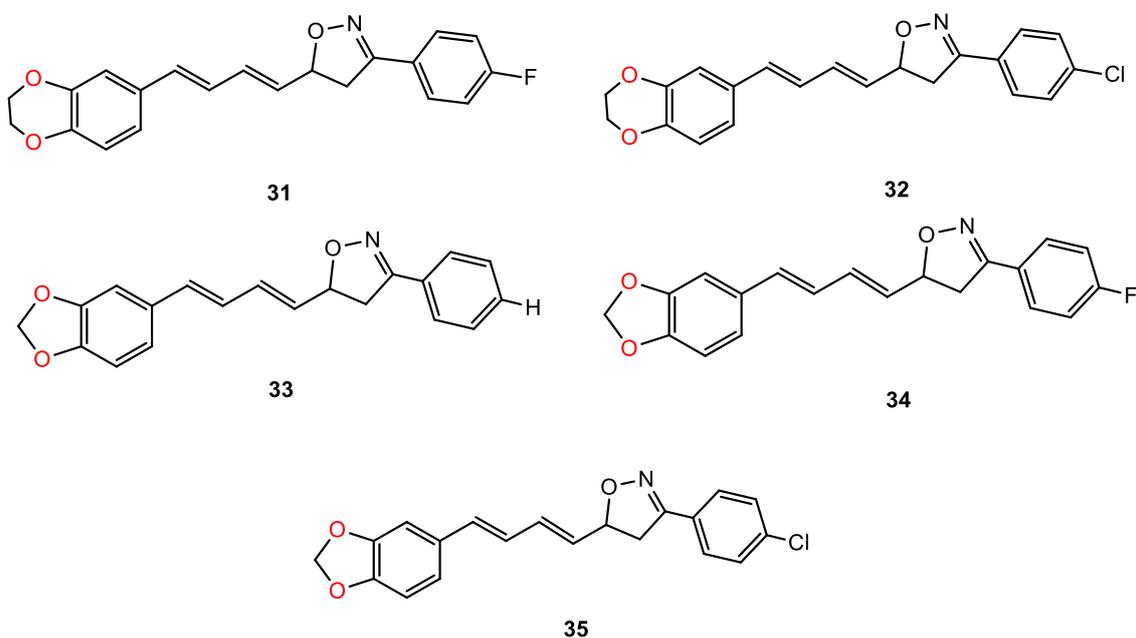
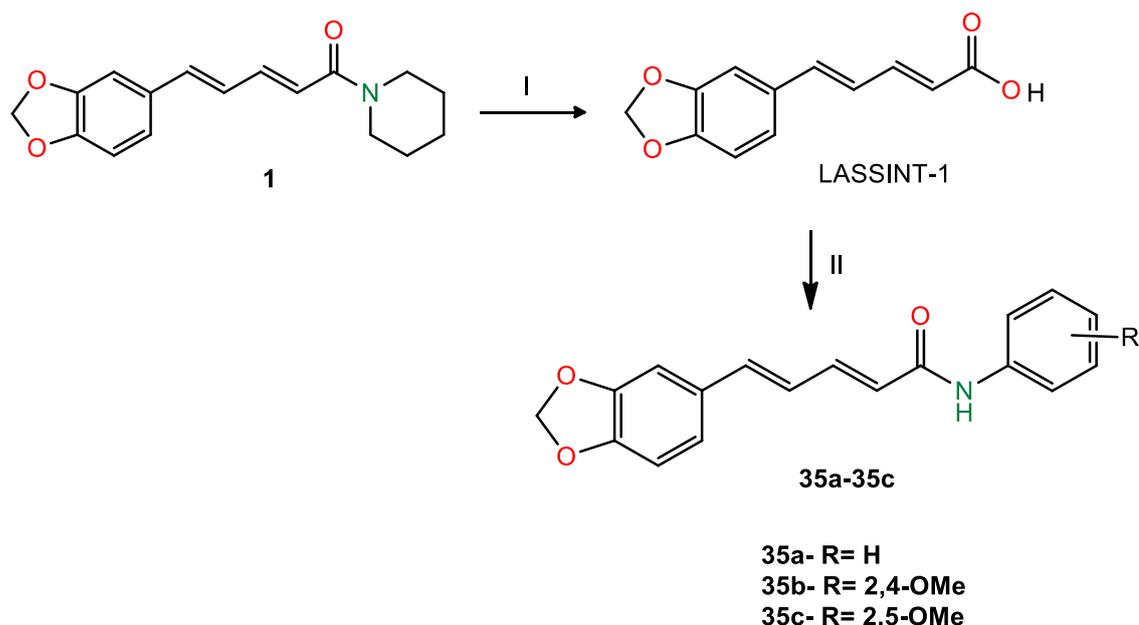


Figura 11- Estrutura química dos análogos mais ativos contra pragas agrícolas (YANG, LV, XU, 2018).

Estudos recentes também foram realizados tomando como base, à piperina. Wansri e colaboradores, realizaram a semissíntese de *N*-arilamidas, visando avaliar a atividade antitripanossômicas, antimaláricas e anti-SARS-CoV-2 (Esquema 4)



Esquema 4- Condições e reagentes: I) 20% KOH, MeOH, 24h. II) EDCI, HCl, HOBT, THF, 0°C a t.a, 16h, anilina, 2,4-dimetoxianilina e 2,5-dimetoxianilina (WANSRI et al., 2022).

Os resultados obtidos neste trabalho, foram promissores. Quanto a citotoxicidade, o composto **35c** se destacou em relação aos demais compostos, não apresentando-se citotóxico frente a linhagem celular de mamíferos, Vero e Vero E6. Em relação a atividade antitripanossômica contra *Trypanosoma brucei rhodesiense*, apresentou IC_{50} $15,46 \pm 3,09 \mu\text{M}$ e sua atividade antimalárica contra a cepa 3D7 de *Plasmodium falciparum* foi de $24,55 \pm 1,91 \mu\text{M}$, demonstrando ser mais potente que a piperina. A propósito, esse mesmo composto inibiu a atividade da protease principal (3CL^{Pro}), em relação à atividade anti-SARS-CoV-2 com IC_{50} de $106,9 \pm 1,2 \mu\text{M}$, sendo então três vezes mais potente que a atividade da rutina (WANSRI et al., 2022).

Diante do exposto, nota-se que estudos utilizando a piperina como precursora para a síntese de novos agentes, que possam atuar, tanto na medicina como na agricultura, são promissores. Portanto, se faz necessário intensificar a busca por novos compostos biologicamente ativos, assim como, testes mais avançados que viabilizem a comercialização e auxiliem nos problemas existentes.

3.5 *Aedes aegypti* L.

3.5.1 Características

Há décadas os mosquitos apresentam destaque em relação às doenças infecto-parasitárias, atuando como vetores. As doenças transmitidas por mosquitos são prevalentes em mais de cem países em todo o mundo, infectando mais de 700 milhões de pessoas. Entre os vários vírus existentes, alguns são transmitidos por artrópodes (arbovírus). Apesar desta diversidade, cerca de trinta vírus são relatados como causadores de doenças em seres humanos (CLETON et al., 2012), quatro dos quais são responsáveis por causar arboviroses que afetam severamente a espécie humana.

Historicamente, o *Aedes aegypti* é o principal vetor de doenças epidêmicas como a Dengue, Chikungunya, Zika, e a Febre Amarela. Em 1762, Linnaeus foi quem descreveu pela primeira vez sobre o *Ae. aegypti*, no Egito. Sobretudo, a ocorrência deste mosquito era vista nos trópicos e subtropicais, abrangendo continentes como americano, Sudoeste da Ásia e em toda Índia (CONSOLI; OLIVEIRA, 1994, ZARA et al., 2016). No Brasil, é encontrado este vetor nos 26 estados e no Distrito Federal.

O *Ae. aegypti* é de cor escura, tem cerca de 3-4 mm de comprimento. O mosquito pode ser identificado por um sinal em forma de uma lira, no lado dorsal do tórax, e por padrões brancos e pretos marcantes nas pernas (Figura 12). Sobre seu hábito de vida, é adaptado ao ambiente urbano, doméstico e apresenta atividade hematofágica diurna e utiliza os recipientes mais frequentes no domicílio ou peridomicílio para depositar seus ovos e desenvolvimento de sua fase larval, sendo estes tanques de armazenamento de água e vasilhames temporários, como potes, barris, pneus, latas, garrafas, vasos de plantas dentre outros. Além disso, as larvas podem ser encontradas em calhas de telhados, bambus cortados e diversos cantos que possam acumular água (NELSON, 1986; TAUIL, 2002). É uma espécie antropofílica e tem hábitos diurnos, alimentando-se e depositando os ovos, preferivelmente ao amanhecer e no período vespertino.

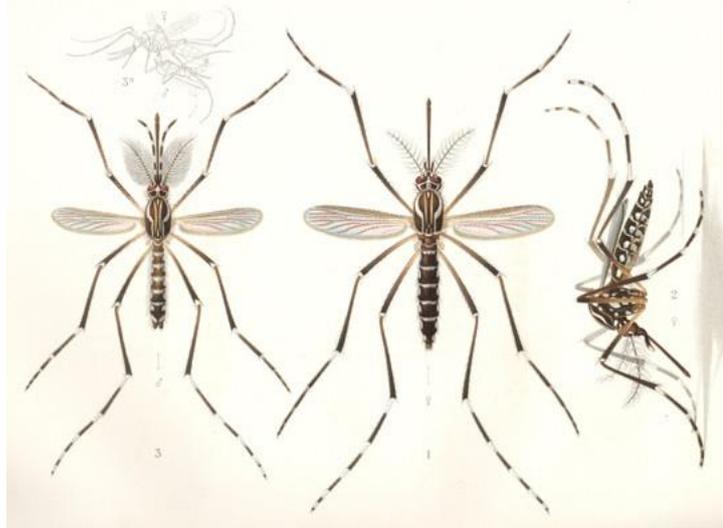


Figura 12- Características morfológicas do mosquito *Ae. aegypti*. Fonte: Biogents AG.

3.5.2 Ciclo de vida do *Ae. aegypti*

O ciclo de vida dessa espécie é dividido em quatro fases, como a do ovo, larva, pupa e adultos. A fêmea do *Ae. aegypti* pode produzir 1000 ovos durante toda a vida. Desse modo, esses ovos são distribuídos em diversos criadouros, e esse comportamento é denominado “oviposição em saltos” (do inglês: *skip oviposition*). Essa forma de oviposição, é uma estratégia que possibilita a propagação e dispersão dos ovos, como também a preservação da espécie (LORENZ; BREVIGLIERI; VIRGINIO, 2018). Vale salientar que, apenas as fêmeas se alimentam de sangue, pelo qual é necessário para produzir os ovos.

O *Ae. aegypti* tem em média 40 dias de ciclo de vida, destes, em torno de 7 a 10 para ocorrer a transformação do ovo em mosquito adulto e 30 dias até morrer. Contudo, esse processo pode ser célere devido ao aumento da temperatura. Por esta razão, a estação do verão há um número maior de mosquito. É sabido que, a fêmea deposita em torno de 100 ovos, pelo qual são altamente resistentes à desidratação, por isso assegura a viabilidade dos ovos por meses em ambientes de baixa umidade (BESERRA et al., 2009; LORENZ; BREVIGLIERI; VIRGINIO, 2018). Além disso, as fêmeas preferem ambientes com pouca matéria orgânica, ou seja, água limpa. Embora possam se adaptar a situações impostas pelo homem.

Quando os ovos estão em condições propícias, ocorre a eclosão das larvas. As larvas passam por quatro estágios, e ao chegar no estágio final, se transforma em pupa. A pupa, é uma fase que não se alimenta, desse modo, o mosquito passa da fase larval à fase adulta. O adulto emerge da pupa, e geralmente se alimentam do néctar das frutas para atender à necessidade energia (Figura 13) (VALLE, PIMENTA, CUNHA et al., 2015).

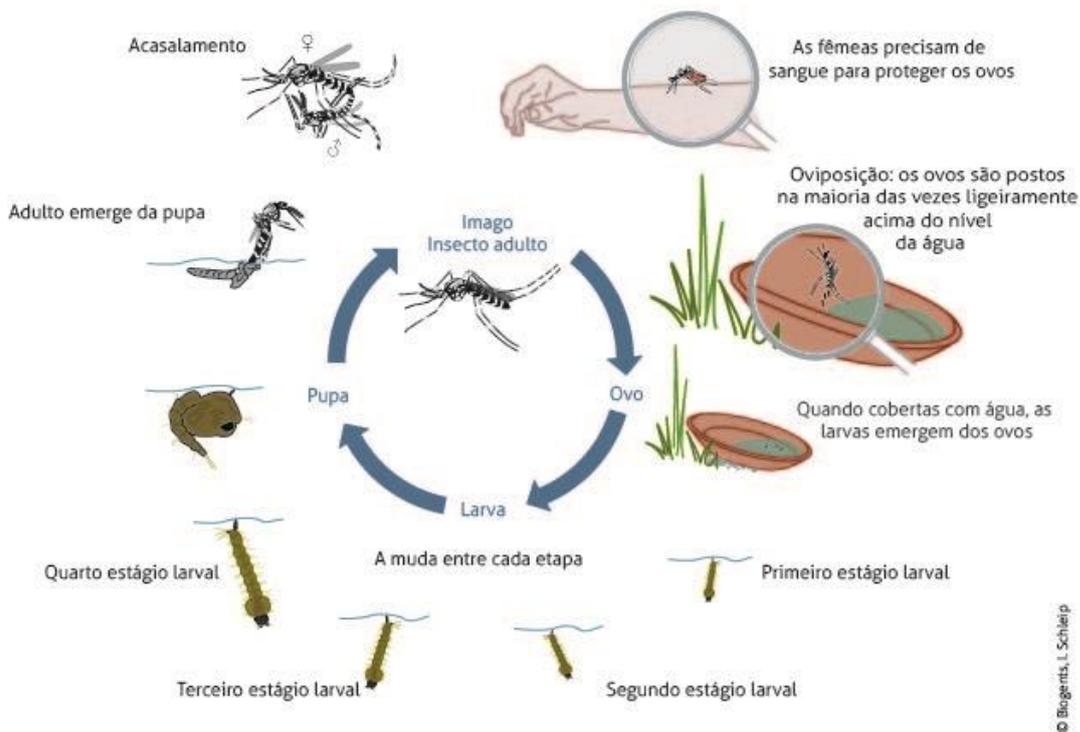


Figura 13- Ciclo de vida do *Ae. aegypti*. Fonte: Biogents AG.

No Brasil, a proliferação do *Ae. aegypti* é favorecido devido as condições, tanto sociais quanto ambientais. A urbanização desenfreada contribuiu para gerar ambientes ricos em deficiências estruturas, e com isso o saneamento básico ficou comprometido, dando origem a formação de criadouros deste vetor (BRADBURY, 2011). Contudo, a situação entomológica enfrentada no Brasil e no mundo, em relação as arboviroses causadas pelo *Ae. aegypti*, é um grave problema de saúde pública.

3.5.3 Doenças causadas pelo *Ae. aegypti*

Dentre as arboviroses existentes, a Dengue atualmente é considerada a mais importante no mundo. Em média, 2,5 bilhões de pessoas estão propensas a serem infectadas, especialmente em países tropicais e subtropicais, tendo em vista que, são regiões que as condições climáticas, sociais e econômicas possibilitam a propagação do vetor (BHATT et al.,2013).

Nas décadas de 50 e 60, em 18 países das Américas, inclusive o Brasil, o *Ae. aegypti* foi erradicado, devido a campanha em prol da febre amarela, que também é causada por este vetor. Ainda assim, os países que não conseguiram eliminar esses mosquitos, viabilizaram uma reinfestação dele, tornando então, apenas o Canadá e Chile isentos da sua presença (VALLE, PIMENTA, CUNHA et al.2015). Além da Dengue, outras arboviroses são causadas pelo *Ae. aegypti*, como a chikungunya (CHIKV), Zika vírus (ZIKV) e a febre amarela.

3.5.3.1 Dengue

A dengue é uma doença causada por quatro tipos de vírus ou sorotipos, que são familiar, porém diferentes, sendo estes vírus da dengue 1-4 (DENV-1-4). Esses sorotipos são transmitidos pela picada da fêmea infectada da espécie de *Ae. aegypti*. É considerada uma doença febril aguda, com etiologia viral e apresenta evolução benigna (forma clássica) e grave (forma hemorrágica) (BHATT et al., 2013).

A situação epidemiológica no Brasil em 2022, entre os meses de janeiro e junho, ocorreu um aumento de 197,1% casos de dengue. Até esse período, obteve-se 1.143.041 casos prováveis de dengue, com taxa de incidência de 535,8 casos por 100 mil habitantes (OMS, 2022). Comparando com o ano de 2019, houve redução de 9,2% de casos registrados para esse mesmo período (Figura 14). No ano de 2022, as regiões brasileiras mais afetadas foram o Centro-Oeste com taxa de incidência de dengue, com 1.585,2 casos/100 mil habitantes, seguida das Regiões: Sul (968,4 casos/100 mil hab.), Sudeste (432,7 casos/100 mil hab.), Nordeste (268,5 casos/100 mil hab.) e Norte (217,7 casos/100 mil hab.) (OMS, 2022).

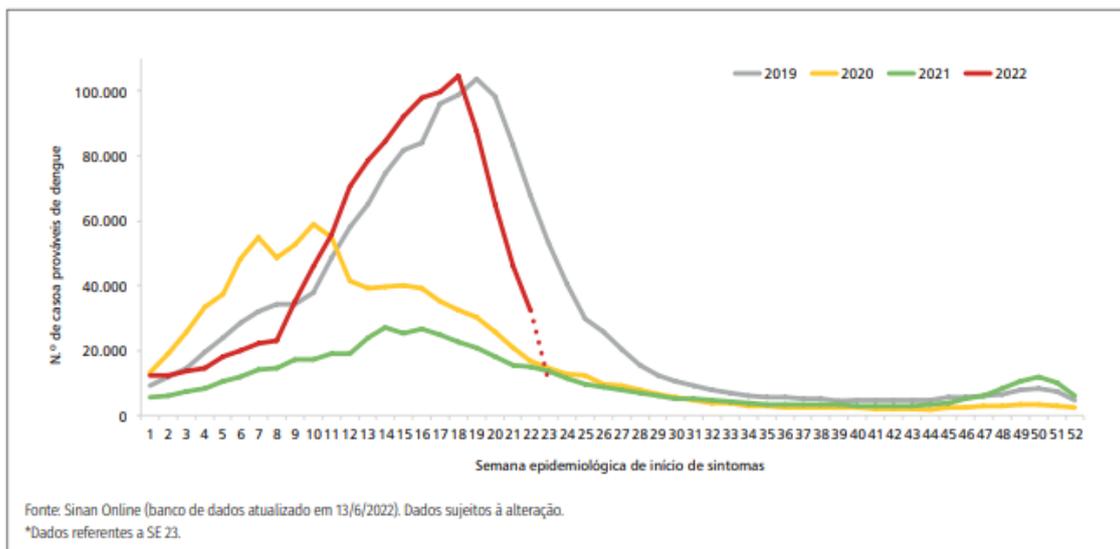


Figura 14- Curva epidêmica de casos prováveis de dengue no Brasil, entre os anos de 2019-2022 (OMS, 2022).

Os dados mostrados na curva epidêmica revelam que os anos de 2020 e 2021, houve poucos casos de dengue no Brasil. Esses dados são questionáveis, devido ao início da pandemia da COVID-19, que sem dúvidas a atenção em saúde foram voltadas ao novo coronavírus, e o compartilhamento de dados sobre a dengue foram limitados. Por esta razão, as atividades de monitoramento e controle ao vetor, com as visitas de agentes comunitários nas residências foram suspensas, por isso os níveis de infestação vetorial devem ter crescido absurdamente (SBTM, 2022).

Ademais, é estabelecido que a COVID-19 não é apenas uma infecção respiratória, mas também uma doença sistêmica. Sabendo disso, durante o estado precoce, tanto da COVID-19 quanto da dengue, os sintomas clínicos são semelhantes, como febre, mialgia, dor nas articulações, dor de cabeça, letargia, dor abdominal, diarreia, vômito e, às vezes, dor de garganta. Por isso, inicialmente, dificultou a diferenciação clínica entre essas duas doenças (OMS, 2020). Atualmente, com estudos sobre causas e sintomas é possível diferenciá-las (MALAVIGE et al., 2022).

3.5.3.2 Chikungunya (CHIKV)

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um alfavírus transmitido principalmente pela picada das fêmeas dos mosquitos vetores do gênero *Aedes*, o *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, encontrados facilmente em áreas urbanas. Além disso, há também a transmissão vertical do CHIKV, que é de mãe para filho, no qual também foi relatada em diferentes surtos (TOURET et al., 2008; FERREIRA et al., 2021).

O termo chikungunya foi descrito pelo povo Makonde, local da Tanzânia, de onde foi isolado esse vírus do soro do paciente, pela primeira vez em 1952. Esse termo pode ser traduzido por “doença que dobra as articulações”, tendo em vista que surgiu após um surto e era caracterizada como uma doença artrítica debilitante (ROBINSON, 1955; ROSS, 1956). Durante 50 anos, aproximadamente, após seu isolamento inicial, o CHIKV causou surtos ocasionais nos continentes africano e asiático.

Infecções causadas pelo CHIKV possuem sintomas clínicos como febre alta, e associada a dores articulares. Outros sintomas foram notados, porém em menor extensão, como poli artralgia incapacitante e artrite, erupção cutânea, mialgia e dor de cabeça (CUNHA; TRINTA, 2017). As manifestações clínicas da Chikungunya são bem semelhantes às da dengue, porém o que as difere, e tem como principal sintoma são as fortes dores nas articulações, que geralmente são acompanhadas por edema. Depois da fase inicial, a doença pode evoluir para duas etapas subsequentes, que são elas, a fase subaguda e fase crônica (BRASIL, 2017). Embora a infecção seja geralmente uma doença autolimitante, alguns pacientes desenvolvem dor articular persistente que pode durar meses ou anos após a fase aguda da doença.

Nas américas, pequenos surtos foram relatados em dezembro de 2013, detectado pela primeira vez na Ilha de Saint Martin, no mar do Caribe. Logo depois, foi sendo disseminado contabilizando 50 casos confirmados na mesma região. Aos poucos, o CHIKV se transformou em um grande problema de saúde pública, e até o final de dezembro de 2015, quase um milhão de casos foram notificados nas Américas, resultando em 71 mortes, e a transmissão autóctone foi confirmada em mais de 50 territórios (LEPARC-GOFFART et al., 2014).

No Brasil, até a SE 23 de 2022 houve 115.963 casos prováveis de Chikungunya, com taxa de incidência de 54,4 casos por 100 mil habitantes. Em comparação ao ano de 2021, ocorreu um aumento de 94,8% casos (Figura 15). A regiões afetadas, o Nordeste ganhou destaque com maior incidência, apresentando 166,6 casos por 100 mil habitantes. Seguida das Regiões Centro-Oeste (28,3 casos/100 mil hab.) e Norte (24,1 casos/100 mil hab.) (OMS, 2022).

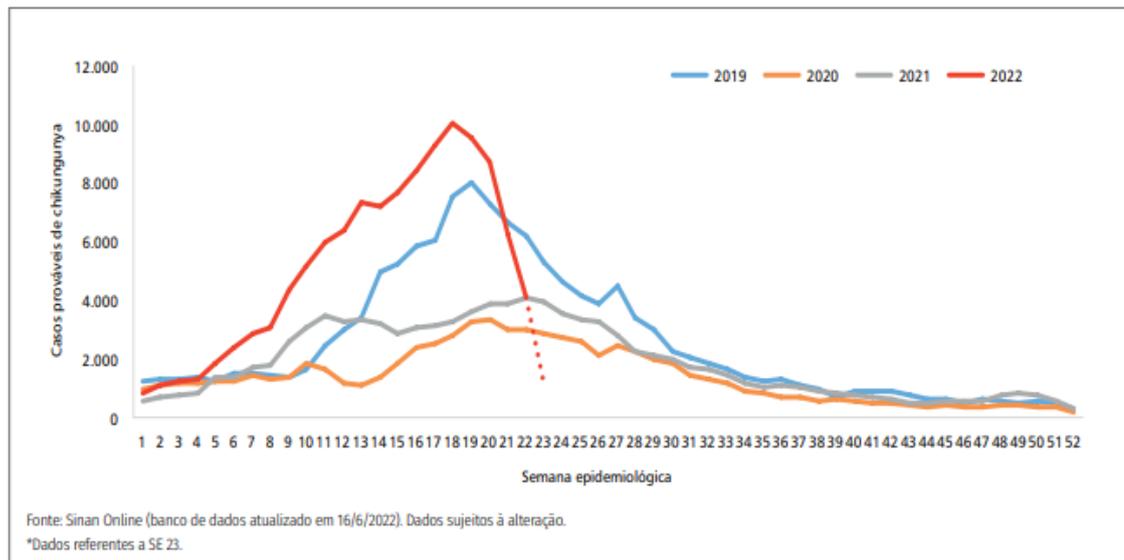


Figura 15- Curva epidemiológica da CHIKV nos anos de 2019-2022 (OMS, 2022).

3.5.3.3 Zika Vírus

O Zika vírus (ZIKV) também é transmitido pelo *Ae. aegypti*, e foi identificado no Brasil em 2015. Apesar de apresentar algumas preocupações, a doença por si só não era motivo suficiente para se declarar emergência nacional, principalmente por que a dengue, no mesmo período teve 1.688.688 casos prováveis, com 986 óbitos confirmados e não foi declarado estado de emergência. O vírus Zika causa doença febril, acompanhada por outros sintomas gerais, tais como cefaleia, exantema, mal-estar, edema e dores articulares, por vezes intensas, sinais clínicos semelhantes aos de outras arboviroses (VIEGAS, VENTURA, NUNES, 2022).

Em 2015 em alguns municípios do Nordeste brasileiro notificaram o aumento incomum de bebês que haviam nascido com microcefalia, pelo qual chamou a

atenção das autoridades de saúde, embora que, nesse momento não havia correlação entre as infecções causadas pelo Zika vírus e microcefalia (VIEGAS, VENTURA, NUNES, 2022). A situação enfrentada pelo Brasil, do surto do Zika vírus, impulsionou os pesquisadores a investigarem se havia alguma correlação. Desse modo, atualmente, sabe-se que a doença causada pelo vírus Zika possui um risco superior em comparação as outras arboviroses, em relação ao desenvolvimento de complicações neurológicas, como encefalites, Síndrome de Guillain-Barré e outras doenças neurológicas. Além do mais, possui como principal complicação a microcefalia (BRASIL, 2021).

Segundo o boletim epidemiológico, ocorreram 5.699 casos prováveis até a SE 21 de 2022, o que corresponde a uma taxa de incidência de 2,7 casos por 100 mil habitantes. Em comparação ao ano de 2021, nota-se um aumento expressivo de 118,9% no número de casos e não houve óbitos notificados (Figura 16) (OMS, 2022).

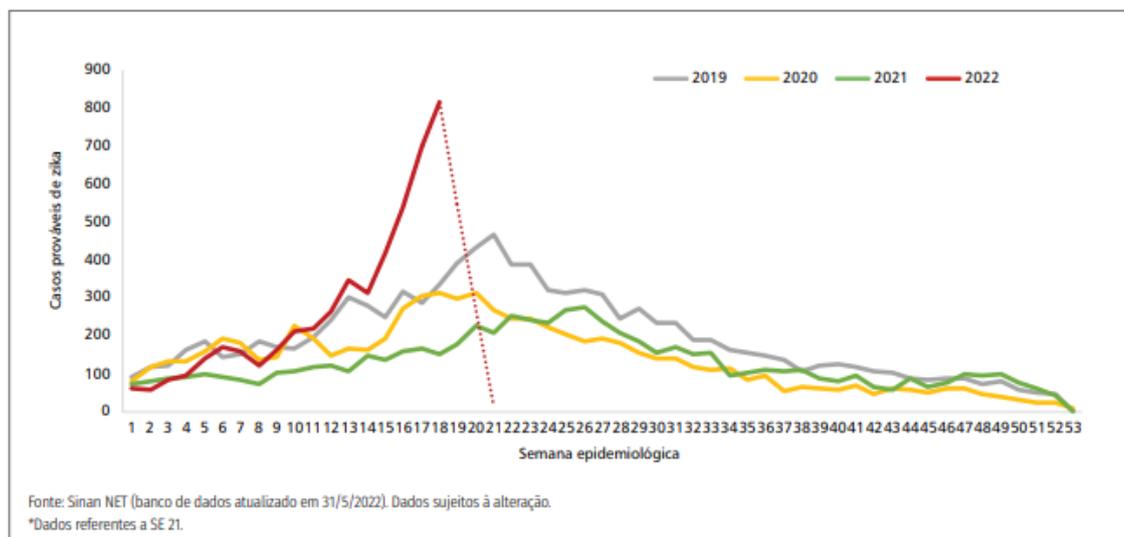


Figura 16- Curva epidemiológica da incidência do zika vírus nos anos de 2019-2022 (OMS, 2022).

3.5.3.4 Febre amarela (FA)

A febre amarela é uma doença infecciosa aguda, febril, não contagiosa, de curta duração, no máximo 12 dias e a gravidade é variável. Suas manifestações clínicas iniciais incluem febre de início súbito, calafrios, dor de cabeça, dores nas

costas, dores no corpo em geral, náuseas e vômitos, fadiga e fraqueza. Em relação, ao seu estado grave, o indivíduo pode apresentar febre alta, icterícia, hemorragia e, eventualmente, choque e insuficiência hepática e renal (ES, 2021).

A doença é causada por um arbovírus do gênero *Flavivirus*, mantém-se endêmica em diversas regiões tropicais das Américas e da África. A FA, transmitida ao homem pela picada de mosquito fêmea infectado, possui caráter sazonal, quando fatores ambientais propiciam o aumento dos vetores. Atualmente, são reconhecidos dois ciclos básicos de circulação do vírus da FA. O urbano, simples, do tipo homem-mosquito-homem, em que o *Aedes aegypti* é o principal vetor. E outro silvestre, complexo, envolvendo diferentes espécies de mosquitos. Atualmente, no Brasil a febre amarela urbana foi erradicada desde 1942 (ES, 2021).

Por fim, se faz necessário investimentos principalmente para o controle do vetor, especialmente em locais que o *Ae. aegypti*, como no Brasil, está associada a arboviroses que afetam diretamente o humano. Portanto, as autoridades em saúde e pesquisadores, pelo qual carregam um enorme desafio que além de identificar precocemente novas áreas com risco de transmissão, buscar novos compostos que possam controlar e minimizar a incidência do vetor e o impacto dessas doenças na população, respectivamente.

3.6 CONTROLE DE VETORES

Como citado anteriormente, os órgãos competentes e profissionais envolvidos, principalmente com as arboviroses em foco, constituem um importante desafio para controle dos agentes etiológicos, em especial o *Ae. aegypti*. Ainda que haja recursos, as soluções parecem temporárias e se tornam ineficazes, pois existem problemas como infraestrutura das cidades, e a própria educação ambiental da população, que somatizam para que os métodos tradicionais para controle e combate ao vetor, não se tornem efetivos.

Para auxiliar nesta ação necessária, há a estratégia preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), onde os agentes comunitários são treinados para trabalhar diretamente com a população, durante as visitas, com o objetivo de eliminar criadouros do principal vetor das arboviroses. Basicamente, existem três tipos de mecanismos de controle, que são eles: mecânico, biológico e químico. O controle mecânico, consiste na proteção, eliminando qualquer tipo de contato dos

mosquitos com o homem, seja eliminando criadouros drenando a água e/ou protegendo as portas e janelas, com telas. No controle biológico, faz-se o uso de predadores ou patógenos com potencial para reduzir a população vetorial. E por fim, o mais utilizado, que é o controle químico. Por meio desse mecanismo, é possível aplicar substâncias ativas frente *Ae. aegypti* em todas as suas formas de vida, desde que seja um uso consciente, visando a segurança ambiental e da população (MS, 2009).

Tradicionalmente, quatro classes de inseticidas são empregues na saúde pública, são os organoclorados (OC), piretróides (PI), carbamatos (CA) e organofosforados (OP). O primeiro inseticida de efeito prolongado, foi o dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) (Figura 17), um organoclorado, desenvolvido durante a Segunda Guerra Mundial (LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 2003).

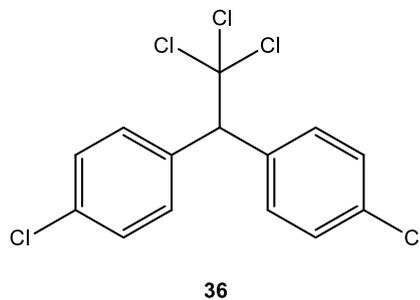


Figura 17- Estrutura química do inseticida organoclorado, dicloro-difenil-tricloroetano (DDT).

O uso de organoclorados, mesmo que tenha sido amplamente utilizado pelos programas de controle da malária, tiveram seu uso interrompido devido a persistência no ambiente e acúmulo em tecidos de animais e humanos. Embora tenha sido proibido como uso agrícola, ainda é recomendado pela OMS para o controle de vetores (CHEN, ROGAN, 2003). Desde a década de 90, os organofosforados, são os inseticidas mais utilizados, tanto na agricultura quanto em ambientes domésticos. Esses compostos ainda são utilizados na saúde pública, no controle do vetor da malária e de arboviroses, como a dengue. Em comparação com os organoclorados, possuem vantagens de interesse, principalmente na saúde pública, pois são biodegradáveis e não se acumulam em tecidos. Sua principal

desvantagem é a instabilidade química, que se torna necessária sua aplicação periodicamente (PALCHICK, 1996).

O temefós **37** (Figura 18) é um organofosforado de uso na agricultura, assim como no controle de mosquitos. É o larvicida recomendado pela OMS para uso em água potável. Os organofosforados, no geral, agem inibindo a acetilcolinesterase (AChE), que é uma importante enzima do sistema nervoso central. Muito se fala de resistência gerada, no uso ininterrupto de inseticidas, que por conseguinte tem ocasionado problemas no controle dos vetores. Praticamente, o que acontece é a fosforilação dessa enzima pelo inseticida, mantendo-se inativa. Essa inibição tem como resultado o acúmulo de acetilcolina nas sinapses nervosas, que conseqüentemente, interrompe a propagação do impulso elétrico. Ainda assim, o sistema nervoso central será estimulado e acarreta no processo de paralisia, resultando na morte do inseto (BRAGA, VALLE, 2007).

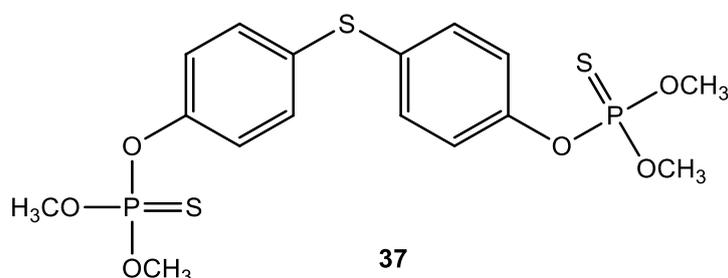


Figura 18- Estrutura química do organofosforado temefós.

Outra classe bastante difundida, é a dos carbamatos, que tem como representante o carbaril **38** (Figura 19). Os carbamatos tem ação letal contra os insetos, como os organofosforados, porém apresenta um curto poder residual. Seu mecanismo de ação, também é pela inibição da AChE, ocorrendo uma carbamilação. Diferente dos organofosforados, a inibição da AChE é reversível e apresenta seletividade contra essa enzima de certas espécies (BRAGA, VALLE, 2007).

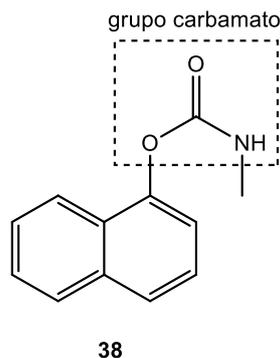
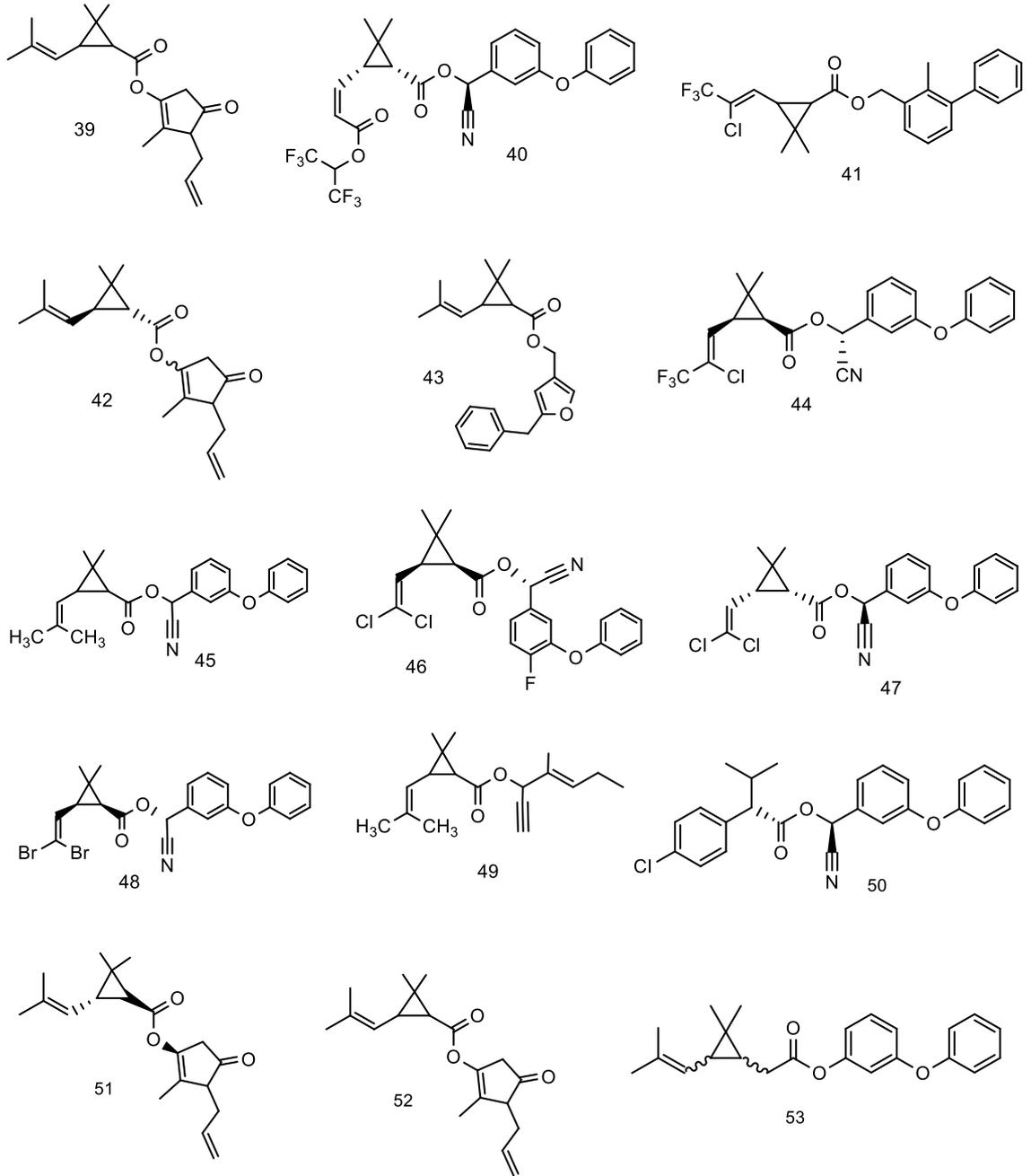


Figura 19- Estrutura química do carbaril, um inseticida da classe dos carbamatos.

E por fim, a classe dos piretroides que são derivados sintéticos das piretrinas, que são ésteres extraídos das flores da espécie *Chrysanthemum cinerariaefolium* (SANTOS, AREAS, REYES, 2007). Por conta de sua ação contra diversos insetos e uma toxicidade relativamente baixa em mamíferos, as piretrinas foram muito utilizadas como inseticidas, por muito tempo. Por outro lado, eram sensíveis a luz solar e ao ar, diminuindo sua eficácia. Por esta razão, piretroides sintéticos foram desenvolvidos no intuito de minimizar essa instabilidade das piretrinas naturais, envolvendo modificações moleculares e atividade biológica desses compostos, adicionando grupos halogenados e cianos (RATELLE; BOUCHARD, 2015).

Atualmente, no Brasil, são permitidos o uso de vários piretróides, como Aletrina **39**, Acrinatrina **40**, Bifentrina **41**, Bioaletrina **42**, Bioresmetrina **43**, Lambda-Cialotrina **44**, Cifenotrina **45**, Ciflutrina **46**, Cipermetrina **47**, Deltametrina **48**, Empentrina **49**, Esfenvalerato **50**, Esbiol **51**, Esbiotrim **52**, Fenotrina **53**, Fenpropatrina **54**, Fenvalerato **55**, Fluvalinato **56**, Imiprotrim **57**, Permetrina **58**, Praletrina **59**, Resmetrina **60**, Sumitrina **61**, Tetrametrina **62**, Transflutrina **63** (ANVISA, 2016), pelo qual estão representados na figura 20. Sobre o mecanismo de ação, os piretroides apresentam mecanismo de ação semelhante ao DDT, mantendo os canais de Na^+ abertos, das membranas dos neurônios. Em resumo, essa classe de inseticida afeta diretamente no sistema nervoso periférico do inseto, estimulando as células nervosas a produzir descargas repetitivas, e por conseguinte, causam paralisia (BRAGA, VALLE, 2007).



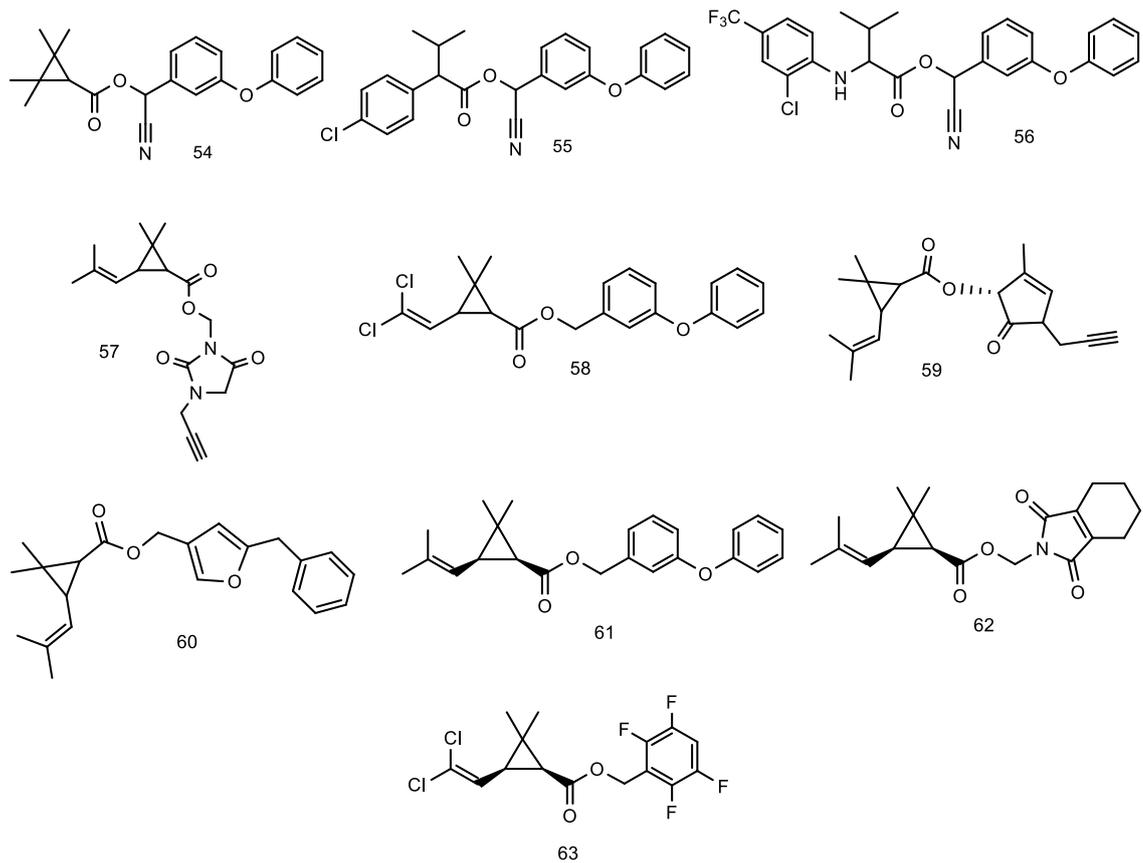


Figura 20- Estrutura química dos inseticidas utilizados no Brasil, aprovados pela ANVISA.

É sabido que há dificuldades no combate e controle ao *Ae. Aegypti*, o que causa grande preocupação, por isso se tornou um problema de saúde pública, no Brasil e no mundo. A começar de sua proliferação à redução de suas infestações, geradas por diversos fatores, especialmente o uso indiscriminado de inseticidas, tornou nesse vetor, uma crescente resistência. Essas resistências conferiram aos mosquitos adaptações, que estão relacionadas, principalmente à variabilidade genética e ao metabolismo, pelo qual são difundidas ao longo das gerações (VARGAS et al., 2022). Entretanto, o uso de inseticidas é uma das estratégias mais eficaz contra o *Ae. Aegypti*.

O fato de os insetos terem uma grande prole, proporciona o aparecimento de diferentes características genéticas nessas populações, por conseguinte, os organismos mais aptos sobrevivem, por meio de uma seleção natural. A saber, os organismos que têm uma resistência maior aos inseticidas apresentam um *pool gênico* dentro da população. Por esta razão, eles vão deixando descendentes e os

mais fracos morrem e os mais fortes, como fator de regulação, sobrevivem, carregando consigo uma carga gênica que é transferida de geração em geração, conferindo resistência e sofrendo variabilidade dentro da população de insetos (MOREIRA et al., 2009).

Diante do exposto, torna-se necessário avanço nos estudos para obtenção de novos inseticidas, principalmente de origem natural, que sejam eficazes e seguros que possam combater e controlar os insetos, sobretudo sem causar resistência aos mesmos.

3.7A BUSCA POR NOVOS INSETICIDAS DE ORIGEM NATURAL

O uso de produtos naturais para investigação de sua atividade larvicida, deu início na década de 1980. A maior parte dos estudos realizados, foram utilizando óleos essenciais e extratos brutos, onde, na maioria dos casos não se conhecia a qual metabólito esta atividade, estava sendo atribuída (SCKENKEL et al., 2000).

Dentre as famílias botânicas existentes, as que se destacam por apresentar potencial larvicida são as da Fabaceae, Rutaceae, Piperaceae e Boraginaceae. E dentre as classes de metabólitos secundários comumente encontradas e com alto potencial larvicida são as quinonas, amidas, limonoides, estilbenos, cumarinas e sesquiterpenos. As amidas, lactonas, flavonoides e rotenoides destacam-se por apresentar valores de CL_{50} baixos, e por isso, considera-se produtos com maior potencial como agente para controle do *Ae. aegypti* (GARCEZ et al., 2013).

Como mencionado, a classe das amidas se apresenta como promissora para atividade larvicida. Vale salientar que, das amidas identificadas com esse potencial (Figura 21), sete foram isoladas do gênero *Piper nigrum*. Em relação a aspectos estruturais, essas amidas apresentam ligações duplas conjugadas e a maioria com configuração *E*, apenas os compostos 69 e 70 que são *Z* (GHOSH, CHOWDHURY, CHANDRA, 2012). Diante do exposto, é possível considerar essa espécie como fonte de compostos a serem utilizados no controle do *Ae. aegypti*.

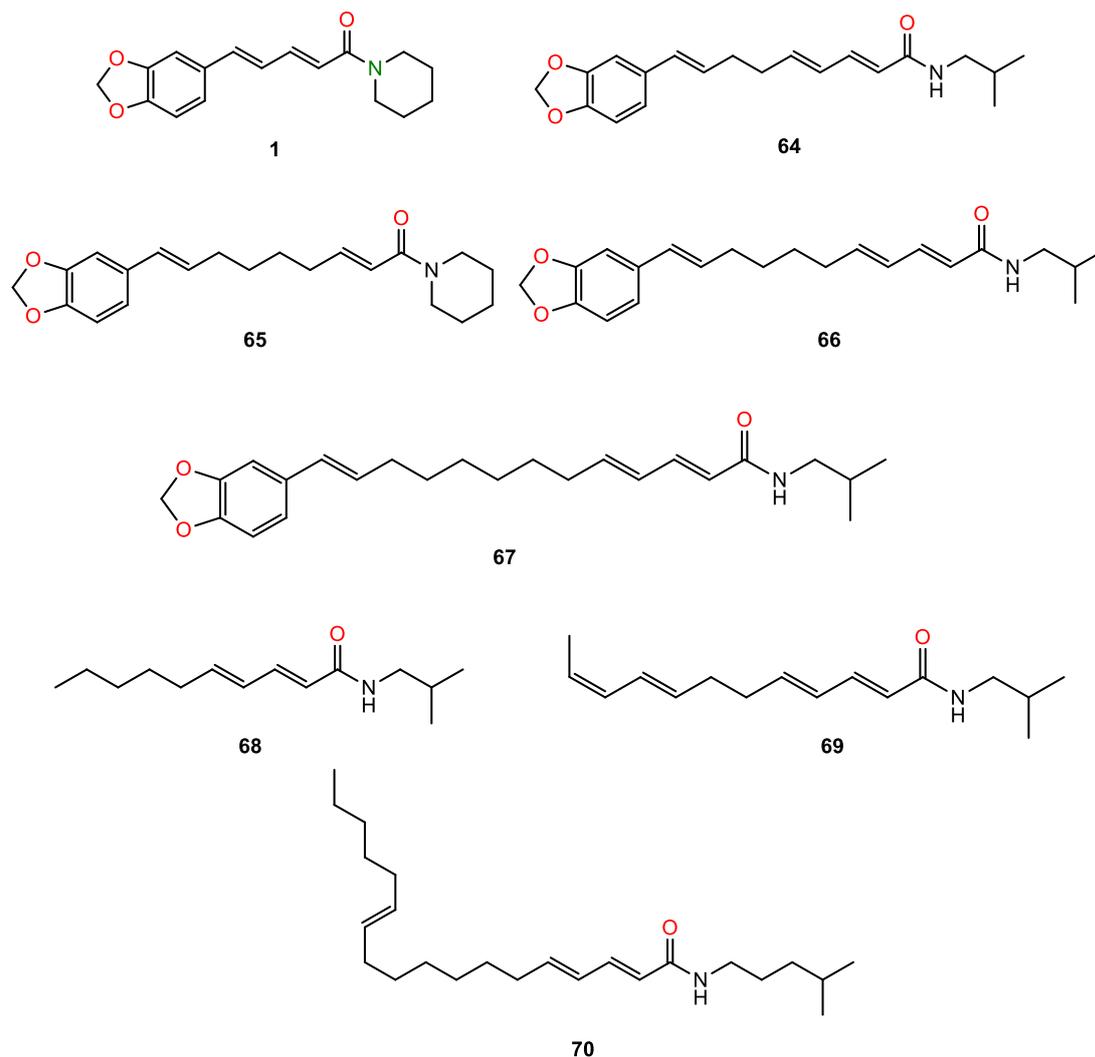


Figura 21- Estrutura química das amidas isoladas com atividade larvicida.

Outra classe de compostos biologicamente ativos e que se destacam por apresentar atividade larvicida, são os fenilpropanóides, comumente encontrados em óleos essenciais das plantas. Essa classe, apresenta em sua cadeia lateral com três átomos de carbono derivados de ácidos aminados aromáticos (Figura 22). Dentre eles, encontra-se o safrol **71**, óleo volátil isolado do Sassafrás (*Sassafras albidum*), o isosafrol **72**, componente da *Jasminum officinale*. O anetol **73** principal componente do óleo volátil do anis-estrelado (*Illicium verum*); o eugenol **74**, componente majoritário do cravo (*Syzygium aromaticum*); o cinamaldeído **75**, um aldeído aromático presente no óleo da casca da canela (*Cinnamomum zeylanicum*); a miristicina encontrada no óleo do noz-moscada (*Myristica fragrans*) **76** e os isômeros, elimicina **77** e *trans*-isoelimicina **78** (DEWICK, 2009).

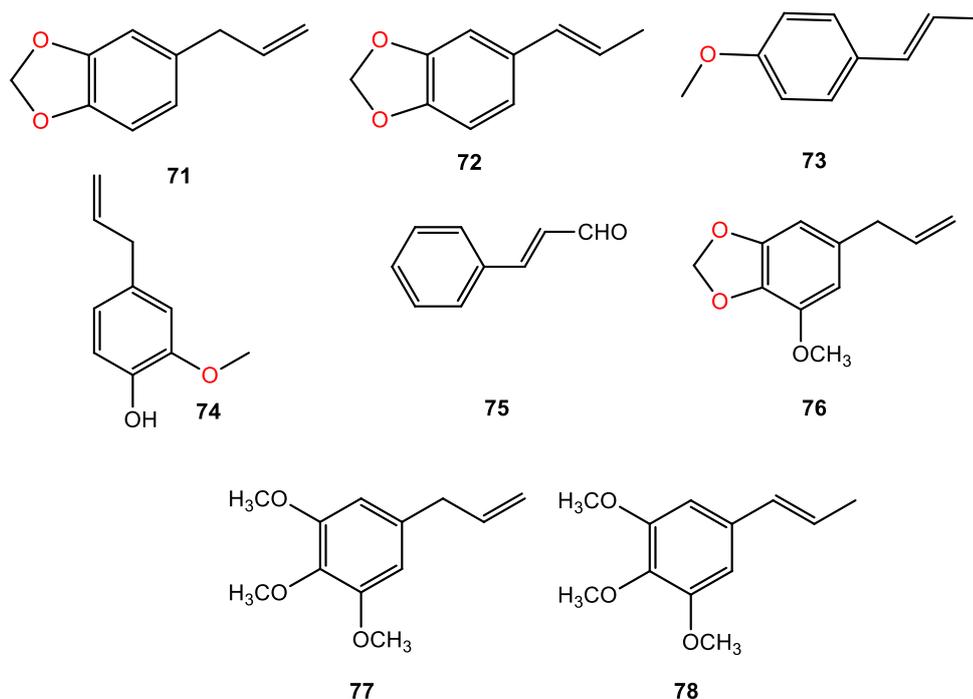


Figura 22- Estrutura química de fenilpropanoides isolados de óleos essenciais, com atividade larvicida.

Os terpenos em geral, são bastante relevantes do ponto de vista biológico. Estudos constataam que esta classe de substâncias naturais, tornam-se uma fonte de moléculas promissoras, devido ao amplo espectro de atividade biológica. Em termos estruturais, são classificados quanto ao número de carbonos, sendo então o resultado do número de moléculas isoprênicas presente em sua estrutura química. Os terpenos mais encontrados são, os monoterpenos (C₁₀) e sesquiterpenos (C₁₅), pelo qual são bastante estudados devido as diversas atividades biológicas expressas por essa classe de compostos (CASTRO et al., 2015). Dentre essas bioatividades, destacam-se anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana, antifúngica, anticarcinogênica, inseticida entre outras.

Dentre os compostos encontrados na classe dos terpenos, o timol e o carvacrol são bastante estudados devido a sua aplicabilidade biológica. O timol (5-metil-2-isopropilfenol) **79** é um monoterpenoide, sólido branco, isolado de óleos essenciais de plantas da família Lamiaceae, incluindo os gêneros *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum* e *Monarda* (MARCHESE et al., 2016). O carvacrol **80** é um monoterpenoide líquido oleoso, presente no OE de diversas plantas aromáticas,

dentre as mais conhecidas estão: o orégano (*Origanum vulgare*), o tomilho (*Thymus vulgaris*), a pimenta (*Lepidium flavum*) dentre outras (Figura 23) (FACHINI-QUEIROZ et al., 2012; SHARIFI-RAD et al., 2018).

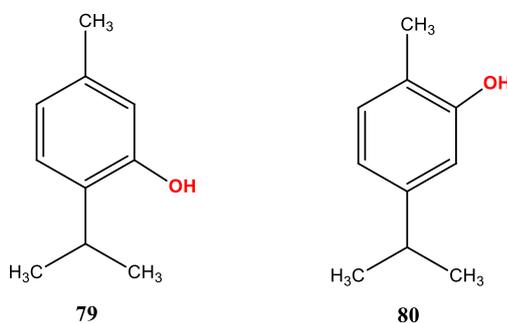


Figura 23- Estrutura química do timol 79 e carvacrol 80.

Em relação a atividade inseticida desses compostos, o timol se apresenta como mais ativo frente a alguns insetos. Novelino e colaboradores evidenciaram a eficiência do timol em repelência e mortalidade, com 35% e 65% respectivamente frente a larvas de *Boophilus microplus*, se destacando dos demais com atividade dual para esse inseto (NOVELINO, DAEMON, SOARES, 2007). Por apresentar potencial de repelência, agregando-se tecnologias para a viabilidade de um produto repelente promissor, foi preparado nanocápsulas à base de timol (NCT) para avaliar a atividade repelente contra o *Ae. aegypti*. Os resultados preliminares do potencial repelente das NCT ao mosquito, em humanos, promoveram até 67% de repelência após a administração tópica (MORAES, 2015). Nesta mesma perspectiva, Matos também desenvolveu nanocápsulas contendo timol com atividade repelente contra ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*. Os resultados dessas nanocápsulas foram expressivos, tendo em vista que esse nanossistema liberou $68,59 \pm 2,34\%$ de timol em 24 horas e obtiveram atividade repelente de 60-70% durante 2 horas (MATOS, 2022).

É imprescindível saber que, a compreensão da relação estrutura-atividade (REA) dos compostos se torna alvo de estudos para o planejamento, síntese e avaliação biológica. Desse modo, sabe-se que a REA de produtos naturais é a base para planejar novos agentes com potencial, para diversas propriedades biológicas.

Em relação a atividade inseticida, vários estudos de REA foram relatados. Em 2012, foi realizado um estudo contra as larvas de *Ae. aegypti* do quarto estágio de alguns monoterpenos como o eugenol **74**, geraniol **82**, linalol **84**, *L*-mentol **86** e terpeniol **88**, seguido do estudo de REA de cinco derivados acetilados (Figura 24). Os resultados desse estudo, demonstraram que os compostos acetilados foram mais ativos do que os monoterpenos, que continham o grupo hidroxila não substituído. Dos cinco compostos acetilados, o acetato de eugenila foi o mais ativo contra as larvas de *Ae. aegypti*, pelo qual em sua estrutura há a presença de um anel aromático e uma cadeia lateral com uma dupla ligação alílica, podendo ser esses grupos os contribuintes para aumento da atividade biológica (PANDEY et al., 2013).

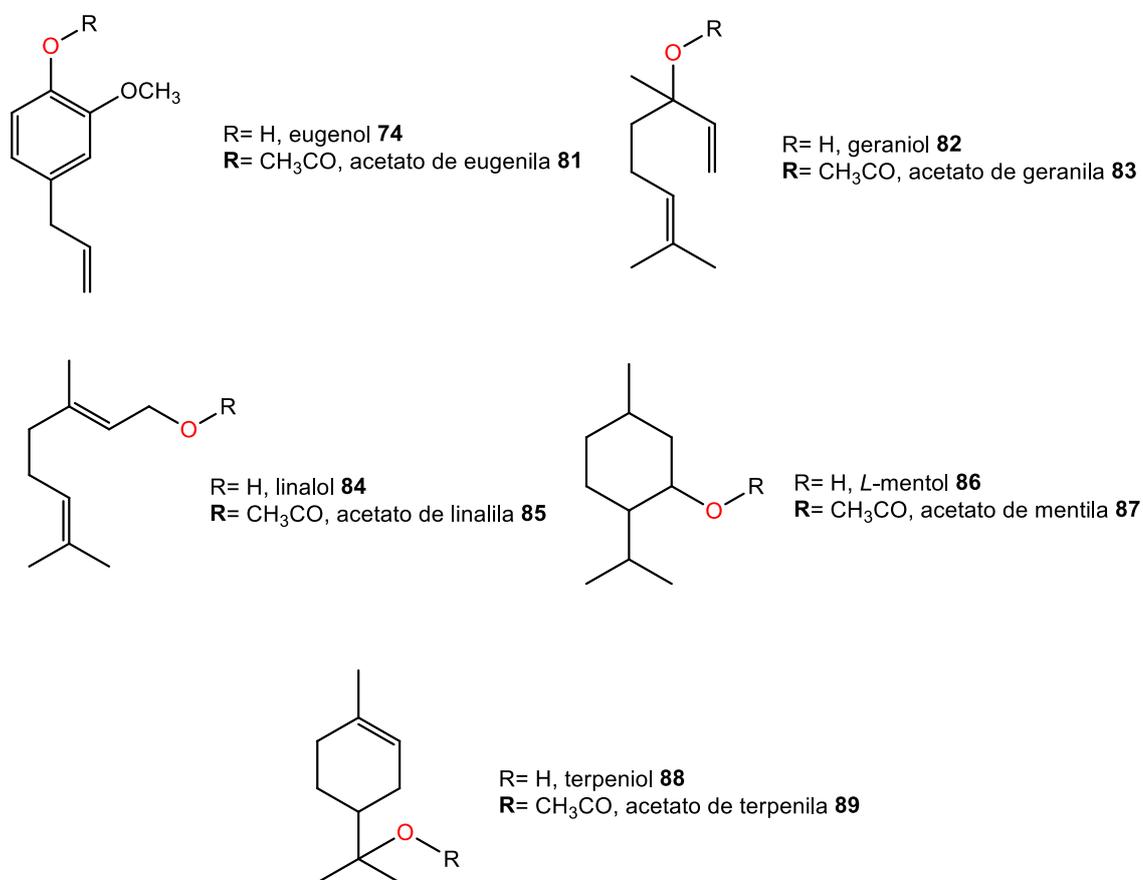


Figura 24- Estrutura química dos monoterpenos e dos seus derivados acetilados.

O indol e sulfonamidas, também são grupos importantes para a atividade inseticida. No caso do indol, é uma molécula de sinalização que é facilmente reconhecida pelos insetos, podendo influenciar em seu comportamento como impedindo a oviposição, bem como em repelência ao *Ae. aegypti* (LEE; WOOD; LEE, 2015; SOUSA et al., 2019). O composto **90** (1H-indol-5-sulfonamida, 2,3-dihidro-N-(3-metoxifenil) -2-metil-1-(1-oxopropil) (Figura 25) é um bloqueador de canal retificador de potássio (Kir) em *Ae. aegypti*. Nesse estudo, identificou que esse composto apresenta CL_{50} de 0,32 μ M, e que os grupos destacados (indol e sulfonamidas) são essenciais para a atividade de bloqueadores de AeKir1 nos mosquitos. A saber, estudos *in vitro* comprovaram que aplicações de inibidores nesses canais, bloqueiam a saída de urina de fêmeas adultas, levando ao inchaço abdominal e levando a morte, no período de 24h (RAPHEMOT et al., 2014).

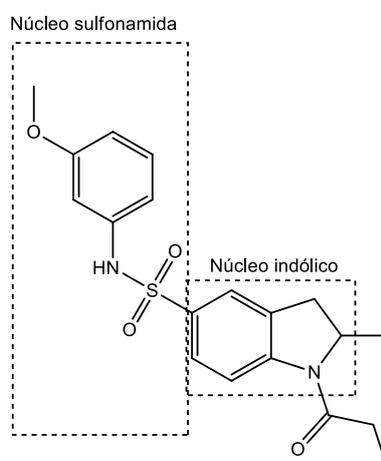


Figura 25- Estrutura química do derivado indólico.

Os derivados de metilendioxifenil (1,3-benzodioxola) têm sido identificados como porções farmacofóricas para a atividade inseticida. Por esta razão, os compostos que possuem em sua estrutura o núcleo 1,3-benzodioxola são muito reativos em sistema biológicos, interagindo com uma variedade de sistemas enzimáticos, podendo agir como inibidor ou indutor. Alguns compostos com atividade inseticida, de origem natural, possuem em sua estrutura esse núcleo, como o safrol **71**, o isosafrol **72**, a miristicina **76** (Figura 22), bem como a piperina **1**, que além de possuir a porção 1,3-benzodioxol, é composto pelo núcleo amídico que também é primordial para atividade inseticida.

É ínfima a diversidade de compostos que são isolados de plantas com potencial inseticida. Sabendo que, a produção de agentes com atividade inseticida a partir de produtos originados de plantas, apresentam diversas vantagens, além de serem biologicamente ativos, são biodegradáveis e não são bioacumuladores. Assim como também, podem retardar o processo de resistência. Por esta razão, os estudos com esse fim, tendo em vista a problemática existente, passam a ser indispensáveis no planejamento de metodologias sintéticas que busquem o desenvolvimento de compostos seguros e eficazes, para o combate e o controle ao vetor das arboviroses que acometem a população.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A seguir será descrito os materiais utilizados nos ensaios químicos e biológicos dos derivados 1,3-benzodioxolas

4.1.1 Reagentes e Solventes

Todos os reagentes foram obtidos comercialmente, e os solventes previamente destilados para a utilização.

Acetato de etila	VETEC
Acetona	CINÉTICA
Clorofórmio	MERCK
Diclorometano	CINÉTICA
Etanol	CINÉTICA
Éter etílico	VETEC
Hexano	CINÉTICA
Metanol	CINÉTICA
Sulfato de sódio anidro	VETEC
Trietilamina	SIGMA-ALDRICH
3,4-(metilenodioxi) ácido cinâmico (99% <i>trans</i>)	SIGMA-ALDRICH
Ácido piperonílico	SIGMA-ALDRICH
Paracetamol	PHARMAPELE
Salicilato de metila	UFPB
Timol	UFPB
Carvacrol	UFPB
Eugenol	UFPB

4.1.2 Equipamentos (Ensaio químicos)

Para a obtenção dos derivados 1,3-benzodioxolas, utilizamos: balança analítica modelo E. METTER, capela de exaustão, placa de aquecimento com

agitador magnético – FANEM, centrífuga PCL séries, rotaevaporador modelo 802 – FISATON, estufa – FANEM e aparelho Góes.

4.1.3 Pontos de fusão

Os pontos de fusão foram medidos em um fusiômetro Fisatom ® modelo 431 da série 1511035.

4.1.4 Infravermelho (IV)

O espectrômetro de infravermelho (IV) utilizado foi o aparelho PerkinElmer ® (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância atenuada.

4.1.5 Espectrometria de Massas (MS)

Os espectros de massa de ESI de alta resolução foram medidos num espectrômetro de massa Bruker microTOF.

4.1.6 Espectrometria de ressonância magnética nuclear (RMN)

Os espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C foram gerados no espectrômetro Bruker Avance III de 600 MHz e outros no VNMRS400 operado a 400 MHz. As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e Dimetilsulfóxido (DMSO). Os espectros foram obtidos com os deslocamentos químicos expressos em ppm dispendo do tetrametilsilano (TMS) como padrão interno no caso dos RMN ^1H . As constantes de acoplamento (J) foram medidas em hertz e os picos são apresentados como s (simpleto), d (dupleto), t (tripleto), q (quarteto), br s (simpleto largo), dd (duplo dupleto), m (multipleto).

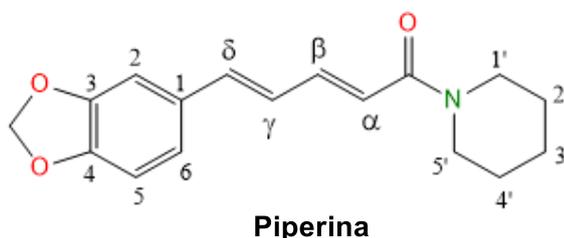
4.2 MÉTODOS

A seguir será descrito o novo método de extração e purificação simultânea para obtenção da piperina, a metodologia sintética dos compostos obtidos, assim como os ensaios biológicos.

4.2.1 Método de extração

4.2.1.1 Isolamento da piperina

Para isolarmos a piperina, os frutos secos da pimenta do reino foram submetidos ao método de extração e purificação simultânea utilizando o aparelho Góes (Figura 7). Este método consiste na passagem do sistema de solvente através do pó da pimenta do reino, obtidos comercialmente, e à medida que o extrato foi surgindo, houve a separação do produto através da coluna de sílica, retida na parte inferior do aparelho Góes. Durante 6 horas, utilizando 320 g da pimenta do reino triturada, 80 g de gel de sílica e 630 mL de eluente, obtivemos 8,5 g do composto puro, com rendimento de 2,65%. Após obtenção deste composto puro, realizamos a hidrólise básica para obtenção do ácido pipérico (LASSINT-1).



Característica: Cristais amarelo claro;

• **Rendimento:** 2,65 %

➤ **Dados físico-químicos e espectrofotométricos**

• **PM:** 285,34 g/mol

• **PF:** 131-133 °C (Lit. 130,48°C)

• **Rf:** 0,38 (Hexano/ acetato de etila 7:3)

• **IV** (cm⁻¹): 2941-2850 (CH₂), 3010 (CH ar), 1633 (C=O), 1611-1491 (C=C ar), 1250 (CH₂ metilenodioxo)

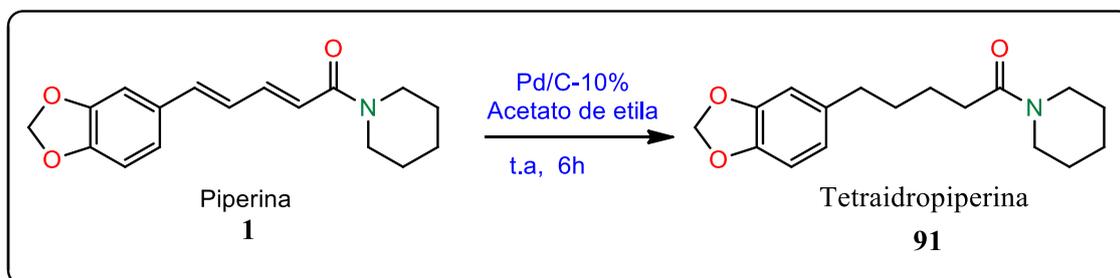
• **RMN¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,39 (ddd, J = 14,4, 8,4, 2,0 Hz, 1H, H β), 6,97 (d, J = 2,0Hz, 1H, H-2), 6,88 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1H, H-6), 6,76 (d, J = 14,4 Hz, 1H, H γ), 6,75 (dd, J = 14,4 Hz, 1H, H δ), 6,73 (d, J = 8,4 Hz, 1H, H-5), 6,42 (d, J = 14,4, Hz, 1H, H α), 5,96 (s, 2H, OCH₂O), 3,56 (m, 6H, CH₂), 1,84 – 1,54 (m, 6H, CH₂).

• **RMN¹³C-APT (100 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,45 (C=O); 148,22 (C); 148,13 (C); 142,41 (CH₂); 138,17 (CH₂); 131,09 (C); 125,42 (CH); 122,42 (CH); 120,15 (CH); 108,49 (CH); 105,73 (CH); 101,25 (CH₂); 45,89 (CH₂); 43,14 (CH₂); 26,63 (CH₂); 25,57 (CH₂); 24,57 (CH₂);

4.2.2 Metodologia sintética

Nesta sessão, será apresentada a hidrogenação da piperina, em seguida a obtenção da série das amidas a partir dos ácidos 3,4-(metilenodioxo) cinâmico (**94**), 3,4-(metilenodioxo) diidrocinâmico (LASSINT-18) e piperonílico (97). A preparação do ácido pipérico (LASSINT-1) obtido a partir da piperina e por fim, a obtenção dos ésteres 1,3-bendioxola com os respectivos ácidos incluindo o ácido tetraidropiperínico (LASSINT-7).

4.2.2.1 Obtenção da 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) pentan-1-ona (tetraidropiperina)



Esquema 5- Hidrogenação da piperina, para obtenção da tetraidropiperina (**91**).

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL, foi adicionado 200mg (4,58 mmol) da piperina em 20 mL de acetato de etila e 80 mg do catalisador Pd/C10%. A suspensão foi mantida agitada à temperatura ambiente, por alguns minutos e posteriormente o balão foi vedado com um septo. Foi expurgado o ar presente no balão através de uma agulha, com gás hidrogênio por intermédio de um sistema fixado ao septo (Figura 27). Em seguida deixou-se a mistura reacional sob pressão positiva de H₂ por 6 horas sob agitação vigorosa. Após o término da reação, ao qual foi acompanhada por CCD, o meio reacional foi filtrado através de papel de filtro, para remoção do catalisador. O solvente foi evaporado sob pressão reduzida, o óleo amarelado obtido foi purificado por coluna de sílica gel, utilizando um sistema eluente hexano / acetato de etila (70/30).

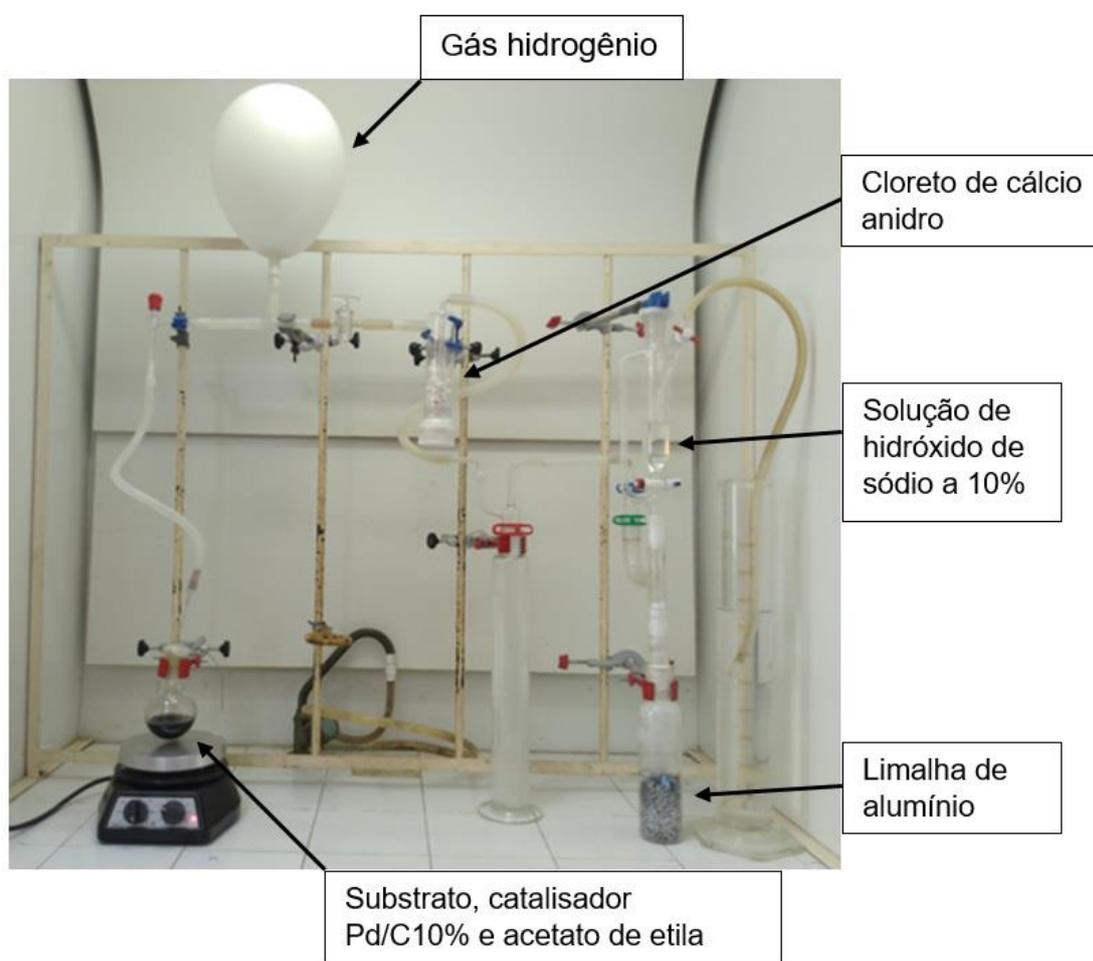
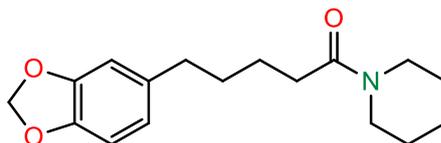


Figura 26- Sistema para obtenção de H₂ em laboratório via rota alcalina (dos autores Silva e Góes).



Tetraidropiperina

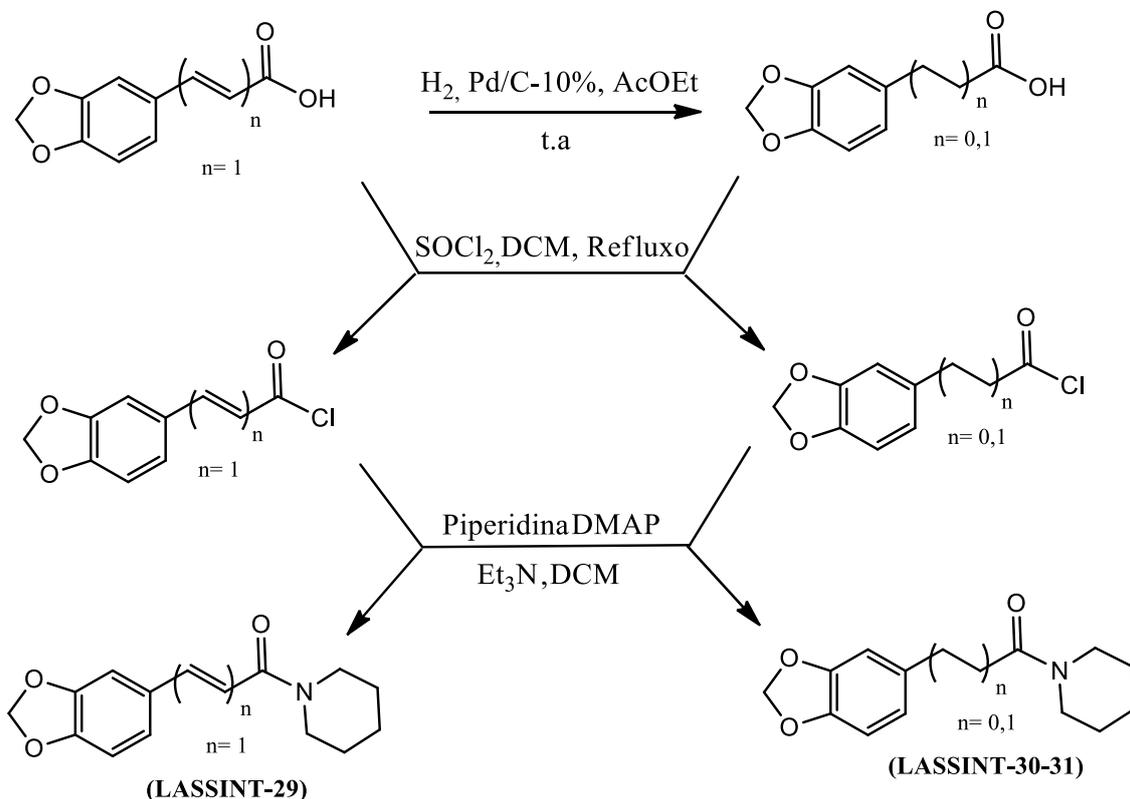
91

- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 75% (152,14 mg)
- **Tempo reacional: 6h**
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 289,37 g/mol
- **Rf:** 0,53 (Hexano/acetato 6:4)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 6,72 (d, J = 7,9 Hz, 1H, CH), 6,63 (d, J = 7,8 Hz, 1H, CH), 5,92 (s, 2H, CH₂) 3,59 – 3,48 (m, 1H, CH₂), 3,42 – 3,28 (m, 1H, CH₂), 2,57 (t, J = 6,9 Hz, 1H, CH₂), 2,34 (t, J = 7,1 Hz, 1H, CH₂), 2,07 (d, J = 16,1 Hz, 1H, CH₂), 1,70 – 1,48 (m, 6H, CH₂).
- **RMN¹³C-APT (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 171,33 (C), 147,89 (C), 145,52 (C), 136,19 (C), 121,08 (CH), 108,84 (CH), 108,04 (CH), 100,67 (CH₂), 46,74 (CH₂), 42,69 (CH₂), 35,42 (CH₂), 33,21 (CH₂), 31,40 (CH₂), 26,54 (CH₂), 25,57 (CH₂), 24,93 (CH₂), 24,55 (CH₂).

4.2.2.2 Procedimento geral para obtenção dos compostos LASSINT-29-31.

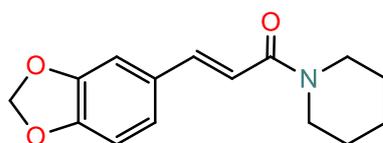
Em um balão de fundo redondo com uma capacidade de 10 mL, foram adicionados 150 mg dos ácidos respectivos, em 3 mL de diclorometano (DCM) seco. Depois, 10 equivalentes de SOCl₂ foram adicionados a cada mistura reacional e foram mantidos agitados durante 3h sob refluxo. Após esse tempo, o solvente foi removido sob pressão reduzida. Os intermediários formados foram submetidos ao

banho de gelo e adicionado o DCM seco, piperidina (1,0 eq), e Et₃N (3,0 eq) e mantidos agitados à temperatura ambiente durante 3 h. Os compostos obtidos foram purificados por cromatografia em gel de sílica utilizando sistema eluentes próprios.



Esquema 6- Rota de síntese empregada na preparação das amidas (LASSINT-29-31).

4.2.2.2.1 (*E*)-3-(benzo[*d*] [1,3] dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) prop-2-en-1-ona (LASSINT-29)



LASSINT-29

- **Característica:** óleo incolor;

- **Rendimento:** 84% (170,56 mg)

- **Tempo reacional:** 3h

- Dados físico-químicos e espectrofotométricos

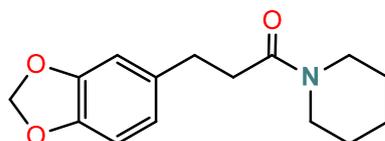
- **PM:** 259,30 g/mol

- **Rf:** 0,42 (hexano/acetato de etila 7:3)

- **RMN¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,58 (d, J = 15,3 Hz, 1H), 7,05 (s, 1H), 7,01 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,75 (d, J = 15,3 Hz, 1H), 6,01 (s, 2H), 3,63 (m, 4H), 1,86 (m, 6H).

- **RMN¹³C (100 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,45 (C=O), 148,82 (C), 148,20 (C), 141,94 (CH), 129,97 (C), 123,56 (CH), 115,74 (CH), 108,48 (CH), 106,36 (CH), 101,38 (CH₂), 46,98 (CH₂), 43,35 (CH₂), 26,76 (CH₂), 25,63 (CH₂), 24,68 (CH₂).

4.2.2.2 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) -1-(piperidin-1-il) propan-1-ona (LASSINT-30)



LASSINT-30

- **Característica:** óleo amarelo;

- **Rendimento:** 92% (150,59 mg)

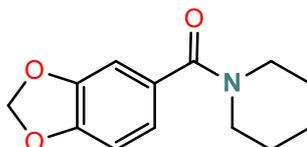
- **Tempo reacional:** 3h

- Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 261,13 g/mol

- **Rf:** 0,40 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 6,75 (s, 1H), 6,73 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 6,68 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 3,47 (m, 4H), 2,93 – 2,56 (m, 4H), 1,71 – 1,45 (m, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 170,49 (C=O), 147,56 (C), 145,73 (C), 135,20 (C), 121,13 (CH), 108,89 (CH), 108,20 (CH), 100,75(CH₂), 46,50 (CH₂), 42,68 (CH₂), 31,31 (CH₂), 30,32 (CH₂), 26,36(CH₂), 25,50 (CH₂), 24,47 (CH₂).

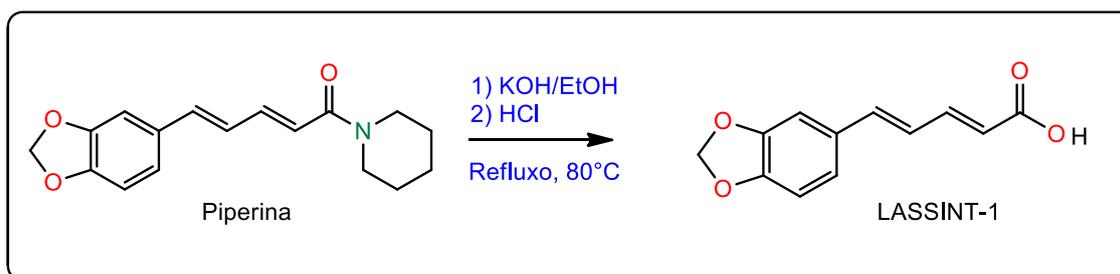
4.2.2.2.3 benzo[d][1,3] dioxol-5-il (piperidin-1-il) metanona (LASSINT-31)



LASSINT-31

- **Característica:** óleo amarelo;
- **Rendimento:** 98% (208,76 mg)
- **Tempo reacional:** 3h
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 233,10 g/mol
- **Rf:** 0,45 (hexano/acetato de etila 7:3)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 6,94 (s, 1H), 6,91 (d, J = 7,5, 1H), 6,83 (d, J =7,5, 1H), 6,01 (s, 2H), 3,67-3,02 (m, 4H), 1,79 – 1,19 (m, 6H).

4.2.2.3 Hidrólise básica para obtenção do LASSINT-1 a partir da piperina 1.



Esquema 7- Hidrólise básica da piperina para obtenção do composto LASSINT-1.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 100 mL foram adicionados 1g (0,0037 mmol) de piperina juntamente com 36,5 mL de solução alcohólica de KOH 20%. A mistura reacional foi mantida agitada sob refluxo à 80°C por 24h. Durante o período reacional, a mistura passou de amarelada à marrom claro com turbidez. Ao término da reação, ao qual foi monitorada por CCD, adicionou-se algumas gotas de HCl concentrado até atingir pH 3, resultando na precipitação do ácido pipérico na forma de um sólido amarelo. Após filtração a vácuo o sólido impuro, foi lavado com acetona e depois recristalizado em etanol.



• **Característica:** Cristais amarelos;

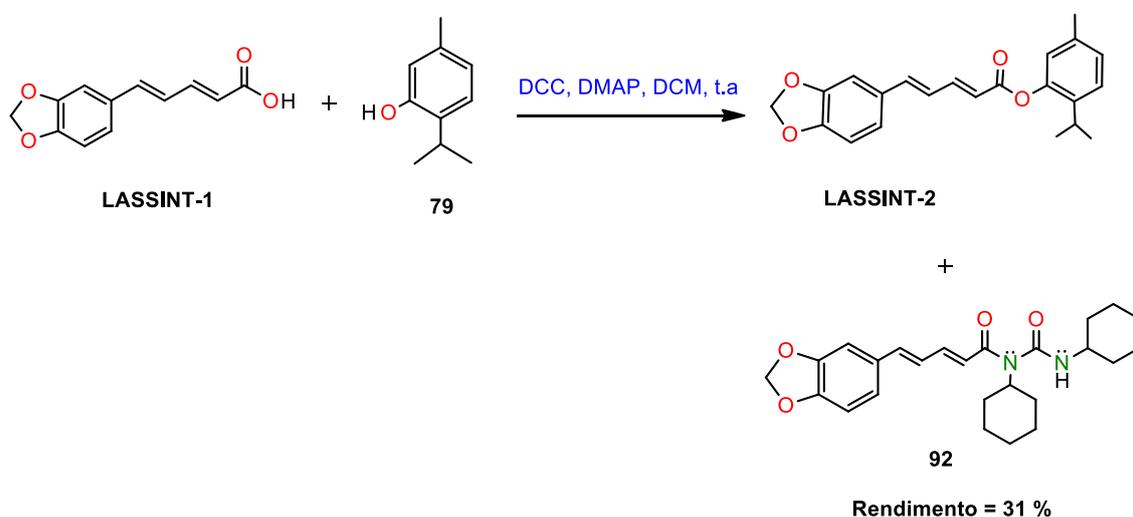
• **Rendimento:** 95 % (725,80 mg)

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

• **PM:** 218 g/mol

- **PF:** 212-214 °C
- **Rf:** 0,43 (hexano/acetato de etila 7:3)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, DMSO):** δ = 7,30 (dd, J = 14,7, 7,8 Hz, 1H), 7,01 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,98 (dd, J = 14,7, 7,8 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 14,7 Hz, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,92 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,05 (s, 2H), 5,93 (d, J = 14,7 Hz, 1H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, DMSO):** δ = 168,13 (C=O), 148,50 (C), 148,45 (C), 144,92 (CH), 140,14 (CH), 131,02 (C), 125,36 (CH), 123,50 (CH), 121,80 (CH), 108,97 (CH), 106,20 (CH), 101,82 (CH₂).

4.2.2.4 Esterificação de Steglich para obtenção do LASSINT- 2.



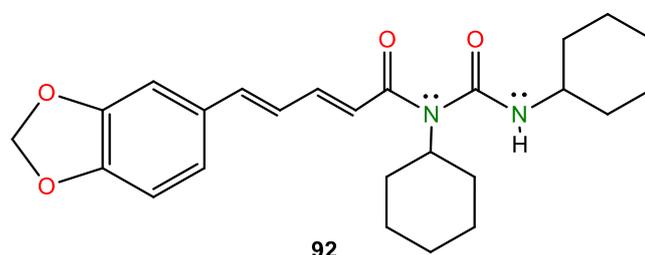
Esquema 8- Rota sintética empregada para obtenção do composto LASSINT-2.

Procedimento experimental:

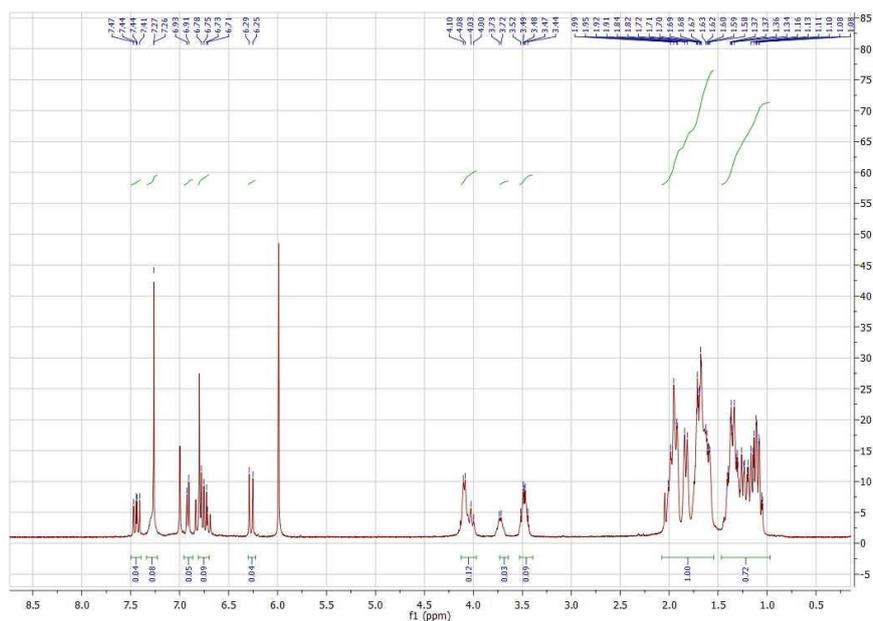
Em um balão de fundo redondo com capacidade de 25mL foram adicionados 150 mg do ácido pipérico (0,6880 mmol), 113,7 mg de timol (0,7568 mmol; 1,1 eq) e 6 mL de DCM seco. Em seguida, sob banho de gelo e agitação magnética, adicionou-se 142,2 mg (1eq) N, N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) e 84,05 mg (1 eq) de 4-dimetilaminopiridina (DMAP). A mistura reacional foi monitorada por CCD e

mantida agitada à temperatura ambiente. Após 20 min de reação houve mudança de coloração de amarelo escuro, para amarelo claro, a reação foi deixada sob agitação por mais 4 horas. Após o término da reação, constatado por CCD, filtramos o precipitado a vácuo no intuito de separar o subproduto formado, a diciclohexiureia (DCU). Após filtração, realizou-se extração com DCM e água, repetindo o processo por 3 vezes, obtendo um sólido amarelo impuro. Este sólido foi submetido a uma coluna cromatográfica de sílica gel utilizando o sistema eluente hexano/acetato 98:20.

(2E,4E) -5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-yl)-N-ciclohexil N(ciclohexilcarbamoil)penta-2,4-dienamida (**92**)

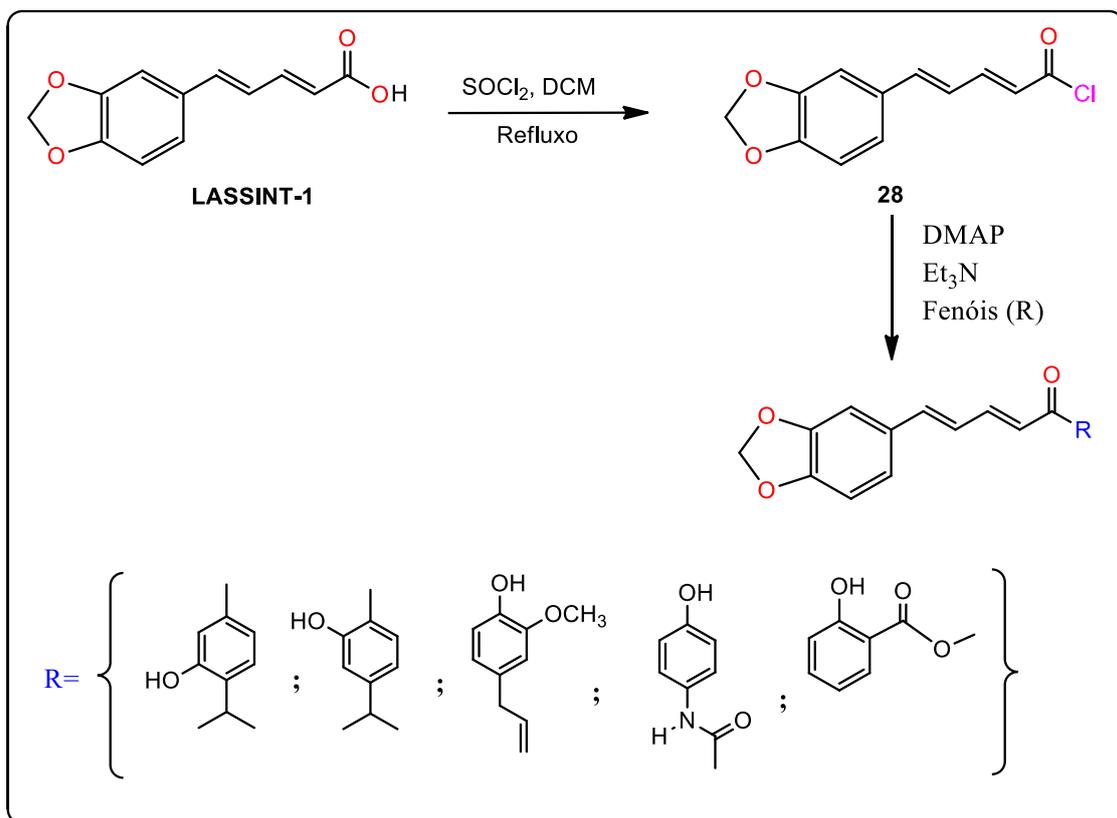


- **Característica:** cristais amarelo-claros;
- **Rendimento:** 31% (74,74 %)
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 350,40 g/mol
- **Rf:** 0,45 (hexano/acetato de etila 9:1)



Espectro 1- Espectro de RMN ^1H do subproduto **92** formado na síntese para obtenção do LASSINT-2.

4.2.2.5 Procedimento geral para obtenção dos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-1.

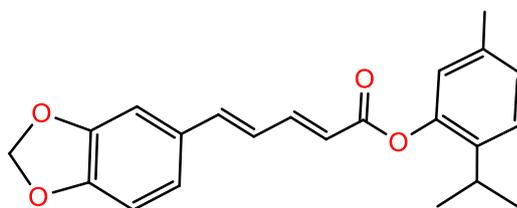


Esquema 9- Rota sintética empregada, para obtenção dos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-1.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 10mL foram adicionados 100mg do LASSINT-1 (0,4587 mmol), 2mL de DCM seco e 335 μ L de cloreto de tionila (SOCl_2) (10 eq). A mistura reacional foi mantida agitada por 3h sob refluxo. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida. Por fim, uma solução com cada fenol, juntamente com 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,5 eq) e trietilamina (Et_3N) (3,0 eq) em DCM seco, foram adicionadas as suas respectivas reações contendo o cloreto de ácido formado em banho de gelo. A reação foi mantida agitada à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Após o término de cada reação a mistura foi extraída com DCM (3 x 10mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Por fim, a mistura reacional foi purificada por cromatografia em gel de sílica utilizando sistemas eluentes próprios. A seguir, será descrito todas as características, químicas e físico-químicas, dos compostos obtidos.

4.2.2.5.1 (2E,4E) -2-isopropil-5-metilfenil5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)penta-2,4-dienoato (LASSINT-2)



LASSINT-2

- **Característica:** semissólido amarelo claro;
- **Rendimento:** 90% (144,55 mg)

- **Tempo reacional:** 3 h

- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - Gradiente de concentração: hexano; hexano/acetato de etila 9:1; acetato de etila.

- Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 350,1518 g/mol

- **Rf:** 0,48 (hexano/acetato de etila 9:1)

- **RMN¹H (400 MHz, δ ppm, CDCl₃):** δ = 7,61 (dd, *J*=15,2, 10,7 Hz, 1H), 7,22 (d, *J*=8,0 Hz, 1H), 7,04 (d, *J*= 5,6 Hz, 2H), 6,95 (dd, *J*=8,0 Hz, 1H), 6,90 (d, *J*= 15,2 Hz, 2H), 6,84-6,80 (m, 1H), 6,78 (d, *J*=10,7 Hz, 1H), 6,17 (d, *J*=15,2 Hz, 1H), 6,00 (s, 2H), 3,07-2,98 (m, 1H), 2,33 (s, 3H), 1,21 (d, *J*= 7,0 Hz, 6H).

- **¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃):** 165,32 (C=O), 149,31 (C), 148,74 (C), 148,32 (C), 147,97 (C), 146,49 (C), 141,10 (CH), 130,79 (CH), 130,41 (CH), 127,35 (C), 124,33 (CH), 123,98 (CH), 123,18 (CH), 119,83 (CH), 119,24 (CH), 108,56 (CH), 105,92 (CH), 101,42 (CH₂), 33,55 (CH), 23,89 (2(CH₃)), 15,81 (CH₃).

4.2.2.5.2 (2*E*,4*E*) -5-isopropil-2-metilfenil5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)penta-2,4-dienoato (LASSINT-3)



- **Característica:** cristais amarelos;

- **Rendimento:** 71% (114,05 mg)

- **Tempo reacional:** 3 h

- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano

- Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 350,1518 g/mol

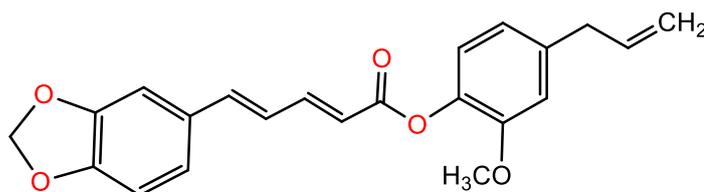
- **Rf:** 0,50 (hexano/acetato de etila 9:1)

- **PF:** 78-80°C

- **RMN¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,61 (dd, J = 15,2, 10,7 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,04 (d, J = 8,0, 2H), 6,94 (d, J = 8,0, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,77 (d, J = 10,7, 1H), 6,81 (d, J = 8,0, 1H) , (6,16 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 6,00 (s, 2H), 2,93-2,83 (m, 1H), 2,15 (s, 3H), 1,24 (d, J = 6,9 Hz, 6H).

- **RMN¹³C (100 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,80 (C=O), 148,78 (C), 148,34 (C), 148,01 (CH), 146,52 (C), 141,17 (C), 137,19 (CH), 136,50 (C), 130,42 (C), 127,00 (CH), 126,40 (CH), 124,34 (CH), 123,22 (CH), 122,84 (CH), 119,34 (CH), 108,8 (CH), 105,93 (CH), 101,44 (CH₂), 27,17 (CH), 23,05 (2(CH₃)), 20,85 (CH₃).

4.2.2.5.3 (2E,4E) -4-ailil-2-metoxifenil 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) penta-2,4-dienoato (LASSINT-4)



LASSINT-4

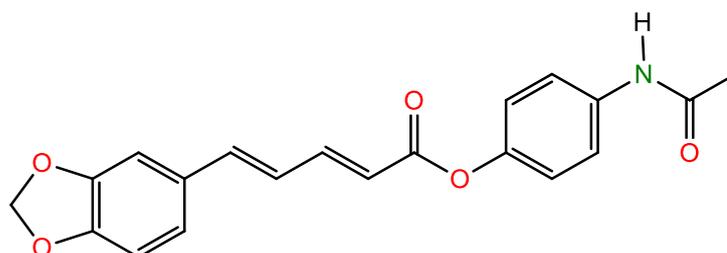
- **Característica:** cristais amarelos;

- **Rendimento:** 78% (130,28 mg)
- **Tempo reacional:** 2:40 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - Hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 364,1311 g/mol
- **Rf:** 0,53 (hexano/ acetato de etila 8:2)
- **PF:** 120-122°C
- **RMN¹H (600 MHz, δ ppm, CDCl₃):** 7,59 (dd, *J* = 15,2, 10,7 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 7,00 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,95 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 6,82 – 6,72 (m, 5H), 6,16 (d, *J* = 15,2 Hz, 1H), 6,01 – 5,88 (m, 1H), 5,99 (s, 2H), 5,11 – 5,06 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,39 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,24 (C=O), 151,02 (C), 148,69 (C), 148,29 (C), 146,56 (CH), 140,99 (CH), 138,81(CH), 138,02 (C), 137,08 (C), 130,45 (C), 124,43 (CH), 123,14 (CH), 122,64 (CH), 120,66 (CH), 119,11 (CH), 116,08 (CH₂), 112,73 (CH), 108,54 (CH), 105,93 (CH), 101,40 (CH₂), 55,85 (CH₃), 40,09 (CH₂).

4.2.2.5.4 (2E,4E) -4-acetamidofenil 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)penta-2,4-dienoato



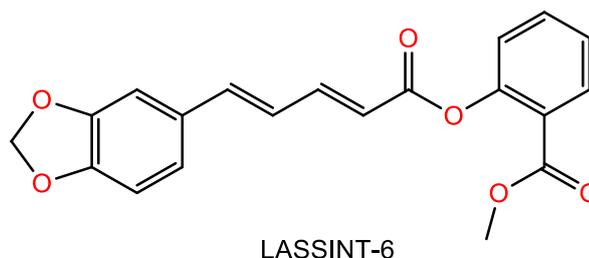
LASSINT-5

- **Característica:** cristais amarelos;
- **Rendimento:** 90% (144,95 mg)
- **Tempo reacional:** 2:20 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano/acetato de etila 7:3

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 351,11 g/mol
- **Rf:** 0,45 (hexano/acetato de etila 4:6)
- **PF:** 195-197°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,61 (dd, J = 15,4, 11,0 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,12 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,02 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 15,4 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 11,0 Hz, 1H), 6,71 (d, J = 11,0 Hz, 3H), 6,13 (d, J = 15,4 Hz, 1H), 6,03 (s, 2H), , 2,19 (s, 3H).
- **RMN¹³C- APT (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 168,16 (C=O), 165,67 (C=O), 148,85 (C), 148,39 (C), 147,07 (CH), 146,83 (C), 141,41 (CH), 135,40 (CH), 134,16 (C), 130,50 (C), 124,30 (CH), 123,29 (CH), 122,08 (CH), 120,81 (CH), 119,13 (CH), 108,61 (CH), 105,99 (CH), 101,47 (CH₂), 24,54 (CH₃).

4.2.2.5.5 *2E,4E* -2-acetoxifenil 5-(benzo[d] [1,3] dioxol-5-il) penta-2,4-dienoato (LASSINT-6).

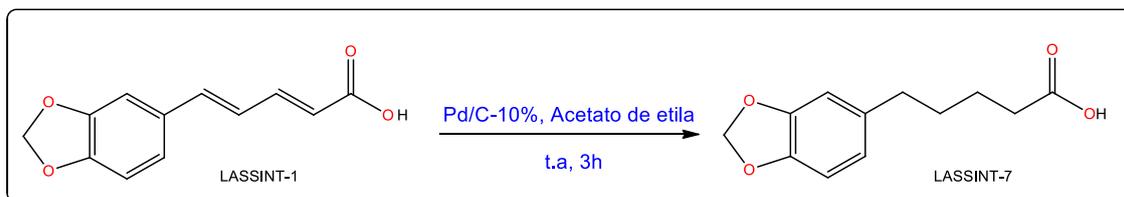


- **Característica:** cristais amarelos;
- **Rendimento:** 93% (150,20 mg)
- **Tempo reacional:** 2 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 352,0947 g/mol
- **Rf:** 0,54 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **PM:** 118-120°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 8,05 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,65 (dd, J = 15,2, 11,0 Hz, 1H), 7,59 (t, J = 8,0, 1H), 7,34 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 7,18 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,97 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 6,85 – 6,79 (m, 3H), 6,22 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 6,02 (s, 2H), 3,86 (s, 3H).
- **RMN¹³C- APT (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,48 (C=O), 165,00 (C=O), 150,68 (C), 148,82 (C), 148,39 (C), 147,07 (CH), 141,27 (CH), 133,66 (CH), 131,61 (CH), 130,50 (C), 125,74 (CH), 124,61 (CH), 123,91 (CH), 123,74 (C), 123,25 (CH), 119,02 (CH), 108,72 (CH), 106,02 (CH), 101,29 (CH₂), 52,16 (CH₃).

4.2.2.6 Procedimento para obtenção do 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) ácido pentanoico (Ácido tetraidropiperínico)- LASSINT-7.



Esquema 10- Esquema da hidrogenação do ácido pipérico (LASSINT-1), para obtenção do composto LASSINT-7.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL, foi adicionado 1g (4,58 mmol) de ácido pipérico em 50 mL de acetato de etila e 80 mg do catalisador Pd/C10%. A suspensão foi mantida agitada à temperatura ambiente, por alguns minutos e posteriormente o balão foi vedado com um septo. Foi expurgado o ar presente no balão através de uma agulha, com gás hidrogênio por intermédio de um sistema fixado ao septo (Figura 26). Em seguida deixou-se a mistura reacional sob pressão positiva de H₂ por 3 horas sob agitação vigorosa. Após o término da reação, ao qual foi acompanhada por CCD, o meio reacional foi filtrado através de papel de filtro, para remoção do catalisador. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, o sólido obtido foi recristalizado por Hexano/ CHCl₃ (9:1) à aproximadamente 40°C, fornecendo então um sólido bege 0,76 g (75%).



- **Característica:** cristais bege;

- **Rendimento:** 75% (760 mg)

- **Tempo reacional:** 3 h

- **Dados físico-químicos e espectrofotométricos**

- **PM:** 222,24 g/mol

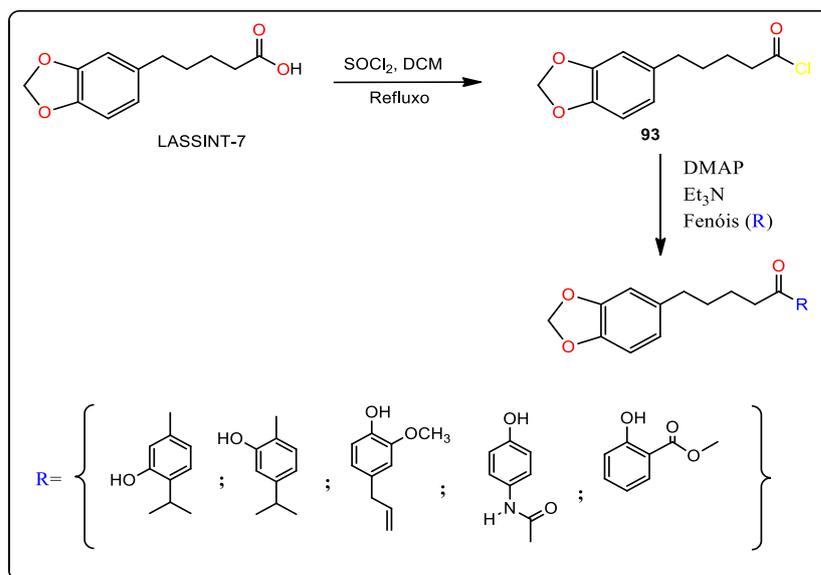
- **Rf:** 0,53 (hexano/acetato de etila 7:3)

- **PF:** 93-94°C (Lit.: 95-96°C)

- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 6,74 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 1,3 Hz, 1H), 6,64 (d, J = 7,9, 1,3 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 2,58 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,39 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 1,80 – 1,58 (m, 4H).

- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 178,84 (C=O), 147,55 (C), 145,59 (C) 135,84 (C), 121,07 (CH), 108,80 (CH), 108,10 (CH), 100,72 (CH₂), 35,24 (CH₂), 33,70 (CH₂), 30,99 (CH₂), 24,14 (CH₂).

4.2.2.6.1 Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do LASSINT-7.

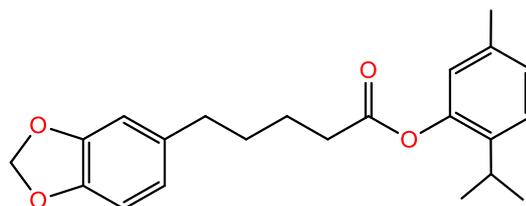


Esquema 11- Rota sintética para obtenção dos ésteres a partir do LASSINT-7.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 10mL foram adicionados 100mg do LASSINT-7 (0,4504 mmol), 2 mL de DCM seco e 328 μL de cloreto de tionila (SOCl_2) (10 eq). A mistura reacional foi mantida agitada por 3h sob refluxo. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida. Por fim, uma solução com cada fenol, juntamente com 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,5 eq) e trietilamina (Et_3N) (3,0 eq) em DCM anidro, foram adicionadas as suas respectivas reações em banho de gelo contendo o cloreto de ácido formado. A reação foi mantida agitada à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Após o término de cada reação a mistura foi extraída com DCM (3 X 10 mL). A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Por fim, a mistura foi purificada por cromatografia em gel de sílica utilizando sistema de eluentes próprios. A seguir, será descrito todas as características, químicas e físico-químicas, dos compostos obtidos.

4.2.2.6.2 2-isopropil-5-metilfenil 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-8)



LASSINT-8

- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 89% (141,94 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 354,44 g/mol
- **Rf:** 0,42 (hexano/acetato de etila 9,6:0,4)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,16 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,04 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,76 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,67 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 5,95 (s, 2H), 2,95-2,86 (m, 1H), 2,66-2,59 (m, 4H), 2,15 (s, 3H), 1,87 – 1,80 (m, 2H), 1,81–1,71 (m, 2H), 1,26 (d, J = 7,0 Hz, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 171,78 (C=O), 149,28 (C), 148,05 (C), 147,61 (C), 145,65 (C), 135,89 (C), 130,86 (C), 127,10 (CH), 124,03 (CH), 121,10 (CH), 119,79 (CH), 108,84 (CH), 108,14 (CH), 100,75 (CH₂), 35,31 (CH₂), 34,09 (CH₂), 33,56 (CH₂), 31,18 (CH₂), 24,54 (CH), 23,90 (CH₃), 15,82 (CH₃).

4.2.2.6.3 5-isopropil-2-metilfenil 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-9)

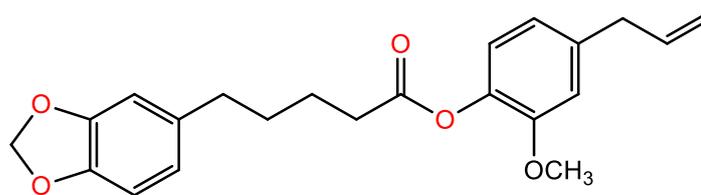


- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 93% (148,31 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 354,44 g/mol
- **Rf:** 0,42 (hexano/acetato de etila 9,6:0,4)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,16 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,76 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,67 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 2,95-2,84 (m, 1H), 2,62-2,60 (m, 4H), 2,14 (s, 3H), 1,87 – 1,79 (m, 2H), 1,80–1,69 (m, 2H), 1,25 (d, *J* = 7,0 Hz, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,77 (C=O), 149,26 (C), 148,04 (C), 147,58 (C), 145,62 (C), 135,88 (C), 130,84 (CH), 127,08 (C), 124,01 (CH), 121,09 (CH), 119,77 (CH), 108,82 (CH), 108,13 (CH), 100,74 (CH₂), 35,30 (CH₂), 34,09 (CH₂), 33,55 (CH), 31,17 (CH₂), 24,53 (CH₂), 23,89 (CH₃), 15,81 (CH₃).

4.2.2.6.4 4-*alil*-2-metoxifenil 5-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-10)



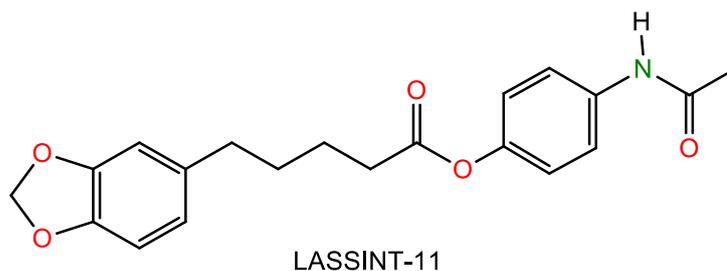
LASSINT-10

- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 87% (144,22 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 90:10

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 368,42 g/mol
- **Rf:** 0,40 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 6,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,67 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,02–5,96 (m, 1H), 5,94 (s, 2H), 5,15-5,08 (m, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,40 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H), 2,65 – 2,53 (m, 2H), 1,85 – 1,78 (m, 2H), 1,77 – 1,71 (m, 4H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,77 (C=O), 150,91 (C), 147,57 (C), 145,59 (C), 138,89 (C), 138,07 (C), 137,09 (C), 136,05 (CH), 122,53 (CH), 121,09 (CH), 120,68 (CH), 116,11 (CH₂), 112,76 (CH), 108,85 (CH), 108,10 (CH), 100,73 (CH₂), 55,79 (CH₃), 40,08 (CH₂), 35,30 (CH₂), 33,86 (CH₂), 31,02 (CH₂), 24,56 (CH₂).

4.2.2.6.5 4-Acetamidofenil 5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) pentanoato (LASSINT-11)

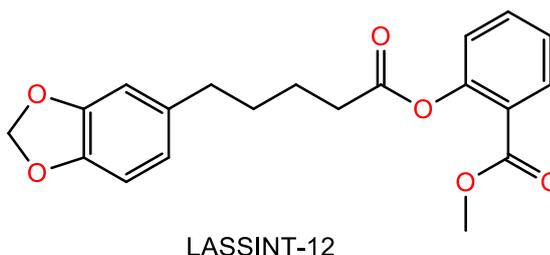


- **Característica:** sólido branco;
- **Rendimento:** 85% (135,92 mg)
- **Tempo reacional:** 2:30 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 70:30

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 355,38 g/mol
- **Rf:** 0,46 (hexano/acetato de etila 4:6)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,49 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,75 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,70 (s, 1H), 6,65 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 2,62-2,54 (m, 4H), 2,16 (s, 3H), 1,82 – 1,76 (m, 2H), 1,75-1,70 (m, 4H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 172,38 (C=O), 168,48 (C=O), 148,15 (C), 147,07 (C), 145,77 (C), 136,01 (C), 135,56 (C), 121,92 (CH), 121,29 (CH), 120,85 (CH), 108,93 (CH), 108,14 (CH), 100,75 (CH₂), 35,33 (CH₂), 33,83 (CH₂), 31,43 (CH₂), 24,43 (CH₂), 24,27 (CH₃).

4.2.2.6.6 metil 2-((5-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) pentanoil) oxi) benzoato (LASSINT-12)

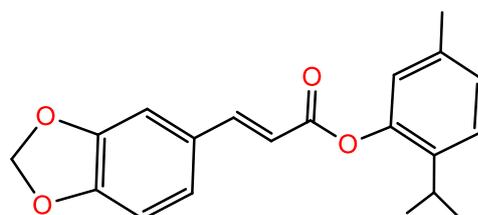


- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 60% (96,21 mg)
- **Tempo reacional:** 2:30 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano; hexano/acetato de etila 90:10

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 356,37 g/mol
- **Rf:** 0,48 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 8,03 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,33 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,73 (s, 1H), 6,67 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,63 (d, *J*=7,7 Hz, 1H), 5,94 (s, 2H), 3,87 (s, 3H), 2,68 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,63 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,86 – 1,780 (m, 2H), 1,78-1,72 (m, 2H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 172,14 (C=O), 164,94 (C=O), 150,70 (C), 147,57 (C), 145,60 (C), 136,01 (C), 133,77 (CH), 131,71 (CH), 125,91 (C), 123,83 (CH), 123,32 (CH), 121,11 (CH), 108,87 (CH), 108,11 (CH), 100,73 (CH₂), 52,13 (CH₃), 35,33 (CH₂), 33,99 (CH₂), 31,12 (CH₂), 24,08 (CH₂).

4.2.2.7.1 (E)-2-isopropil-5-metilfenil 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il)acrilato (LASSINT-13)



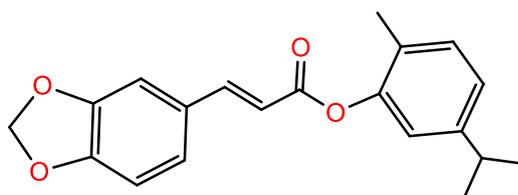
LASSINT-13

- **Característica:** cristais creme;
- **Rendimento:** 93% (153,86 mg)
- **Tempo reacional:** 3:35 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 324,1362 g/mol
- **Rf:** 0,48 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **PF:** 83-85°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,81 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,25 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,07 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 6,06 (s, 2H), 3,10 – 3,01 (m, 1H), 2,36 (s, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 165,84 (C=O), 149,96 (C), 148,47 (C), 148,03 (CH), 146,09 (C), 137,22 (C), 136,53 (C), 128,70 (C), 127,05 (CH), 126,43 (CH), 124,83 (CH), 122,83 (CH), 115,22 (CH), 108,63 (CH), 106,66 (CH), 101,64 (CH₂), 27,18 (CH), 23,07 (CH₃), 20,84 (CH₃).

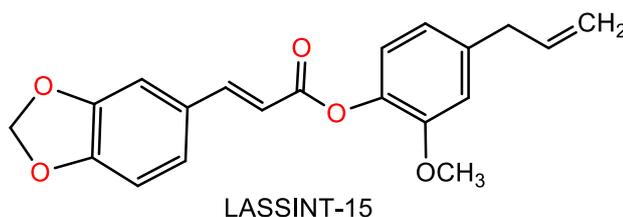
4.2.2.7.2 (*E*)-5-isopropil-2-metilfenil 3-(benzo[*d*][1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT- 14)



LASSINT-14

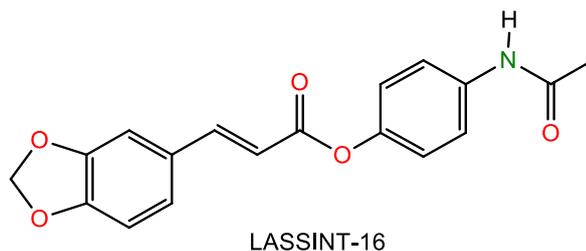
- **Característica:** cristais creme;
- **Rendimento:** 77% (129,86 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 324,1362 g/mol
- **Rf:** 0,54 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **PF:** 80-82°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,81 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,19 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,06 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 6,06 (s, 2H), 2,97 – 2,88 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,27 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H);
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 165,35 (C=O), 149,94 (C), 149,37 (C), 148,47 (C), 148,03 (C), 146,07 (C), 130,85 (CH), 128,71 (C), 127,37 (CH), 124,79 (CH), 124,05 (CH), 119,86 (CH), 115,16 (CH), 108,63 (CH), 106,64 (CH), 101,64 (CH₂), 33,58 (CH), 23,91 (CH₃), 15,84 (CH₃).

4.2.2.7.3 (*E*)-4-*alil*-2-metoxifenil 3-(benzo[*d*] [1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT-15)



- **Característica:** cristais brancos;
- **Rendimento:** 90% (158,34 mg)
- **Tempo reacional:** 2:20 h
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 338,1154 g/mol
- **Rf:** 0,51 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **PF:** 120-122°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,80 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,09 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,86 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,82 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,51 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 6,02 (s, 2H), 6,05 – 5,97 (m, 1H), 5,18–5,09 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 3,42 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 165,28 (C=O), 150,99 (C), 150,13 (C), 148,58 (C), 146,11 (C), 138,72 (C), 138,28 (CH), 137,17(C), 128,72 (CH), 124,47 (CH), 122,65 (CH), 120,87 (CH), 116,17 (CH₂), 114,84 (CH), 112,84 (CH), 108,83 (CH), 107,05 (CH), 101,44 (CH₂), 55,91 (CH₃), 40,11 (CH₂).

4.2.2.7.4 (E)-4-acetamidofenil 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) acrilato (LASSINT-16)



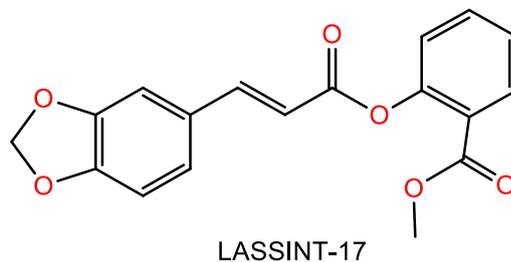
- **Característica:** cristais brancos;
- **Rendimento:** 94% (159,02 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano/acetato de etila 7:3

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 325,0950 g/mol
- **Rf:** 0,42 (hexano/acetato de etila 4:6)
- **PF:** 210-212°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,77 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,51 (s, 1H), 7,29 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,99 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,73 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 6,11 (s, 2H), 3,35 (s, 3H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 168,92 (C=O), 165,80 (C=O), 150,33 (C), 148,60 (C), 146,69 (CH), 146,18 (C), 137,49 (C), 129,17 (C), 126,12 (CH), 122,39

(CH), 120,47 (CH), 115,45 (CH), 109,10 (CH), 107,34 (CH), 102,36 (CH₂), 24,39 (CH₃).

4.2.2.7.5. *(E)*-metil2-((3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)acrilil)oxi)benzoato (LASSINT-17)



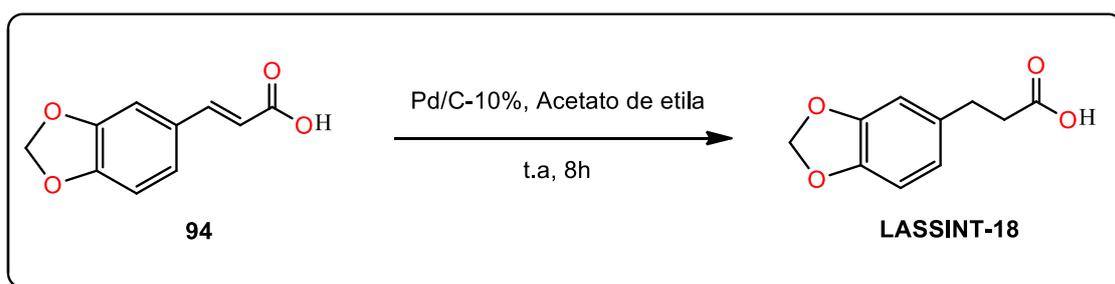
- **Característica:** cristais creme;
- **Rendimento:** 88% (149,31 mg)
- **Tempo reacional:** 2:40 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano/acetato de etila 9:1

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 326,0790 g/mol
- **Rf:** 0,54 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **PF:** 120-122°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 8,06 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,83 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 7,60 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,20 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,10 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,87 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,54 (d, *J* = 15,9 Hz, 1H), 6,05 (s, 2H), 3,86 (s, 3H).

• **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,55 (C=O), 165,12 (C=O), 150,66 (C), 149,98 (C), 148,44 (C), 146,50 (CH), 133,73 (CH), 131,74 (CH), 128,70 (C), 125,90 (CH), 124,93 (C), 123,90 (CH), 123,62 (CH), 114,93 (CH), 108,60 (CH), 106,72 (CH), 101,64 (CH₂), 52,20 (CH₃).

4.2.2.8 Procedimento para obtenção do 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) Ácido propanóico (LASSINT-18)

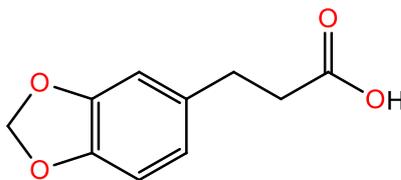


Esquema 13- Esquema de síntese da hidrogenação do 2,3-(metilenodioxo) ácido cinâmico (**94**).

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 125 mL, foi adicionado 1g (5,15 mmol) de 3,4- (metilenodioxo) ácido cinâmico em 50 mL de acetato de etila e 80 mg do catalisador Pd/C10%. A suspensão foi mantida agitada à temperatura ambiente, por alguns minutos e posteriormente o balão foi vedado com um septo. Foi expurgado o ar presente no balão através de uma agulha, com gás de hidrogênio por intermédio de um sistema fixado ao septo (Figura 26). Em seguida, deixou-se a mistura reacional sob pressão positiva de H₂ por 8 horas sob agitação vigorosa. Após o término da reação, ao qual foi acompanhada por CCD, o meio reacional foi filtrado através de papel de filtro, para remoção do catalisador. Após evaporação do solvente sob pressão reduzida, o sólido obtido foi recristalizado por Hexano/ CHCl₃ (9:1) à aproximadamente 40°C.

3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) Ácido propanoico (LASSINT-18)



LASSINT-18

- **Característica:** Sólido bege;

- **Rendimento:** 85,3% (868,99 mg)

- **Tempo reacional:** 8 h

- Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 194,18 g/mol

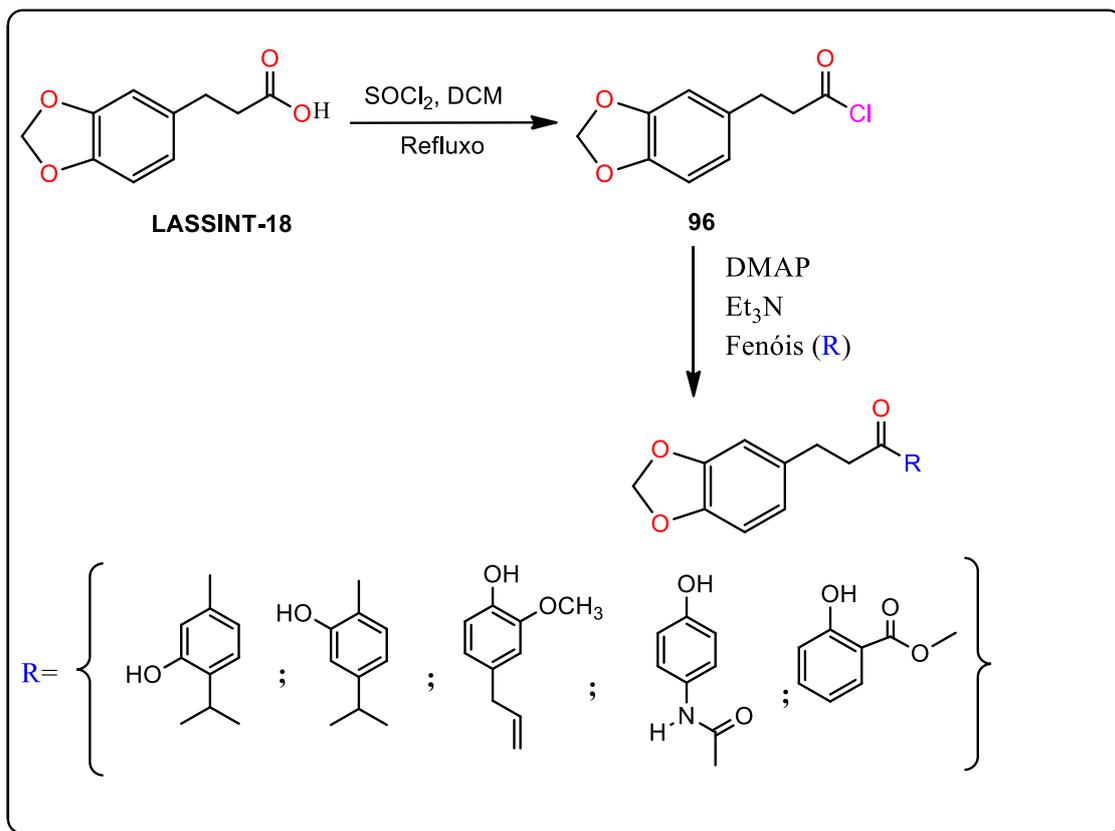
- **Rf:** 0,41 (hexano/acetato de etila 7:3)

- **PF:** 93-94°C

- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 6,76 (d, *J*= 8,0 Hz, 1H), 6,72 (s, 1H), 6,68 (d, *J*= 8,0 Hz, 1H), 5,95 (s, 2H), 2,90 (t, *J*= 7,7 Hz, 2H), 2,66 (t, *J*= 7,7 Hz, 2H).

- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ=177,92 (C=O), 147,71 (C), 146,07 (C), 133,97 (C), 121,11 (CH), 108,77 (CH), 108,31 (CH), 100,87 (CH₂), 35,75 (CH₂), 30,38 (CH₂).

4.2.2.9 Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do 3-(benzo[d][1,3] dioxol-5-il) ácido propanoico (LASSINT-18).



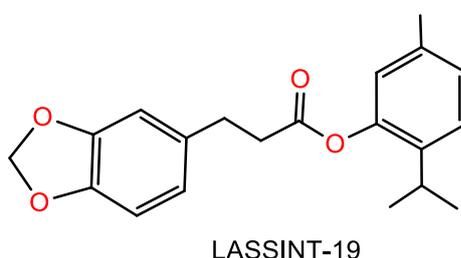
Esquema 14- Esquema do planejamento de síntese para obtenção dos ésteres a partir do 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) Ácido propanoico.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 10 mL foram adicionados 100 mg do LASSINT-18 (0,5149 mmol) e 375 μL de cloreto de tionila (SOCl_2) (10 eq). A mistura reacional foi mantida agitada por 3 h sob refluxo. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida. Por fim, uma solução com cada fenol, contendo 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,5 eq) e trietilamina (Et_3N) (3,0 eq) em DCM seco, foram adicionadas as suas respectivas reações em banho de gelo contendo o cloreto de ácido formado. A reação foi mantida agitada à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Após o término de cada reação, a mistura foi extraída com DCM. A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Por fim, as misturas reacionais obtidas foram purificadas por cromatografia em gel de sílica

utilizando sistema eluentes próprios. A seguir, será descrito todas as características, químicas e físico-químicas, dos compostos obtidos.

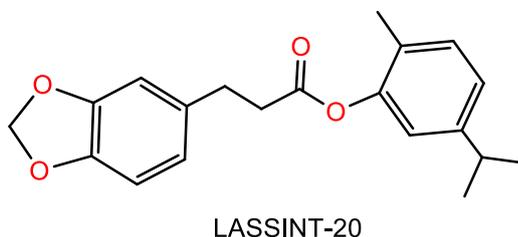
4.2.2.9.1 2-isopropil-5-metilfenil 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-19)



- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 82% (137,82 mg)
- **Tempo reacional:** 2 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 326,38 g/mol
- **Rf:** 0,52 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,19 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,10 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,03 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 6,75 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 3,03 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,85-2,77 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,15 (d, J = 6,9 Hz, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 171,54 (C=O), 147,85 (C), 147,75 (C), 146,12 (C), 137,00 (C), 136,53 (C), 133,99 (C), 127,12 (CH), 126,39 (CH), 122,66

(CH), 121,30 (CH), 108,93 (CH), 108,30 (CH), 100,89 (CH₂), 36,20 (CH₂), 30,77 (CH₂), 27,00 (CH), 22,99 (CH₃), 20,80 (CH₃).

4.2.2.9.2 5-isopropil-2-metilfenil 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-20)



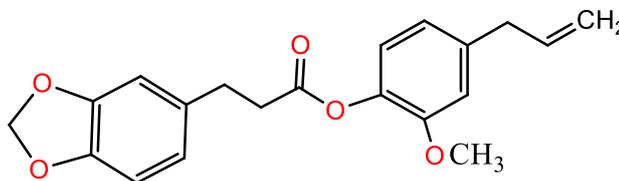
- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 89% (149,59 mg)
- **Tempo reacional:** 2 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 326,38 g/mol
- **Rf:** 0,52 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,15 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,11 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,03 (d, *J* = 7,8, Hz, 1H), 6,79 (s, 1H), 6,78 6,79 (s, 1H), 6,75 (d, *J* = 7,8, Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 3,03 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 2,88 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 2,07 (s, 3H), 1,24 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,11 (C=O), 149,21 (C), 148,05 (C), 147,74 (C), 146,11 (C), 134,00 (C), 130,86 (CH), 127,12 (C), 124,14 (CH), 121,30 (CH),

119,71 (CH), 108,94 (CH), 108,32 (CH), 100,89 (CH₂), 36,12 (CH₂), 33,54 (CH₂), 30,83 (CH₂), 23,88 (CH₃), 15,71 (CH₃).

4.2.2.9.3 4-*alil*-2-metoxifenil 3-(benzo[*d*] [1,3] dioxol-5-*il*) propanoato (LASSINT-21)



LASSINT-21

- **Característica:** óleo amarelo;
- **Rendimento:** 79% (138,47 mg)
- **Tempo reacional:** 2 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 9:1

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 340,37 g/mol
- **R_f:** 0,41 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,05 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,89 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,74 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,03- 5,97 (m, 1 H), 5,96 (s, 2H), 5,17 – 5,09 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,40 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H), 3,02 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 2,87 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,03 (C=O), 150,86 (C), 147,67 (C), 146,00 (C), 138,97 (C), 137,98 (C), 137,05 (CH), 134,22 (C), 122,47 (CH), 121,26 (CH),

120,66 (CH), 116,12 (CH₂), 112,74 (CH), 108,94 (CH), 108,24 (CH), 100,83 (CH₂), 55,77 (CH₃), 40,08 (CH₂), 35,90 (CH₂), 30,74 (CH₂).

4.2.2.9.4 4-Acetamidofenil 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) propanoato (LASSINT-22)



- **Característica:** sólido creme;
- **Rendimento:** 90% (151,71 mg)
- **Tempo reacional:** 2 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 5:5

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 327,33 g/mol
- **Rf:** 0,41 (hexano/acetato de etila 5:5)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,49 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,98 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,74 – 6,70 (m, 1H), 5,96 (s, 2H), 3,00 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,84 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 2,17 (s, 3H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,48 (C=O), 168,24(C=O), 147,76 (C), 146,79 (C), 146,14 (C), 135,58 (C), 133,84 (C), 121,90 (CH), 121,23 (CH), 120,82 (CH), 108,84 (CH), 108,32 (CH), 100,90 (CH₂), 36,25 (CH₂), 30,72 (CH₂), 24,45 (CH₃).

4.2.2.9.5 Metil 2-((3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il) propanoil) oxi) benzoato (LASSINT-23)

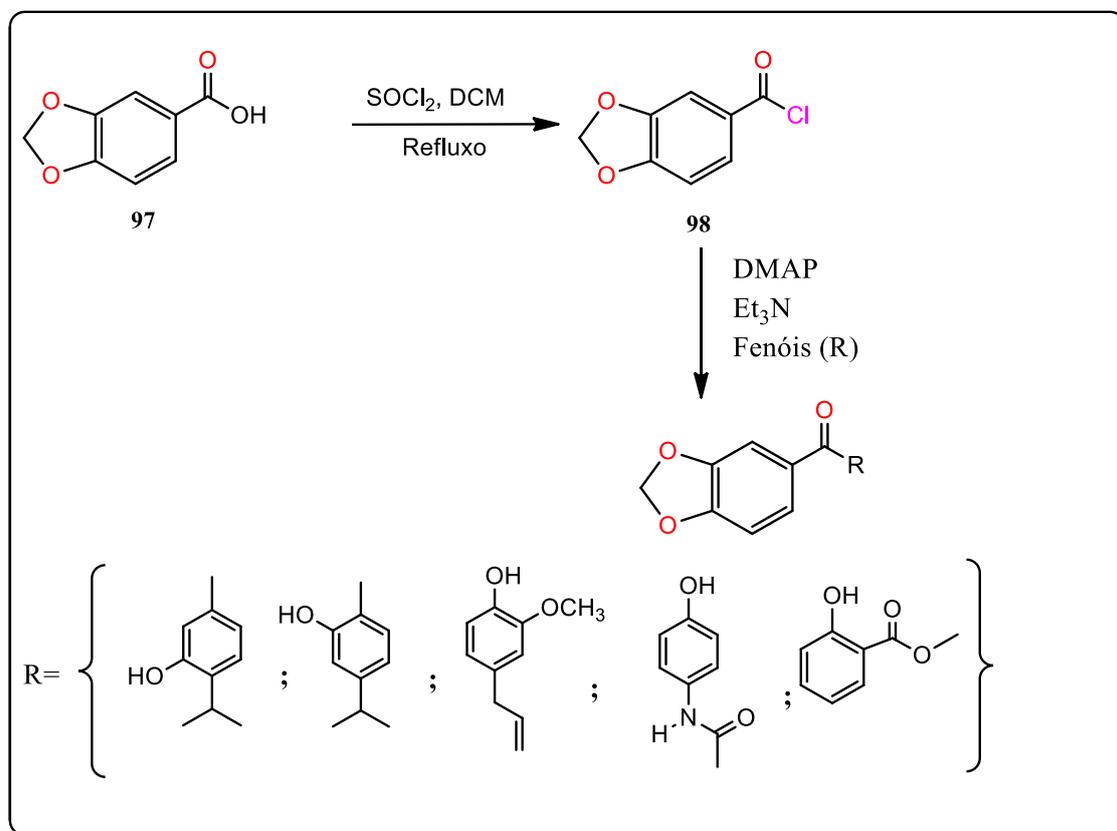


- **Característica:** sólido branco;
- **Rendimento:** 82% (138,54 mg)
- **Tempo reacional:** 3:20 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 8:2

➤ Dados físico-químicos e espectrofotométricos

- **PM:** 328,09 g/mol
- **Rf:** 0,46 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 8,03 (dd, *J* = 7,8, Hz, 1H), 7,57 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,33 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,07 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,80 (s, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,76 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 5,96 (s, 2H), 3,86 (s, 3H), 3,04 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H), 2,94 (t, *J* = 7,7 Hz, 2H)
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 171,44 (C=O), 164,90 (C=O), 150,64 (C), 147,73 (C), 146,05 (C), 134,23 (CH), 133,80 (C), 131,74 (CH), 125,98 (CH), 123,80 (CH), 123,26 (C), 121,26 (CH), 108,94 (CH), 108,29 (CH), 100,86 (CH₂), 52,12 (CH₃), 36,08 (CH₂), 30,38 (CH₂).

4.2.2.10 Procedimento geral para obtenção dos novos ésteres a partir do ácido piperonílico (97).



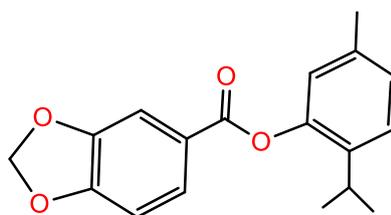
Esquema 15- Esquema do planejamento de síntese para obtenção dos ésteres a partir do ácido piperonílico.

Procedimento experimental:

Em um balão de fundo redondo com capacidade de 10mL foram adicionados 100mg do ácido piperonílico (0,6019 mmol) e 439 μL de cloreto de tionila (SOCl_2) (10 eq) em DCM seco. A mistura reacional foi mantida agitada por 3h sob refluxo. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o excesso de SOCl_2 foi removido sob pressão reduzida. Por fim, uma solução com cada fenol, contendo 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,5 eq) e trietilamina (Et_3N) (3,0 eq) em DCM anidro, foram adicionadas as suas respectivas reações contendo o cloreto de ácido formado em banho de gelo. A reação foi mantida agitada à temperatura ambiente e monitorada por CCD. Após o término de cada reação, a mistura foi extraída com

DCM. A fase orgânica resultante foi seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada sob pressão reduzida. Por fim, as misturas reacionais obtidas foram purificadas por cromatografia em gel de sílica utilizando sistema eluentes próprios. A seguir, será descrito todas as características, químicas e físico-químicas, dos compostos obtidos.

4.2.2.10.1 2-isopropil-5-metilfenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-24)

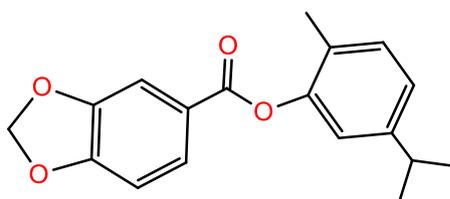


LASSINT-24

- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 95% (170,47 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 298,1205 g/mol
- **Rf:** 0,52 (hexano/acetato de etila 9:1)
- **RMN¹H (400 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,84 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,82 (d, *J* = 1,7 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 1,7 Hz, 2H), 7,23 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H) 7,05 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,91 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,08 (s, 2H), 3,13 – 2,96 (m, 1H), 2,34 (s, 1H), 1,20 (d, *J* = 6,9 Hz, 6H).

- **RMN¹³C (100 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 164,26 (C=O), 152,14 (C), 149,50 (C), 148,11(C), 147,93 (C), 130,90 (CH), 127,38 (C), 126,14 (CH), 124,12 (CH), 123,55 (CH), 119,93 (CH), 109,96 (CH), 108,18 (CH), 101,95 (CH₂), 33,61 (CH), 23,93(CH₃), 15,83 (CH₃).

4.2.2.10.2 5-isopropil-2-metilfenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-25)

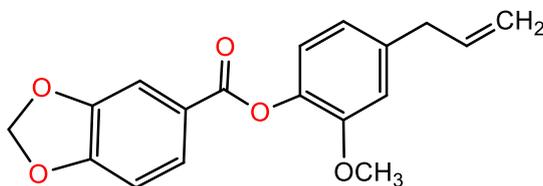


LASSINT-25

- **Característica:** óleo incolor;
- **Rendimento:** 98% (175,85 mg)
- **Tempo reacional:** 3 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 298,1205 g/mol
- **Rf:** 0,42 (hexano/acetato de etila 9,6:0,4)
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 7,88 (dd, J = 8,2, 1,5 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 7,66 (d, J = 1,5 Hz, 1H) 7,21 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,08 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 6,11 (s, 2H), 2,97 – 2,88 (m, 1H), 2,20 (s, 3H), 1,27 (d, J = 6,9 Hz, 6H);
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 164,66 (C=O), 152,11 (C), 148,13 (C), 147,89 (C), 137,14 (C), 136,57 (C), 127,06 (CH), 126,40 (CH), 126,09 (CH), 123,51 (C),

122,86 (CH), 109,89 (CH), 108,17 (CH), 101,92 (CH₂), 27,25 (CH), 23,01 (CH₃), 20,83 (CH₃).

4.2.2.10.3 4-*alil*-2-metoxifenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-26)



LASSINT-26

- **Característica:** cristais brancos;
- **Rendimento:** 78% (146,52 mg)
- **Tempo reacional:** 2:35 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 312,0998 g/mol
- **Rf:** 0,56 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **PF:** 82-83°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,86 (dd, *J* = 8,2, 1,4 Hz, 1H), 7,65 (d, *J* = 1,4 Hz, 1H) 7,07 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,92 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,09 (s, 2H), 6,05 – 5,96 (m, 1H), 5,17 – 5,05 (m, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,43 (d, *J* = 6,7 Hz, 2H).
- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 164,24 (C=O), 152,05 (C), 151,16 (C), 147,83 (C), 138,97 (C), 138,29 (CH), 137,13 (C), 126,28 (CH), 123,47(CH), 122,69 (C),

120,74 (CH), 116,11 (CH₂), 112,90 (CH), 110,14 (CH), 108,10 (CH), 101,89 (CH₂), 55,91 (CH₃), 40,12 (CH₂).

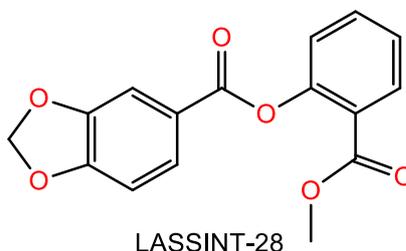
4.2.2.10.4 4-Acetamidofenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-27)



- **Característica:** cristais brancos;
- **Rendimento:** 86% (154,81 mg)
- **Tempo reacional:** 3:10 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) – hexano/acetato de etila 7:3
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 299,0794 g/mol
- **Rf:** 0,49 (hexano/acetato de etila 6:4)
- **PF:** 177-179°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ= 7,84 (dd, *J* = 8,1, 1,2 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 1,2 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,7 Hz, 2H), 6,93 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,10 (s, 2H), 2,20 (s, 3H).

- **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 168,21 (C=O), 164,69 (C=O), 152,26 (C), 147,95 (C), 147,15 (C), 135,58 (C), 126,24 (CH), 123,34 (CH), 122,12 (CH), 120,87 (CH), 109,94 (CH), 108,18 (CH), 101,98 (CH₂), 24,52 (CH₃).

4.2.2.10.5 2-(metoxicarbonil) fenil benzo[d][1,3]dioxolo-5-carboxilato (LASSINT-28)



- **Característica:** cristais brancos;
- **Rendimento:** 81% (146,30 mg)
- **Tempo reacional:** 2:20 h
- **Purificação:** Cromatografia em coluna de sílica gel (SiO₂) - hexano/acetato de etila 9:1
 - Dados físico-químicos e espectrofotométricos
- **PM:** 300,0634 g/mol
- **Rf:** 0,44 (hexano/acetato de etila 8:2)
- **PF:** 88-90°C
- **RMN¹H (600 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 8,08 (dd, J = 8,1, 1,4 Hz, 1H), 7,87 (d, J = 1,4 Hz, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,62 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 7,7 Hz, 1H), 7,24 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,94 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,10 (s, 2H), 3,78 (s, 3H)

• **RMN¹³C (150 MHz, ppm, CDCl₃):** δ = 165,06 (C=O), 164,67 (C=O), 152,21 (C), 150,85 (C), 147,91 (C), 133,78 (CH), 131,87 (CH), 126,36 (CH), 125,99 (CH), 124,00 (CH), 123,54 (C), 123,45 (C), 110,09 (CH), 108,22 (CH), 101,94 (CH₂), 52,18 (CH₃).

4.2.3 Metodologia biológica

4.2.3.1 Avaliação da atividade larvicida

Para o ensaio larvicida, larvas de *Ae. aegypti* entre o terceiro e quarto instar foram uniformemente selecionadas. As larvas foram cedidas de uma colônia de segunda geração (F2), estabelecida no Laboratório de Investigação em Toxicologia do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), de ovos de linhagem *Rockfeller*, doados pelo insetário do Instituto Aggeu Magalhães (IAM)/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ-PE). Os testes larvicidas foram realizados utilizando 20 larvas por repetição, completando 60 larvas por tratamento, totalizando 360 para cada bioensaio. As larvas foram recolhidas com a ajuda de uma pipeta *Pasteur*, coadas, e colocadas em recipientes semi-acrílicos (6,5 cm de altura x 5,0 cm de largura) contendo 19 mL de água destilada em cada recipiente. As larvas foram expostas aos compostos, separadamente, e preparadas em diferentes concentrações de 700-10,93 μ M. Todos os compostos foram solubilizados, separadamente, com uma solução de polissorbato 80 (Tween 80) e água destilada em um volume de 1 mL. Esta mesma proporção foi utilizada para obter soluções de reserva dos grupos de controle negativo, livres dos compostos em estudo. Foi também efetuado um controle positivo, utilizando temefós numa concentração de 0,01 mg mL⁻¹, sob as mesmas condições experimentais. As observações de mortalidade larval foram realizadas às 2, 4, 8, 16 e 24 horas após o início dos experimentos. Os testes foram efetuados em triplicatas, para cada composto obtido.

4.2.3.2 Avaliação de toxicidade aguda

A toxicidade aguda e a Dose Letal 50 (DL₅₀) serão determinadas de acordo com as diretrizes da Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD 423/2001), usando os guias de classificação toxicológica. As diretrizes determinam iniciar os bioensaios com as soluções das substâncias preparados na

dose máxima, preconizada de 2000 mg.kg⁻¹, caso não haja mortalidade ou sinais clínicos intensos nos animais, recomenda-se a não utilização das demais doses (300, 50 e 5 mg kg⁻¹), mas indica a repetição da dose inicial utilizada.

Os bioensaios foram realizados separadamente, utilizando apenas a piperina **1**, tetraidropiperina **91** e o 3,4- (metilenodioxo) ácido cinâmico **94**. Para cada composto, foi utilizado seis camundongos fêmeas Swiss albino (*Mus musculus*), três animais para o grupo controle e três animais para a substância a ser analisada. Foram utilizados animais pesando entre 25 e 28 g e com idade aproximada a 60 dias, totalizando 53 animais. Para cada composto, os camundongos foram marcados, pesados e separados em dois grupos, um grupo teste e um grupo controle, cada grupo contendo três animais.

Dessa forma, o primeiro grupo de animais, de cada composto foi administrado oralmente (gavagem) com a dose de 2000 mg.kg⁻¹ da amostra, e o segundo grupo foi administrado com a mesma dose de 2000 mg.kg⁻¹ da mesma amostra, porém em dias diferentes. Os animais do grupo controle receberam pela via oral apenas solução estoque, isento dos compostos selecionados para teste. Cada grupo de animais foi mantido separado em gaiolas de polipropileno, em condições de iluminação controlada com fotoperíodo de 12 horas, temperatura de 22 ± 2 °C e umidade entre 50 e 55%. A alimentação padrão para roedores foi suspensa por quatro horas antes dos experimentos e retornada três horas após os bioensaios, enquanto a água manteve-se disponível *ad libitum*.

As respostas comportamentais manifestadas pelos camundongos, incluindo os sinais clínicos estimulantes e depressores relacionados ao Sistema Nervoso Central, bem como os efeitos relacionados ao Sistema Nervoso Autônomo foram avaliados. Essas respostas foram observadas individualmente durante 60 min após as administrações dos compostos. Além disso, os camundongos foram observados e pesados a cada 24 horas durante 14 dias. Após 15 dias do início da toxicidade aguda dos compostos selecionados para estudo, os camundongos foram sacrificados e o tecido sanguíneo de cada animal foi coletado e armazenado em dois tubos: um contendo o anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e outro sem. Os órgãos foram removidos (fígado, rins, pulmões e baço) pesados e submetidos às análises histológicas. Para as análises hematológicas, um analisador automático e microscopia de luz foram usados para avaliar diferentes parâmetros hematológicos (número de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular

médio, corpuscular média hemoglobina, concentração de hemoglobina, massa corpuscular, e análise de leucócitos). Em relação às análises bioquímicas, as amostras de sangue serão avaliadas quanto aos parâmetros de albumina, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, alcalina fosfatase, gama glutamil transferase, níveis de colesterol, triglicerídeos, ureia e creatinina.

4.2.3.3 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm SD e analisados pelo teste t da ANOVA seguido pelo teste de Tukey com p definido em 0,05, utilizando o GraphPad PRISM®. Os valores de concentração letal (LC₅₀ e LC₉₀) foram determinados pela análise Probit utilizando o software PoloPlus.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ISOLAMENTO DA PIPERINA

Como mencionado, utilizamos o método de extração e purificação simultânea para isolarmos a piperina. Este método nos proporcionou um rendimento significativo, economia de solventes e tempo, no processamento. Constatamos que na literatura são descritos vários métodos para extrair a piperina, dos mais complexos aos mais simples (KANAKI, PADH, RAJANI, 2008; GORGANI, et al., 2017; TIWARI, MAHADIK, GABHE et al., 2020). No entanto, nota-se que sempre após a extração, é necessário fazer exaustivas purificações, devido principalmente, há um óleo amarelado junto aos cristais da piperina. Todavia, o método aplicado neste trabalho, além de ser econômico, nos fornece de fato a piperina pura sem precisar realizar quaisquer procedimentos subseqüente, além de um excelente rendimento, chegando a 2,65%.

Após obtenção do composto puro, realizamos espectroscopia de RMN ^1H , e os resultados demonstraram sinais característicos do composto, que podem ser observados na Tabela 3.

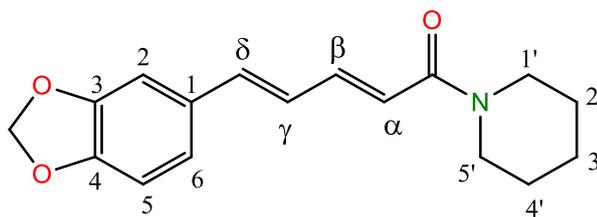


Tabela 3- Dados espectrométricos da piperina 1.

Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)
1'	3,56 (m, 2H)	43,1 (CH ₂)
2',3' e 4'	1,84- 1,54 (m, 6H)	24,5; 25,5; 26,6 (CH ₂)
5'	-----	45,8 (CH ₂)
C=O	-----	165,4 (C)
α	6,43 (d, $J=14,4$, 1H)	120,0 (CH)
β	7,39 (ddd, $J= 2,0, 8,4,14,4$ 1H)	142,4 (CH)
γ	6,76 (d, $J= 14,4$, 1H)	125,4 (CH)
δ	6,75 (dd, $J=14,4, 8,4$, 1H)	138,1 (CH)
1	-----	131,1 (C)
2	6,97 (d, $J= 2,0$, 1H)	105,6 (CH)
3 e 4	-----	148,1 e 148,2 (C)
5	6,73 (d, $J=8,4$, 1H)	108,4 (CH)
6	6,88 (dd, 8,4, 2,0, 1H)	122,4 (CH)
OCH ₂ O	5,96 (s, 2H)	101,2 (CH ₂)

Os sinais importantes a serem destacados (δ , ppm) são os referentes aos hidrogênios vinílicos ($\text{H}\alpha$ - $\text{H}\delta$), que compõem a cadeia alifática deste composto, onde o $\text{H}\alpha$ encontra-se em 6,43 (d, $J= 14,4$, 1H), o $\text{H}\beta$ em 7,39 (ddd, $J= 2,0, 8,4, 14,4$ Hz, 1H), o $\text{H}\gamma$ em 6,76 (d, $J= 14,4$ Hz, 1H) e por fim, o $\text{H}\delta$ em 6,75 (dd, $J=14,4, 8,4$, 1H), pelo qual podemos atribuir configuração *E,E*. Esses dados corroboram com os encontrados na literatura (KANAKI et al., 2008).

5.1.1 Hidrogenação catalítica da piperina

Como parte do estudo deste trabalho, realizamos a hidrogenação catalítica da piperina e ao analisarmos o espectro de RMN ^1H , foi possível notar o aparecimento de sinais referentes a esta hidrogenação, pelo qual estão destacados em vermelho na tabela 4.

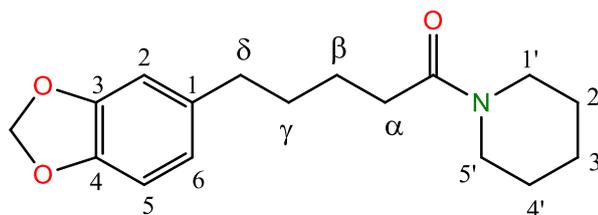


Tabela 4- Dados espectrométricos da tetraidropiperina **91**.

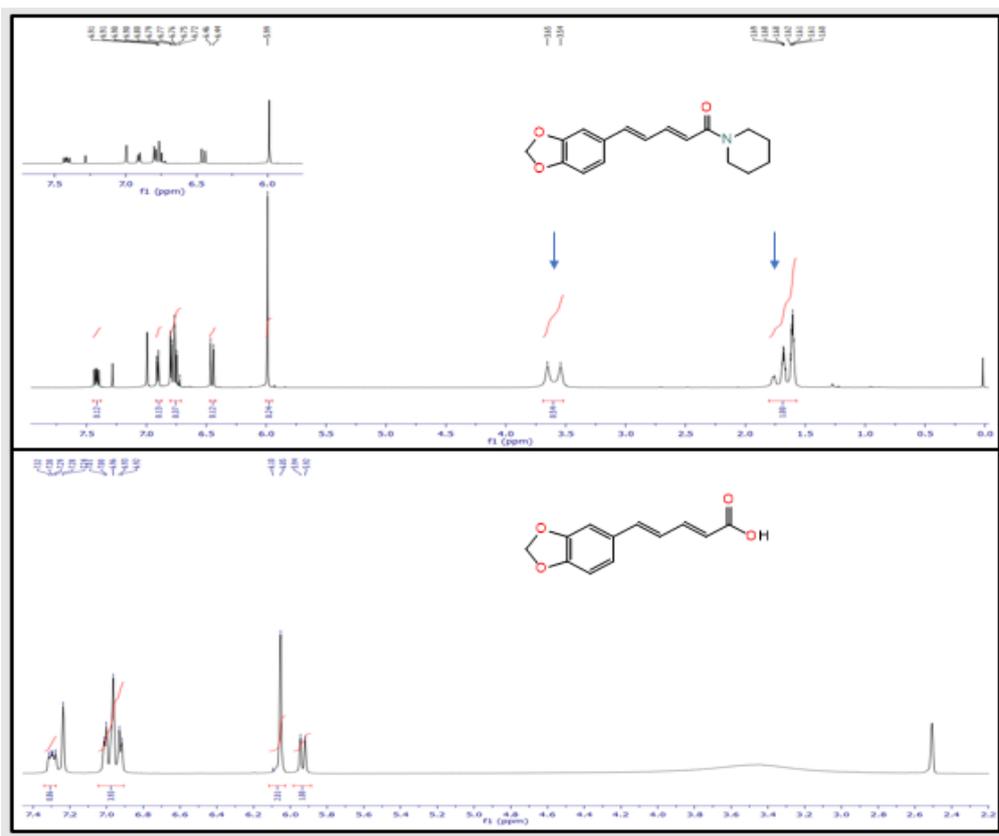
Posição	δ ^1H (ppm); J (Hz)	δ ^{13}C (ppm)
1'	3,55 (m, 2H)	42,6 (CH ₂)
2',3' e 4'	1,84- 1,54 (m, 6H)	24,5; 25,5; 26,6 (CH ₂)
5'	3,38 (m, 2H)	46,7 (CH ₂)
C=O	-----	171,3 (C)
α	2,34 (t,7,0 2H)	35,4 (CH ₂)
β	1,62 (m, 2H)	26,5 (CH ₂)
γ	1,62 (m, 2H)	31,4 (CH ₂)
δ	2,57 (t,7,0, 2H)	33,2 (CH ₂)
1	-----	136,1 (C)
2	6,68 (s, 1H)	108,0 (CH)
3	-----	147,8 (C)
5	6,63 (d, 8,0, 1H)	108,8 (CH)
6	6,72 (d,8,0, 1H)	121,1 (CH)
OCH ₂ O	5,92 (s, 2H)	100,6 (CH ₂)

Além disso, para confirmar ainda mais esta redução, é perceptível no espectro de RMN ^{13}C -APT da piperina, a presença de 7 sinais referente aos CH (sinal positivo), sendo 4 sinais referentes aos da cadeia alifática e 3 sinais de CH do anel aromático. Quando analisamos o espectro da tetraidropiperina, notamos que aparecem apenas 3 sinais de CH (sinal positivo), que é referente aos carbonos do anel aromático e o aparecimento de 4 sinais de CH₂ na região de 26-35 ppm, ao qual condiz com os carbonos saturados da cadeia alifática. Portanto, é possível prever que houve redução da piperina, para a obtenção da tetraidropiperina.

5.2 OBTENÇÃO DO ÁCIDO PIPÉRICO POR HIDRÓLISE BÁSICA

A realização desta síntese, foi baseada na metodologia descrita por (IKAN, 1991), que permite obter o ácido pipérico com rendimentos significativos. Para obtenção deste composto utiliza-se uma solução alcóolica de KOH 20%, pelo qual irá viabilizar a hidrólise da piperina, e por fim, é necessário a adição de HCl concentrado até atingir pH 3, para protonação do carboxilato formado em solução básica. Após constatação do término da síntese por CCD, através de recristalização em etanol, foi capaz de obter 95% do produto puro, pelo qual foi caracterizado por espectroscopia de RMN ^1H e ^{13}C .

Analisando tanto o espectro de RMN ^1H da piperina, quando do ácido pipérico (LASSINT-1), nota-se que houve o desaparecimento de sinais na região de aproximadamente 1,55-3,55 ppm. Esses sinais presentes no espectro da piperina, referem-se aos hidrogênios do anel piperidina, como mostrado no espectro abaixo (Espectro 2).



Espectro 2- Espectro de RMN ^1H da piperina e ácido pipérico. As setas em azul, destacam os sinais referentes ao hidrogênio do anel piperidina, presente na estrutura da piperina.

5.3 ENSAIOS DE SÍNTESE

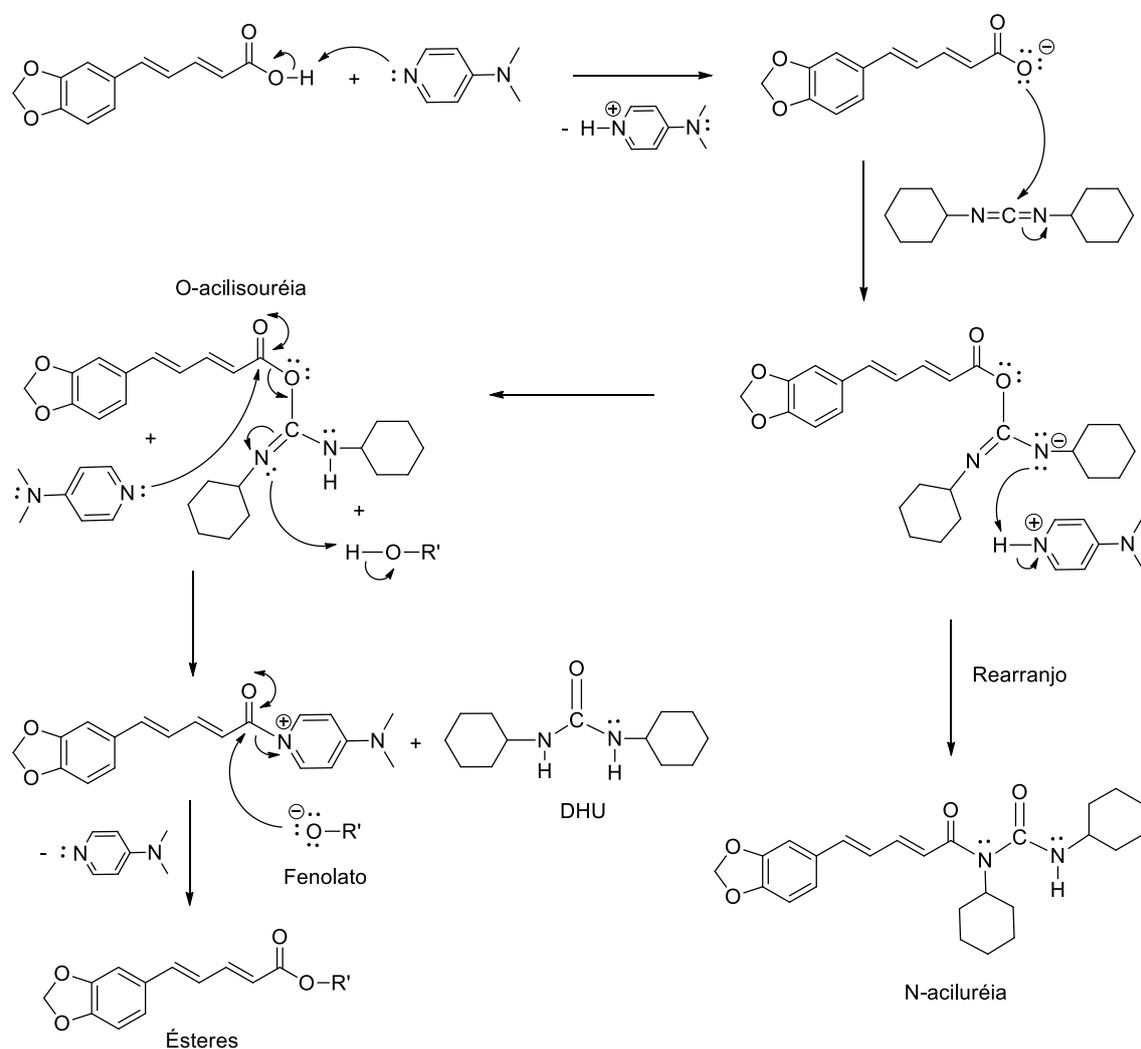
Como parte do estudo deste trabalho, também realizamos a síntese para obtenção de amidas e ésteres. Sabendo que a piperina apresenta atividade larvicida contra as larvas do *Ae. aegypti*, nosso objetivo também foi investigar, baseado na estrutura química desse alcaloide natural, se a diminuição da cadeia alifática, assim como a presença de insaturações ou ausência, teria alguma influência na atividade biológica proposta neste trabalho. Além disso, se a adição de fenóis bioativos contribuiria também para a atividade biológica.

As amidas sintetizadas, LASSINT-29-31 foram obtidas a partir dos ácidos 94, LASSINT-18 e 97, respectivamente. A amidação ocorreu por via cloreto de ácido, com rendimentos significativos. A caracterização estrutural dos compostos LASSINT-29-31 se deu por RMN ^1H e ^{13}C . A análise dos espectros, revelaram que todas as amidas planejadas e sintetizadas, tiveram suas estruturas confirmadas, principalmente por apresentar sinais entre 3,63-1,86 ppm, referente aos hidrogênios do anel piperidina.

5.3.1 Obtenção dos ésteres por esterificação de Steglich

Inicialmente, realizamos um método conveniente para obtenção de ésteres, que é pela esterificação de Steglich. Este método foi desenvolvido por Wolfgang Steglich e Bernhard Neises em 1978, comumente utilizada para esterificações e amidações. A saber, utilizamos o DCC (diciclohexilcarbodiimida), que atua como reagente de acoplamento e o DMAP (4-dimetilaminopiridina) como catalisador nucleofílico. Geralmente, o solvente mais comumente utilizado neste tipo de reação é diclorometano e ocorrem por meio de agitação à temperatura ambiente (STEGLICH, NEISES, 1978; GILLES et al., 2015). O DCC e o ácido utilizado, podem formar o intermediário O-acilisourea. Posteriormente, o DMAP por ser um nucleófilo mais forte que o álcool, reage com o intermediário formado gerando uma amida reativa. Para a formação do éster desejado, a O-acilisourea reage com o álcool e por

consequente forma um éster e a diciclohexilureia estável (DHU), como pode ser observado no mecanismo de reação abaixo (Esquema 16). Ainda assim, um intermediário formado, pode por rearranjo, formar outro produto intramolecular, o N-acilureia.



Esquema 16- Mecanismo de reação para a formação de ésteres, através da esterificação de Steglich.

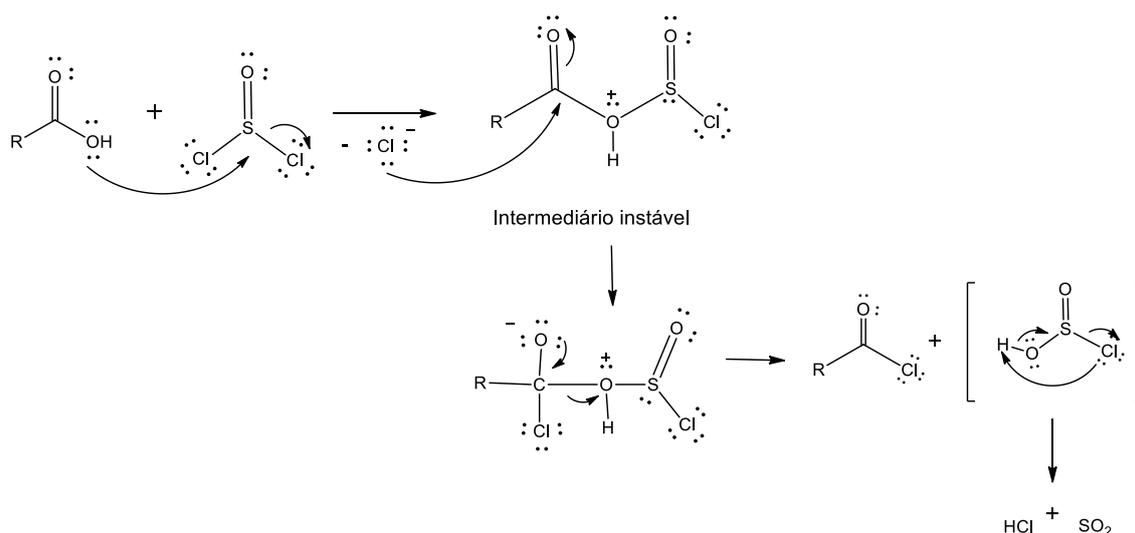
Para obtenção do LASSINT-2, aplicamos esta metodologia (DCC/DMAP), porém não foi favorável. Diante das análises de RMN ^1H , observamos a formação do subproduto N-acilureia, e por consequência gerou rendimento muito baixo e/ou a não formação do produto esperado. Além, do DHU que é um subproduto altamente difícil de ser removido das reações, há a possibilidade de formação intramolecular

deste outro subproduto que isolamos. Portanto, ainda que haja a formação do produto esperado, o rendimento deve ser irrisório, por isso decidimos mudar a metodologia, utilizando a esterificação via cloreto de ácido.

5.3.2 Obtenção dos ésteres por esterificação via cloreto de ácido

O cloreto de tionila (SOCl_2) é bastante utilizado na síntese orgânica, como ativador de ácidos carboxílicos, com a finalidade de formar o cloreto de ácido, sem a formação de subprodutos, tendo como etapa irreversível a formação de compostos gasosos como dióxido de enxofre (SO_2) e ácido clorídrico (HCl) que são liberados durante a reação.

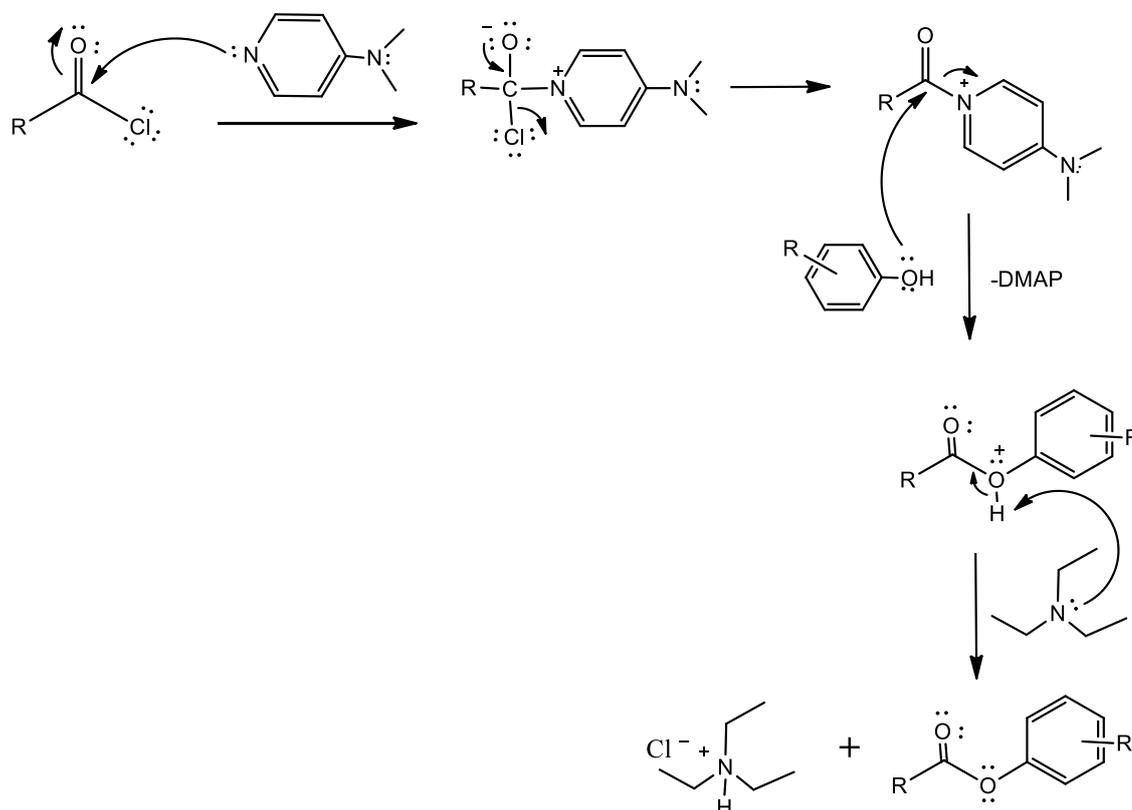
A etapa primordial desta reação, se dá pela formação do intermediário instável pelo qual é protonado, o tornando altamente eletrófilo. Desse modo, esse intermediário fica muito susceptível ao ataque nucleofílico, até mesmo por um nucleófilo fraco, como é o caso do cloreto que se forma no meio reacional. Por sua vez, após o ataque do cloreto à carbonila do intermediário, há a formação do cloreto de acila, dióxido de enxofre e ácido clorídrico (Esquema 17).



Esquema 17- Mecanismo de reação para a formação do cloreto de acila a partir dos ácidos utilizados neste trabalho.

Após obtenção do cloreto de acila desejado, reagimos os respectivos fenóis bioativos em condições reacionais apropriadas para a formação dos ésteres

planejados. No Esquema 18, encontra-se o mecanismo de reação para a formação dos ésteres a partir do cloreto de ácido obtido.



Esquema 18- Mecanismo de reação para a formação dos ésteres a partir do cloreto de ácido formado.

A reação do cloreto de acila formado com os fenóis bioativos, ocorre rapidamente na ausência de um catalisador ácido. É bastante comum utilizar catalisador nucleofílicos neste tipo de reação, como a piridina e no nosso caso, o DMAP. Porém, é sabido que o DMAP por exemplo, reage também com o cloreto de acila formando um intermediário ainda mais reativo frente a um nucleófilo, do que o próprio cloreto de acila, como pode ser observado no mecanismo de reação representado no Esquema 18. Isto posto, todos os ésteres e amidas foram sintetizados aplicando esta metodologia, constatando que todas as reações, apresentaram rendimentos significativos variando de 60 a 98%, tendo em vista que foi uma metodologia eficiente, simples e limpa para a obtenção dos compostos planejados.

5.4 OBTENÇÃO DE HIDROGÊNIO ATRAVÉS DA REAÇÃO ENTRE O ALUMÍNIO E SOLUÇÃO AQUOSA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO (NaOH)

Na literatura, há várias pesquisas voltadas para produção de H₂ através de alguns metais como o magnésio, zinco e alumínio. Desses metais, nós utilizamos o alumínio por se tratar de um metal que pode ser encontrado facilmente e em boa quantidade, além de ser matéria prima na fabricação de vários produtos e embalagens. Sobretudo, apresenta uma outra vantagem, pois o H₂ obtido encontra-se com alto teor de pureza, aproximadamente 98%. (WANG, et al, 2009).

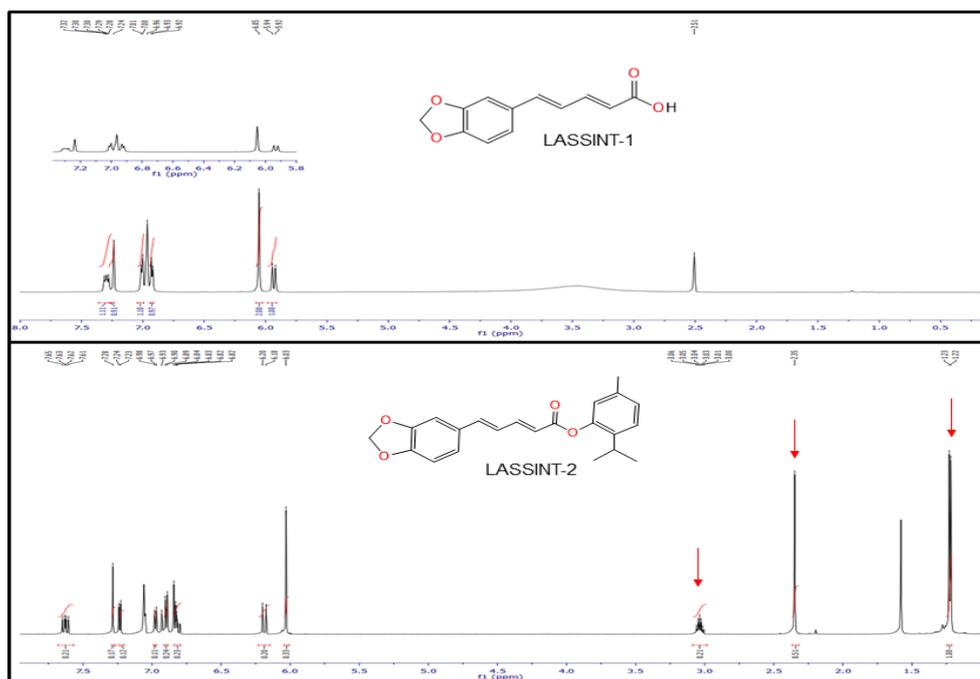
Na produção de H₂, nós utilizamos folhas de alumínio para embalagens, os quais foram triturados para aumentar a sua superfície de contato, e conseqüentemente produzir de forma eficiente um volume de H₂ necessário para ocorrer a redução, pelo qual foi armazenado em um balão (Figura 26). Para a produção de H₂ foi utilizada uma solução aquosa de NaOH, pelo qual em contato cuidadosamente com o alumínio triturado, os íons alcalinos dessa solução penetram a camada do óxido de alumínio, acarretando a degradação do mesmo mais rapidamente através da corrosão em temperatura ambiente. Ao formar o H₂ pretendido, o mesmo entra em contato com cloreto de cálcio afim de remover toda umidade produzida neste processo, e é armazenado em um balão por intermédio de uma mangueira, e por fim é direcionado a mistura reacional. Os compostos submetidos a hidrogenação catalítica, com esta metodologia empregada foram formados com rendimentos significativos e pudemos confirmar suas estruturas através de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H e ¹³C.

5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS OBTIDOS

5.5.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear ¹H e ¹³C

Os espectros de RMN tanto de ¹³C quanto de ¹H da série dos derivados do ácido pipérico, foram comparados com o composto de partida (LASSINT-1). Comparando o espectro de RMN¹H do ácido pipérico após a reação com o timol **79**, notamos o aparecimento de sinais característicos. Por exemplo, apareceu um duplete em 1,21 ppm referente aos hidrogênios do grupo isoprila presente na estrutura do timol, pelo qual acopla com o hidrogênio metínico. Em 2,33 ppm temos um simpleto referente aos hidrogênios da metila ligada ao anel aromático. E por fim,

um sinal muito característico é um hepteto em 3,00 ppm referente ao acoplamento do hidrogênio metínico com os hidrogênios do grupo isoprila (Espectro 3). Os demais sinais são da estrutura do ácido pipérico e do anel aromático do timol, o que configura que houve a adição do fenol bioativo a molécula.



Espectro 3- Espectro de RMN ¹H comparativo entre o LASSINT-1 e o produto de síntese LASSINT-2.

Vale salientar que, o timol **79** e o carvacrol **80**, são isômeros de posição. Em uma análise mais detalhada, notamos que os compostos LASSINT-2 e LASSINT-3 apresentam pequenas diferenças em deslocamentos químicos específicos. No espectro de RMN ¹H do LASSINT-2 os hidrogênios do grupo metila ligado ao anel aromático, encontram-se em 2,15 ppm e do LASSINT-3 (com o carvacrol) em 2,33 ppm. Também podemos observar uma diferença, no deslocamento químico do carbono destes mesmos hidrogênios, que por sua vez do LASSINT-2 encontra-se em 15,3 ppm e do LASSINT-3 em 21,3 ppm.

Nos demais compostos, podemos observar sinais característicos da adição desses fenóis bioativos, quando comparado aos compostos de partida. Por exemplo, compostos contendo o eugenol como o reagente, é possível notar o aparecimento de sinais como um duplete em 3,0 ppm referente ao hidrogênio do CH₂ que acopla

com o hidrogênio metínico, próximo a ele (β). Em quase 4,0 ppm encontra-se um simpleto referente aos hidrogênios da metoxila ligada ao anel aromático do eugenol. Por fim, encontram-se dois multipletos entre 5,0-6,0 ppm, referentes aos hidrogênios vinílicos da cadeia lateral com os três átomos de carbono, além dos novos sinais na região dos aromáticos, que corroboram para a adição deste fenol ao respectivo ácido.

Nos ácidos que utilizamos o paracetamol como reagente, nota-se um sinal em 2,0 ppm mais ou menos, referente a metila do grupo amida ligada ao anel aromático. Além disso, os dois dupletos na região aromática, confirmando essa adição. No caso do salicilato de metila, também se nota um simpleto na região de 4,0 ppm condizendo a metila do grupo éster ligado ao anel aromático. Assim como, os sinais referentes ao anel aromático. Todos esses detalhes podem ser analisados nos espectros adicionados no anexo. Portanto, os compostos planejados e sintetizados, todos foram caracterizadas e confirmadas suas estruturas através das técnicas disponíveis.

5.6 ATIVIDADE BIOLÓGICA

Para facilitar a compreensão, todos os dados obtidos para os compostos sintetizados, foram divididos por série, pelo qual estão apresentados nas sessões a seguir.

5.6.1 Avaliação da atividade larvicida

5.6.1.1 Série dos derivados amídicos 1,3-benzodioxolas

As amidas e seus derivados representam uma classe muito importante de compostos de um ponto de vista científico, destacando-se por apresentar diversas propriedades biológicas, especialmente a atividade inseticida. Dentre a diversidade vegetal existente, estudada com efeito larvicida contra o mosquito *Ae. aegypti*, a família Piperaceae destaca-se como uma das mais investigadas. O gênero *Piper* tem sido evidenciado no campo da química por conter compostos bioativos com potencial biotecnológico para a saúde e a agricultura. (NAHAK & SAHU, 2011). Estudos realizados com piperina demonstram a importância desta amida natural,

uma vez que exibe bioatividades promissoras (UI HAQ et al., 2020). No que diz respeito as investigações sobre a atividade inseticida da piperina, alguns estudos revelam o seu potencial contra cepas resistentes, causando toxicidade e mortalidade em *Anopheles gambiae* e *Anopheles funestus* (SAMUEL et al., 2016), além de ser ativa contra *Ae. aegypti* (CUSTÓDIO et al., 2016). Sabendo do potencial inseticida da piperina, realizamos a síntese de mais quatro derivados 1,3-benzodioxolas amídicos, baseados na estrutura química da piperina, na intenção de investigar se mudanças na cadeia alifática teria alguma influência na atividade biológica (Figura 27).

De acordo com a concentração letal (CL) as amidas **1**, **91** e LASSINT-29 foram as mais ativas da série. Entretanto, desses três compostos apenas o **1** e **91** foram os mais tóxicos frente as larvas de *Ae. aegypti*. Contudo, o composto **91** mostrou LC₅₀ e LC₉₀ mais baixos quando comparados a piperina, sendo então 54,52 e 151,12 µM, respectivamente. O composto **1** mostrou LC₅₀ e LC₉₀ de 78,85 e 228,98 µM, respectivamente. Diante do exposto, o composto **91** é o mais promissor desta série de amidas.

Tabela 5- Concentrações letais 50 e 90 dos compostos **1**, **91**, e LASSINT-29, contra larvas de *Aedes aegypti*, em 24 horas de exposição.

Compostos	Concentração letal 50 e 90 (µM)			
	LC ₅₀	Intervalo de confiança	LC ₉₀	Intervalo de confiança
1	78,85	73,81-84,16	228,98	208,09-255,03
91	54,52	50,98-58,19	151,12	137,61-168,12
LASSINT-29	170,74	158,09-184,67	692,42	606,35-805,61

Diante dos resultados obtidos, as amidas **1** e **91**, foram ainda mais ativas nas concentrações mais baixas. Analisando a estrutura química das amidas, podemos prever que a cadeia alifática pode ser a região toxicofórica da molécula, ou seja, quanto maior o espaçador, a atividade biológica é otimizada. Além disso, nota-se que, neste caso a ausência da insaturação contribuiu para aumentar a atividade biológica (Figura 27).

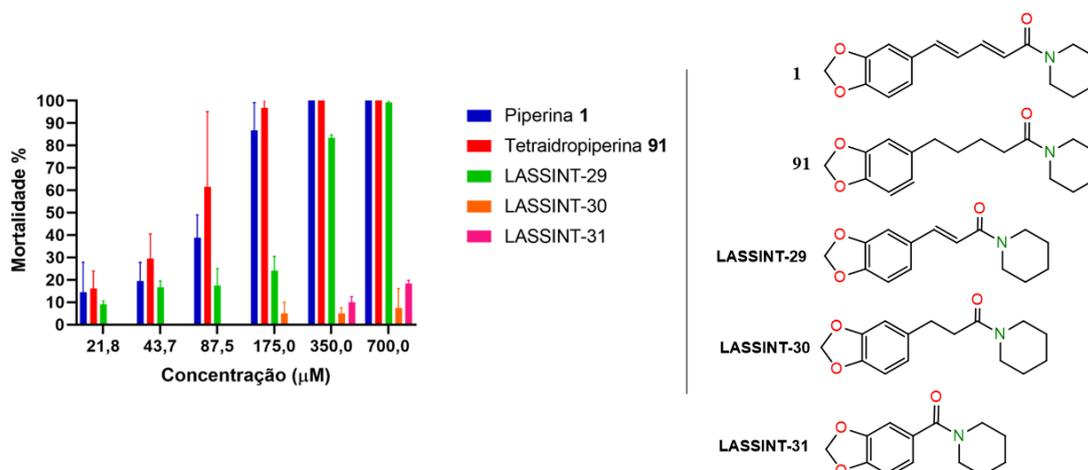


Figura 27- Dados obtidos das amidas sintetizadas em todas as concentrações testada (μM) em 24h de exposição.

A piperina **1** e a tetraidropiperina **91** foram as mais ativas da série. No entanto, a tetraidropiperina se mostrou um pouco mais ativa. Tanto a piperina quanto a tetraidropiperina, quando exposta as larvas de *Ae. aegypti* por 24h, nas concentrações de 700 e 350 μM , causaram 100% da mortalidade larval. A tetraidropiperina na concentração de 175,0 μM causou morte mais de 90% das larvas, e na de 87,5 μM mais de 50%, sendo estes resultados maiores que o da piperina (Figura 27).

Diante desses resultados, pode ser observado que ambos os compostos são ativos frente as larvas de *Ae. aegypti*. No entanto a tetraidropiperina apresenta-se mais ativa que a piperina, quando comparadas ao tempo de exposição. A exposição a tetraidropiperina causou morte de 100% das larvas de quarto instar de *Ae. aegypti* no período de 8 horas, na concentração de 700,0 μM . Já a piperina teve morte de mais de 70% das larvas, como pode ser observado na tabela 6. Em suma, a tetraidropiperina apresenta-se mais ativa significativamente nas três primeiras concentrações (Tabela 6).

Tabela 6- Mortalidade (%) larval em 8h de exposição aos compostos **1** e **91**.

Concentrações (μM)	Mortalidade em 8h de exposição	
	Piperina 1	Tetraidropiperina 91
700,0	80,5 \pm 4,8 ^a	100,0 \pm 0,0 ^b
350,0	60,5 \pm 1,9 ^a	75,0 \pm 4,4 ^b
175,0	33,8 \pm 2,8 ^a	39,4 \pm 3,4 ^b
87,5	4,33 \pm 1,1 ^a	8,3 \pm 3,3 ^a
43,7	1,11 \pm 0,0 ^a	16 \pm 0,0 ^a
21,8	0,00	0,00

Os dados são mostrados como média \pm SD e analisados pela ANOVA seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Os números seguidos por diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

A tetraidropiperina **91** é um análogo sintético da piperina, apresentando diferença estrutural em relação a cadeia carbônica, sendo então saturada. Como mencionado anteriormente, em termos comparativos, a tetraidropiperina apresenta-se mais tóxica as larvas do *Ae. aegypti*. Relatos na literatura relacionados a essa amida sintética evidencia sua presença em uma formulação com atividade inseticida. Constatou-se o efeito inseticida dessa amida frente a duas espécies de dípteros, como a *Lucilia cuprina* e *Musca domestica*, pelo qual dentre as amidas testadas a tetraidropiperina apresentou-se como a mais ativa desta classe (BARBIERI et al., 2007).

5.6.1.2 Série dos derivados ácidos de 1,3-benzodioxolas

Como mencionado, a função amida é importante para a atividade inseticida, além de serem composta por esse núcleo, partilham uma subunidade de 1,3-benzodioxola que parece ser um grupo farmacóforo promissor para essa bioatividade. Sabendo disso, decidimos utilizar a subunidade 1,3-benzodioxola do LASSINT-1 (ácido pentadienoico) como base estrutural para planejar os derivados ácidos. A fim de avaliar a modificação do espaçador na atividade inseticida, bem como o encurtamento da cadeia de carbono e a presença/ausência de duplas ligações (Figura 28).

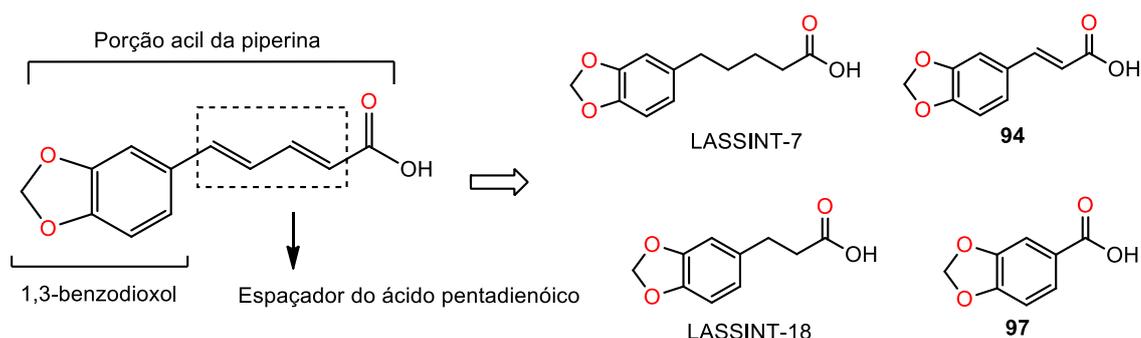


Figura 28- Estruturas químicas de derivados ácidos de 1,3-benzodioxolas.

Os resultados encontrados neste trabalho, mostrou a importância da cadeia alifática nos efeitos tóxicos contra as larvas do *Ae. aegypti*. A redução da insaturação entre o anel 1,3-benzodioxola e a função ácida (do LASSINT-1 e **94**) resultou na diminuição considerável da atividade e inatividade dos compostos saturados (LASSINT-7 e LASSINT-18). Por outro lado, o encurtamento da cadeia de carbono do ácido pipérico, em comparação ao composto **94**, insaturado, aumentou a atividade larvicida. Ao mesmo tempo, a eliminação da cadeia espaçadora também resultou em um composto inativo **97** (Figura 29).

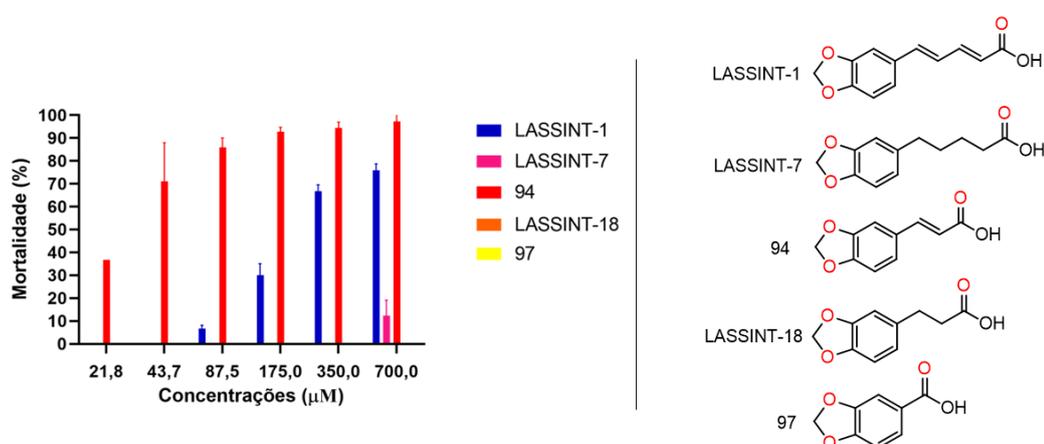


Figura 29- Dados obtidos dos ácidos sintetizadas em todas as concentrações testada (μM) em 24h de exposição.

Para o composto **94**, um período de exposição mais curto as larvas de *Ae. aegypti*, revelou a sua capacidade de matar as larvas após 1h de contato. Este efeito foi mantido até 24 h, como se mostra na tabela 7. A porção do 1,3-dioxola no anel aromático desempenha um papel fundamental na atividade larvicida. Outras moléculas contendo a subunidade 1,3-benzodioxola foram relatadas pela sua atividade inseticida, tais como a asaricina, safrol, e os seus isómeros, mostrando que tanto os substituintes 3,4-metilenodioxo no anel aromático como o grupo vinil na cadeia alifática são cruciais para a atividade biológica (BHARDWAJ et al., 2010; HEMATPOOR et al., 2016).

Tabela 7- Mortalidade por tempo de observação do composto **94** exposto as larvas do *Ae. aegypti*.

Concentrações (μM)	Mortalidade (%)					
	1 h	2 h	4 h	8 h	16 h	24 h
700,0	73,9 \pm 8,2 ^a	91,7 \pm 6,0 ^a	97,2 \pm 4,8 ^a	97,2 \pm 4,8 ^a	97,2 \pm 4,8 ^a	1000 \pm 0,0 ^a
350,0	72,8 \pm 1,0 ^a	88,9 \pm 4,8 ^a	91,7 \pm 0,0 ^{ab}	91,7 \pm 0,0 ^{ab}	91,7 \pm 0,0 ^a	91,7 \pm 0,0 ^{ab}
175,0	71,7 \pm 5,8 ^a	83,3 \pm 6,0 ^{ab}	86,1 \pm 5,8 ^{ab}	86,1 \pm 7,8 ^{ab}	91,1 \pm 4,8 ^a	91,1 \pm 4,8 ^{ab}
87,5	67,2 \pm 10,7 ^a	78,9 \pm 13,6 ^{ab}	81,1 \pm 16,2 ^{ab}	81,1 \pm 17,3 ^{ab}	82,8 \pm 13,5 ^{ab}	86,7 \pm 11,7 ^{ab}
43,7	49,4 \pm 19,7 ^a	57,5 \pm 21,8 ^{bc}	61,7 \pm 17,4 ^b	66,7 \pm 16,9 ^b	68,3 \pm 16,4 ^b	71,1 \pm 16,9 ^b
21,8	21,7 \pm 5,8 ^b	27,8 \pm 3,8 ^c	31,1 \pm 2,5 ^c	31,0 \pm 1,7 ^b	34,4 \pm 1,9 ^c	36,7 \pm 0,0 ^c
10,9	5,00 \pm 2,5 ^c	10,0 \pm 2,5 ^d	13,3 \pm 3,8 ^d	16,6 \pm 2,8 ^c	16,6 \pm 2,8 ^d	19,1 \pm 3,8 ^d
temefós	100,0 \pm 0,0	-	-	-	-	-

Os dados são mostrados como média \pm SD e analisados pela ANOVA seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. Os números seguidos por diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

5.6.1.3 Série dos derivados ésteres 1,3-benzodioxolas

Por fim, realizamos a síntese de ésteres utilizando fenóis bioativos como timol **79**, carvacrol **80**, eugenol **74**, paracetamol **99** e salicilato de metila **100** com os ácidos acima citado. Inicialmente testamos os fenóis isoladamente, para investigar suas atividades antes da adição aos ácidos. Embora alguns já serem descritos por apresentarem atividade larvicida. Os resultados obtidos demonstraram que apenas o

timol **79**, carvacrol **80** e eugenol **74** tiveram atividade expressiva contra as larvas do *Ae. aegypti* na concentração de 700,0 μM em 24 h de exposição (Figura 30).

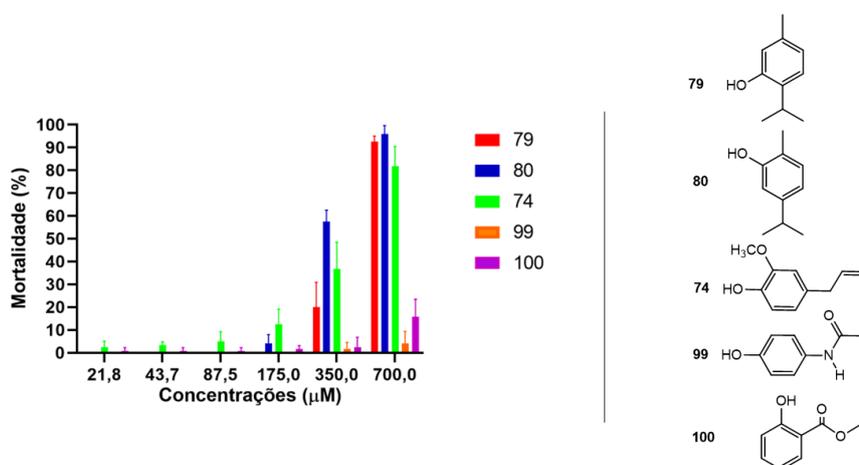


Figura 30- Dados obtidos dos fenóis bioativos em todas as concentrações testada (μM) em 24 h de exposição.

Os resultados dos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do ácido pentadienoico (LASSINT-1), também foram reunidos e comparados com o ácido de partida. Sabendo disso, pode ser observado que os derivados contendo timol **79** e carvacrol **80**, foram os mais ativos na concentração de 700,0 μM . Porém, quando comparamos esses resultados, com o composto de partida, o LASSINT-1, nota-se que o ácido sem modificação foi mais ativo que seus derivados. Podemos concluir, neste caso, que a função ácida pode estar contribuindo para a atividade biológica (Figura 31).

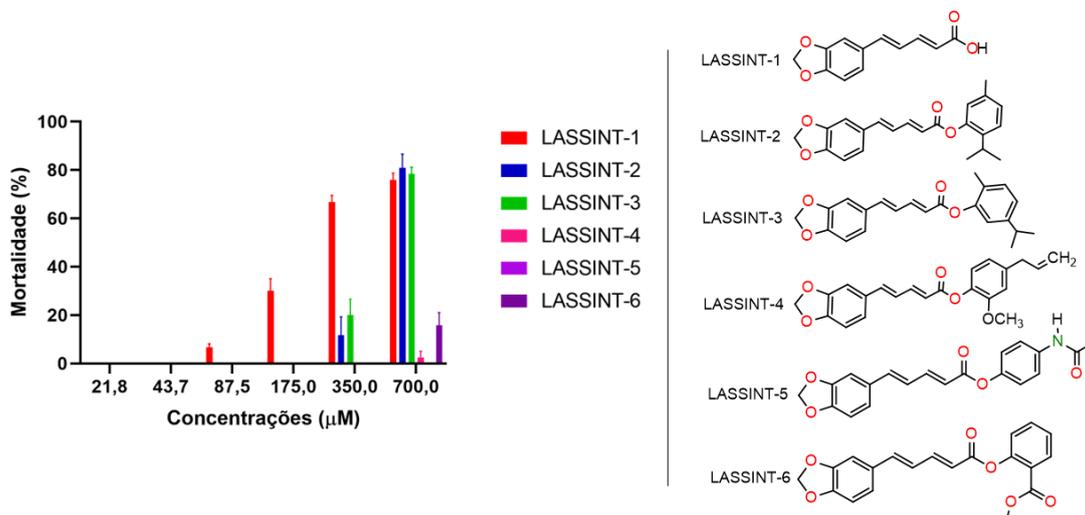


Figura 31- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do LASSINT-1 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição.

A série dos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do ácido pipérico reduzido (LASSINT-7), foram reunidos para avaliar o potencial frente as larvas de *Ae. aegypti*, comparando-os com o ácido de partida. Nesses resultados, nota-se que, diferente dos derivados do ácido pipérico, todos foram ativos contra as larvas, em todas as concentrações, exceto o LASSINT-8-10. Em relação ao precursor, apenas os compostos LASSINT-10 e LASSINT-11, foram mais ativos. Ainda assim, o composto LASSINT-11 foi mais ativo que o LASSINT-10, causando a morte mais de 60% das larvas em 24 h de exposição, na concentração de 700,0 μM .

Em termos comparativos, os derivados desta série diferem na cadeia alifática, sendo saturada em relação a série do ácido pipérico. Ademais, além do composto LASSINT-11 ser o mais ativo, em sua estrutura há a presença da função amida do paracetamol, pelo qual pode ser atribuída a expressão dessa atividade larvicida (Figura 32).

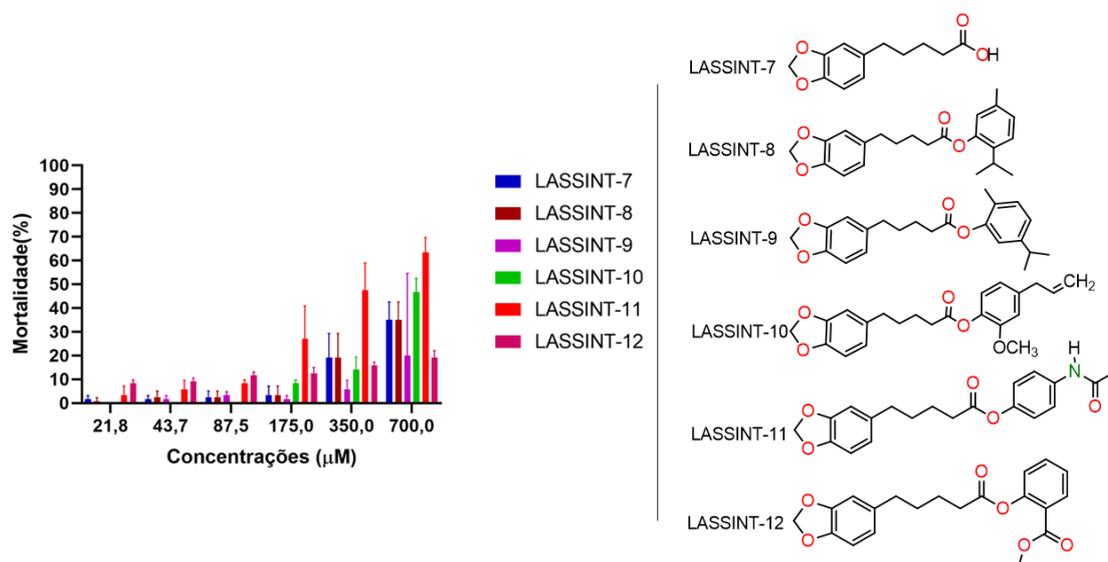


Figura 32- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas a partir do LASSINT-7 em todas as concentrações testadas (µM) em 24 h de exposição.

Como temos visto, a cadeia alifática é de suma importância para a atividade biológica. Desse modo, uma outra série que faz parte desse estudo, são os derivados do 3,4- (metilenodioxo) ácido cinâmico **94**. Os resultados desse estudo, mostra que esses derivados foram inativos frente as larvas do *Ae. aegypti*, quando comparados ao precursor. O composto **94**, foi mais ativo que os seus derivados. Diante disso, podemos prever que a adição dos fenóis bioativos não teve influência positiva na atividade larvicida (Figura 33).

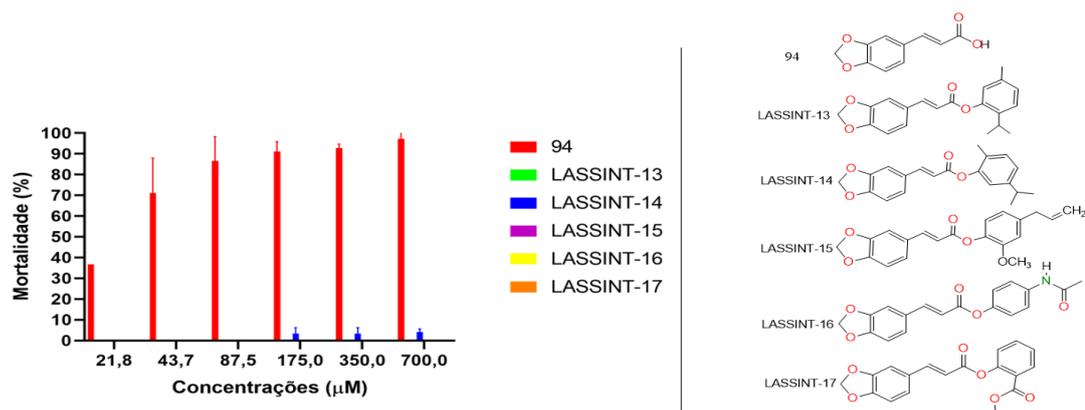


Figura 33- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do composto 94 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição.

Os derivados saturados a partir do LASSINT-18, também foram testados frente as larvas do *Ae. aegypti*. Nessa série, todos apresentaram atividade, exceto o LASSINT-18, que é o ácido de partida, ou seja, diferente da série anterior, as modificações estruturais realizadas no precursor, causaram influência positiva na atividade biológica. Apesar disso, apenas os compostos LASSINT-20-22 foram os que tiveram atividade larvicida relevante. Apresentaram mortalidade das larvas acima de 50% na concentração de 700,0 μM em 24 h de exposição.

Destes três compostos ativos, apenas o LASSINT-22 apresentou atividade expressiva, causando mais de 90% da morte das larvas na concentração de 700,0 μM . Na concentração de 350,0 μM , este composto teve mortalidade em aproximadamente 80%. Analisando esses resultados, podemos notar que, após redução da dupla ligação, o precursor tornou-se inativo. No entanto, ao adicionar os fenóis bioativos essa atividade foi melhorada, e dentre os fenóis, apenas o derivado com o paracetamol, foi o mais ativo. Podemos sugerir que esta atividade se correlaciona com a porção amida presente na estrutura (Figura 34).

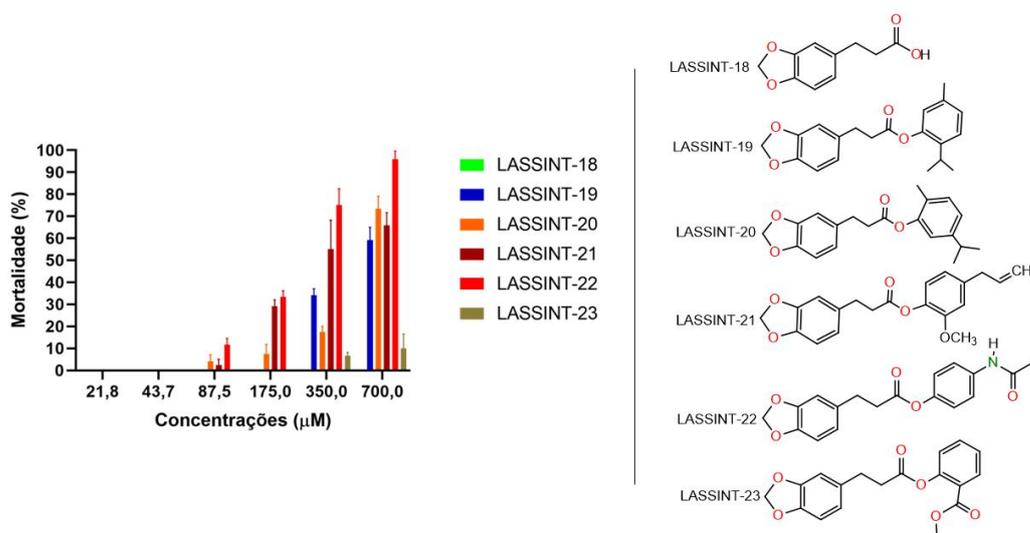


Figura 34- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do LASSINT-18 em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição as larvas de *Ae. aegypti*.

Por fim, a série dos derivados do composto **97**, foram testados frente as larvas de *Ae. aegypti*. Nesses compostos temos a ausência da cadeia alifática, e a adição dos fenóis bioativos. Os resultados demonstraram que o ácido de partida não apresentou atividade larvicida. No entanto, os compostos LASSINT-24, LASSINT-25 e LASSINT-27 foram os mais ativos da série na concentração de 700,0 μM em 24 h de exposição. Desse modo, a adição dos fenóis ao ácido, neste caso apenas o timol, carvacrol e paracetamol, tornaram-se mais ativos frente as larvas de *Ae. aegypti* (Figura 35).

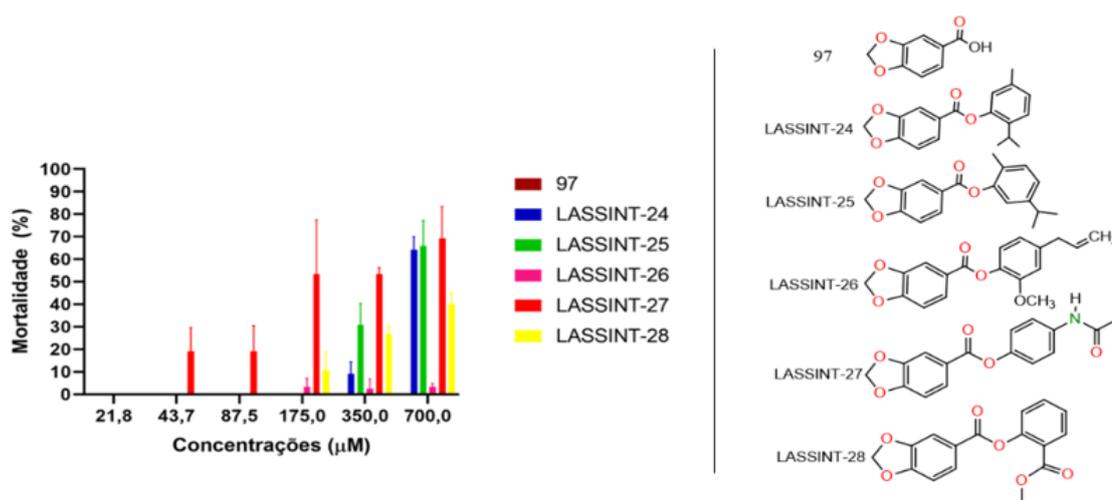


Figura 35- Dados referente aos derivados 1,3-benzodioxolas advindos do composto 97 em todas as concentrações testadas (μM) em 24 h de exposição as larvas de *Ae. aegypti*.

Diantes de todos esses resultados, os ésteres mais ativos foram o LASSINT-11, LASSINT-22 e o LASSINT-27. Entre esses três, o LASSINT-22 foi o mais ativo, apresentando mortalidade mais de 90% na concentração de 700,0 μM em 24h de exposição (Figura 36). Os três compostos possuem o paracetamol como reagente, e os dois que possuem espaçador, é saturado. No caso, do LASSINT-22 o espaçador é apenas de dois carbonos. Pode-se concluir que o espaçadores influenciam na atividade biológica. Portanto, como resposta a esses resultados, no caso dos compostos com espaçador saturado, pode promover flexibilidade a molécula, facilitando assim o seu encaixe no alvo biológico.

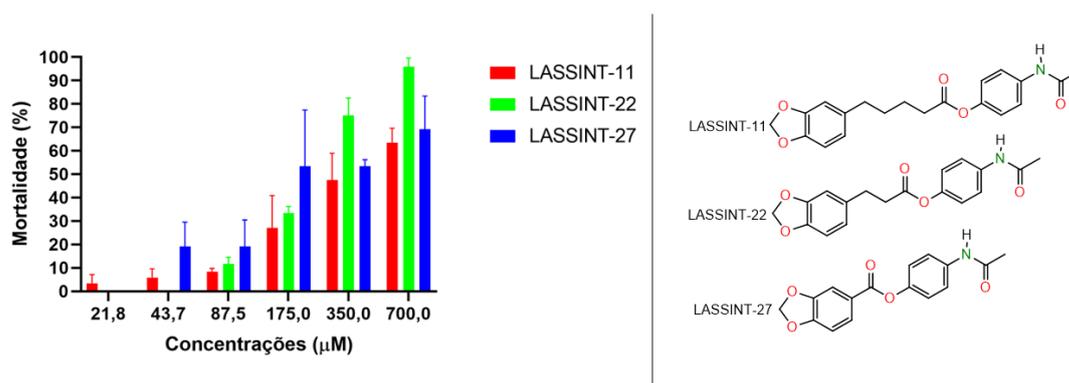


Figura 36- Dados referente aos ésteres mais ativos em todas as concentrações testadas (μM) em 24h de exposição as larvas de *Ae. aegypti*.

5.6.2 Avaliação da toxicidade aguda

Além da atividade larvicida, selecionamos os compostos mais promissores para realizar a avaliação de toxicidade aguda desses compostos, e assim rastrear a dose de segurança em mamíferos, utilizado fêmeas albino Swiss (*Mus musculus*) como modelo. De acordo com *Acute Toxic Class Method* (OECD, 2001), são estabelecidos 4 níveis de dose para estimar a DL_{50} (dose letal mediana) (5, 50, 300 e 2000 mg/kg^{-1} podendo chegar a 5000 mg/kg^{-1} para a avaliação de toxicidade aguda. Como mencionado anteriormente, os compostos selecionados para esta atividade foram a piperina **1**, tetraidropiperina **91** e o composto **94**.

Inicialmente, os ensaios foram realizados na dose de 2000 mg.kg^{-1} para a piperina e a tetraidropiperina, e realizado o *screening* hipocrático. Nessa dose, ambos os compostos, induziram a morte de um animal, evidenciando sinais tóxicos leves referentes ao Sistema Nervoso Central (SNC), como refluxo e postura estática quando administrado a piperina. Em relação ao seu análogo, a tetraidropiperina, sinais clínicos como taquicardia e convulsão foram observados, acarretando a morte de um animal 15min após a administração. Diante disso, as doses foram diminuídas para 300 mg.kg^{-1} . A piperina nessa dose, inicialmente, foi capaz de induzir ao

lacrimejamento excessivo e fotofobia e dias após a administração, foi registrado a morte de um animal e os demais tiveram percas de peso consideráveis. Todavia, se fez necessária baixar a dose apenas da piperina para 50 mg.kg^{-1} , pelo qual, nesta dose não houve morte e o sinais observados foram semelhantes aos do controle.

A tetraidropiperina, quando administrada na dose de 300 mg.kg^{-1} , por via oral, causou agitação com expressivos saltos e aumento da frequência respiratória, e por fim, sinal depressivo, como sedação, não havendo óbitos. Durante os 14 dias de observação, não foi registrado óbito e nenhum comportamento atípico que pudesse ser atribuído aos efeitos da substância. Além dos sinais clínicos observados, foi avaliado alguns parâmetros, como consumo de água, comida e peso corporal, sendo este último, resposta terapêutica de fármacos, pelo qual pode indicar efeitos adversos relacionados ao uso do composto (SUGANTHI; RAVIKUMAR, 2012). Quanto a variação do consumo de água, comida e peso corporal do grupo tratado com a tetraidropiperina, no final do experimento, não apresentou diferença significativa em comparação ao controle (tabela 8).

Tabela 8- Média e desvio padrão do consumo de água, ração e variação de peso durante os 14 dias de observação da dose de 300 mg.kg^{-1} .

Composto	Parâmetros avaliados		
	Água (mL)	Ração (g)	Peso corporal (g)
Tetraidropiperina	$18,18 \pm 4,06^a$	$21,52 \pm 4,14^a$	$27,88 \pm 0,64^a$
Grupo controle	$21,28 \pm 6,51^a$	$19,30 \pm 5,07^a$	$30,95 \pm 1,09^a$

Em relação aos parâmetros bioquímicos relacionados a tetraidropiperina, observou-se aumento das transaminases, AST (aspartato aminotransferase) e ALT (alanina aminotransferase), como também na uréia (Tabela 9). O aumento nos níveis da transaminase (ALT), pode sugerir danos hepáticos consideráveis. Quanto aos parâmetros hematológicos, foi observado aumento apenas nos leucócitos, quando comparados ao grupo controle. Isso pode apontar alguma inflamação, haja vista que as subpopulações de leucócitos são associadas ao processo inflamatório (FRIEBE et al., 2011; REYES et al., 2015).

Tabela 9- Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina e ureia de camundongos do grupo controle Tween™ 80 5% (control2, 10 mL.kg⁻¹) e do grupo tratado com tetraidropiperina por via oral após 14 dias da administração da dose de 300 mg.kg⁻¹.

Composto	Parâmetros Bioquímicos			
	Ureia (mg/dL ⁻¹) 1)	Creatinina (mg/dL ⁻¹)	TGO (U/L ⁻¹)	TGP (U/L ⁻¹)
Tetraidropiperina	31,56 ± 2,52 ^a	0,33 ± 0,03 ^a	63,50 ± 2,35 ^a	54,16 ± 0,47 ^a
Grupo controle	24,00 ± 3,60 ^b	0,31 ± 0,01 ^a	55,33 ± 5,03 ^b	47,66 ± 6,02 ^b

Isto posto, podemos concluir que a tetraidropiperina não apresenta efeitos tóxicos significativos na dose de 300 mg.kg⁻¹. Em contrapartida, estudos corroboram com os achados nesse trabalho, revelando que a piperina é altamente tóxica para camundongos, ratos e hamsters em altas doses (STOJANOVIC-RADIC et al., 2019). Além disso, estudos realizados por Rao et al, 2015, afirma que a piperina aumenta a aspartato aminotransferase sérica e ALP, à medida que a proteína sérica total diminuiu, acarretando dano considerável ao fígado em camundongos albinos CF-1 (RAO et al., 2015).

Apesar da piperina ser um agente nutracêutico, seu uso requer moderação, pois estudos de toxicidade subaguda revelaram também que a piperina, não apresenta efeitos tóxicos na dose de 100 mg.kg⁻¹ (UI HAQ et al., 2020). Contudo, a dose de segurança para consumo de piperina é de 5 mg.kg⁻¹ dia⁻¹ (BURDOCK, 2010; EFSA, 2015). Diante do exposto, podemos concluir que a redução das duplas ligações da piperina, para a formação do seu análogo, aumentou a toxicidade em larvas de *Ae. aegypti* e diminuiu em camundongos Swiss (*Mus musculus*). Desse modo, nossos resultados evidenciam que a tetraidropiperina é menos tóxica que a piperina, além de ser mais ativa contra as larvas de *Ae. aegypti*. Esses resultados podem ser atribuídos às ligações duplas, ou seja, a região da insaturação pode ser a parte toxicofórica da molécula.

A toxicidade oral aguda do composto **94** também foi testada em camundongos. A observação contínua mostrou um efeito excitatório do sistema

nervoso central (SNC) (movimento estereotipado, aumento da frequência respiratória e reação de fuga) nos primeiros 30 minutos. Isto é seguido por um possível efeito depressor do SNC (redução dos membros posteriores e prostração). Nenhum efeito no sistema nervoso autônomo (SNA) foi observado nas primeiras 4 horas e nenhuma mortalidade foi registrada até o 14º dia. Além dos sinais clínicos, não foram observadas alterações na ingestão hídrica, alimentar e no peso corporal durante os 14 dias em que os grupos foram comparados.

Todos os parâmetros bioquímicos séricos renais e hepáticos foram ligeiramente aumentados nos animais tratados com o composto **94** (Tabela 10), o que pode indicar um possível efeito tóxico nos rins e fígado neste nível de dosagem. No entanto, não foram observadas alterações estruturais na análise histológica dos rins, fígado, baço e pulmões dos animais tratados.

Tabela 10- Níveis séricos sanguíneos de transaminases (TGO e TGP), creatinina e ureia de camundongos do grupo controle Tween™ 80 5% (controle, 10 mL.kg⁻¹) e do grupo tratado com o composto 4 por via oral após 14 dias da administração da dose de 2000 mg.kg⁻¹.

Grupo	Parâmetros bioquímicos			
	Ureia (mg dL ⁻¹)	Creatinina (mg dL ⁻¹)	TGO (U L ⁻¹)	TGP (U L ⁻¹)
Controle	21,40 ± 1,63 ^a	0,36 ± 0,05 ^a	92,46 ± 5,45 ^a	82,36 ± 6,04 ^a
Composto 94	28,66 ± 1,22 ^b	0,48 ± 0,03 ^b	110,00 ± 5,24 ^b	100,00 ± 2,00 ^b

A Figura 39 mostra nos rins (a), glomérulos bem preservados com manutenção do espaço capsular (seta); túbulos contorcidos proximal (asterisco) e distal (cabeça de seta) com epitélio preservado; no fígado (b), hepatócitos normais (seta) e tríade hepática (asterisco); sinusóides hepáticos bem definidos (cabeça de seta); no baço (c), polpas vermelhas (seta) e brancas bem delimitadas (asterisco); e nos pulmões (d), espaço alveolar (asterisco) e epitélio (seta) bem preservados.

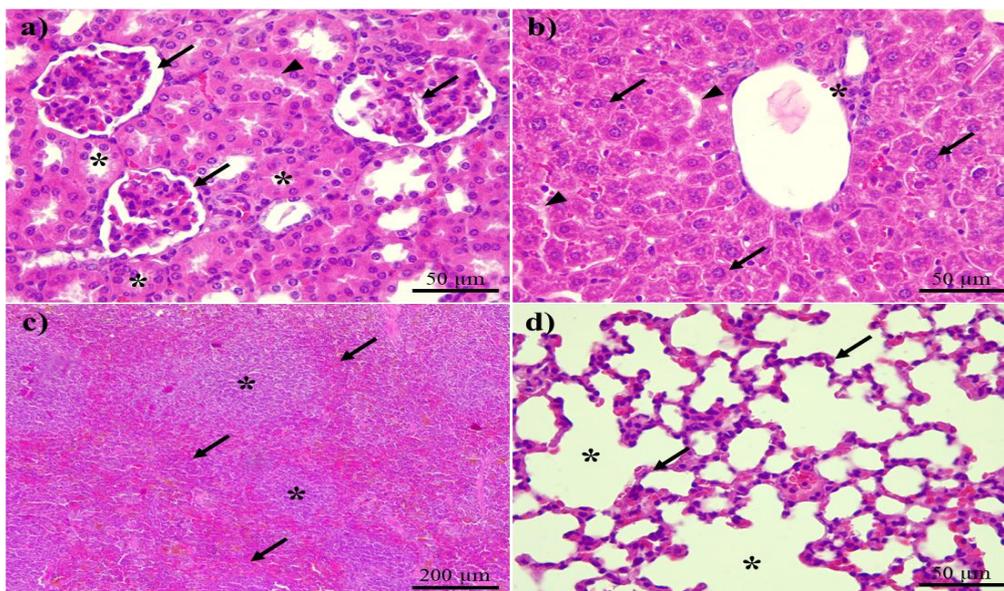


Figura 37- Fotomicrografias representativas dos órgãos principais de camundongos tratados com ácido cinâmico 3,4-(metilenodioxi) (2000 mg.kg⁻¹). a) rim; b) fígado; c) baço; e d) pulmão.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A piperina foi extraída e purificada dos frutos triturados da *Piper nigrum* L. através do método de extração e purificação simultânea utilizando o aparelho Góes, pelo qual foi aplicado neste trabalho. Observamos que, este método demonstrou rendimento significativo de 2,65%, mostrando-se eficiente na economia de solventes e redução do tempo de processamento. Realizamos a síntese dos derivados 1,3-benzodioxolas via cloreto de ácido, pelo qual nos forneceu rendimento altos, variando de 60 a 98%. A caracterização dos compostos sintetizados foi comprovada inicialmente, por meio de espectroscopia de RMN ^1H e RMN ^{13}C .

Em relação a atividade larvicida das amidas, a piperina **1** e o seu análogo, foram os mais ativos frente as larvas de *Ae. aegypti*. No entanto a tetraidropiperina apresenta-se mais ativa que a piperina, quando comparadas ao tempo de exposição. A exposição a tetraidropiperina causou morte de 100% das larvas do quarto instar de *Ae. aegypti* no período de 8 h, na concentração de 700,0 μM , e a piperina teve morte de 70% das larvas. Além disso, na avaliação da toxicidade aguda, a tetraidropiperina é menos tóxica que a piperina na dose de 300 mg.kg^{-1} , não apresentando sinais clínicos significativos de toxicidade.

Na série dos ácidos 1,3-benzodioxola, o composto **94** foi o mais ativo. Apresentando mortalidade de 74% das larvas, em 1 h de exposição. Nos testes de toxicidade aguda, mostrou sinais clínicos suaves em camundongos tratados com 2000 mg.kg^{-1} , sem quaisquer sinais estruturais de toxicidade em órgãos como o rim, fígado, baço e pulmões. Dentre os ésteres sintetizados, os mais ativos foram o LASSINT-11, LASSINT-22 e o LASSINT-27. Entre esses três, o LASSINT-22 foi o mais ativo, apresentando mortalidade mais de 90% na concentração de 700,0 μM em 24 h de exposição. Diante do exposto, estes resultados mostraram que tanto a subunidade 1,3-benzodioxola, o tamanho do espaçador, quanto a saturação/insaturação na cadeia alifática são relevantes para a atividade biológica, esta última, podendo ser a região toxicofórica da molécula.

Para os compostos mais promissores, têm-se como perspectivas o estudo de mecanismo de ação, persistência do produto em condições de campo, assim como avaliar a possibilidade de bioacumulação. Portanto, visando a redução na densidade populacional do *Ae. aegypti*, devido à baixa toxicidade em mamíferos desses

compostos é uma excelente estratégia de controle deste vetor, com aplicabilidade em água potável, tendo em vista que pode ser um produto de grande utilidade em saúde pública.

REFERÊNCIAS

- AGBOR G.A, AKINFIRESOYE L2, SORTINO J2, JOHNSON R2, VINSON JA. Piper species protect cardiac, hepatic and renal antioxidant status of atherogenic diet fed hamsters. **Food Chem.** 2012, 134: 1354-1359. 19.
- AHMAD N, FAZAL H, ABBASI B. H, FAROOQ S, ALI M. Biological role of *Piper nigrum* L. (Black pepper): A review. **Asian Pacific J Trop Biomed.** 2012; S1945-S1953.
- ALI Y., ALAM M.S. HAMID H. HUSAIN A., BANO S., DHULAP A., KHARBANDA C., NAZREEN S., HAIDER S. Design, synthesis and biological evaluation of piperic acid triazolyl derivatives as potent anti-inflammatory agents. **Eur. J. of Med. Chem.** 2015, 92, 490 e 500.
- ASHOKKUMAR K, DIAPARI M, JHA A.B, TAR'AN B, ARGANOSA G, WARKENTIN T.D. Genetic diversity of nutritionally important carotenoids in 94 pea and 121 chickpea accessions. **J Food Compos Anal.** 2015; 43:49–60.
- ASHOKKUMAR K.L, MURUGAN M., DHANYA M. K., PANDIAN A., WARKENTIN T. Phytochemistry and therapeutic potential of black pepper [*Piper nigrum* (L.)] essential oil and piperine: a review. **Clinical Phytoscience.** 2021, 7:52.
- AZIZ S, NAHER S, ABUKAWSAR MD, ROY SK. Comparative studies on physicochemical properties and gc-ms analysis of essential oil of the two varieties of the black pepper (*Piper nigrum* Linn.). **Int J Pharm Phytopharmacol Res.** 2012; 2:67–70.
- BESERRA E. B., FREITAS E. M., SOUZA J.T., FERNANDES C.R. M., SANTOS K. D. Ciclo de vida de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Diptera, Culicidae em águas com diferentes características. **Iheringia, Sér. Zool.** 2009, 99(3):281-285.
- BHARDWAJ A, TEWARY DK, KUMAR R, KUMAR V, SINHA AK, SHANKER A. Larvicidal and structure-activity studies of natural phenylpropanoids and their semisynthetic derivatives against the tobacco armyworm *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Chem Biodivers.** 2010;7(1):168–177.
- BHATT S, RECEBENDO PW, BRADY JO. A distribuição global e a carga da dengue. **Natureza.** 2013;496(7446):504–507.

BRAGA I. A., VALLE D. *Aedes Aegypti*: Insecticides, Mechanisms of Action and Resistance. **Epidemiol. Serv. Saúde**. 2007, 16(4):279-293.

BUKHARI I.A, ALHUMAYYD M.S., MAHESAR A.L., GILANI A.H. The analgesic and anticonvulsant effects of piperine in mice. **J. Of phys. And pharm**. 2013, 64, 6, 789-794.

BURDOCK, G. Fenaroli's handbook of flavor ingredients. Boca Raton, FL: CRC Press Taylor and **Francis Group**. 2010, (6th ed., pp. 1–2035).

CHEN A, ROGAN WJ. Nonmalarial infant deaths and DDT use for malaria control. **Emerging Infectious Diseases**. 2003;9(8):960-964.

CUNHA, RVD; TRINTA, KS. Vírus Chikungunya: aspectos clínicos e tratamento - uma revisão. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 2017, 112, 523–531.

CUSTÓDIO, K.M; DE OLIVEIRA, J.G; MOTERLE, D.; ZEPON, K.M; PROPHIRO, J.S; KANIS, L. A. Dispositivo Biodegradável para Liberação Controlada de Extrato Padronizado de *Piper nigrum* (Piperaceae) para Controle de Larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Rev. soc. Bras. Med. Trop**. 2016, 49, 687 - 692.

CUSTÓDIO, KM; DEOLIVEIRA, JG; MOTERLE, D.; ZEPON, KM; PROPHIRO, JS; KANIS, L. A. Dispositivo Biodegradável para Liberação Controlada de Extrato Padronizado de *Piper nigrum* (Piperaceae) para Controle de Larvas de *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Rev. soc. Bras. Med. Trop**. 2016, 49, 687 – 692.

DAMANHOURI Z.A, AHMAD A. A Review on Therapeutic Potential of *Piper nigrum* L. (Black Pepper): The King of Spices. **Med Aromat Plants**. 2014; 3: 161. doi: 10.4172/2167-0412.1000161.

DEROSA, G., MAFFIOLI, P., SAHEBKAR, A. Piperine and Its Role in Chronic Diseases. **Anti-Inflammatory Nutr. and Chronic Diseases**. 2016, 173–184.

DEWICK PM. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. **3rd ed. New York: John Wiley & Sons**, 2009. 539 p.

DOUCETTE C.D, HILCHIE A.L, LIWSKI R, HOSKIN D.W. Piperine, a dietary phytochemical, inhibits angiogenesis. **J Nutr. Biochem**. 2013, 24: 231-239.

EFSA Panel on Food Contact Materials, Flavourings, E., & Aids, P. Scientific opinion on Flavouring group evaluation 86, revision 2 (FGE. 86Rev2): Consideration of

aliphatic and arylalkyl amines and amides evaluated by JECFA (65th meeting). **EFSA Journal**. 2015, 13(1), 3998.

FERREIRA, F.; DA SILVA, ASV; RECHT, J.; GUARALDO, L.; MOREIRA, MEL; DE SIQUEIRA, AM; GERARDIN, P.; BRASIL, P. Transmissão vertical do vírus chikungunya: uma revisão sistemática. **PLoS ONE**. 2021,16, e0249166.

FRIEBE D, NEEF M, KRATZSCH J, ERBS S, DITTRICH K, GARTEN A, et al. Leucocytes are a major source of circulating nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)/pre-B cell colony (PBEF)/visfatin linking obesity and inflammation in humans. **Diabetologia**. 2011; 54:1200-11.

GEISSMAN, T. A.; CROUT, D. H. G.; Organic Chemistry of Secondary Plant Metabolism. **Freeman, Cooper & Co: São Francisco**, 1969.

GEORGE, D., FINN, R. GRAHAM, K.& SPARAGANO, O. Present and future potential of plant-derived products to control arthropods of veterinary and medical significance. **Parasites and Vectors**. 2014, 7. 10.1186/1756-3305-7-28.

GERARDIN, P.; BARAU, G.; MICHAEL, A.; BINTNER, M.; RANDRIANAIVO, H.; CHOKER, G.; LENGLET, Y.; TOURET, Y.; BOUVERET, A.; GRIVARD, P. Estudo prospectivo multidisciplinar de infecções de mãe para filho pelo vírus chikungunya na ilha de La Reunion. **PLoS Med**. 2008, 5, e60.

GHOSH, A., CHOWDHURY, N., & CHANDRA, G. Plant extracts as potential mosquito larvicides. **The Indian J. of med. R**. 2012, 135(5), 581-598.

GÜLÇİN İ. The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. **Int J Food Sci Nutr**. 2005; 56:491–9.

HEMATPOOR A, LIEW SY, CHONG WL, AZIRUN MS, LEE VS, AWANG K. Inhibition and Larvicidal Activity of Phenylpropanoids from *Piper sarmentosum* on Acetylcholinesterase against Mosquito Vectors and Their Binding Mode of Interaction. **PLoS One**. 2016;11(5). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0155265.

HEMATPOOR A, LIEW SY, CHONG WL, AZIRUN MS, LEE VS, AWANG K. Inhibition and Larvicidal Activity of Phenylpropanoids from *Piper sarmentosum* on Acetylcholinesterase against Mosquito Vectors and Their Binding Mode of Interaction. **PLoS One**. 2016;11(5). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0155265.

LEPARC-GOFFART, I.; NOUGAIREDE, A.; CASSADOU, S.; PRAT, C.; DE LAMBALLERIE, X. Chikungunya nas Américas. **Lancet**. 2014, 383, 514.

LESSER, J.; KITRON, U. A geografia social do zika no Brasil. *Estudos Avançados* [online], v. 30, n. 88, p. 167-175, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0103-40142016.30880012>>. Acesso em 07 nov. 2021.

MAKHOV P, GOLOVINE K, CANTER D, KUTIKOV A, SIMHAN J. Coadministration of piperine and docetaxel results in improved anti-tumor efficacy via inhibition of CYP3A4 activity. See comment in PubMed Commons below Prostate. 2012, 72: 661-667.

MALAVIGE, G.N., JEEWANDARA, C. & OGG, G.S. Dengue and COVID-19: two sides of the same coin. **J Biomed Sci**. 2022, 29, 48. <https://doi.org/10.1186/s12929-022-00833-y>

MARQUES, M.D.; ROCHA, J.F.; ALMEIDA, T.S.; MOTA, E.F. Essential Oils Of Caatinga Plants With Deletary Action For *Aedes Aegypti*: A Review. **South African J. of Bot**. 2021, 143, 9-78.

MATSUDA H, NINOMIYA K, MORIKAWA T, YASUDA D, MASAYUKI I, YOSHIKAWA M. Hepatoprotective amide constituents from the fruit of *Piper chaba*, structural requirements, mode of action and new amides. **Bioorg Med Chem**. 2009, 17:7313–7323.

MCNAMARA F.N, RANDALL A, GUNTHORPE M.J. Effects of piperine, the pungent component of black pepper, at the human vanilloid receptor (TRPV1). **Br J Pharmacol**. 2005; 144:781–90. 16.

MERCK Index. 12th ed. New York: **Merck Research Laboratories**, 1996 - para solubilidades e estrutura

MISHRA A., PUNIA J. K., BLADE C., ZAMPONI G. W, GOEL R. K. Anticonvulsant mechanisms of piperine, a piperidine alkaloid. **Channels**. 2015, 9:5, 317—323.

MORAES, A. S. Caracterização farmacêutica de nanocápsulas de timol e avaliação da permeação cutânea e da atividade repelente contra *Aedes aegypti*. 2015. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015. MS, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de

Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para a prevenção e controle de epidemias de dengue. Brasília: **Ministério da Saúde**; 2009. (Série A. Normas e Manuais Técnicos.).

N. CLETON, M. KOOPMANS, J. REIMERINK, GJ GODEKE, C. REUSKEN. Come fly with me: a review of clinically important arboviruses for global travelers. **J. Clin. Virol.** 2012, 55, pp. 191 – 203.

NAHAK, G.; SAHU, RK. Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and Piper nigrum. **J. Appl. Pharm. Sci.** 2011, 01, 153-157.

NAHAK, G.; SAHU, RK. Phytochemical Evaluation and Antioxidant activity of Piper cubeba and *Piper nigrum*. **J. Appl. Pharm. Sci.** 2011, 01, 153-157.

NELSON MJ. *Aedes aegypti*: biologia y ecologia. Washington, DC, **Org. Pan. de la Salud**; 1986.

NOVELINO A.M.S., DAEMON E., SOARES G.L.G. Evaluation of repellent activity of thymol, menthol, methyl salicylate and salicylic acid on *Boophilus microplus* larvae (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** 2007, v.59, n.3, p.700-704.

NWOFIA GE, KELECHUKWU C, NWOFIA BK. Nutritional composition of some *Piper nigrum* (L.) accessions from Nigeria. **Int J Med Arom Plants.** 2013; 3:247–54.

OECD - Organization for Economic Cooperation and Development. Acute Oral Toxicity - Acute Toxic Class Method. Guideline for the Testing of Chemicals, p. 1-14, December 2001.

OMS, Organização Mundial da Saúde. Orientação técnica da doença de coronavírus (COVID-19): investigações iniciais. Genebra: Organização Mundial da Saúde; 2020.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Controle do *Aedes aegypti* em cenário de transmissão simultânea de COVID-19, c2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/documentos/control-aedes-aegypti-escenario-transmission-simultanea-covid-19>>. Acesso em: 14 jan. 2022.

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD), 2001. Guidelines for the Testing of chemicals (OECD/423), Acute oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris. <http://www.oecd.org/publications>. 2001. (Accessed 08 julho 2021).

PALCHICK S. Chemical Control of Vectors In: The Biology of Disease Vectors. Colorado: **University Press of Colorado**; 1996.

PANDEY S.K, TANDON S., AHMAD A., SINGH A. K, TRIPATHI A.K. Structure–activity relationships of monoterpenes and acetyl derivatives against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) larvae. **Pest Manag Sci**, 2013;69: 1235 – 1238.

PARMAR V.S, JAIN S.C, BISHT K.S, JAIN R, TANEJA P, JHA A. Phytochemistry of the genus Piper. **Phytochemistry**. 1997; 46:597-673.

PETER K.V. Futurology of black pepper. In: Ravindran PN, editor. Black Pepper (*Piper nigrum* L.). Amsterdam: **Harwood Academic**; 2000. pp. 481–7.

PETER K.V. Handbook of herbs and spices. Sawston: Woodhead Publishing; 2006. p. 640. 25.

RAJA B.P, SETHURAMAN M.G. Inhibitive effect of black pepper extract on the sulphuric acid corrosion of mild steel. **Mater Lett**. 2008; 62:2977–9.

RAO, P.J.; KOLLA, S.D.; ELSHAARI, F.; ELSHAARI, F.; AWAMY, H.E.L.; ELFRADY, M.; SINGH, R.; BELKHIER, A.; SRIKUMAR, S.; SAID, A.R. Effect of piperine on liver function of CF-1 albino mice. **Infect. Disord. Drug Targets**. 2015, 15, 131–134.

RAPHEMOT, R. et al. Discovery and characterization of a potent and selective inhibitor of *Aedes aegypti* inward rectifier potassium channels. **PLoS ONE**. 2014, v. 9, n. 11.

REYES M, QUINTANILLA C, BURROWS R, BLANCO E, CIFUENTES M, GAHAGAN S. Obesity is associated with acute inflammation in a sample of adolescents. **Pediatr Diabetes**. 2015; 16:109-16.

RIBEIRO, T. S.; LIMA, M. E. F.; LIMA, L. F.; PREVIATO, M. L.; PREVIATO, J.O. Toxic effects of natural piperine and derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 14, p. 3555-3558, 2004.

ROBINSON, M.C. Uma epidemia de doença viral na Província do Sul, Território de Tanganica, em 1952–1953. I. Características clínicas. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**. 1955, 49, 28–32.

RODRIGUES, D.W.; OLIVEIRA, J.A.S. óleos essenciais de *Piper* l.(piperaceae) e sua aplicação biotecnológica na agricultura: uma revisão da literatura. **Arquivos do Mudi**. 2021, v. 25, n. 2, p. 100-110.

ROSS, RW. O vírus: Isolamento, propriedades patogênicas e relação com a epidemia. **J. Hyg.** 1956, 54, 177–191.

SABARWAL, A.; KUMAR, K.; SINGH, R. P. Hazardous effects of chemical pesticides on human health–Cancer and other associated disorders. **Env. Tox. and Pharm.** 2018, v. 63, p. 103-114.

SAMUEL, M.; OLIVER, SV; COETZEE, M.; BROOKE, B. D. Os efeitos larvicidas da pimenta preta (*Piper nigrum* L.) e da piperina contra cepas suscetíveis e resistentes a inseticidas de mosquitos vetores da malária *Anopheles*. **Parasit. Vetores**. 2016, 9, 238 - 247.

SAMUEL, M.; OLIVER, SV; COETZEE, M.; BROOKE, B. D. Os efeitos larvicidas da pimenta preta (*Piper nigrum* L.) e da piperina contra cepas suscetíveis e resistentes a inseticidas de mosquitos vetores da malária *Anopheles*. **Parasit. Vetores**. 2016, 9, 238 - 247.

SAMYKUTTY A, SHETTY A.V, DAKSHINAMOORTHY G, BARTIK M.M, JOHNSON G.L, WEBB B. Piperine, a Bioactive Component of Pepper Spice Exerts Therapeutic Effects on Androgen Dependent and Androgen Independent Prostate Cancer Cells. **PLoS One**. 2013, 8: e65889.

SCKENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Em Farmacognosia: da planta ao medicamento, Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R., eds.; Ed. Universidade/UFRGS. Ed. da UFSC: Porto Alegre/Florianópolis, 2000, cap. 15.

SCOTT I.M, JENSEN H.R, PHILOGENE B.J.R., ARNASON J.T. A review of Piper spp. (Piperaceae). Phytochemistry, insecticidal activity and mode of action. **Phytochem. Rev.** 2008; 7: 65-75.

SHARMAS., KALIA N.P., PANKAJ S., CHAUHAN P. S., KUMAR M., RAM A.B. KHAJURIA A., BANI S., KHAN I.A. Protective efficacy of piperine against Mycobacterium tuberculosis. **Tuberculosis**. 2014, 94, 389- 396.

- SIDDIQUI, S., AHAMAD, M. S., JAFRI, A., AFZAL, M., ARSHAD, M. Piperine Triggers Apoptosis of Human Oral Squamous Carcinoma Through Cell Cycle Arrest and Mitochondrial Oxidative Stress. **Nutrition and Cancer**. 2017, 69(5), 791-799. doi:10.1080/01635581.2017.1310260.
- SINGH, I. P.; JAIN, S. K.; KAUR, A.; SINGH, S.; KUMAR, R.; GARG, P.; SHARMA, S. S.; ARORA, S. K. **Eur. J. Med. Chem.** 2010, 45, 3439.
- SMILKOV, K., ACKOVA, D. G., CVETKOVSKI, A., RUSKOVSKA, T., VIDOVIC, B., & ATALAY, M. Piperine: Old spice and new Nutraceutical? **Current Pharmaceutical Design**. 2019, 25(15), 1729–1739.
- SMITH LB, KASAI S, SCOTT JG. Pyrethroid resistance in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*: important mosquito vectors of human diseases. **Pestic Biochem Physiol**. 2016, 133:1–12.
- SRUTHI D, ZACHARIAH TJ, LEELA NK, JAYARAJAN K. Correlation between chemical profiles of black pepper (*Piper nigrum* L.) var. Panniyur-1 collected from different locations. **J Med Plants Res**. 2013; 7:2349–57.
- STOJANOVIĆ-RADIĆ Z., PEJČIĆ M., DIMITRIJEVIĆ M., ALEKSIĆ A., KUMAR N.V. A., SALEHI B., CHO W.C., SHARIFI-RAD J. Piperine-A Major Principle of Black Pepper: A Review of Its Bioactivity and Studies. **Appl. Sci**. 2019, 9, 4270.
- SUGANTHI P, RAVIKUMAR S. Toxicity studies of crude extracts from marine *Streptomyces* sp. With potential antibacterial sensitivity against antibiotic-resistant human pathogens. **Asian Pacific J. of Trop. Biom.** 2012, p. 1070-1076.
- SZALLASI A. Piperine. Researchers discover new flavor in an ancient spice. **Trends Pharmacol Sci**. 2005; 26:437–9.
- TAINTER D.R, GRENIS A.T. Spices and Seasonings. A Food Technology Handbook. 2nd ed. New York: Wiley-VCH; 2001. p. 256. 37.
- TAKOOREEUMA H., AUMEERUDDYUMA M.Z., RENGASAMYB K. R.R, VENUGOPALAC K. N., JEEWONUMA R., MAHOMOODALLYU G. Z. M.F. A systematic review on black pepper (*Piper nigrum* L.): from folk uses to pharmacological applications. **CRIT. R. In food sci. And nutrit**. 2019, VOL. 59, NO. S1, S210–S243 <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1565489>.

TAVARES W. S., CRUZ, I. Cruz, PETACCI, F., FREITAS, S., SERRÃO, J. E., ZANUNCIO J. C. Insecticide activity of piperine: Toxicity to eggs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Pyralidae) and phytotoxicity on several vegetables. **Journal of Medicinal Plants Research** 2011, Vol. 5(21), pp. 5301-5306.

TIWARI A. MAHADIK K. R., GABHE S. Y. Piperine: A comprehensive review of methods of isolation, purification and biological properties. *Med.in drug disc.* 2020, 7,100027.

UL HAQ I., IMRAN M., NADEEM M., TUFAIL T., GONDAL T. A., MUBARAK M. S. Piperine: A review of its biological effects. **Phytotherapy. Res.**2020, 1–21.

UMADEVI P., DEEPTI K., VENUGOPA D.V. R. Synthesis, anticancer and antibacterial activities of piperine analogs. **Med. Chem. Res.** 2013, 22:5466–5471.

UTPALA P, ASISH GR, ZACHARIAH TJ, SAJI KV, GEORGE JK, JAYARAJAN K, MATHEW PA, PARTHASARATHY VA. Spatial influence on the important volatile oils of *Piper nigrum* leaves. **Cur Sci.** 2008; 94:1632–5.

VARGAS L. D. L., FERREIRA S. M. B., SOUZA M. D., SILVA C. A.L., SHIMOYA-BITTENCOURT W. Resistência das populações de *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) (Insecta, Diptera, Culicidae) aos inseticidas utilizados para o controle: estado da arte do conhecimento. **Rev. Ciênc. Méd. Biol.** 2022, v. 21, n. 1, p. 98-116.

VASUDEVAN K, VEMBAR S, VEERARAGHAVAN K, HARANATH P.S. Influence of intragastric perfusion of aqueous spice extracts on acid secretion in anesthetized albino rats. **Ind J Gastroenterol.** 2000; 19:53–6. 17.

VIEGAS L. L, VENTURA D.F.L, NUNES J. A critical view of the global health emergencies: the 2016 zika epidemic case. **Ciência & Saúde Coletiva.** 2022, 27,11:4075-4084.

WANSRI, R.; LIN, A.C.K.; PENGON, J.; KAMCHONWONGPAISAN, S.; SRIMONGKOLPITHAK, N.; RATTANAJAK, R.; WILASLUCK, P.; DEETANYA, P.; WANGKANONT, K.; HENGPHASATPORN, K.; et al. Semi-Synthesis of *N*-Aryl Amide Analogs of Piperine from *Piper nigrum* and Evaluation of Their Antitrypanosomal, Antimalarial, and Anti-SARS-CoV-2 Main Protease Activities. **Molecules.** 2022, 27, 2841. <https://doi.org/10.3390/molecules27092841>.

WILKE, A. B. B., & MARELLI, M. T. Paratransgenesis: a promising new strategy for mosquito vector control. **Parasites & Vectors**. 2015, 8(1), 342, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0959>.

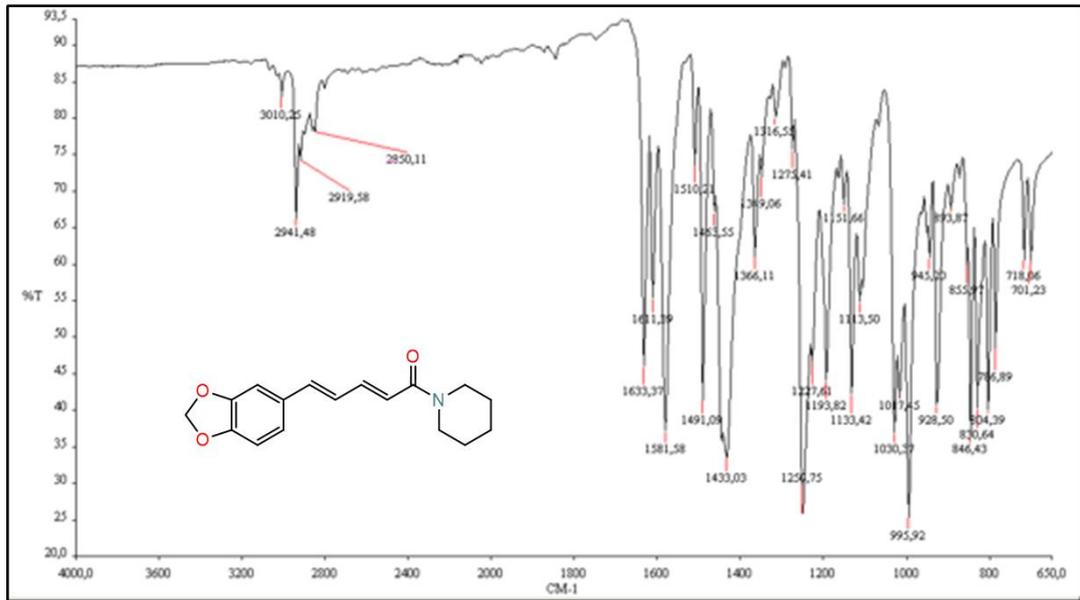
YANG R., LV M., XU H. Synthesis of Piperine Analogs Containing Isoxazoline/Pyrazoline Scaffold and Their Pesticidal Bioactivities. **J. Agric. Food Chem**. 2018, 66, 11254–11264.

YANG S, BAI M, YANG J et al. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Peganum harmala*, *Nepeta cataria*, and *Phellodendron amurense* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Saudi Pharm J**. 2020, 28:560–564. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2020.03.007>.

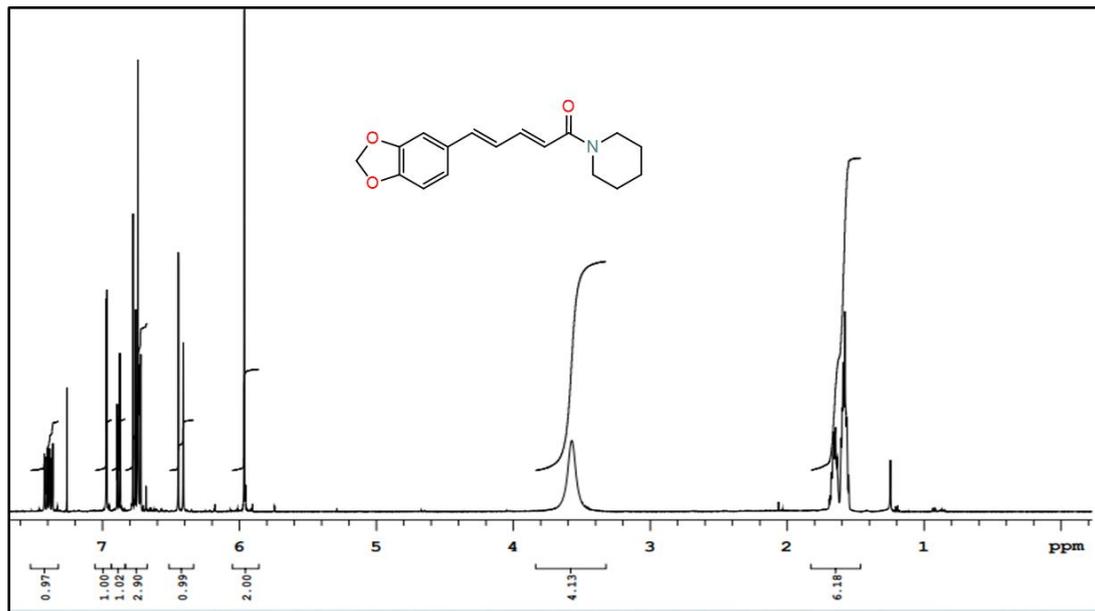
ZADOROZHNA, M., TATARANNI, T., MANGIERI, D. Piperine: role in prevention and progression of cancer. **Mol. Biol. Rep**. 2019,46, 5617–5629. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04927-z>

ZARA A. L.S. A., SANTOS S. M., FERNADEZ-OLIVEIRA E. S., CARVALHO R. G. COELHO G. E. *Aedes aegypti* control strategies: a review. **Epidemiol. Serv. Saude**. 2016, 25(2):391-404.

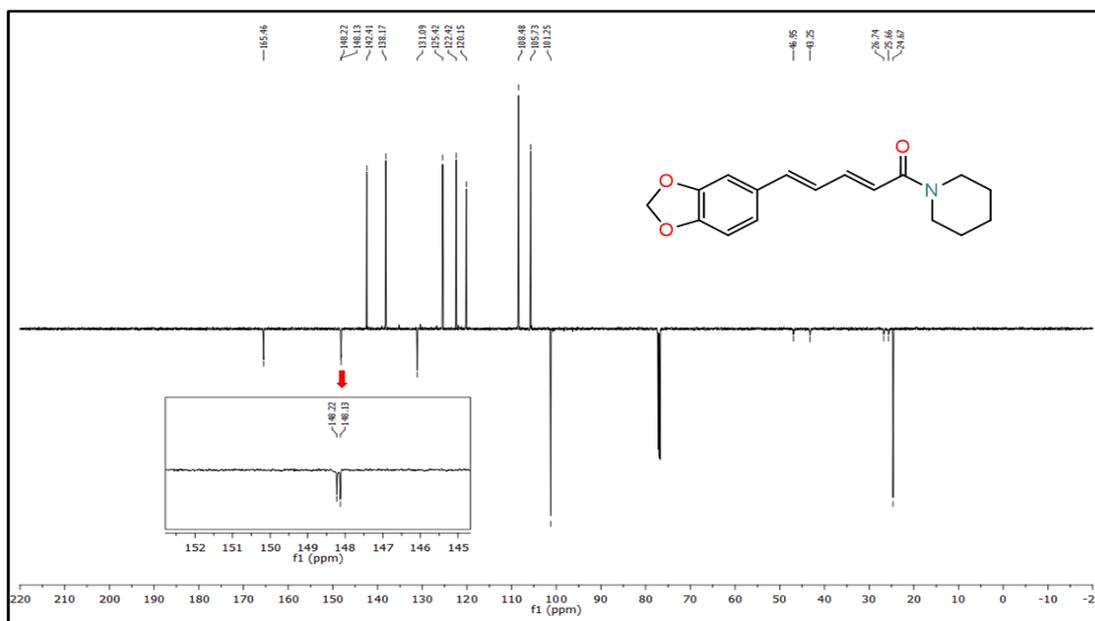
APÊNDICE A- ESPECTROS DOS DERIVADOS 1,3-BENZODIOXOLAS



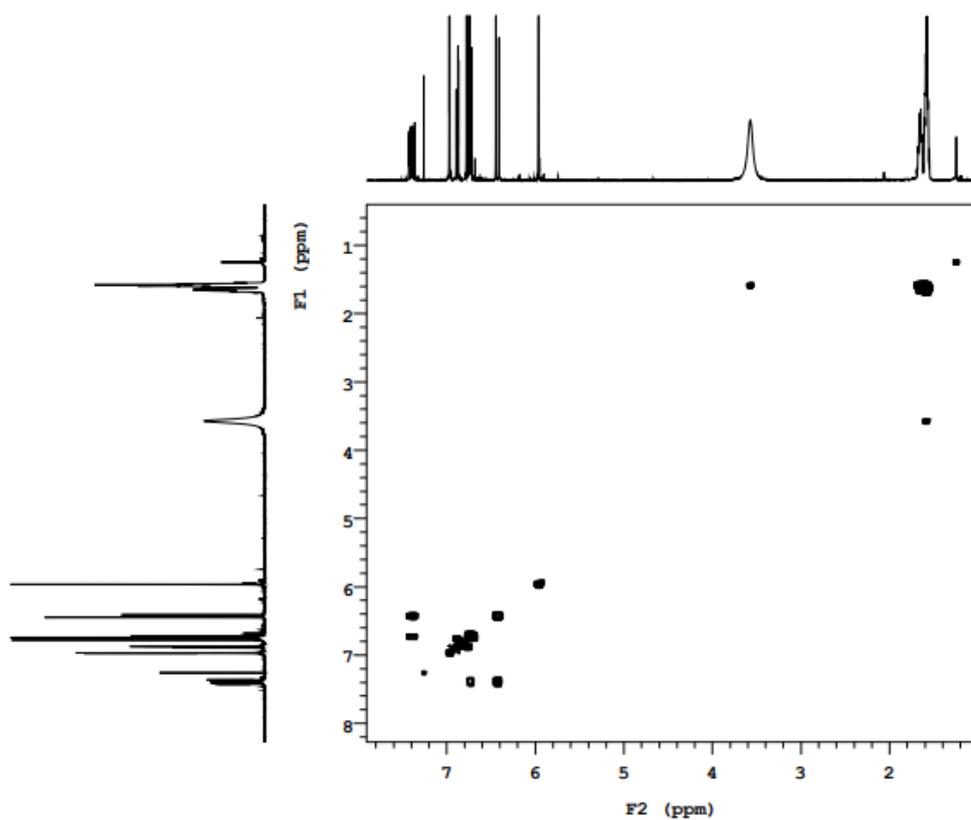
Espectro 4- Espectro de IV da piperina (400 MHz, CDCl_3).



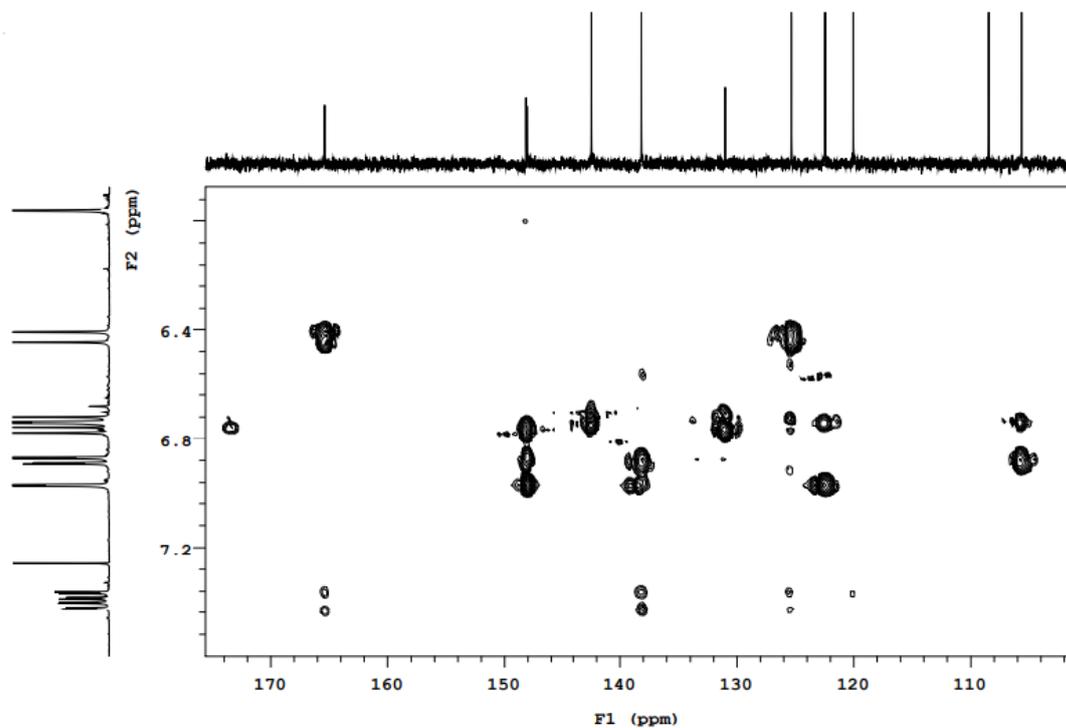
Espectro 5- Espectro de ^1H RMN da piperina (400 MHz, CDCl_3).



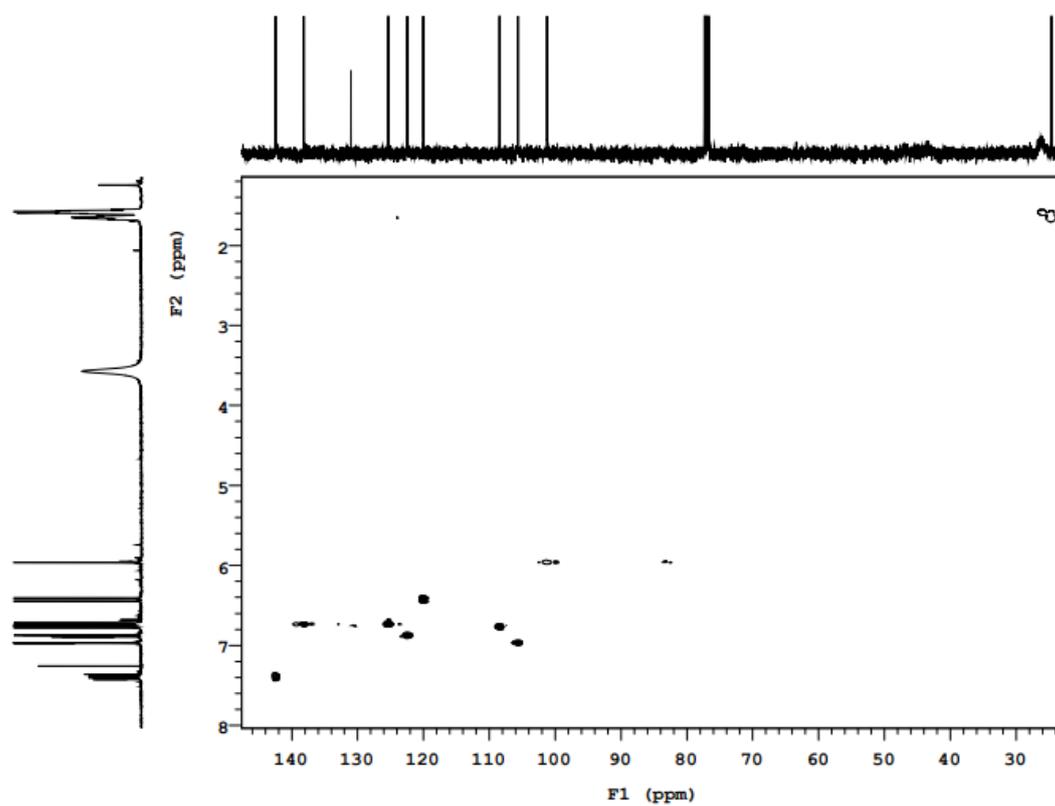
Espectro 6- Espectro de ^{13}C -APT RMN da piperina (100 MHz, CDCl_3).



Espectro 7- Espectro de COSY da piperina (CDCl_3).



Espectro 8- Espectro de HMBC da piperina (CDCl_3).



Espectro 9- Espectro de HSQC da piperina (CDCl_3).

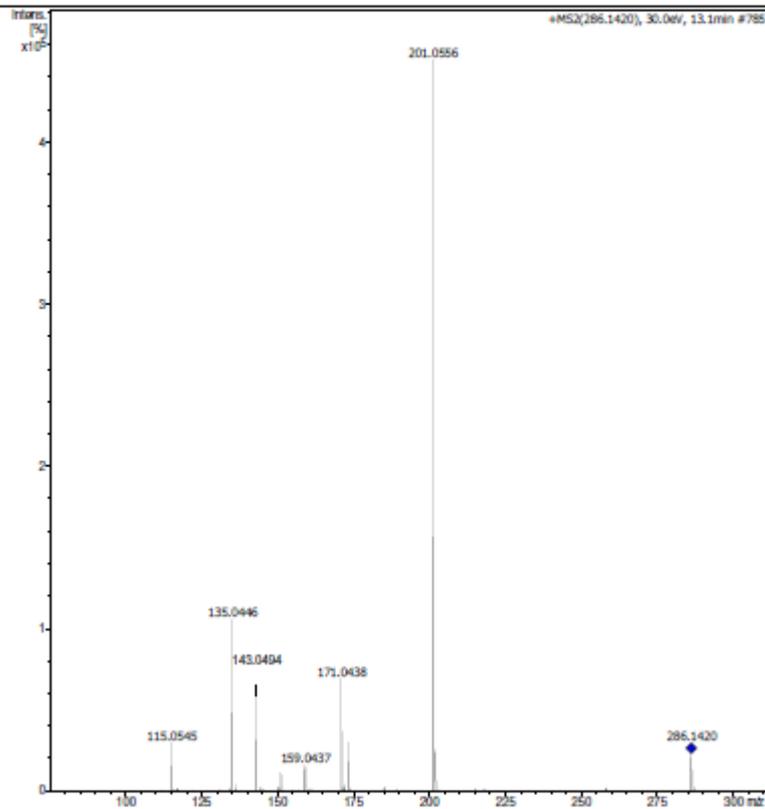
Faculdade de Ciências Farmacéuticas de Ribeirão Preto-USP

Analysis Info

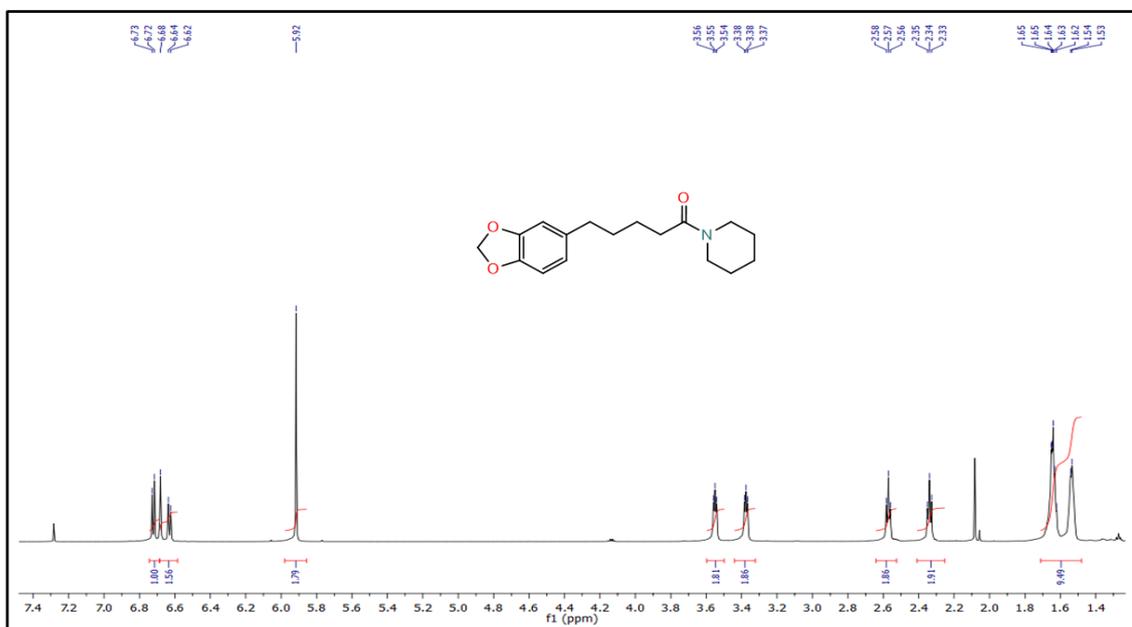
Analysis Name D:\Data\GIBSON\PIPERINA_POSITIVO.d
 Method Tune_Low_Tomaz_Pos_1300u_SETEMBRO.m
 Sample Name PIPERINA_POSITIVO
 Comment

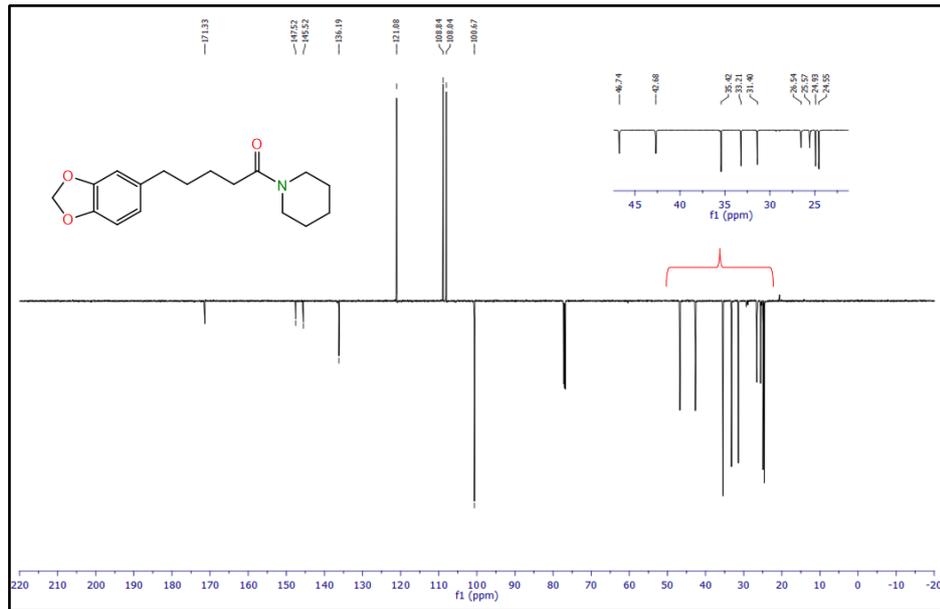
Acquisition Date 2/4/2016 2:26:16 PM

Operator BDAL@DE
 Instrument micrOTOF-Q II

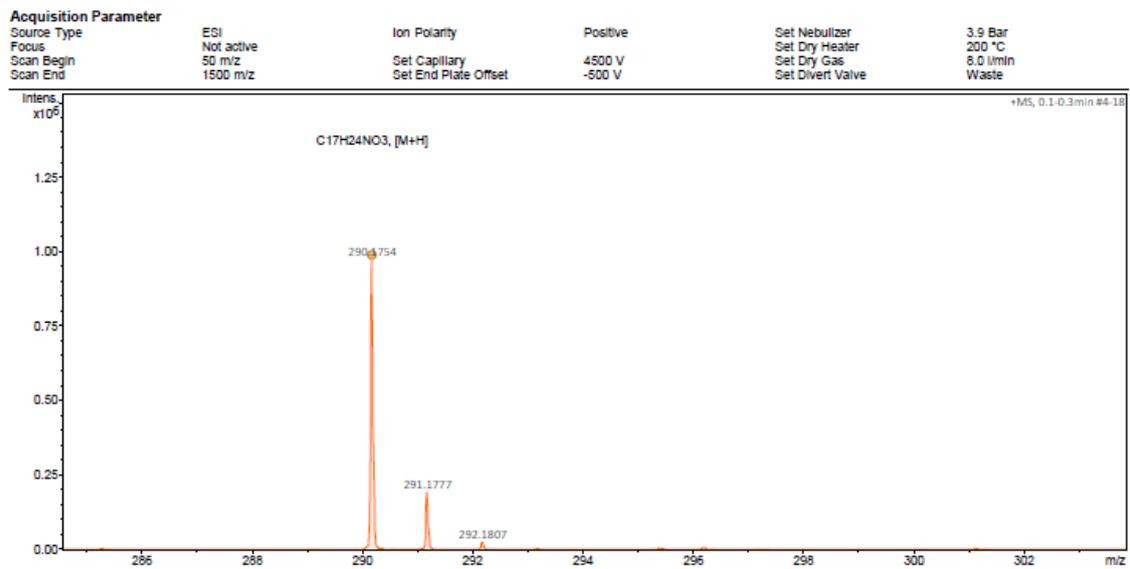


Espectro 10- Espectro de Massa de alta resolução da Piperina.

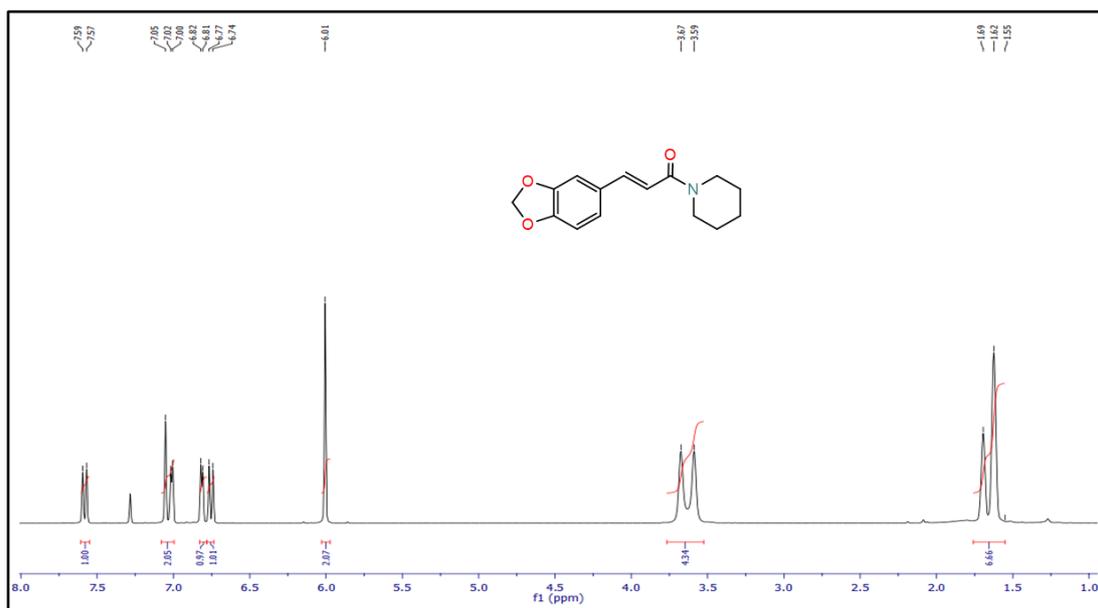
Espectro 11- Espectro de ^1H RMN da tetraidropiperina (600 MHz, CDCl_3).



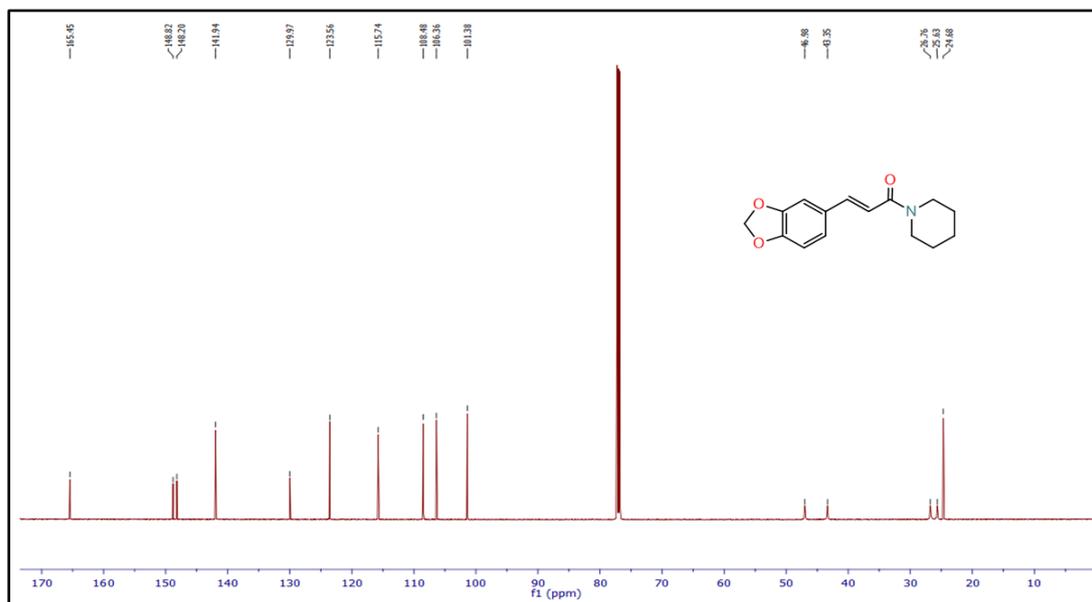
Espectro 12- Espectro de ¹³C RMN da tetraidropiperina (150 MHz, CDCl₃).



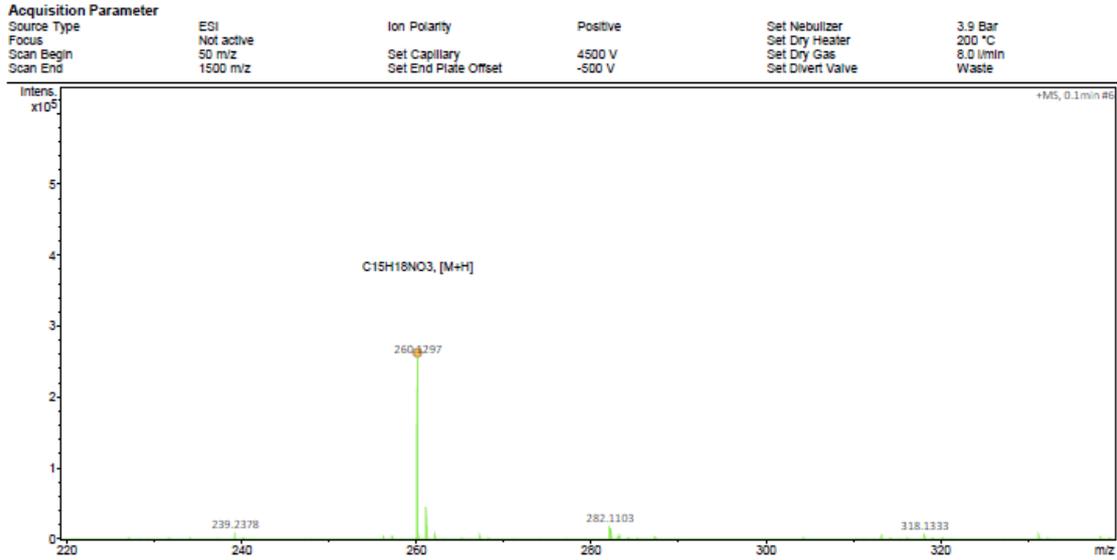
Espectro 13- Espectro de Massa de alta resolução da tetraidropiperina.



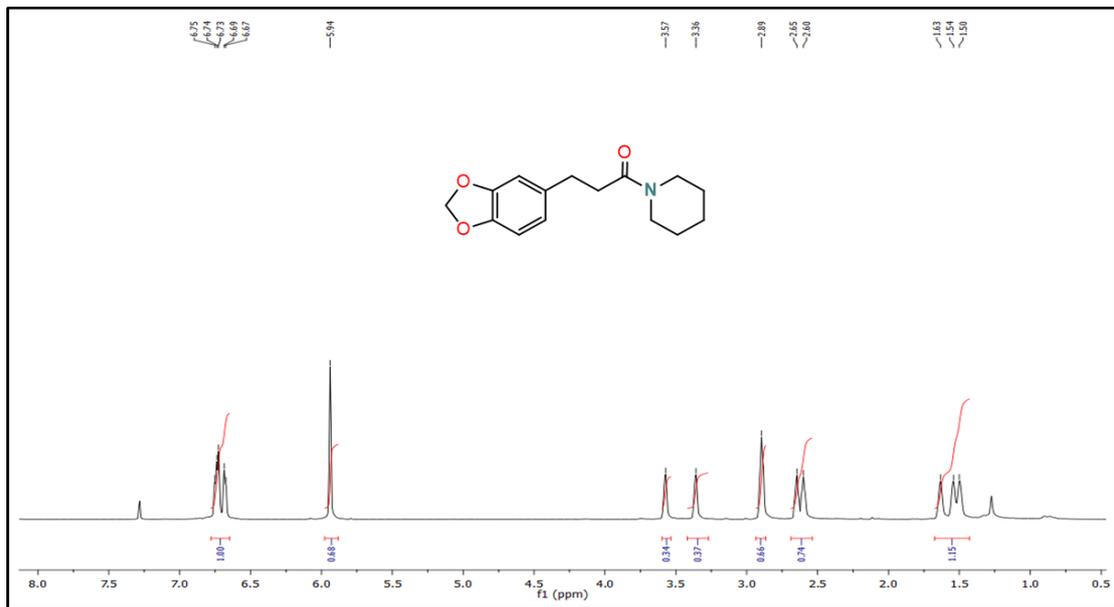
Espectro 14- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-29 (600 MHz, CDCl₃).



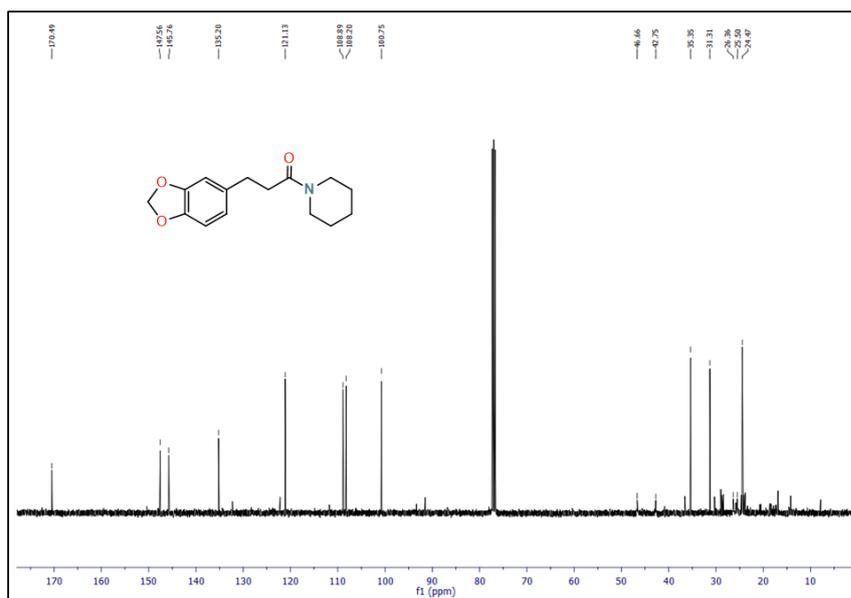
Espectro 15- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-29 (150 MHz, CDCl₃).



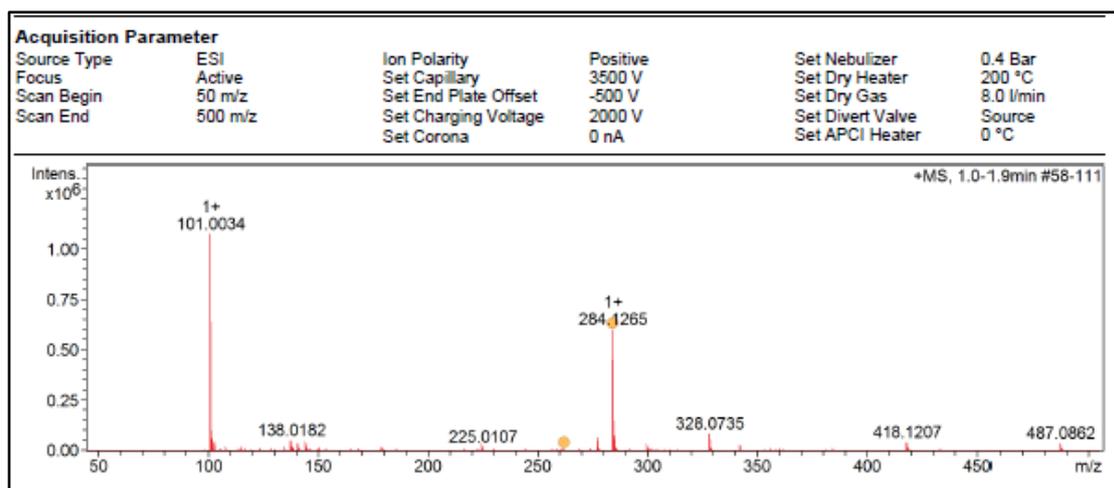
Espectro 16- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-29.



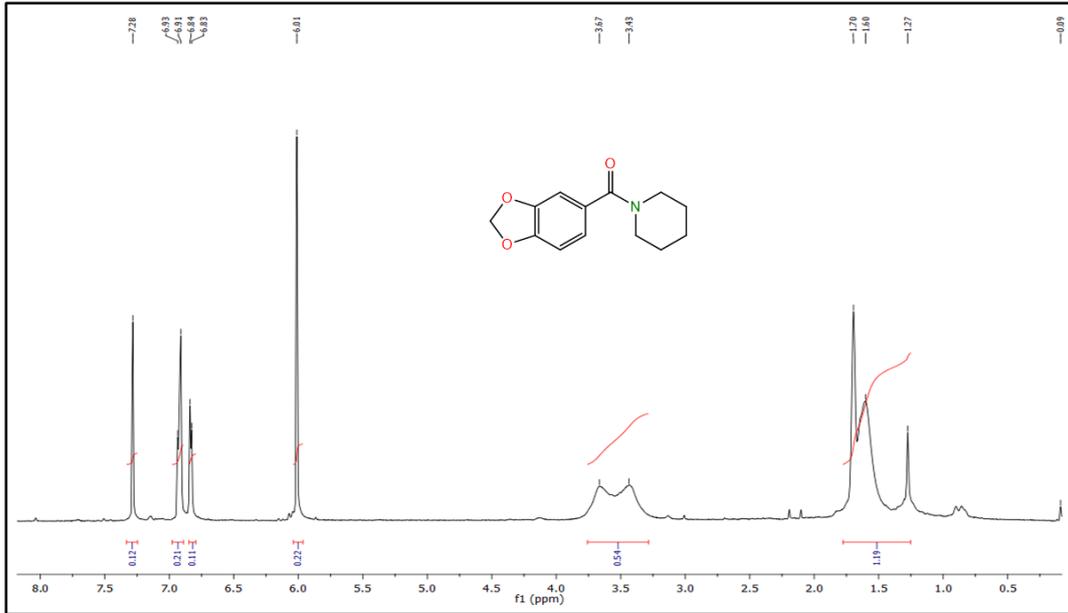
Espectro 17- Espectro de 1H RMN do LASSINT-30 (600 MHz, $CDCl_3$).



Espectro 18- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-30 (600 MHz, CDCl_3).



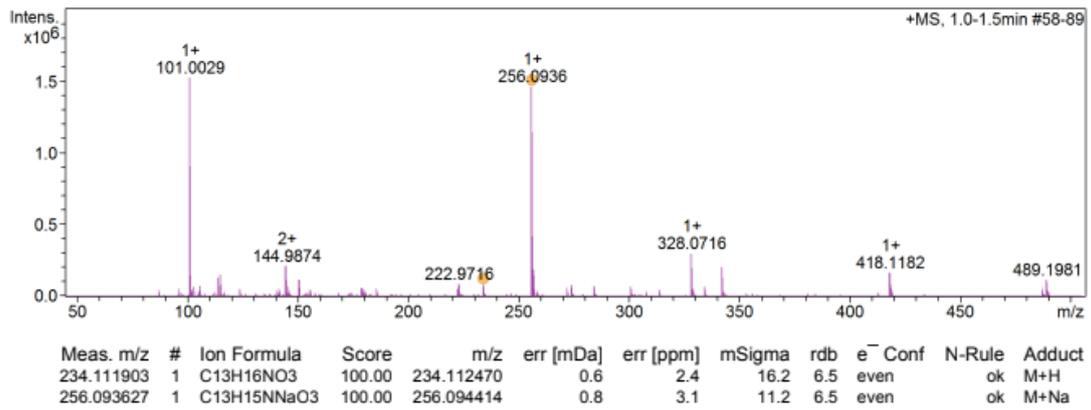
Espectro 19- Espectro de Massa de alta resolução do composto LASSINT-30.



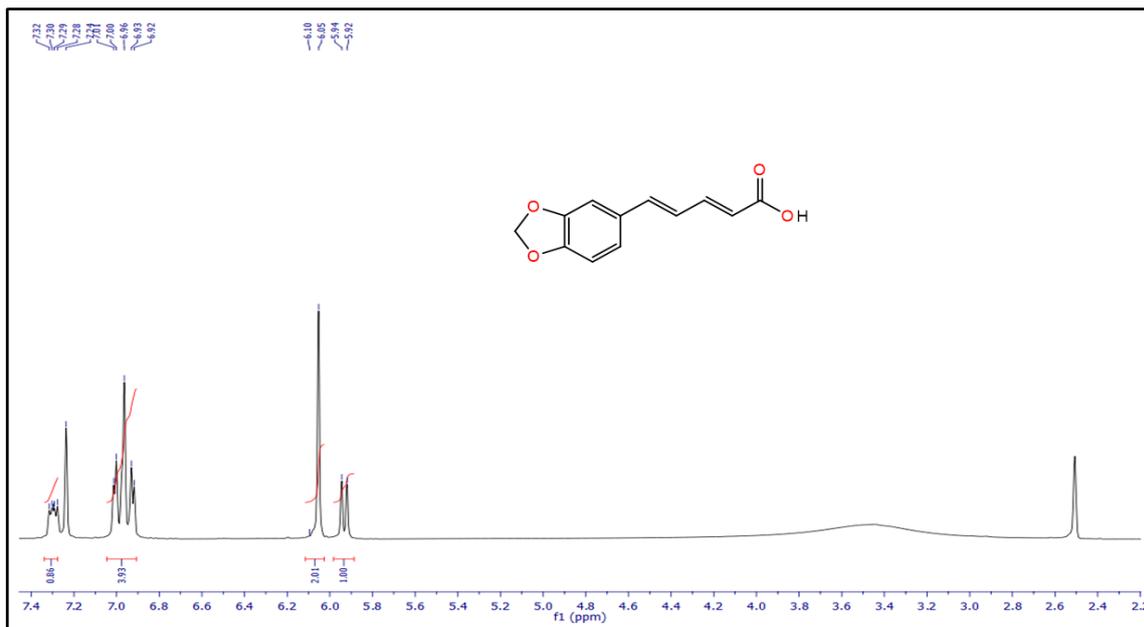
Espectro 20- Espectro de ^1H RMN LASSINT-31 (600 MHz, CDCl_3).

Acquisition Parameter

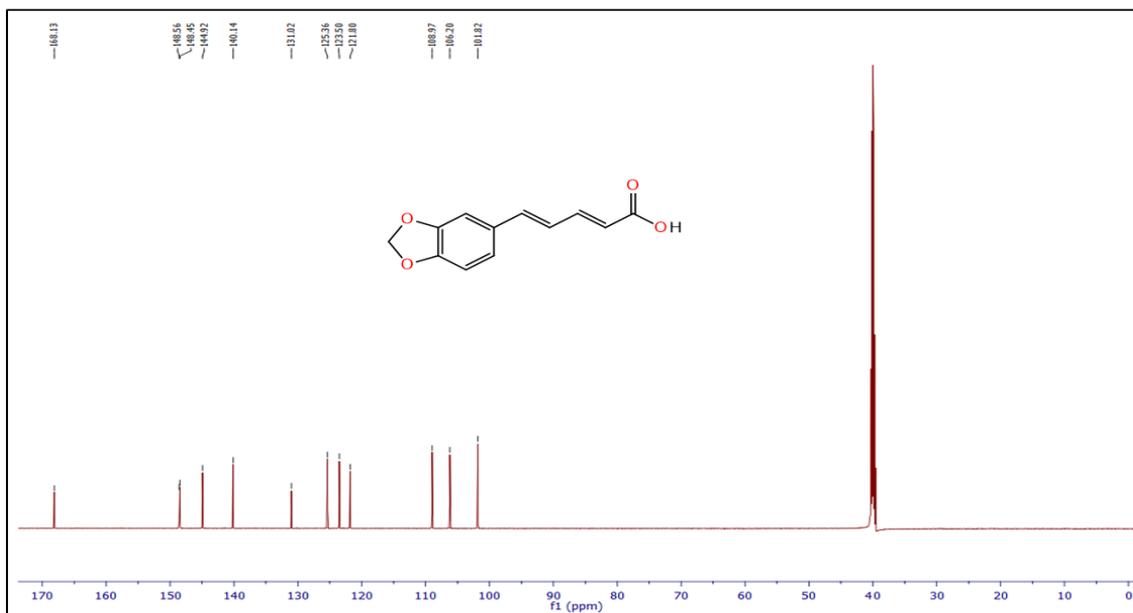
Source Type	ESI	Ion Polarity	Positive	Set Nebulizer	0.4 Bar
Focus	Active	Set Capillary	4500 V	Set Dry Heater	200 °C
Scan Begin	50 m/z	Set End Plate Offset	-500 V	Set Dry Gas	8.0 l/min
Scan End	500 m/z	Set Charging Voltage	2000 V	Set Divert Valve	Source
		Set Corona	0 nA	Set APCI Heater	0 °C



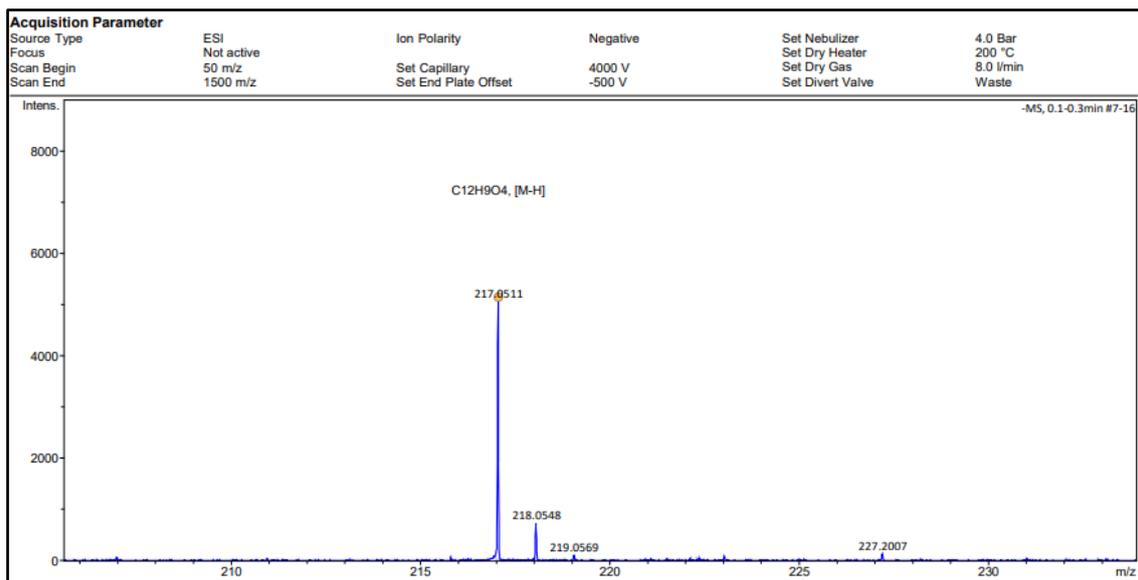
Espectro 21- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-31.



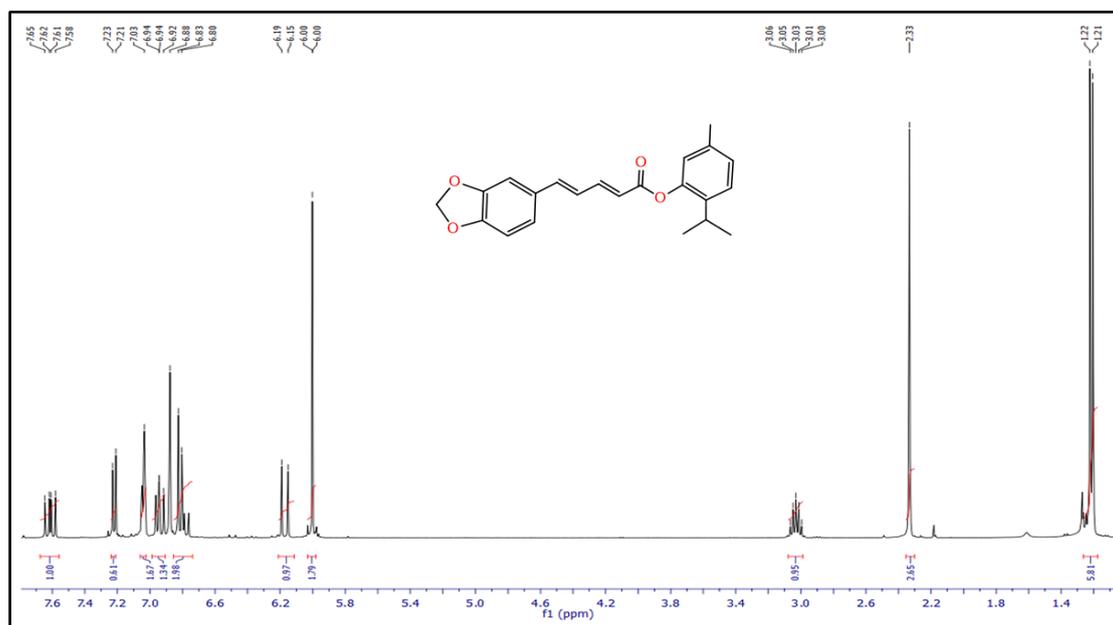
Espectro 22-Espectro de ^1H RMN do LASSINT-1 (600 MHz, DMSO).



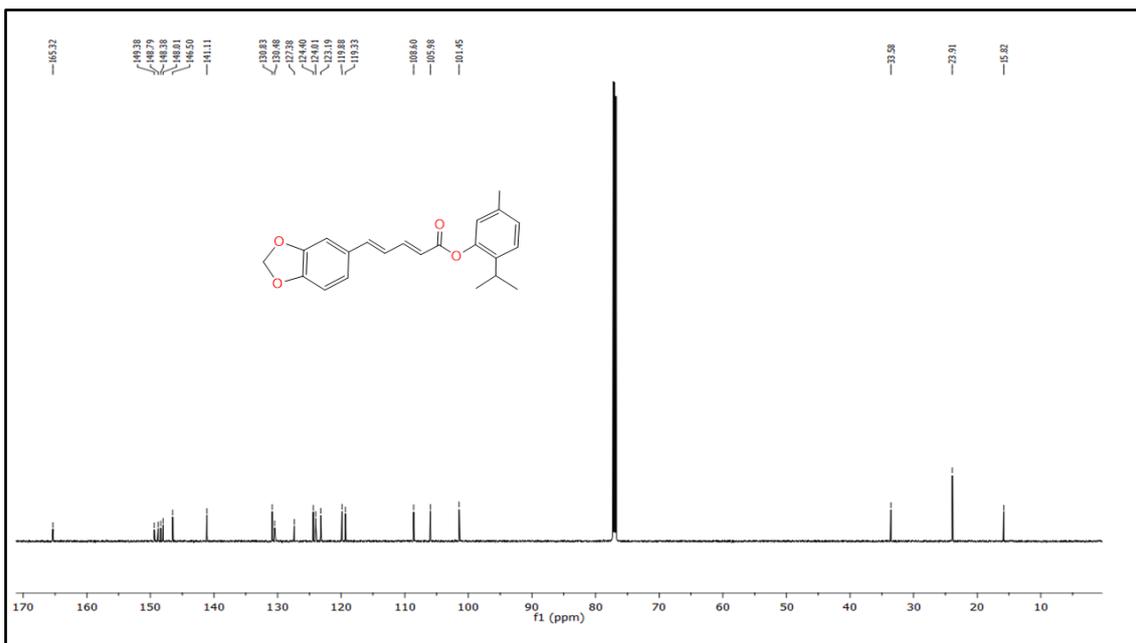
Espectro 23- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-1 (600 MHz, DMSO).



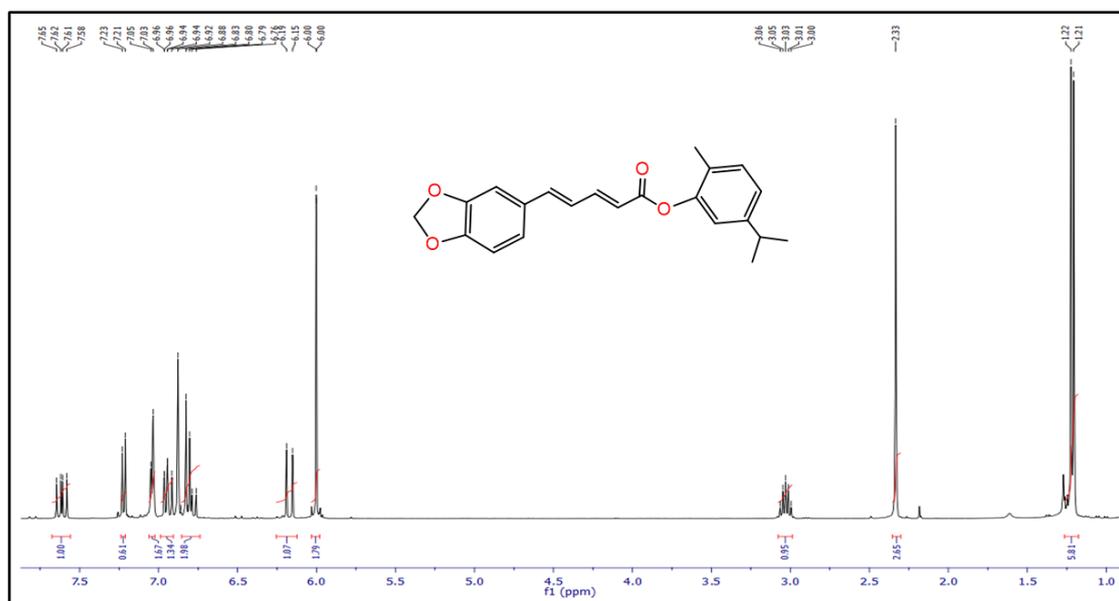
Espectro 24- Espectro de Massa de alta resolução do LASSINT-1.



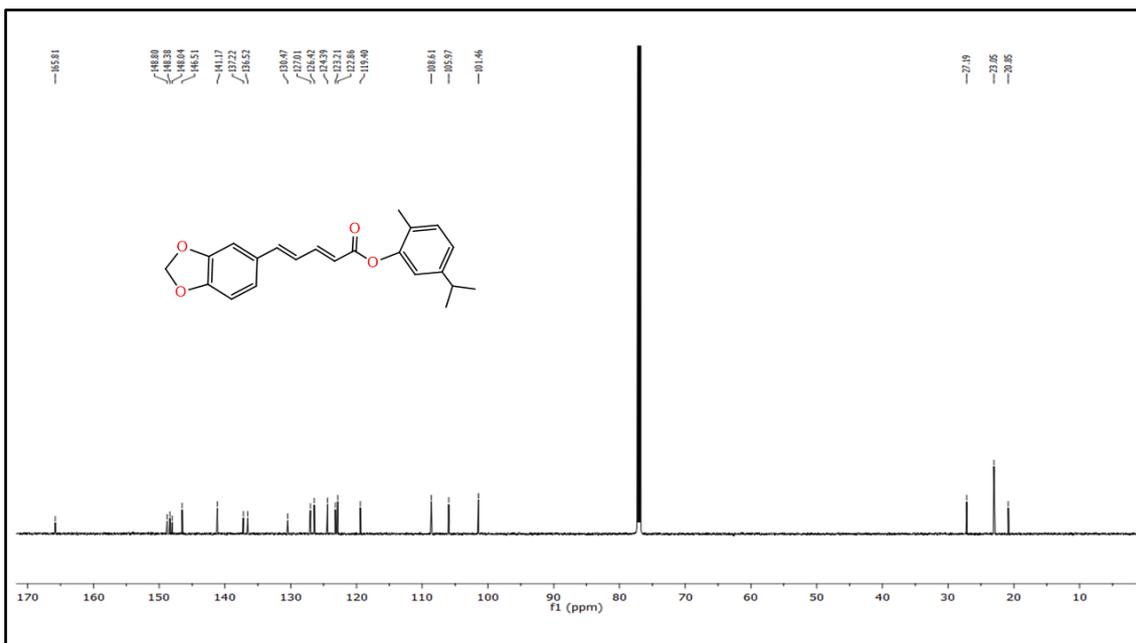
Espectro 25- Espectro de 1H RMN do LASSINT-2 (400 MHz, $CDCl_3$).



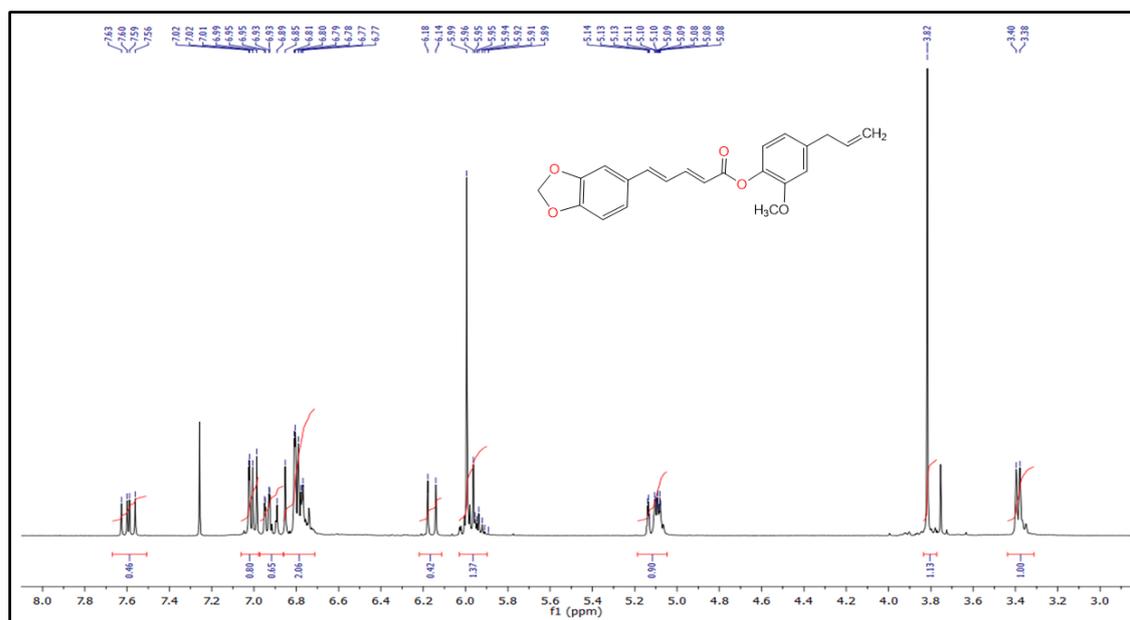
Espectro 26- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-2 (100 MHz, CDCl₃).



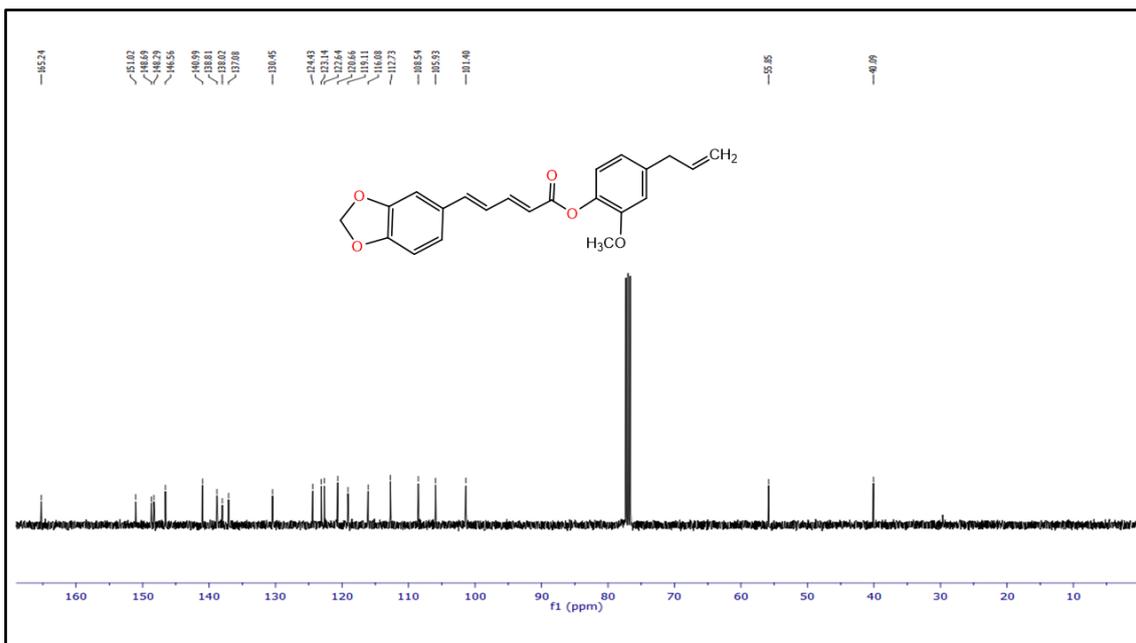
Espectro 27- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-3 (400 MHz, CDCl₃).



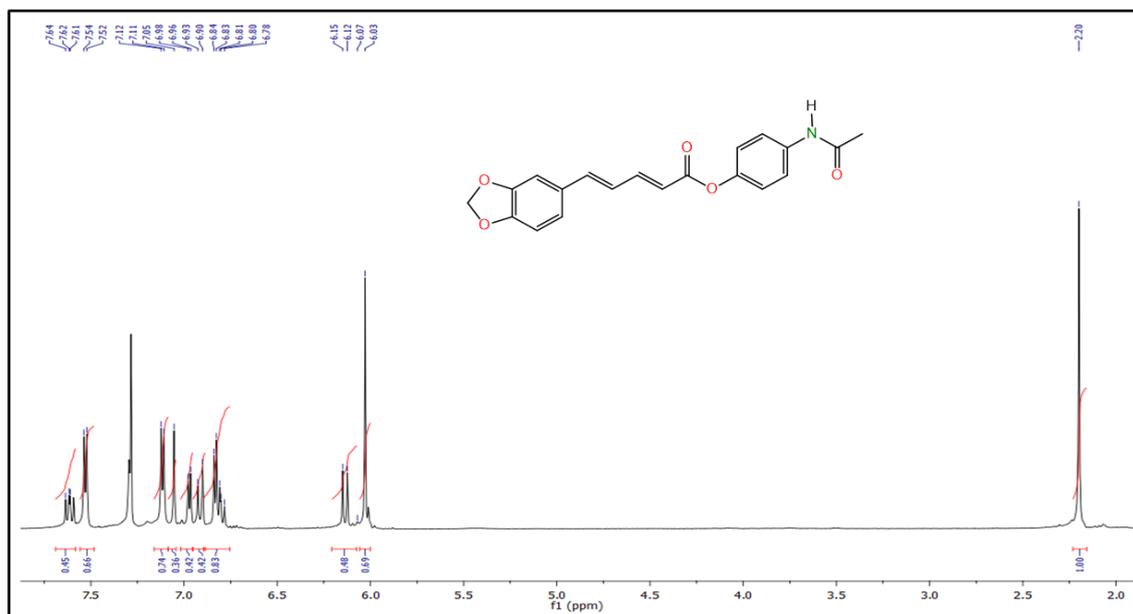
Espectro 28- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-3 (100 MHz, CDCl₃).



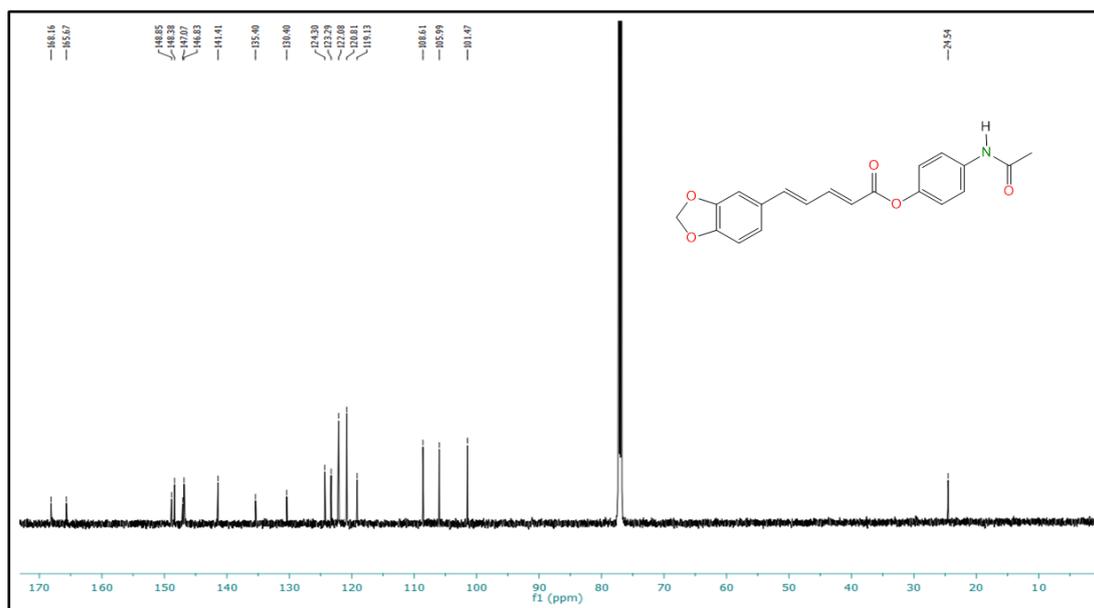
Espectro 29- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-4 (400 MHz, CDCl₃).



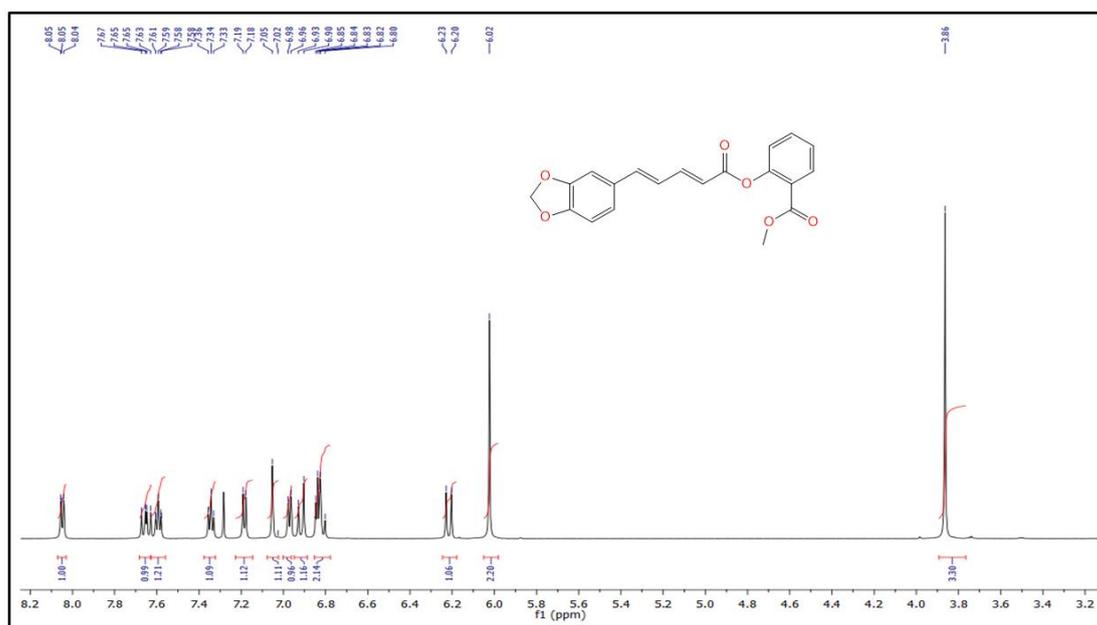
Espectro 30- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-4 (100 MHz, CDCl₃).



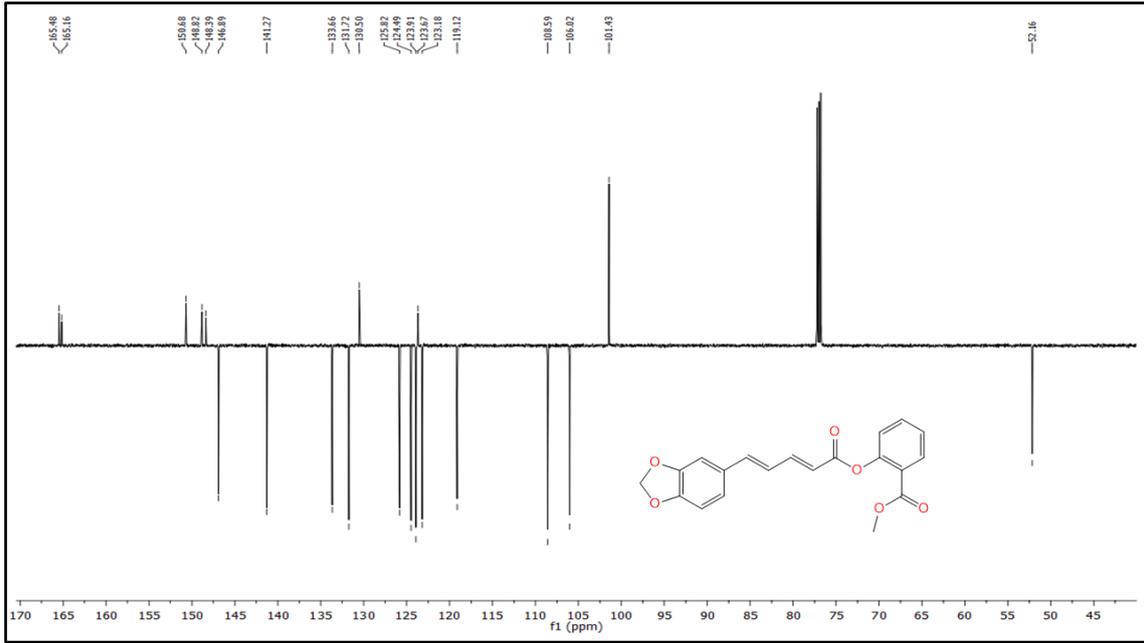
Espectro 31- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-5 (600 MHz, CDCl₃).



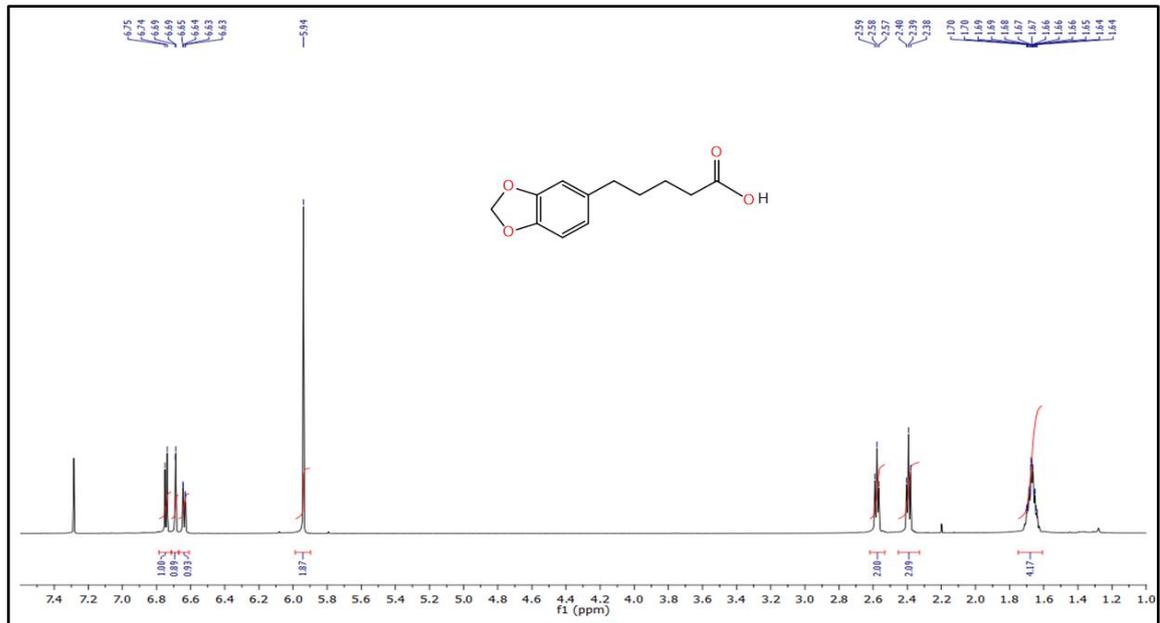
Espectro 32- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-5 (150 MHz, CDCl_3).



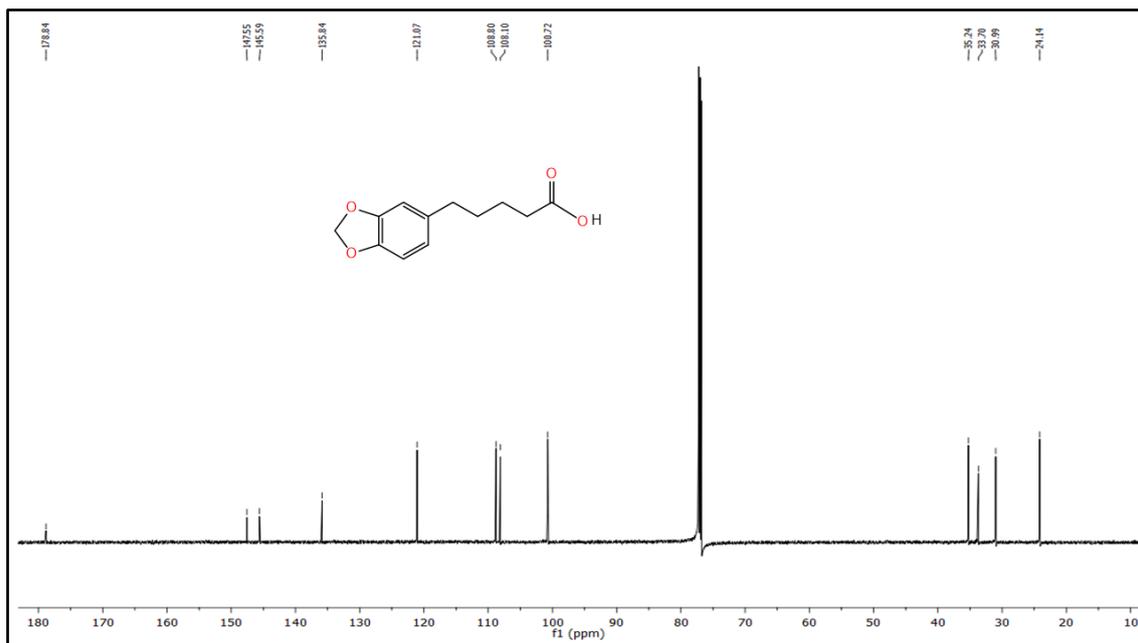
Espectro 33- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-6 (600 MHz, CDCl_3).



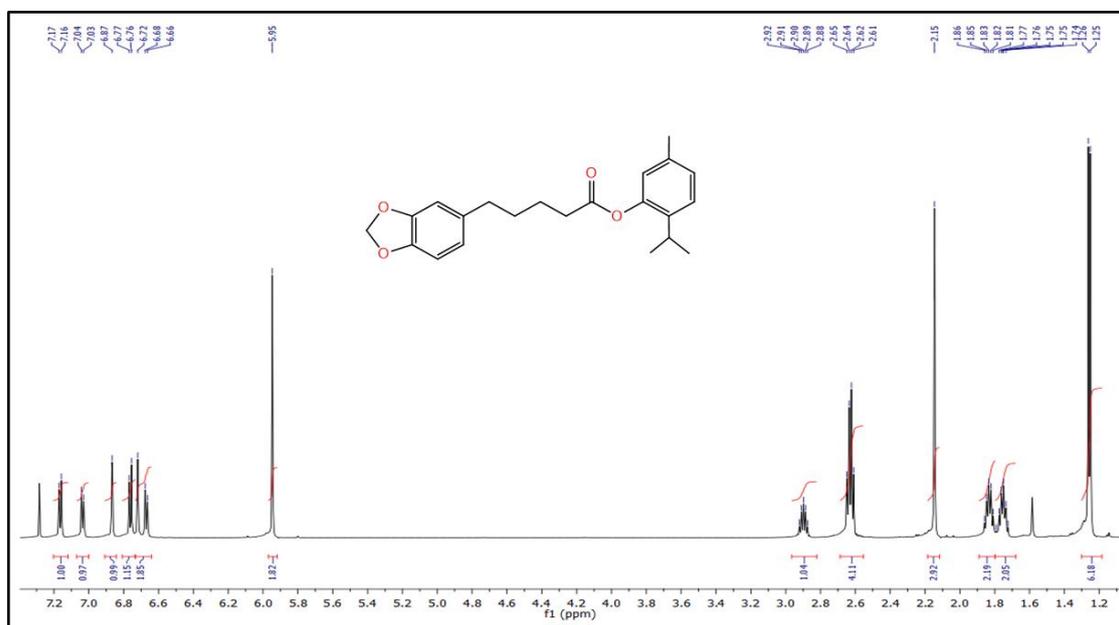
Espectro 34- Espectro de ^{13}C -APT do LASSINT-6 (150 MHz, CDCl_3).



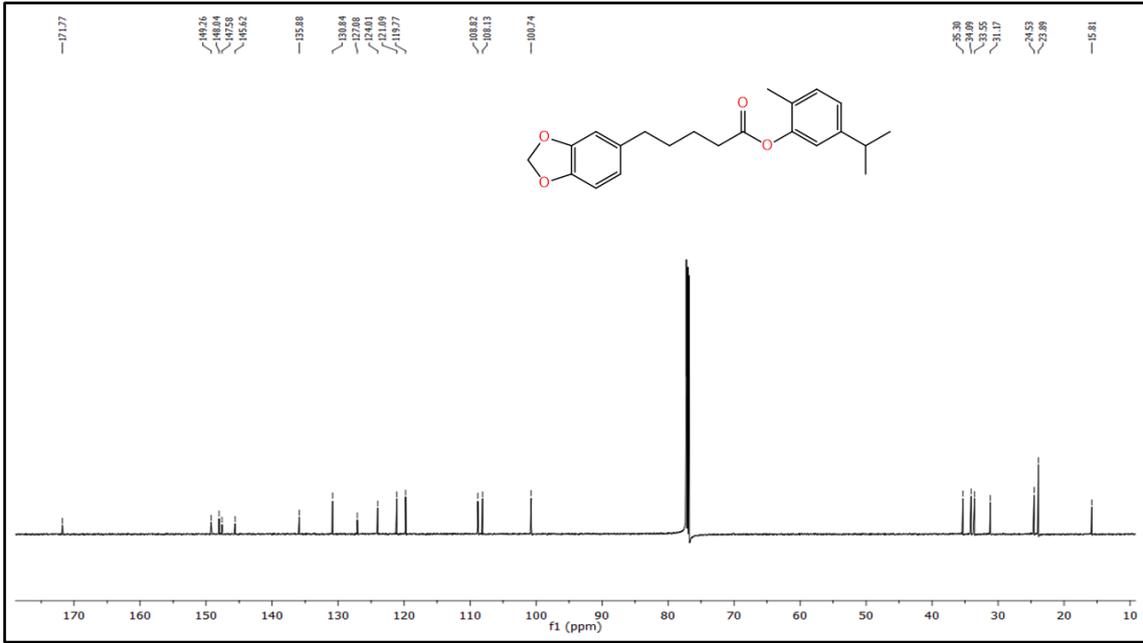
Espectro 35- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-7 (600 MHz, CDCl_3).



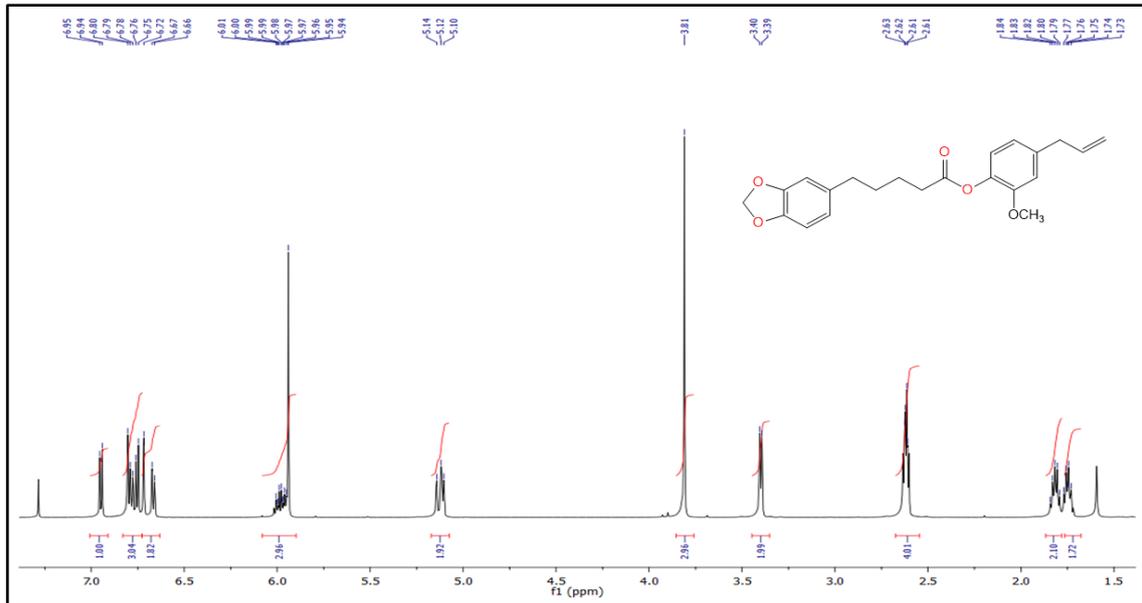
Espectro 36- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-7 (150 MHz, CDCl_3).



Espectro 37- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-8 (600 MHz, CDCl_3).



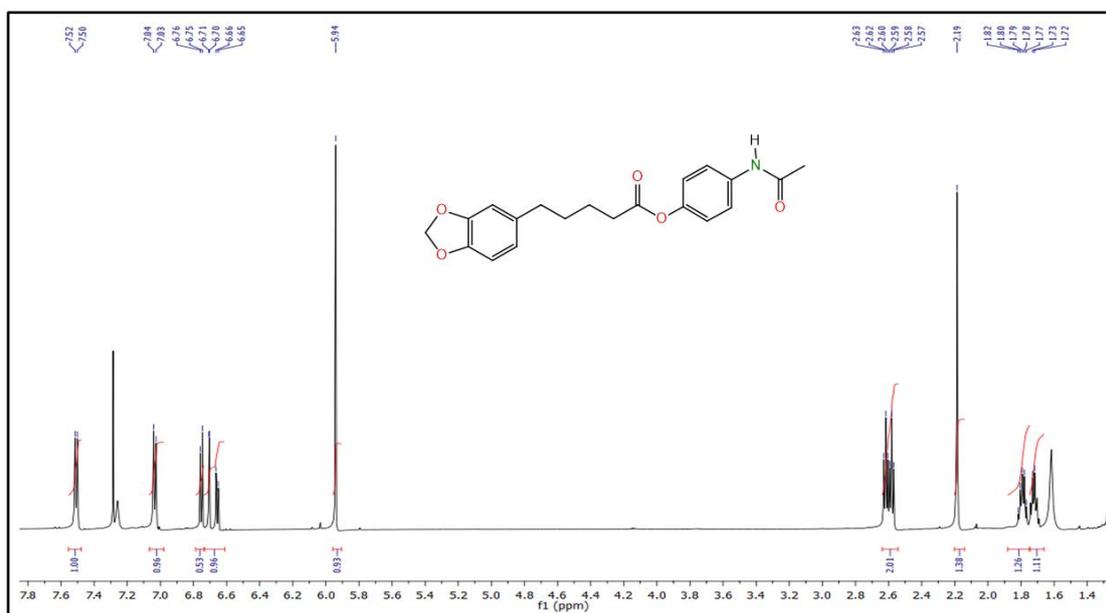
Espectro 40- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-9 (150 MHz, CDCl₃).



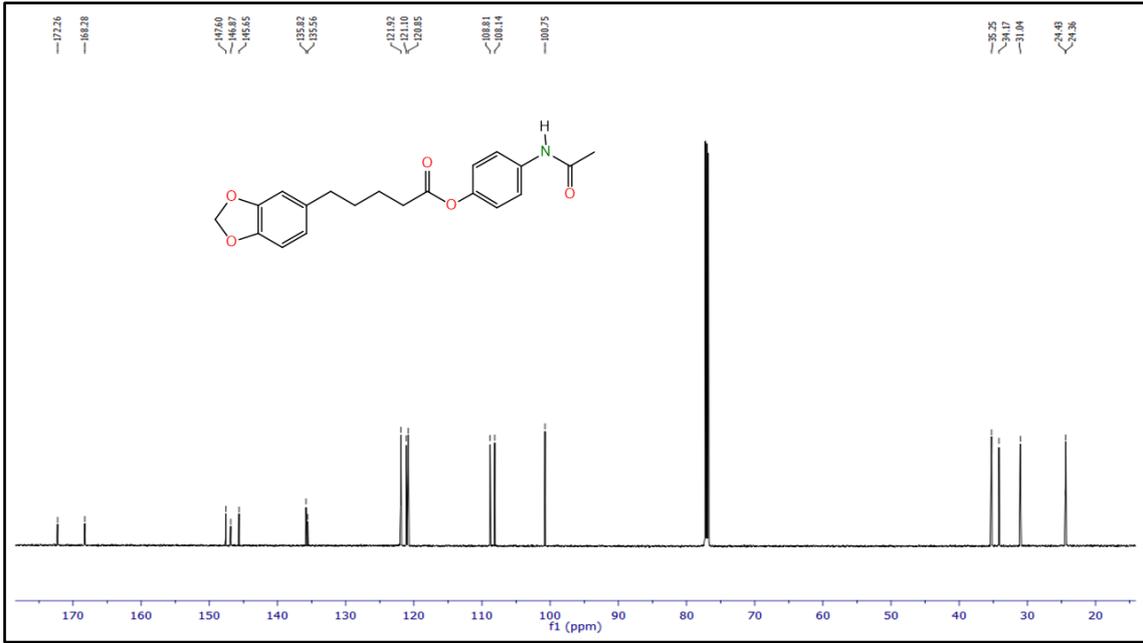
Espectro 41- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-10 (600 MHz, CDCl₃).



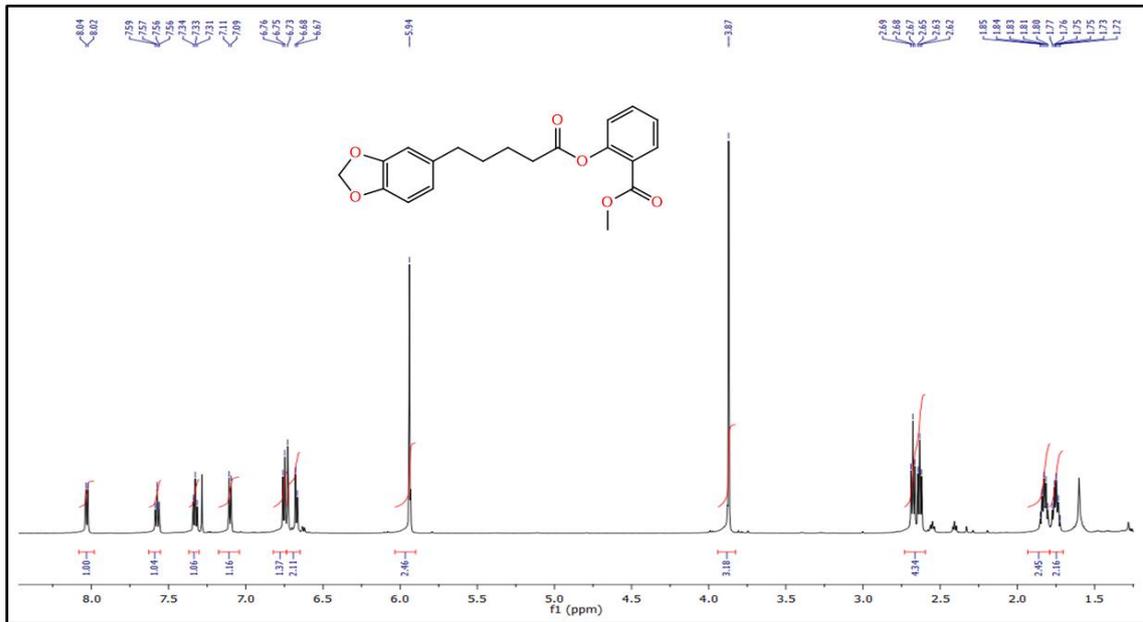
Espectro 42- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-10 (150 MHz, CDCl₃).



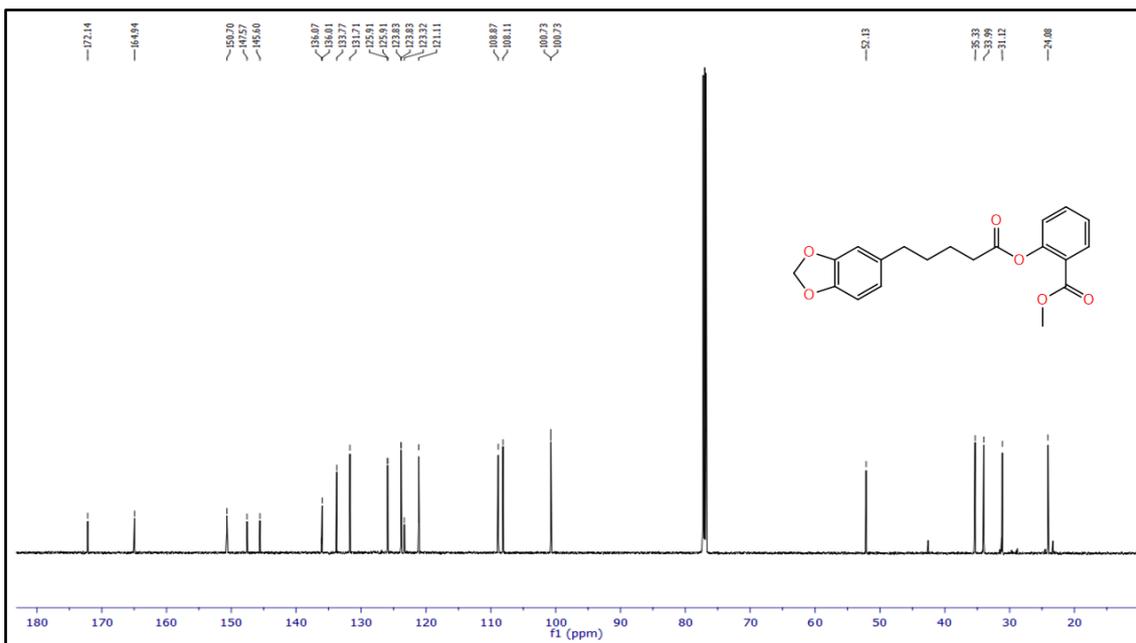
Espectro 43- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-11 (600 MHz, CDCl₃).



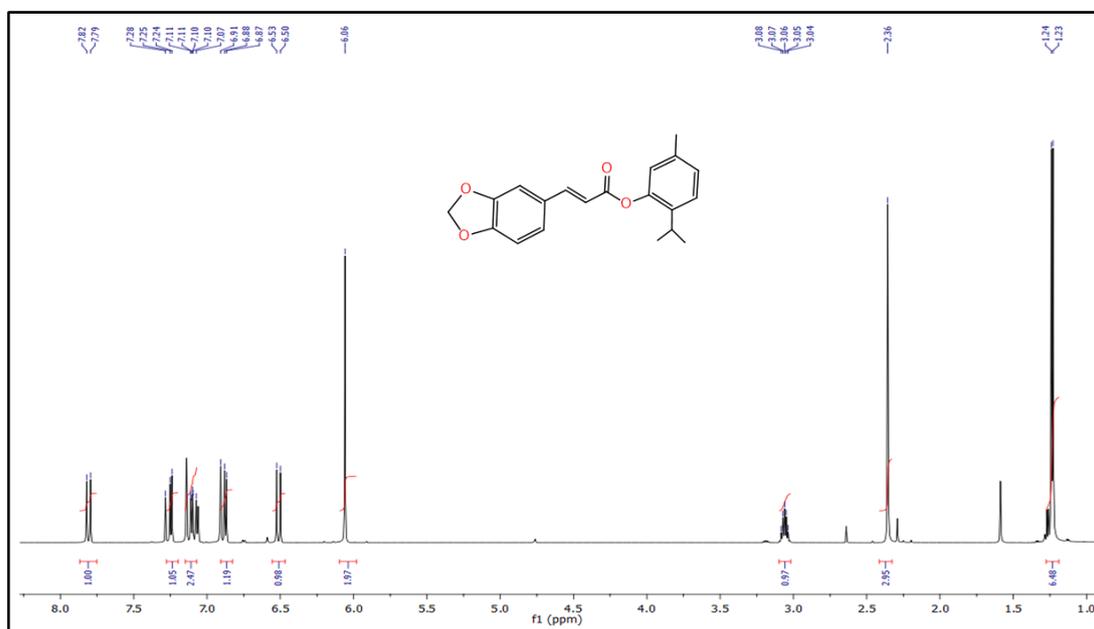
Espectro 44- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-11 (150 MHz, CDCl₃).



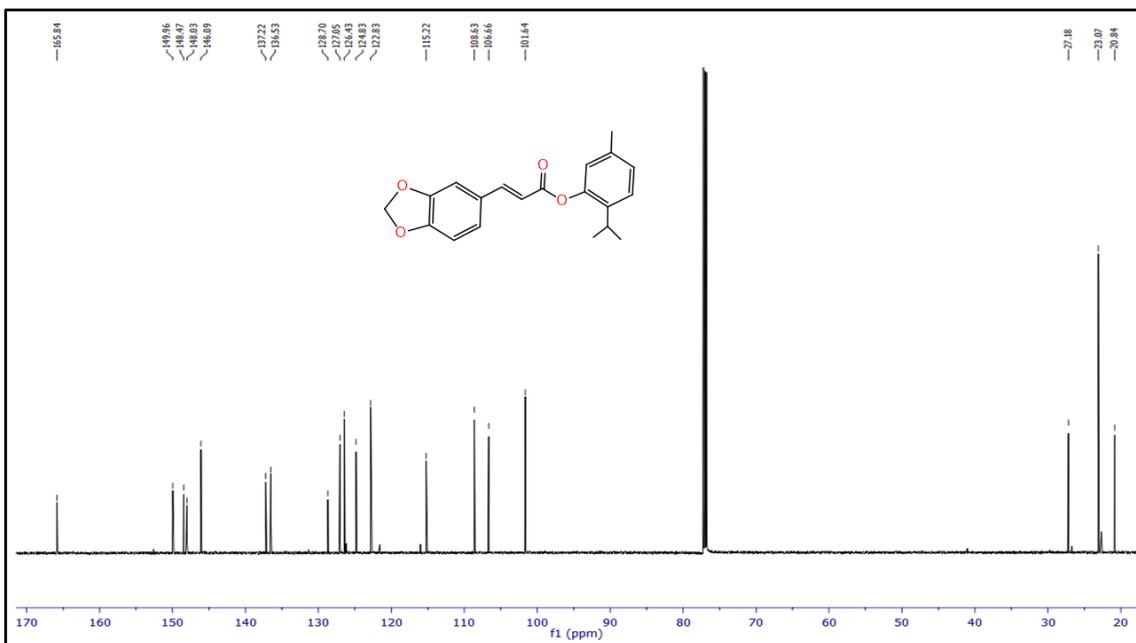
Espectro 45- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-12 (600 MHz, CDCl₃).



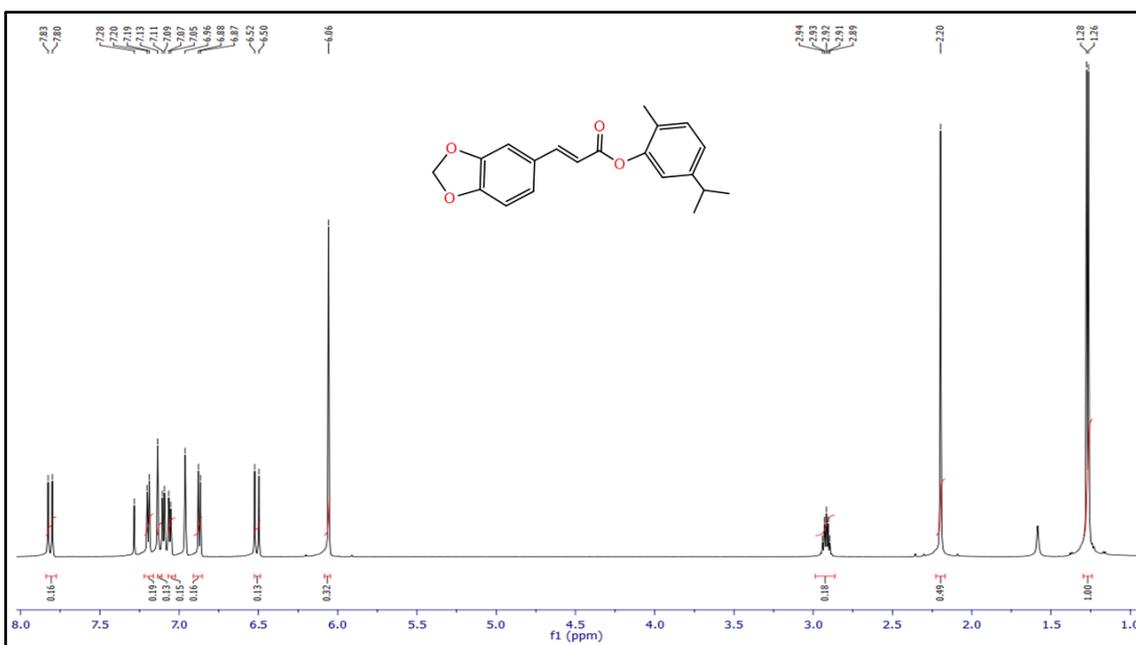
Espectro 46- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-12 (150 MHz, CDCl₃).



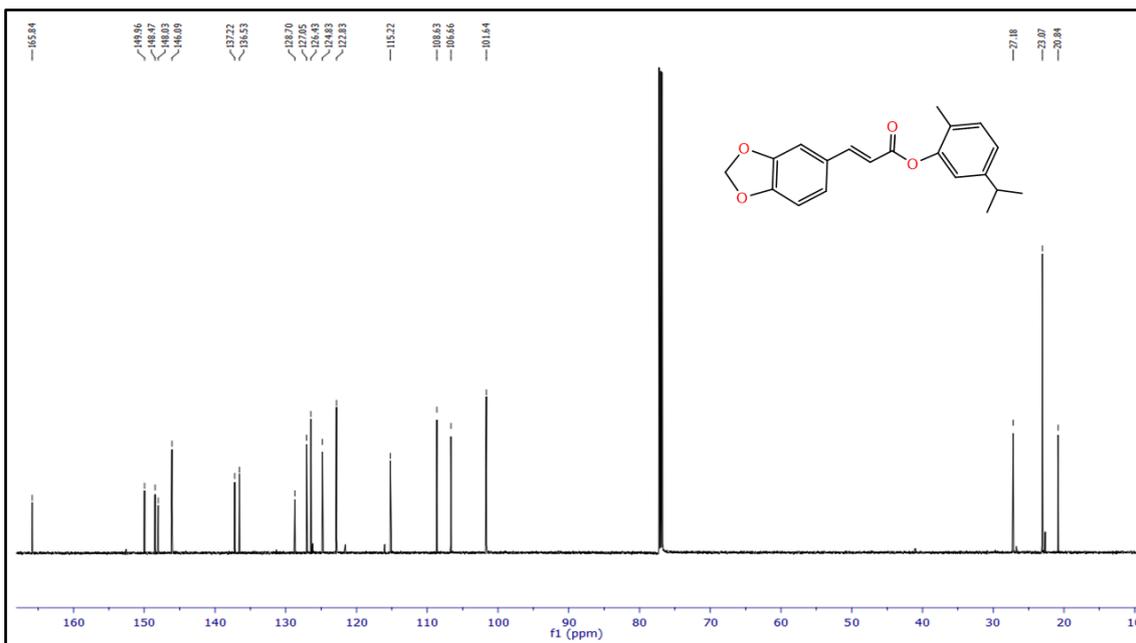
Espectro 47- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-13 (600 MHz, CDCl₃).



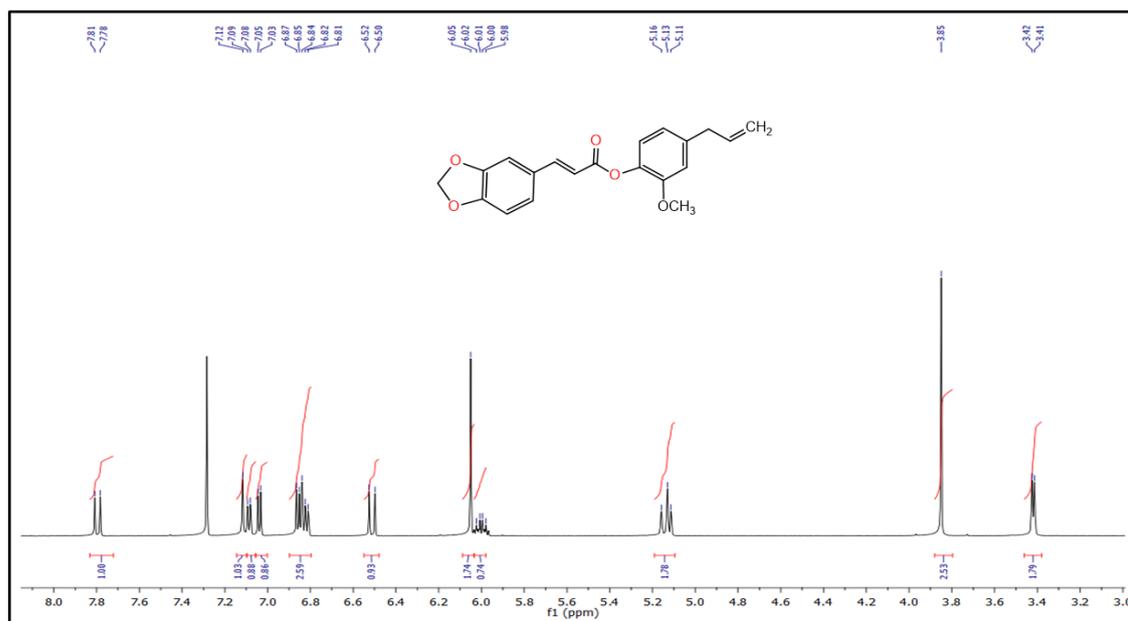
Espectro 48- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-13 (150 MHz, CDCl_3).



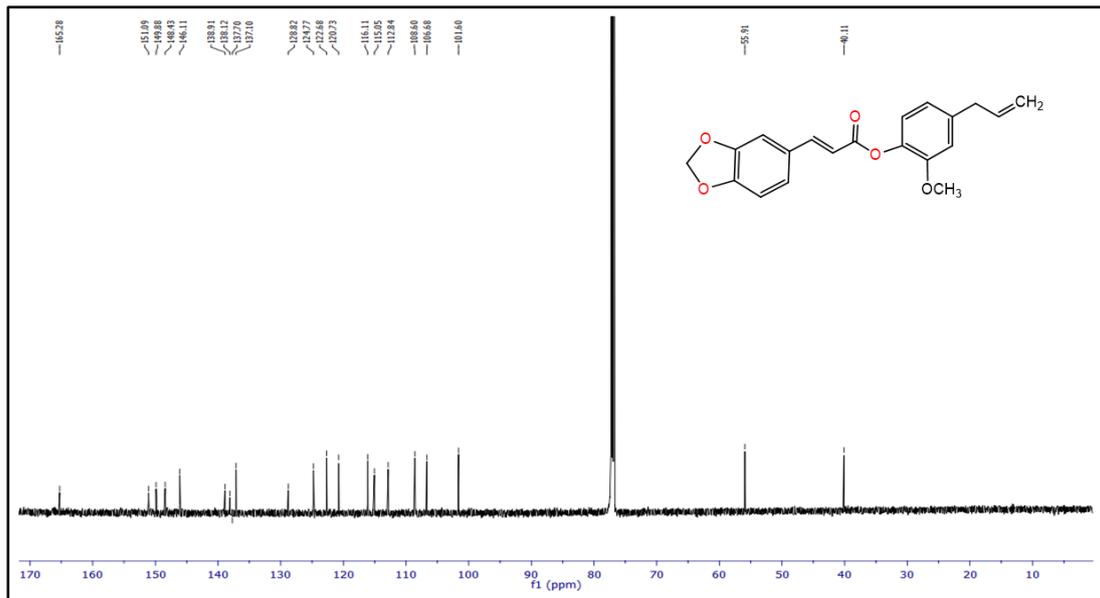
Espectro 49- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-14 (600 MHz, CDCl_3).



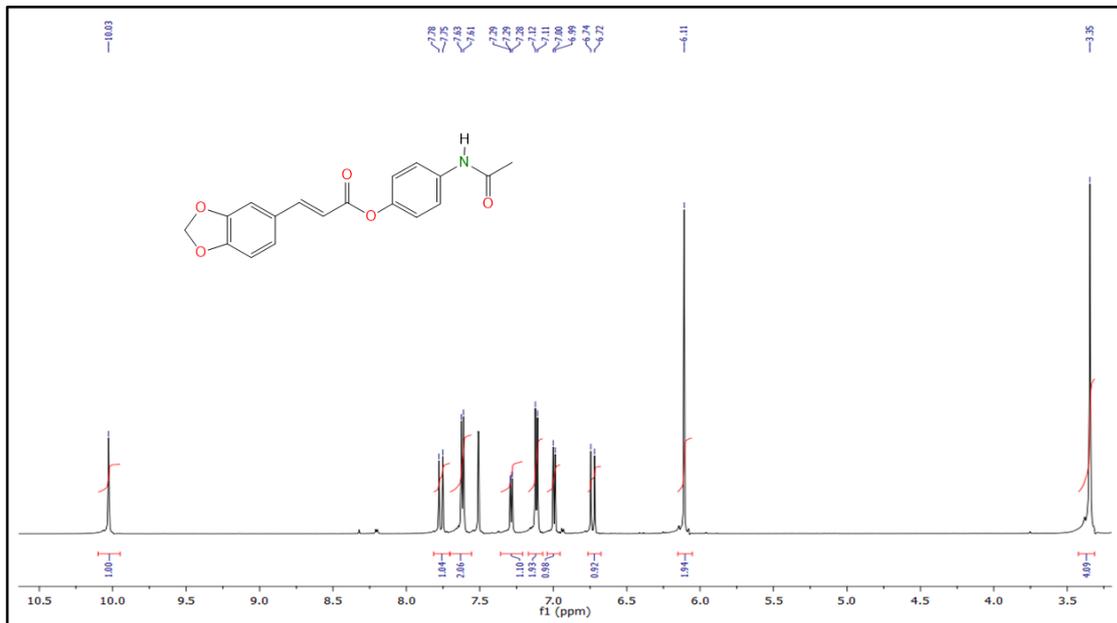
Espectro 50- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-14 (150 MHz, CDCl₃).



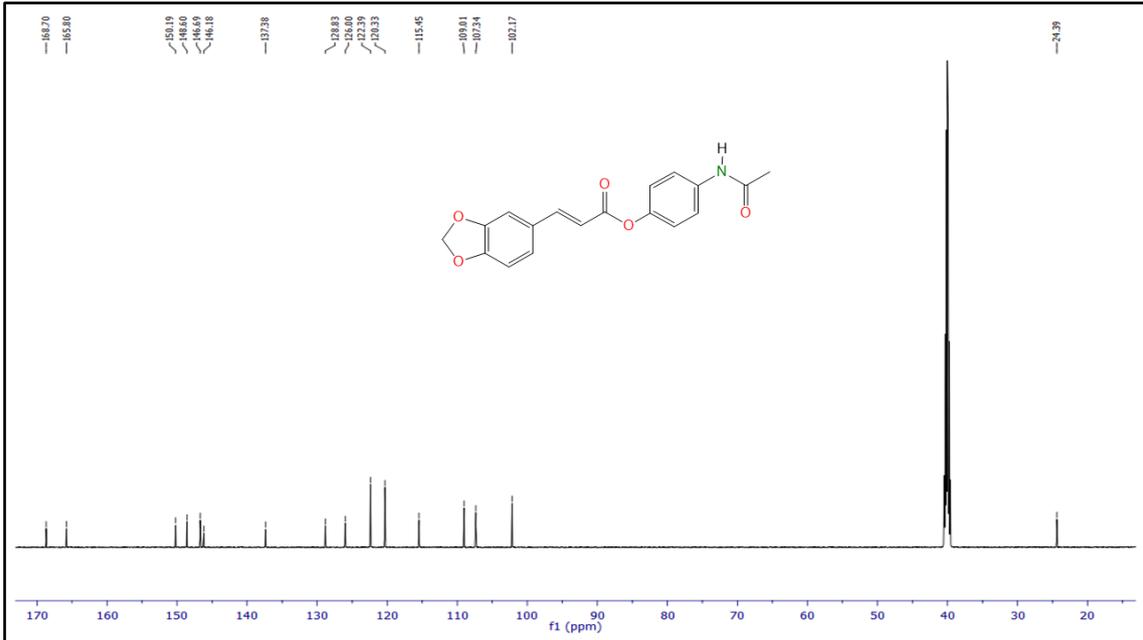
Espectro 51- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-15 (600 MHz, CDCl₃).



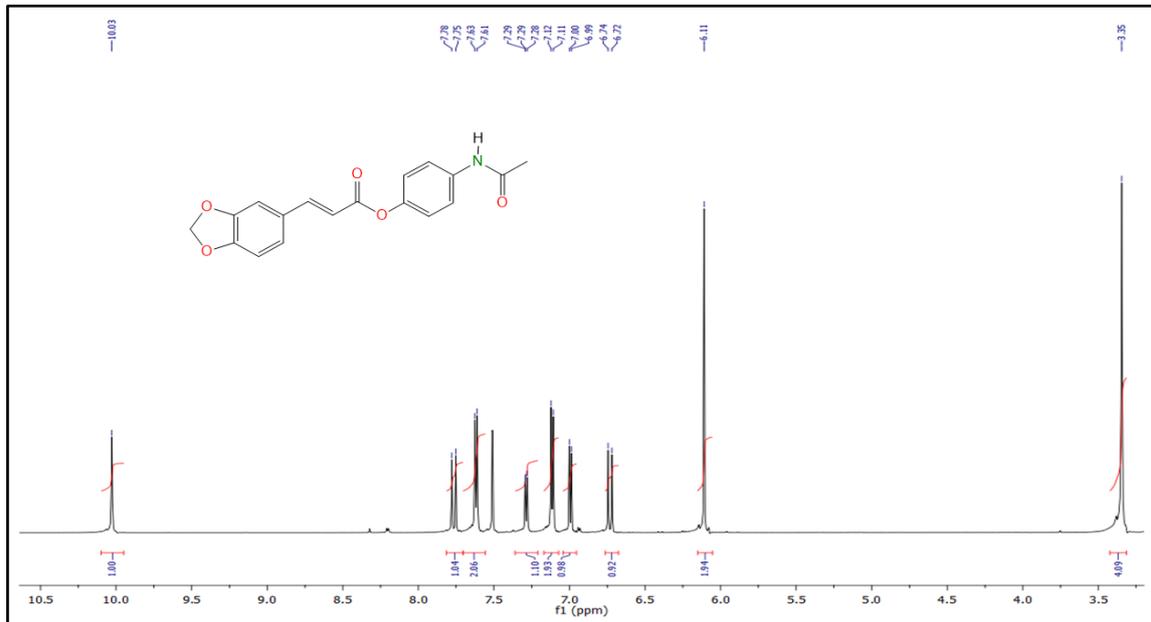
Espectro 52- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-15 (150 MHz, CDCl_3).



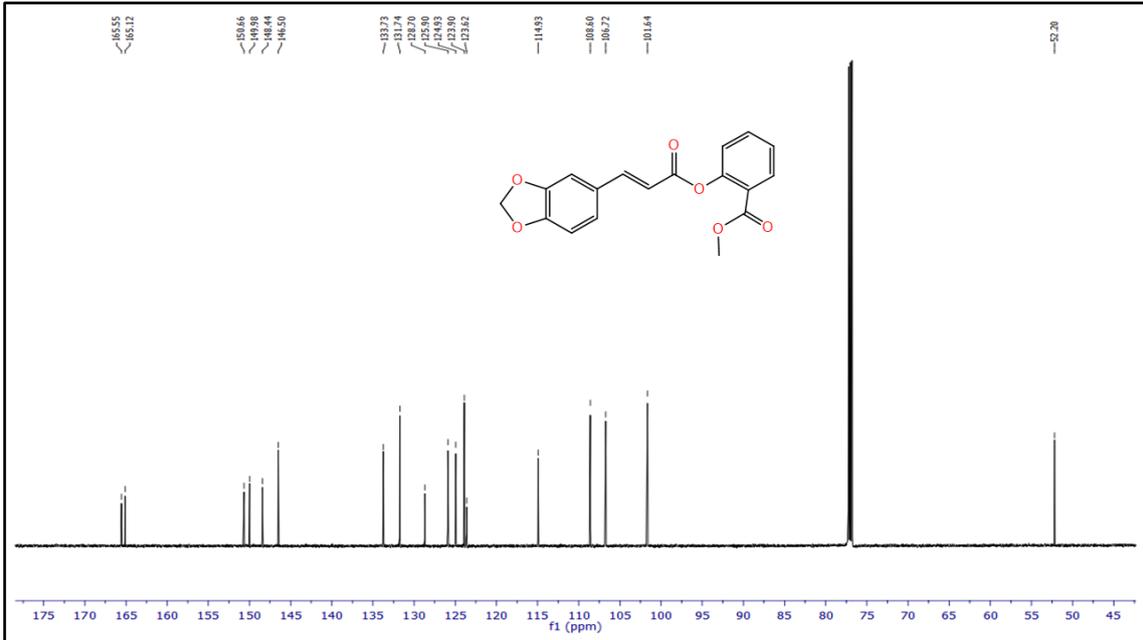
Espectro 53- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-16 (600 MHz, CDCl_3).



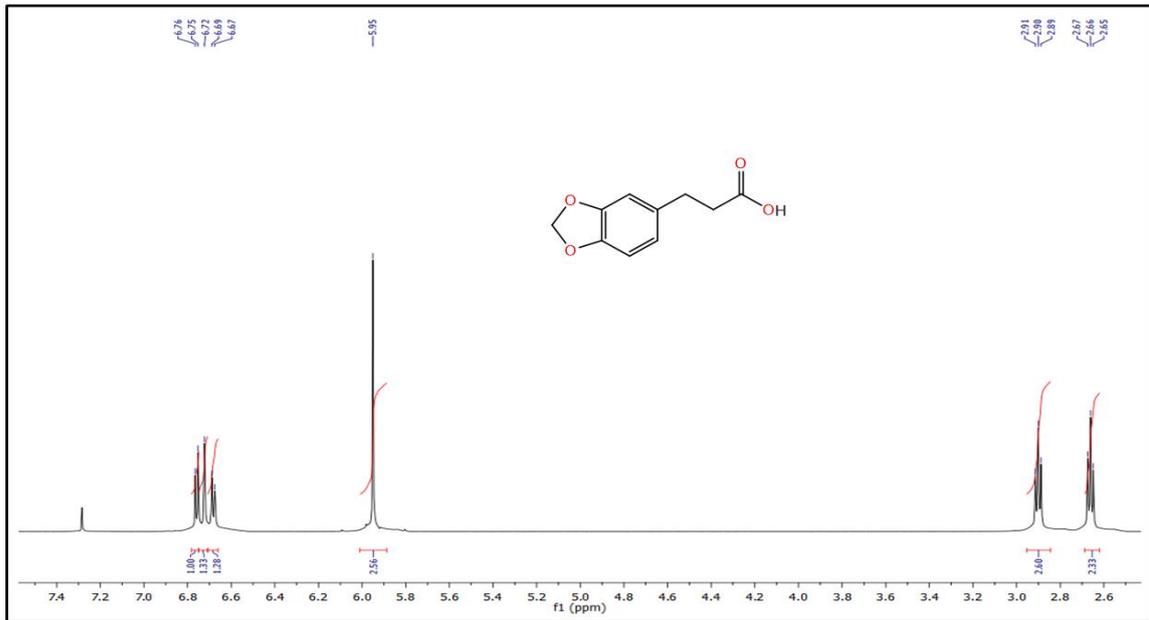
Espectro 54- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-16 (150 MHz, CDCl₃).



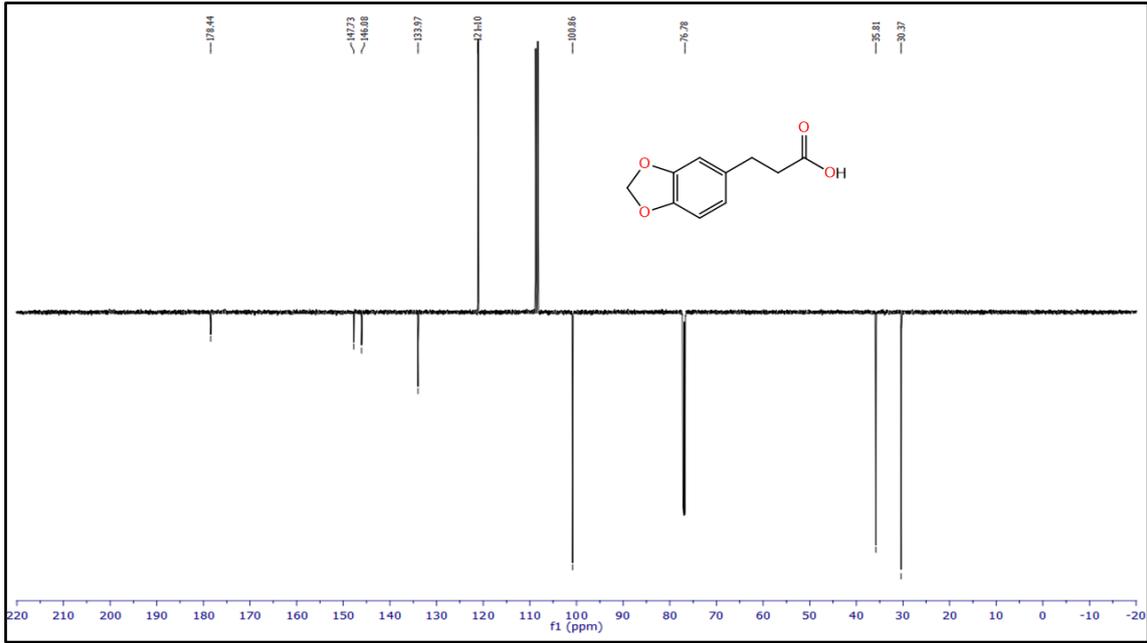
Espectro 55- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-17 (600 MHz, CDCl₃).



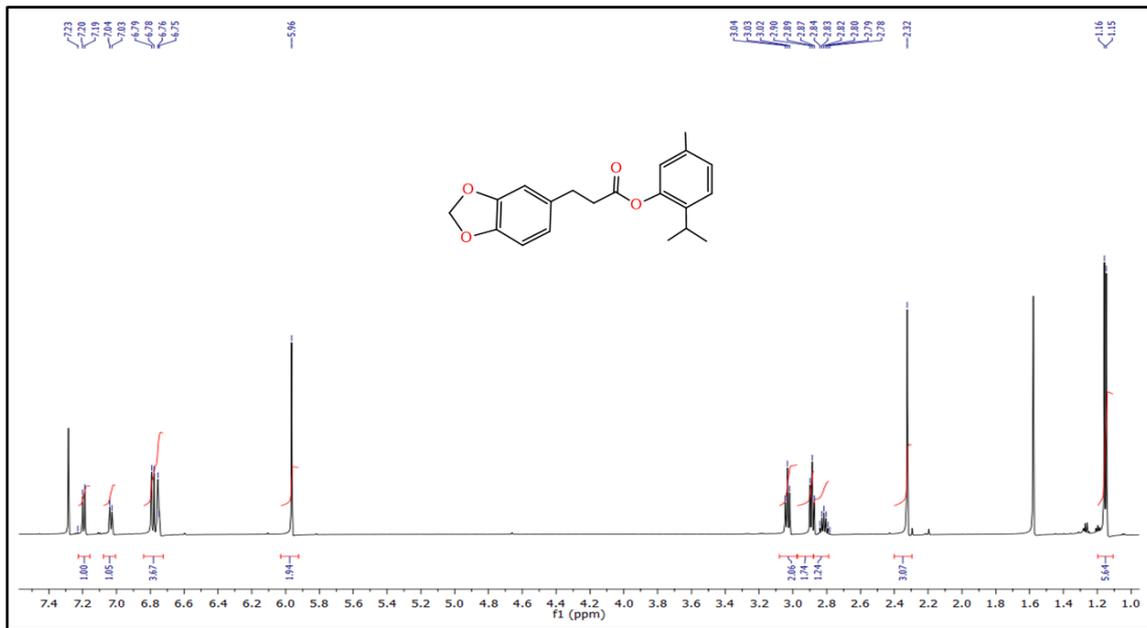
Espectro 56- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-17 (150 MHz, CDCl₃).



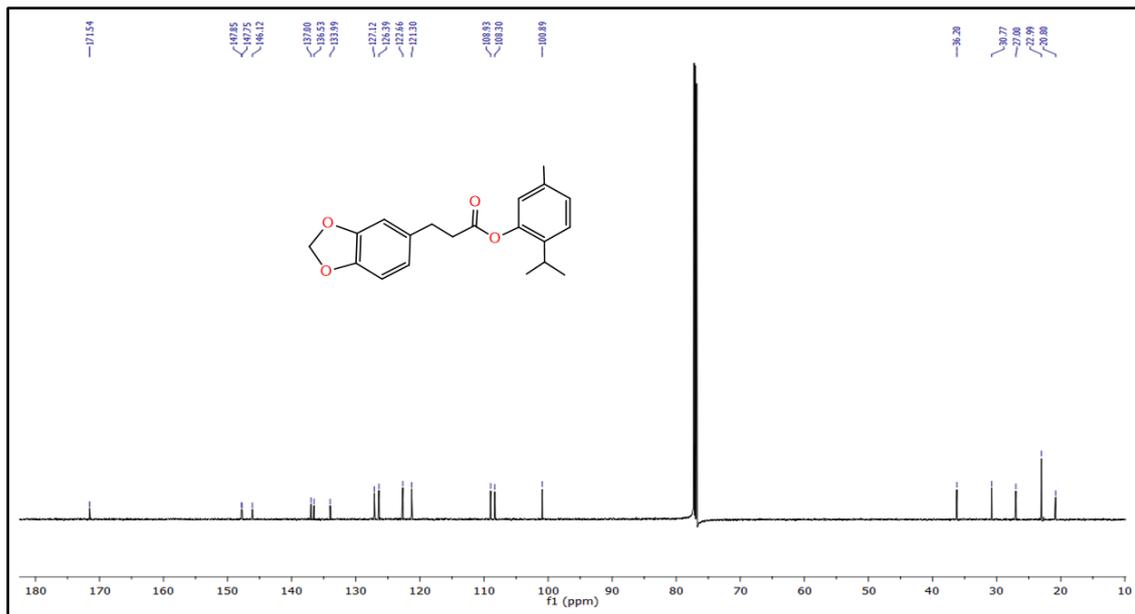
Espectro 57- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-18 (600 MHz, CDCl₃).



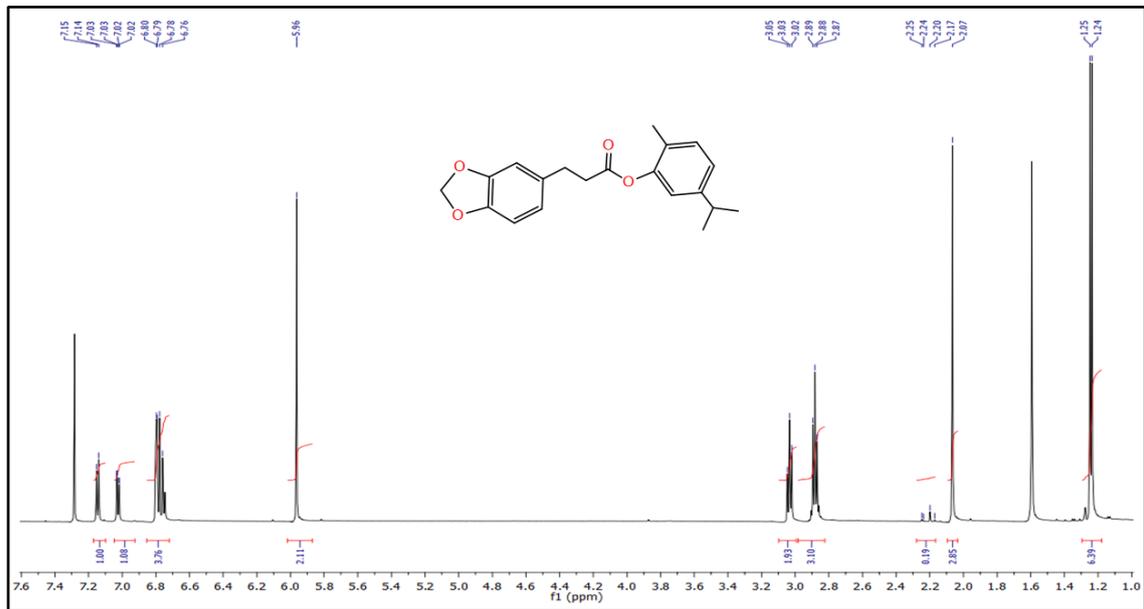
Espectro 58- Espectro de ^{13}C -APT RMN do LASSINT-18 (150 MHz, CDCl_3).



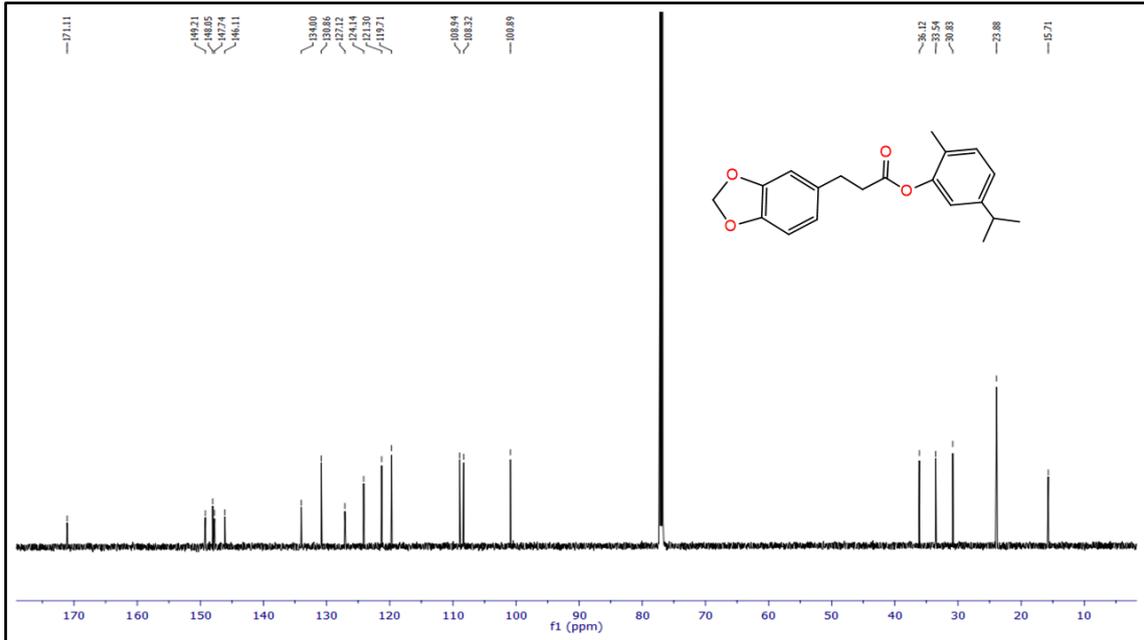
Espectro 59- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-19 (600 MHz, CDCl_3).



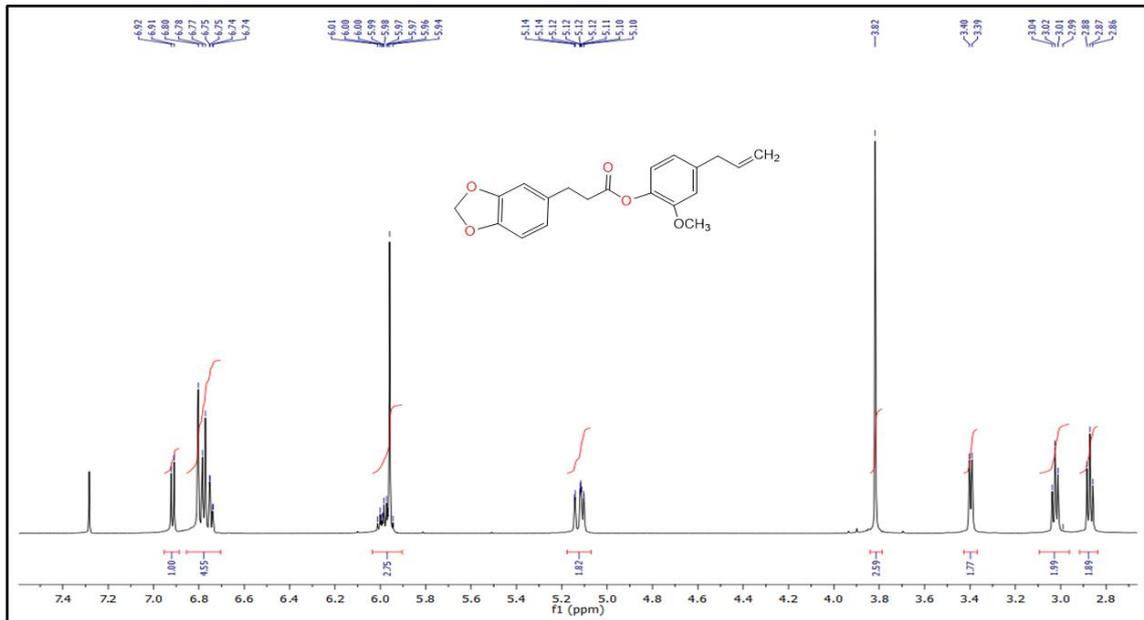
Espectro 60- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-19 (150 MHz, CDCl₃).



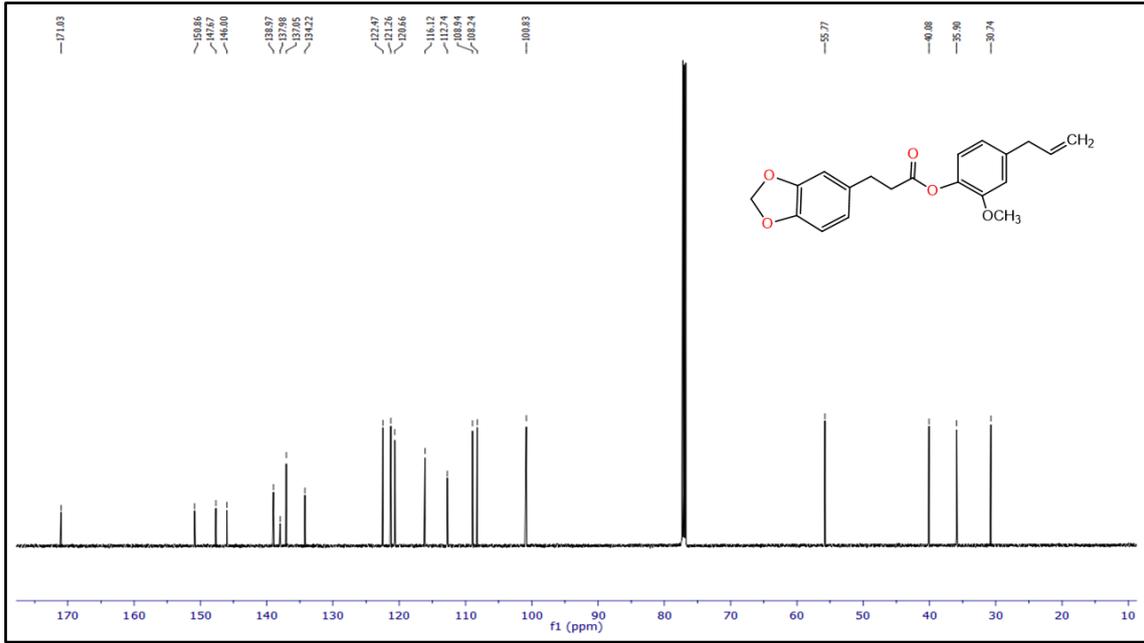
Espectro 61- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-20 (600 MHz, CDCl₃).



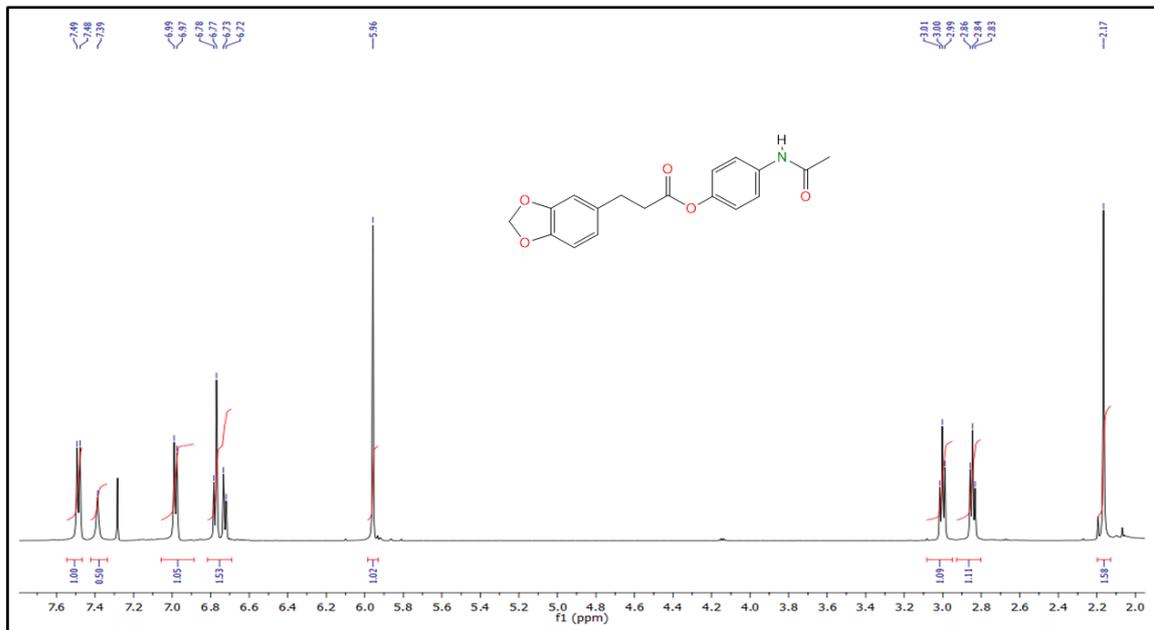
Espectro 62- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-20 (150 MHz, CDCl_3).



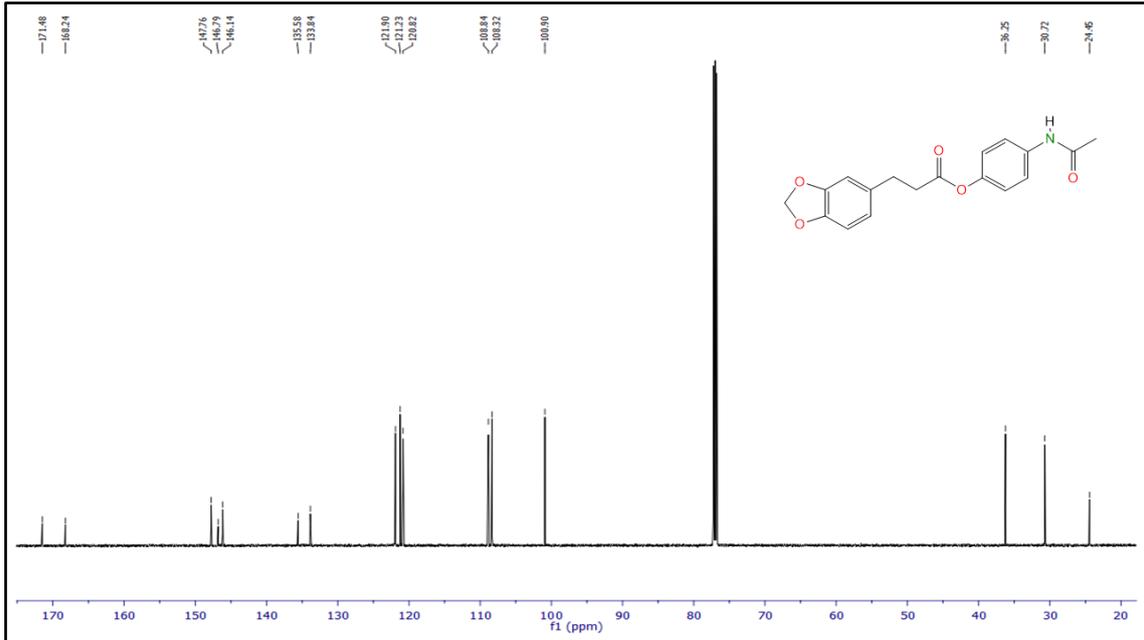
Espectro 63- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-21 (600 MHz, CDCl_3).



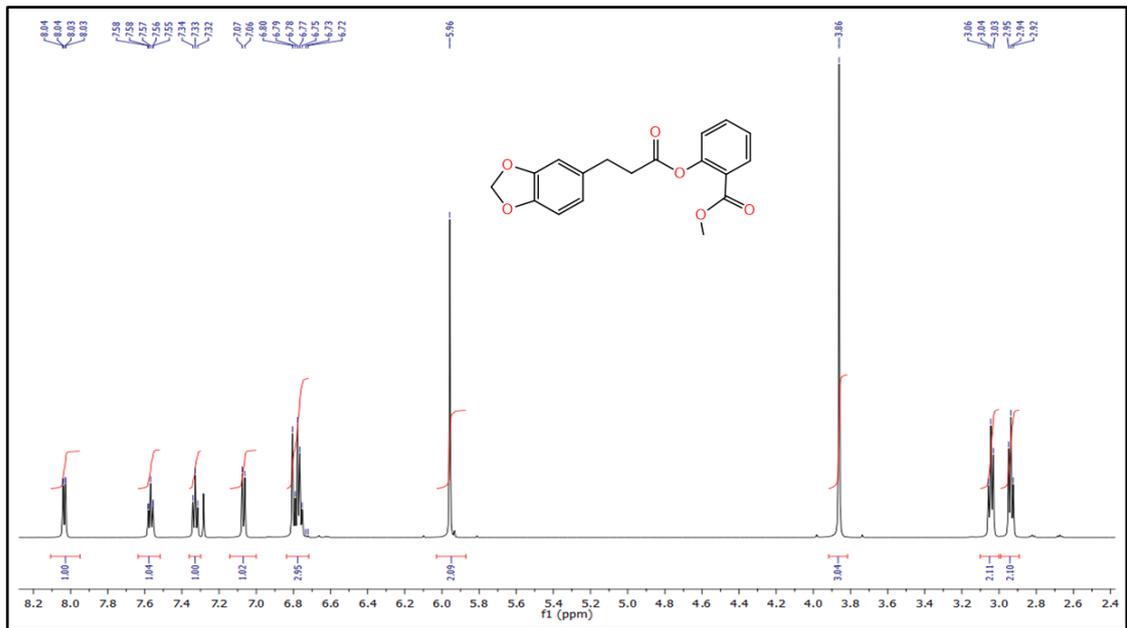
Espectro 64- Espectro de ¹³C do LASSINT-21 (150 MHz, CDCl₃).



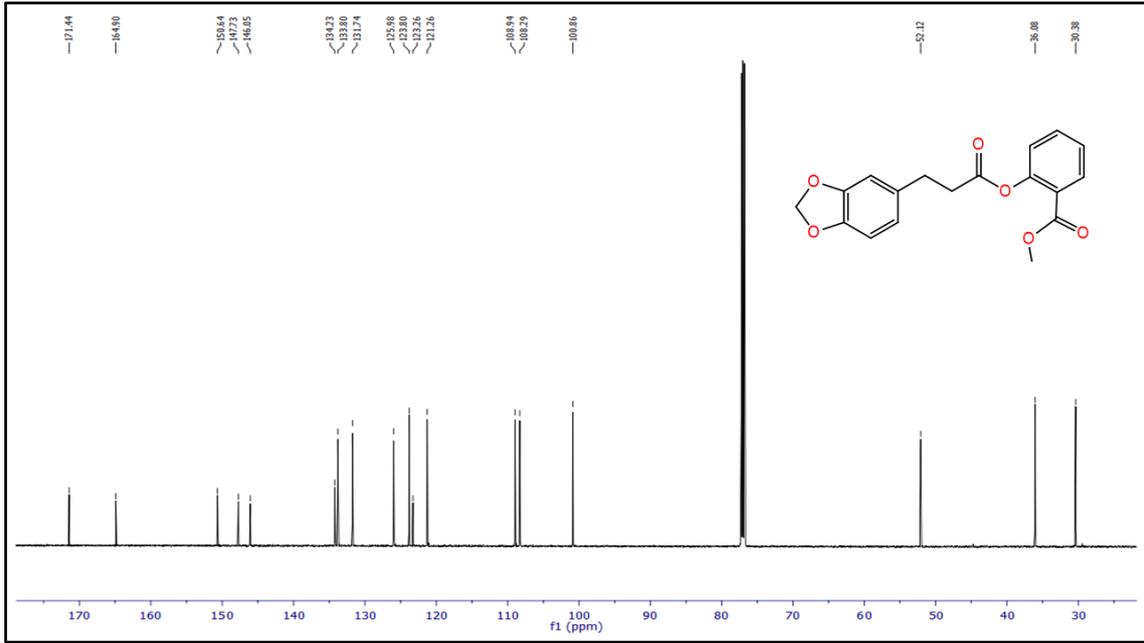
Espectro 65- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-22 (600 MHz, CDCl₃).



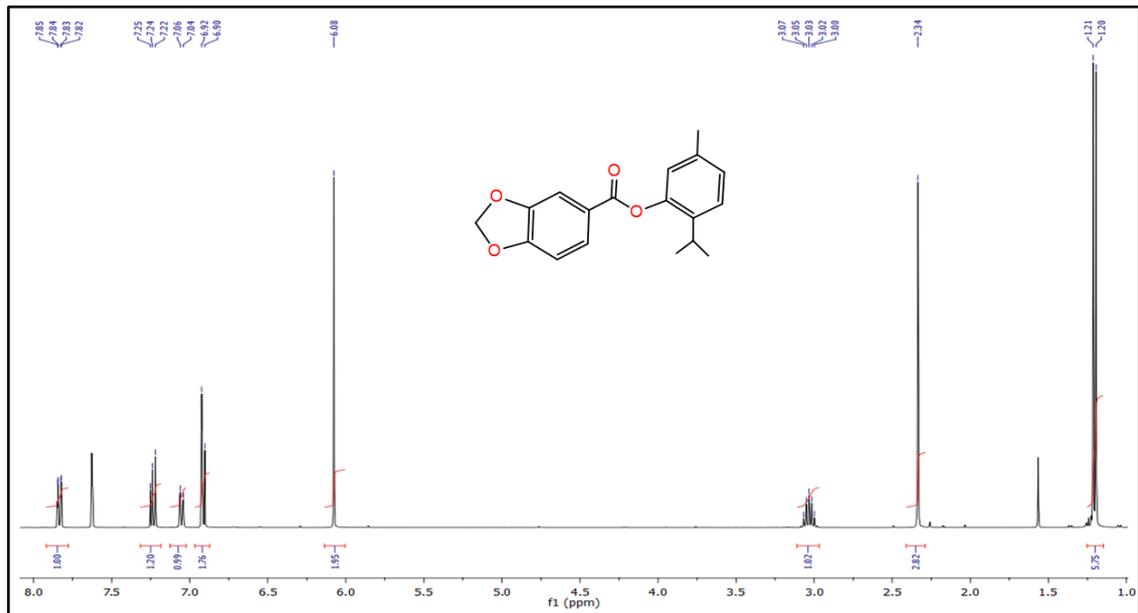
Espectro 66- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-22 (150 MHz, CDCl_3).



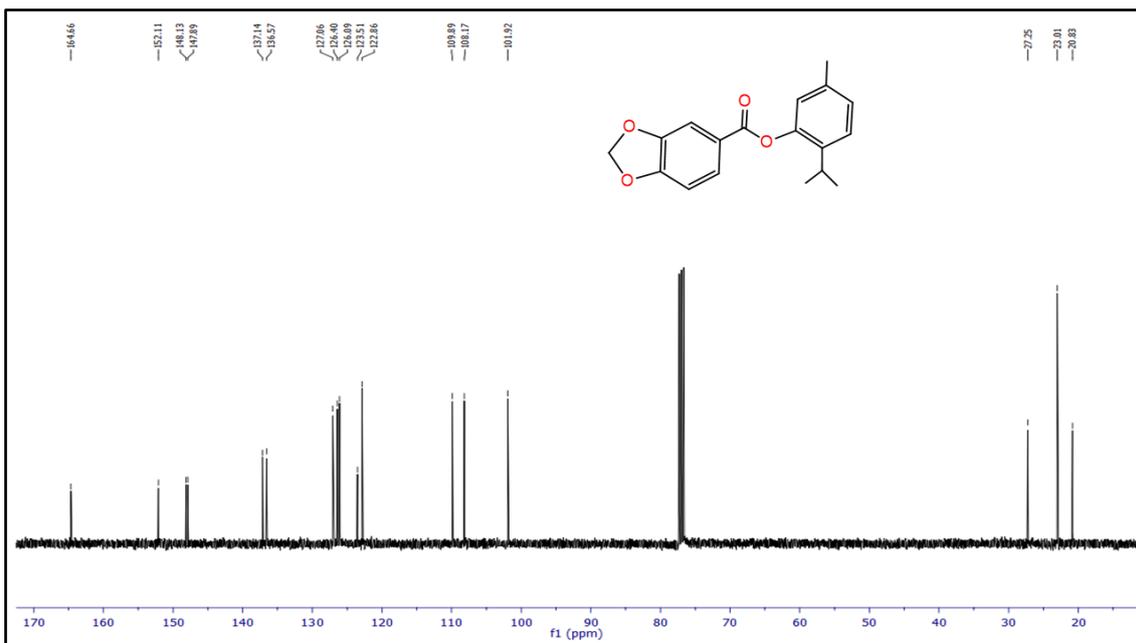
Espectro 67- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-23 (600 MHz, CDCl_3).



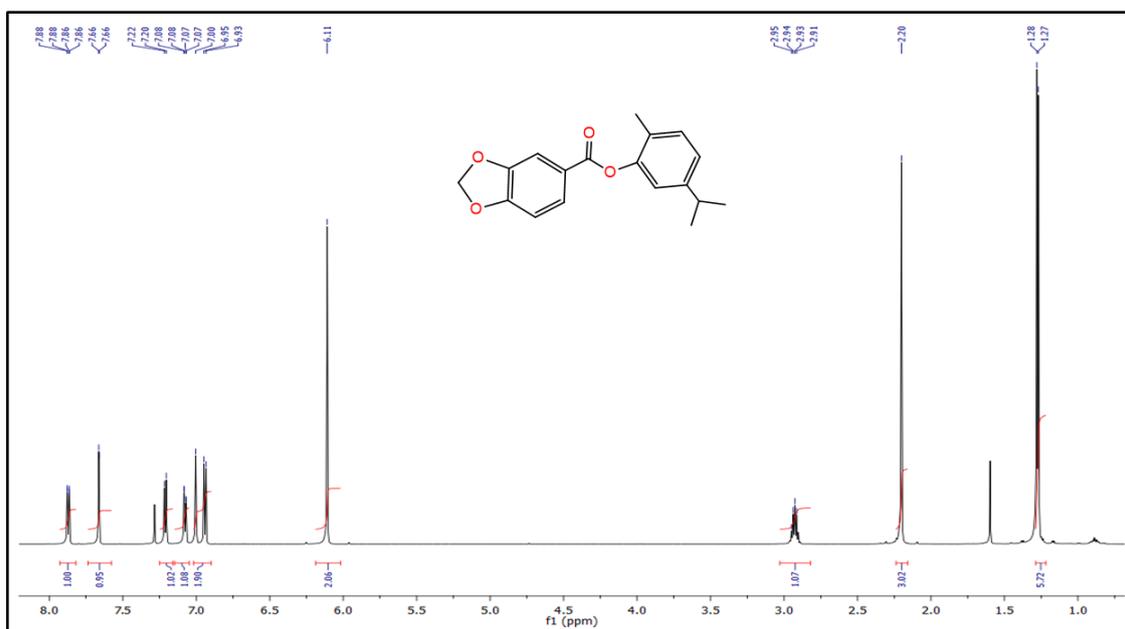
Espectro 68- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-23 (150 MHz, CDCl₃).



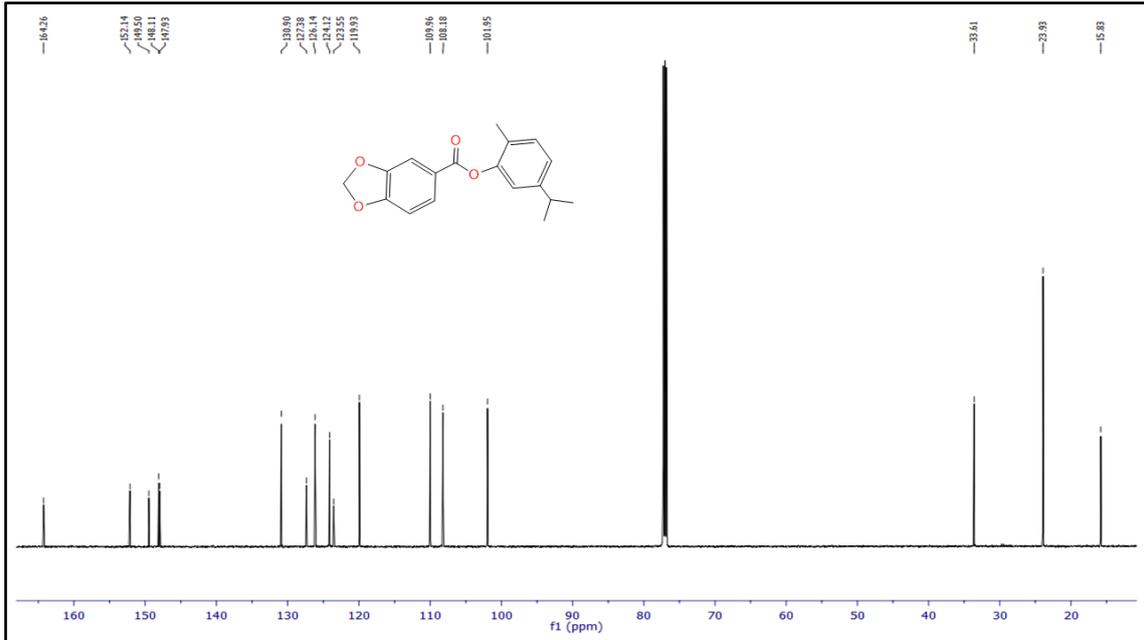
Espectro 69- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-24 (400 MHz, CDCl₃).



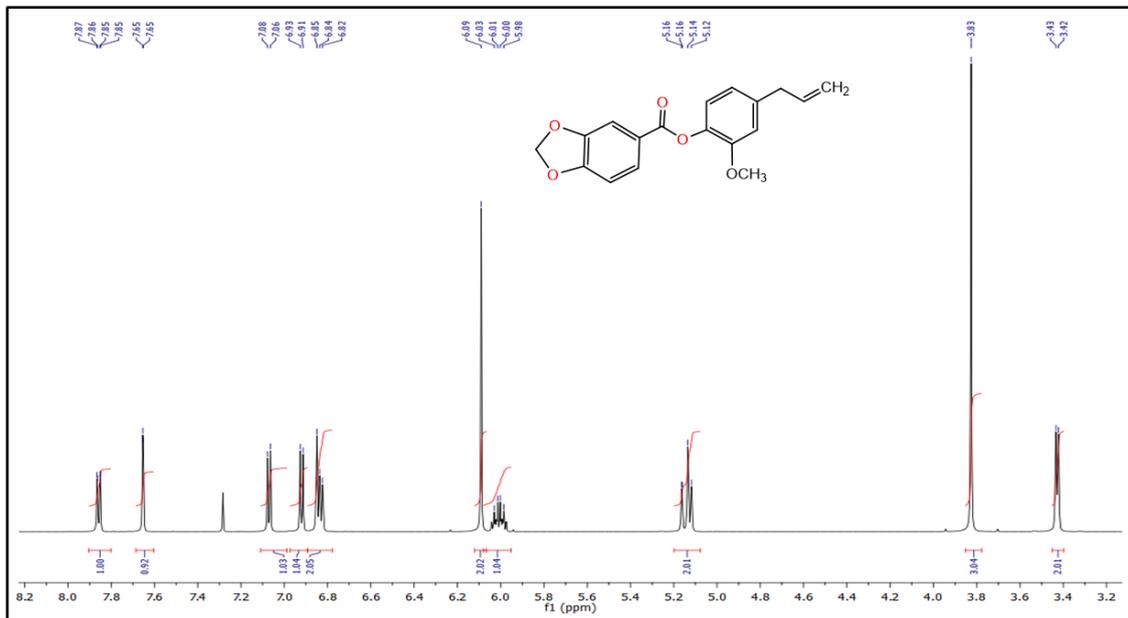
Espectro 70- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-24 (100 MHz, CDCl₃).



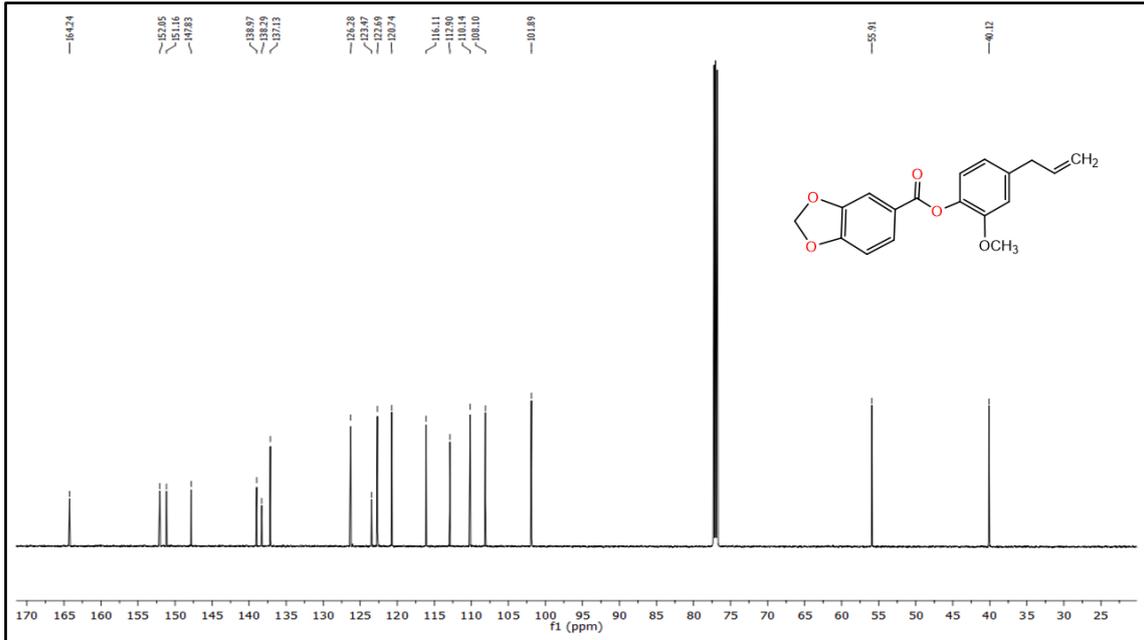
Espectro 71- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-25 (600 MHz, CDCl₃).



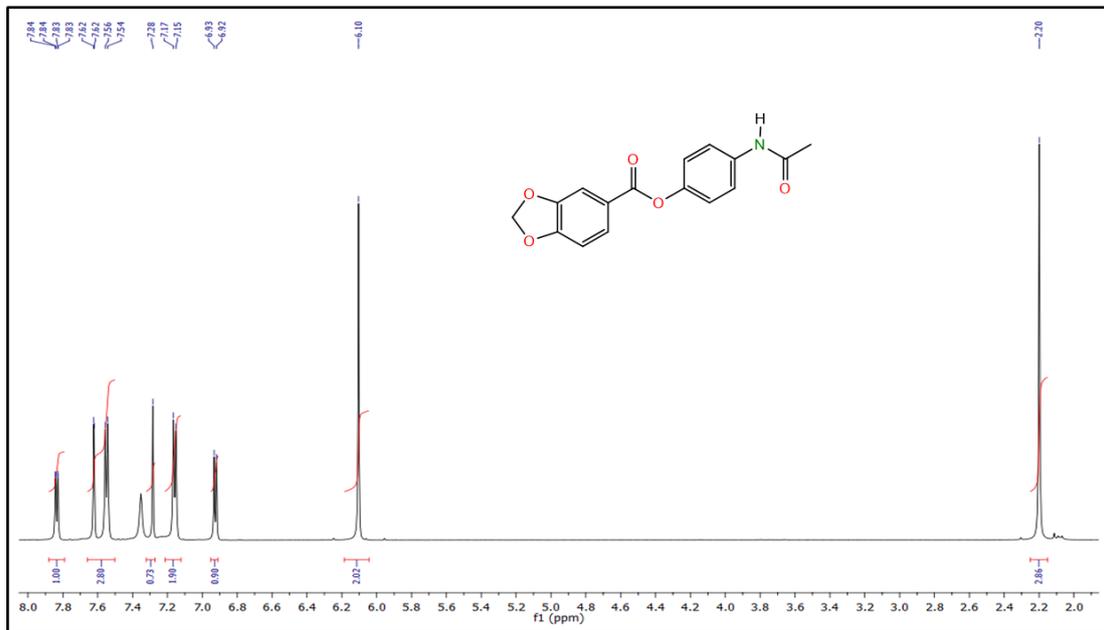
Espectro 72- Espectro de ¹³C do LASSINT-25 (150 MHz, CDCl₃).



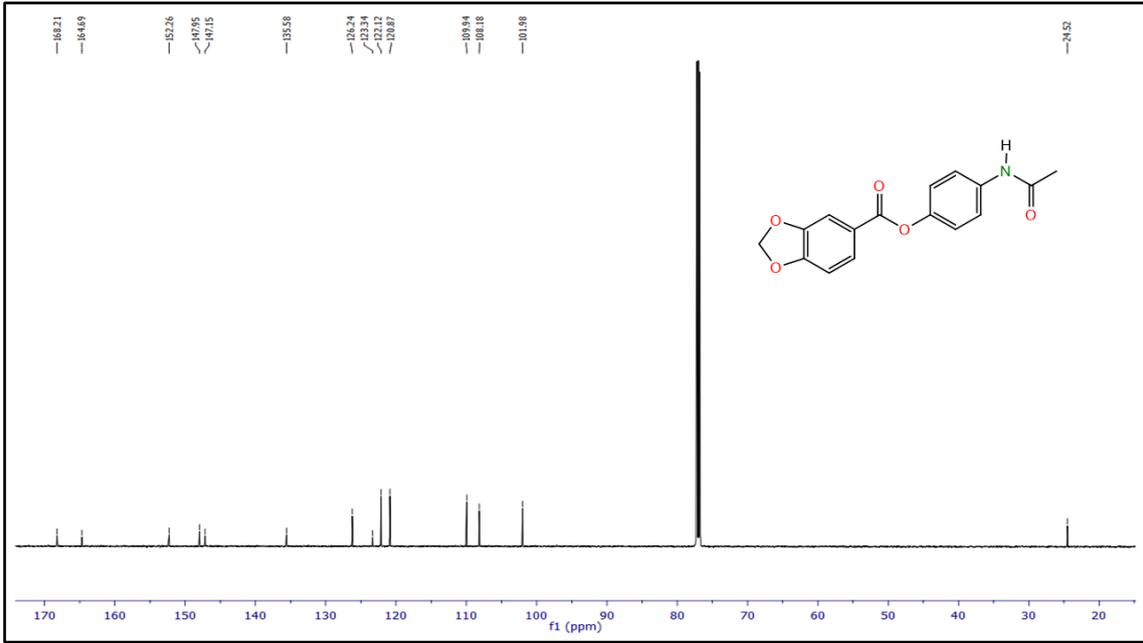
Espectro 73- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-26 (600 MHz, CDCl₃).



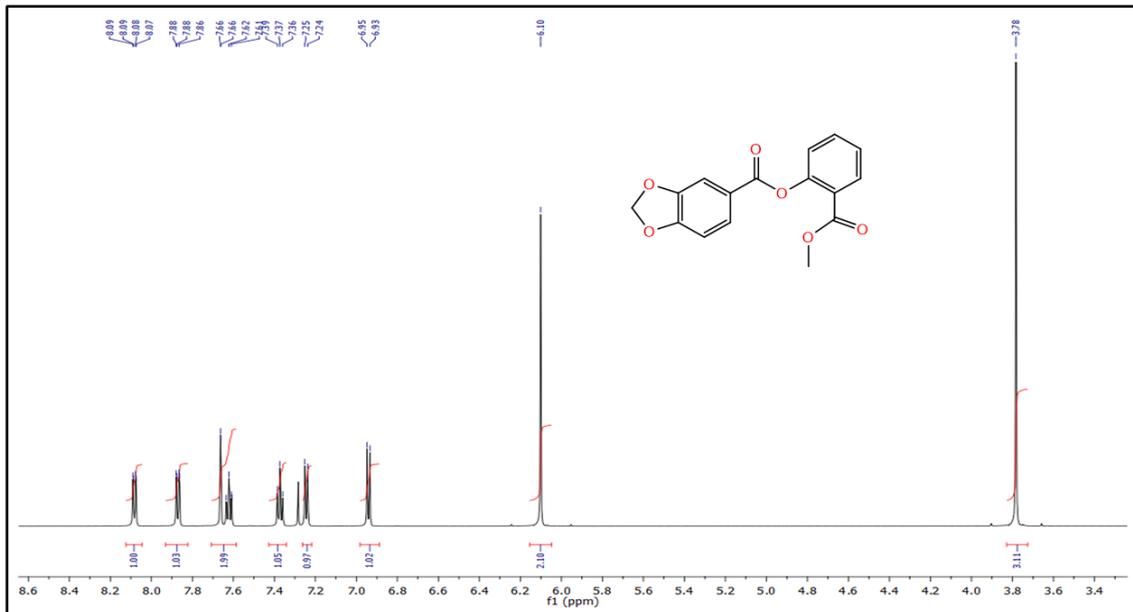
Espectro 74- Espectro de ¹³C RMN do LASSINT-26 (150 MHz, CDCl₃).



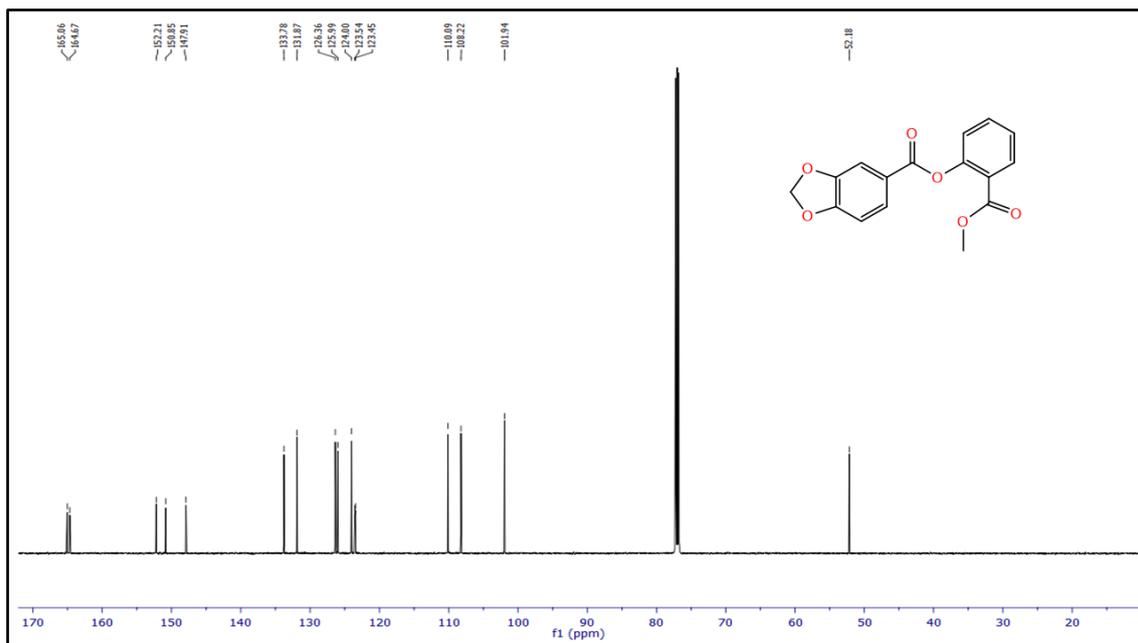
Espectro 75- Espectro de ¹H RMN do LASSINT-27 (600 MHz, CDCl₃).



Espectro 76- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-27 (150 MHz, CDCl_3).



Espectro 77- Espectro de ^1H RMN do LASSINT-28 (600 MHz, CDCl_3).



Espectro 78- Espectro de ^{13}C RMN do LASSINT-28 (150 MHz, CDCl_3).

ANEXO A- CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Sarmen, s/n
 50670-900 / Recife - PE - Brasil
 Fone: (51) 3442-1000
 www.ufpe.br

Recife, 28 de outubro de 2021

Ofício nº74/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Prof. Ivone Antonia de Souza
 Departamento de Antibióticos
 Centro de Biociências
 processo nº0078/2021

Certificamos que a proposta intitulada “Estudo fitoquímico e avaliação toxicológica dos subprodutos dos rizomas de *Curcuma longa* e frutos de *Piper nigrum* sobre o *Aedes aegypti* e *Mus musculus*”, registrado com o nº0078/2021 sob a responsabilidade da Prof. Ivone Antonia de Souza envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 28/09/2021

Finalidade	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	14/02/2022 a 17/06/2022
Espécie/inhagem/raça	Camundongo heterogênico
Nº de animais	70
Peso/idade	Camundongos = 25-28g (60 dias)
Sexo	Fêmea (70)
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Antibióticos da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Laboratório de Pesquisa de Toxicologia do Departamento de Antibióticos da UFPE

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva
 -Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2349891