

Análogos e derivados da piperina com potencial atividade antiparasitária: revisão sistemática com avaliação do risco de viés adaptada para estudos in vitro

JOYCE KAREN LIMA VALE¹, JOSÉ DE ARIMATÉIA RODRIGUES DO REGO², DAVI DO SOCORRO BARROS BRASIL³

Recibido para publicación: 22-09-2024. Versión corregida: 23-07-2025. Aprobado para publicación: 04-09-2025.

Modelo de citación:

Lima Vale J.K., Rodrigues do Rego J.A., Barros Brasil D.S. **Análogos e derivados da piperina com potencial atividade antiparasitária: revisão sistemática com avaliação do risco de viés adaptada para estudos in vitro.** Arch Med (Manizales). 2025;25(2). <https://doi.org/10.30554/archmed.25.2.5218.2025>

Resumo

objetivo: Analisar o perfil dos análogos e derivados da piperina que possuam atividade antiparasitária frente ao gênero *Leishmania* e *Trypanossoma*. **Métodos:** O estudo foi uma revisão sistemática, que usou os descritores: Piperina (Piperine), análogos e derivados (analog and derivatives), Leishmaniose (Leishmaniasis), Trypanossoma (Trypanossoma), agentes antiparasitários (antiparasitic agents) nas seguintes bases de dados: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), National Library of Medicine (PubMed), (Scientific Eletronic Library Online) SciELO, (Base de Dados da Elsevier) ScienceDirect, Scopus e Embase. O check list do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) foi usado no processo de catalogação dos estudos. Além disso, foi realizada uma adaptação para avaliação do risco de viés para estudos in vitro a partir da ferramenta Office of Health Assessment and Translation (OHAT). **Resultados:** Inicialmente, foram encontrados 659 estudos nas bases de dados, que após aplicação dos procedimentos de seleção específicos de inclusão e exclusão foram selecionados 10 artigos científicos. **Conclusão:** A pesquisa mostrou que os análogos e derivados da piperina apresentaram atividade frente às formas evolutivas dos parasitas do gênero *Trypanossoma* com valor menor e maior que os compostos padrões e variação no perfil

- 1 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Universidade Federal do Pará, Belém, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9509-7009> E-mail: joy.farmc@gmail.com
- 2 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Universidade Federal do Pará, Belém, Brasil. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0891-6438> E-mail: jr2reg@gmail.com
- 3 Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1461-7306> E-mail: dsbbrasil18@gmail.com

Lima Vale J.K., Rodrigues do Rego J.A., Barros Brasil D.S.
Análogos e derivados da piperina com potencial atividade antiparasitária:
revisão sistemática com avaliação do risco de viés adaptada para estudos in vitro.
Arch Med (Manizales). 2025;25(1)

de atividade biológica para o gênero Leishmania, mostrando-se moderadamente ativos e ativos com valores menores e melhores que o composto de referência.

Palavras-chave: Piperina; análogos e derivados; agentes antiparasitários; Trypanosoma; Leishmaniasis

Piperine analogs and derivatives with potential antiparasitic activity: systematic review with risk-of-bias assessment adapted for in vitro studies

Abstract

objective: To analyze the profile of piperine analogues and derivatives that had antiparasitic activity against the genus *Leishmania* and *Trypanosoma*. **Methods:** The study was a systematic review, which used the descriptors: Piperine (Piperine), analogues and derivatives (analogues and derivatives), Leishmaniasis (Leishmaniasis), Trypanosoma (Trypanosoma), antiparasitic agents (antiparasitic agents) in the following databases data: Virtual Health Library (VHL), National Library of Medicine (PubMed), (Scientific Electronic Library Online) SciELO, (Elsevier Database) ScienceDirect, Scopus and Embase. The Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA) checklist was used in the study cataloging process. Furthermore, an adaptation was made to assess the risk of bias for in vitro studies using the Office of Health Assessment and Translation (OHAT) tool. **Results:** Initially, 659 studies were databases, and after applying specific selection procedures inclusion and exclusion criteria, 10 scientific articles were selected. **Conclusion:** The research showed that piperine analogues and derivatives showed activity against the evolutionary forms of parasites of the *Trypanosoma* genus with values lower and higher than the reference compounds and variation in the biological activity profile for the genus *Leishmania*, showing themselves to be inactive and active with lower and better values than the reference compound.

Keywords: Piperine; analogs and derivatives; Leishmaniasis; Trypanosoma; antiparasitic agents.

Análogos y derivados de piperina con potencial actividad antiparasitaria: revisión sistemática con evaluación del riesgo de sesgo adaptada para estudios in vitro

Resumen

Objetivo: Analizar el perfil de análogos y derivados de piperina que tienen actividad antiparasitaria contra los géneros *Leishmania* y *Trypanosoma*. **Métodos:** El estudio fue una revisión sistemática, que utilizó los descriptores: Piperina (Piperine), análogos

y derivados (análogos y derivados), Leishmaniasis (Leishmaniasis), Trypanosoma (Trypanosoma), antiparasitarios (agentes antiparasitarios) en las siguientes bases de datos: Virtual Biblioteca de Salud (BVS), Biblioteca Nacional de Medicina (PubMed), (Scientific Electronic Library Online) SciELO, (Elsevier Database) ScienceDirect, Scopus y Embase. En el proceso de catalogación de los estudios se utilizó la lista de verificación de elementos de informes preferidos para revisiones sistemáticas y metanálisis (PRISMA). Además, se realizó una adaptación para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios in vitro utilizando la herramienta de la Oficina de Evaluación y Traducción de la Salud (OHAT). **Resultados:** Inicialmente se encontraron 659 estudios en las bases de datos y luego de aplicar procedimientos específicos de selección de inclusión y exclusión se seleccionaron 10 artículos científicos. **Conclusión:** La investigación demostró que los análogos y derivados de la piperina mostraron actividad contra las formas evolutivas de los parásitos del género Trypanosoma con valores menores y mayores que los compuestos de referencia y variación en el perfil de actividad biológica para el género Leishmania, mostrándose inactivos y activos. con valores más bajos y mejores que el compuesto de referencia.

Palabras clave: Piperina; análogos y derivados; leishmaniasis; tripanosoma; agentes antiparasitarios;

Introdução

As doenças que afetam predominantemente populações de baixa renda em regiões subdesenvolvidas ou em desenvolvimento são chamadas de doenças negligenciadas e entre essas doenças temos a Leishmaniose e Doença de Chagas. A Leishmaniose é considerada uma das maiores endemias mundiais atingindo cerca de 98 países, onde 72 deles são classificados como países em desenvolvimento. As lesões cutâneas, mucocutâneas e as complicações sistêmicas associadas à leishmaniose podem ter um impacto significativo na qualidade de vida da população afetada, em que as cicatrizes, as deformidades faciais e outras sequelas físicas, além do estigma social, o isolamento e problemas psicológicos, já foram descritos na literatura [1,2].

As formas mucocutâneas e cutâneas da Leishmaniose visceral (LV) estão associadas a danos na mucosa oral, nasal, traqueal e lesões ulceradas na pele. O tratamento eficaz para LV pode ser decisivo, pois se não for tratada adequadamente, pode levar a morte. O antimô-

nio pentavalente é uma opção padrão para a leishmaniose cutânea, enquanto a anfotericina B pode ser eficaz para alguns casos, no entanto, o antimônio pentavalente está associado à toxicidade aguda do medicamento e tem sido substituída pela anfotericina B lipossomal que tornou o tratamento mais tolerável [3].

A Doença de Chagas é outra doença negligenciada que impacta milhões de indivíduos na América Latina. É causada pelo tripanosoma, parasita heteroxênico, que pode infectar múltiplos hospedeiros durante seu ciclo de vida. O benzonidazol, utilizado como tratamento, torna-se impotente na fase crônica da doença e problemas relacionados à biodisponibilidade acabam interferindo na eficácia do medicamento. A pesquisa e o desenvolvimento de novos medicamentos, dificilmente, serão prioridade devido à falta de mercado lucrativo, o que resulta em uma carência de opções terapêuticas acessíveis para as populações que são afetadas [4].

Os medicamentos disponíveis para o tratamento da Leishmaniose e Tripanossomíase estão relacionados às reações adversas,

toxicidade hepática e renal, dificuldade de adesão do paciente ao tratamento e problemas relacionados à biodisponibilidade, o que poderia levar a variações na susceptibilidade das cepas [1].

Sendo assim, os produtos naturais bioativos têm sido utilizados como matrizes para o desenvolvimento de novas moléculas com potencial atividade biológica, bem como, a produção de novos derivados a partir de sua estrutura química, o que contribui para o surgimento de novas entidades químicas (NCEs). E, dentre os produtos naturais bioativos descritos na literatura, que vêm apresentando potencial atividade biológica antiparasitária, a Piperina aparece como um forte candidato [5,6].

A estrutura da Piperina é composta por um grupo 1,3-benzodioxola, uma cadeia de ácido pentadienóico (subunidade B) e o fragmento piperidina são considerados importantes para que a molécula apresente atividades biológicas diversas [7]. Dentre essas atividades, a Piperina e seus derivados têm sido amplamente descritos na literatura para atividades biológicas como antimicrobianos, antifúngicos e antiparasitários [8,9,10,11]. Dentro desta problemática, surgiu o seguinte problema de pesquisa expressada na pergunta norteador deste estudo: Quais os análogos e derivados da Piperina que possuem atividade antiparasitária frente ao gênero *Leishmania* e *Tripanossoma*?

Diante o que foi exposto, o objetivo deste trabalho foi analisar o perfil dos análogos e derivados da piperina que possuam atividade antiparasitária frente ao gênero *Leishmania* e *Tripanossoma*.

Métodos

Caracterização da pesquisa

A pesquisa é do tipo revisão sistemática da literatura, que é caracterizada por métodos sistematizados para uma análise crítica dos conteúdos, gerados por artigos e registros de pesquisas de diferentes desenhos metodológi-

cos, sintetizando informações de um determinado assunto através de fontes secundárias com levantamento da bibliografia, que podem identificar temas que necessitam de maiores evidências, auxiliando ainda na orientação para investigações futuras [12].

Instrumentos de pesquisa utilizados

O presente estudo está baseado nas diretrizes do Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA), cujo objetivo é auxiliar autores, proporcionando um checklist próprio para desenvolvimento eficiente de pesquisas bibliográficas [13]. Para a construção da pesquisa, utilizou-se os seguintes passos: 1 – elaboração da pergunta da pesquisa; 2 – busca na literatura; 3 – coleta de dados; 4 – análise criteriosa dos artigos incluídos; 5 – discussão dos resultados e, por fim, 6 – apresentação da revisão sistemática.

Com isso, este estudo partiu da seguinte questão norteadora: Quais os análogos ou derivados da piperina que possuem potencial atividade antiparasitária frente ao gênero *Leishmania* e *Tripanossoma*?

A busca dos estudos primários foi realizada por meio da pesquisa online em portais e bases de dados da área da saúde: Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), National Library of Medicine (PubMed), (Scientific Eletronic Library Online) SciELO, (Base de Dados da Elsevier) ScienceDirect, Scopus e Embase. Para proceder com a busca utilizou-se a terminologia em saúde consultada nos Descritores em Ciência da Saúde e Medical Subject Headings (DeCS/MeSH): piperina (Piperine), análogos e derivados (analogous and derivatives), Leishmaniose (Leishmaniasis), *Tripanossoma* (*Trypanossoma*), agentes antiparasitários (antiparasitic agents).

Os descritores foram utilizados na língua Portuguesa, Inglesa e Espanhola articuladas pelos operadores booleano “E” e “OU”, “AND” e “OR”,

sendo agrupados da seguinte forma: Piperine AND analogs and derivatives AND antiparasitic agents; Piperine AND analogs and derivatives AND Leishmaniasis; Piperine AND analogs and derivatives AND Trypanosoma; Piperine AND analogs and derivatives; Piperine AND antiparasitic agents; Piperina E análogos e derivados E antiparasitic agents; Piperine E analogs e derivatives E Leishmaniose; Piperine E análogos e derivados E Tripanossoma; Piperine E análogos e derivados; Piperine E antiparasitic agents; Busca: (ALL (piperine) AND ALL (leishmaniasis) AND ALL (trypanosoma)); ('piperine'/exp OR piperine) AND leishmaniasis AND trypanosoma.

Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram: artigos originais disponíveis na Integra, em idioma português, inglês e espanhol que abordaram a temática proposta e apresentava ao menos uma molécula análoga ou derivada da piperina com atividade antiparasitária *in vitro* para o gênero *Leishmania* e *Trypanosoma* sem limite inferior para faixa temporal indo até agosto de 2023.

Já os critérios de exclusão foram artigos de revisão, editoriais, dissertações, capítulos de livros, teses, monografias, resenhas, produções científicas que demonstravam somente o resumo, resumos de anais, publicações duplicadas, estudo de caso. Após a seleção, os dados extraídos foram os seguintes: autor (s), forma celular, parasita, métodos, moléculas, principais resultados e principais conclusões.

Avaliação do risco de viés

Nesta pesquisa foi verificado a necessidade de realização de uma avaliação de risco de viés. Embora, haja vários instrumentos para risco de viés, estes são somente para

estudos *in vivo* e para seres humanos, entre eles ROBINS-I E SYRCLE [14,15]. Contudo, não foi encontrado nenhuma uma ferramenta para risco de viés adequada para estudos *in vitro* na literatura científica. Diante disto, após analisar vários instrumentos para estudos *in vivo*, aquele me mais se aproximou de uma possível avaliação de estudos *in vitro* foi a ferramenta Office of Health Assessment and Translation (OHAT) [16]. Neste contexto, Rooney et al. [17] realizou um estudo criterioso com objetivo de expandir as abordagens da clínica médica através do desenvolvimento de uma estrutura de revisão sistemática que abordou questões para a magnitude dos dados com foco na integração de informações dos diferentes fluxos de evidências de ensaios/testes em humanos, animais e dados mecanísticos ou ainda estudos *in vitro*, para conclusões mais adequadas sobre a identificação de viés, sobre as múltiplas opções de ferramentas para avaliação de risco de viés. Assim foi evidenciado uma necessidade de adequação, considerando cada desenho metodológico e sugere o OHAT como o instrumento que possui um potencial de classificação como: maior, menor ou ausente das questões para cada desenho metodológico dos diferentes tipos de pesquisa.

Com base nesta complexa questão e na necessidade de se estabelecer maiores critérios para o risco de viés de estudos *in vitro* foi realizada uma adaptação para algumas questões que se referiam, especificamente, para estudos *in vivo* e em seres humanos, que foram ajustadas ou alteradas para as necessidades dos estudos *in vitro* [16,17]. Diante desta necessidade apresenta-se no Quadro 1 as sugestões de adaptações que se julgou e justificou necessárias sustentadas na literatura.

Quadro 1. Apresenta a adaptação realizada para estudos in vitro a partir da ferramenta OHAT

Adaptação para estudos in vitro - OHAT [16]	
Viés de Seleção	
1. A dose administrada ou o nível de exposição foram adequadamente randomizados?	Alteração: <i>A concentração administrada ou o nível de exposição foram adequadamente padronizadas?</i> Justificativa: Por se tratar de uma análise em vitro as concentrações dos medicamentos utilizados devem estar padronizadas afim de gerar ao final o valor de concentração mínima inibitória (CI ₅₀) para as moléculas testadas pois o efeito do medicamento pode estar diretamente relacionado a concentração administrada (efeito dose-dependente) [18].
2. A alocação para grupos de estudo foi adequadamente ocultada?	Alteração: <i>Os grupos controles positivos e negativos foram adequadamente relatados e tratados com as amostras testes?</i> Justificativa: Para o processo de padronização deve ser relatado se as proporções das diluições foram obedecidas a partir de uma solução estoque para a geração de medicamentos com doses padronizadas em diferentes concentrações finais para o teste [19].
3. A seleção dos participantes do estudo resultou em grupos de comparação apropriados?	Alteração: <i>O estudo resultou em comparação apropriada com diferentes concentrações das amostras testes com o controle positivo?</i> Justificativa: Mesmo que estejamos falando de uma análise em vitro estamos tratando de uma análise experimental que deve ter condições idênticas que possam ser comparadas os valores de atividades gerados CI ₅₀ com um medicamento de referência proporcionando uma análise de eficácia ou potência das moléculas testadas [20].
Viés de Performance	
4. O desenho ou análise da pesquisa levou em conta importantes variáveis de confusão e modificação para os estudos?	Alteração: <i>O desenho ou análise da pesquisa levou em conta importantes variáveis de confusão, modificação e repetitividade de resultados em três experimentos independentes para estudo in vitro?</i> Justificativa para alteração: Por se tratar de uma análise em vitro é necessário que todos os procedimentos estejam identificados, padronizados e detalhados tanto para as condições experimentais do meio quanto para a preparação das moléculas testadas, além da repetitividade dos resultados para 3 experimentos independentes [21].
5. As condições experimentais eram idênticas entre os grupos de estudo?	Sem necessidade de alteração
6. A equipe de pesquisa e os seres humanos ficaram cegos para o grupo de estudo durante o estudo?	Sem necessidade de alteração
Viés de Atrito/Exclusão	
7. Os dados dos resultados foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	Sem necessidade de alteração
8. Podemos ter confiança na caracterização da exposição?	Sem necessidade de alteração
9. Podemos ter confiança na avaliação dos resultados?	Sem necessidade de alteração
Viés de relatórios seletivos	
10. Todos os resultados medidos foram relatados?	Sem necessidade de alteração
Outras fontes de viés	
11. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (por exemplo, os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo do estudo)?	Sem necessidade de alteração

Com isso, os estudos incluídos foram avaliados de forma independente quanto ao risco de viés por dois revisores experientes. Discrepâncias entre os revisores foram resolvidas por um terceiro revisor. As classificações possíveis para as

perguntas da ferramenta OHAT foram “Definitivamente baixo”, “Provavelmente baixo”, “Provavelmente alto” ou “Definitivamente alto” risco de viés, seguindo critérios específicos de respostas do protocolo OHAT [16], observados no Quadro 2.

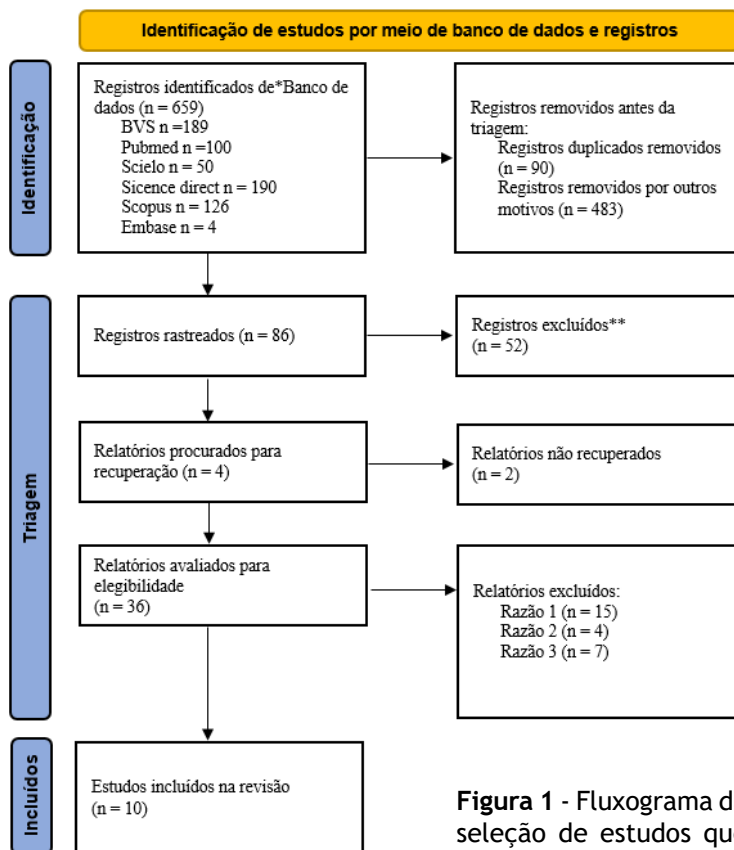
Quadro 2. Classificação de risco de viés com base no formato das respostas

++	Definitivamente baixo risco de viés: Há evidências diretas de práticas de baixo risco de viés. (Pode incluir exemplos específicos de práticas de baixo risco de viés).
+	Provavelmente baixo risco de viés: Há evidências indiretas de práticas de baixo risco de viés OU considera-se que desvios de práticas de baixo risco de viés para esses critérios durante o estudo não distorceriam significativamente os resultados, incluindo a consideração da direção e magnitude do viés..
-	Provavelmente Alto risco de viés: Há evidências indiretas de alto risco de práticas de viés OU há informações insuficientes (por exemplo, não relatadas ou “NR”) fornecidas sobre risco relevante de práticas de viés.
--	Definitivamente Alto risco de viés: Há evidências diretas de práticas de alto risco de viés. (Pode incluir exemplos específicos de práticas de alto risco de viés).

Resultados

Os resultados mostraram um total inicial de 659 registros envolvendo todos os bancos de dados estudados: BVS n =189; Pubmed n =100, Scielo n = 50, Science direct n = 190, Scopus n = 126, Embase n = 4. Os estudos incluídos na revisão foram um total de 10 artigos.

A análise da atividade antiparasitária levou em consideração o critério proposto por Veiga et al. [22] onde as amostras foram consideradas ativas quando o $CI_{50} \leq 100 \mu\text{g/mL}$, moderadamente ativo $CI_{50} 101-200 \mu\text{g/mL}$ e inativo quando o $CI_{50} \geq 200 \mu\text{g/mL}$. Somente as moléculas com melhores valores de atividade da série testada foram selecionadas para discussão.

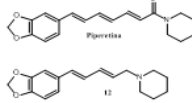
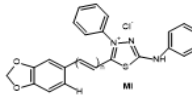
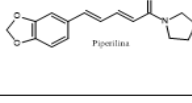
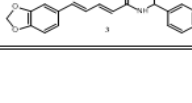
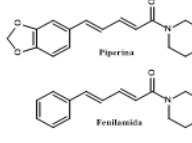
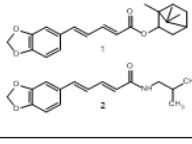
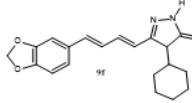
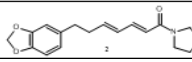


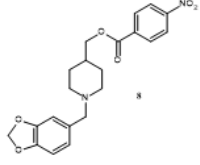
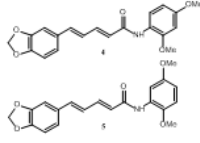
Razão 1 não corresponde aos objetivos da pesquisa
Razão 2 não é relevante para a pesquisa
Razão 3 não atende aos critérios de inclusão

Figura 1 - Fluxograma da seleção de estudos que melhor se adequam a temática de acordo com Page et al. [13].

O Quadro 3 apresenta os resultados para a seleção dos artigos, após os critérios de elegibilidade.

Quadro 3 - Distribuição dos estudos selecionados após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e leitura integral

Autor	Forma celular	Parasita	Método	Moléculas (tratamento)	Principais resultados	Principais conclusões
Ribeiro et al. [23]	Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c	Cepas Y de <i>T. cruzi</i> Forma Epimastigota e Amastigota	Moléculas foram armazenadas como soluções estoque de 10 mg/mL e diluídas em série (1:2). Após 72 horas a 28°C, o número de parasitas foi determinado por contagem direta. Macrófagos infectados foram tratados com concentrações de 0,76, 1,56, 3,125, 6,25, 12,5 e 25 µg/mL das amostras e determinados por contagem de pelo menos 400 M em culturas amastigotas duplicadas.	 Piperetina	O análogo Piperetina e derivado 12 mostraram valores de toxicidade contra epimastigotas e amastigotas respectivamente CI ₅₀ =10,67 µM; CI ₅₀ =7,40; CI ₅₀ =17,49 µM; CI ₅₀ =9,63 µM; Benzonidazol (ref.): CI ₅₀ =2,20 µM; CI ₅₀ =2,58 µM	A cadeia lateral de carbono estendida mantém a toxicidade da molécula frente aos parasitas. A Piperetina e derivado 12 se mostraram ativos contra <i>T. cruzi</i> .
Da Silva Ferreira et al. [24]	Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c	Cepas Y e Colombiana de <i>T. cruzi</i> Epimastigota Tripomastigota Amastigota	Moléculas foram armazenadas em solução estoque de 1,0 mg/mL em DMSO (Sigma) e diluição seriada (1:2) e o número de parasitas foi determinado por contagem direta. Tripomastigotas móveis extracelulares foram contados nos sobrenadantes das culturas após 24h de infecção. Macrófagos (M) infectados tratados (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10 µg/mL), foram determinados por contagem de pelo menos 400 M em culturas amastigotas duplicadas.	 MI	O derivado MI mostrou valores de toxicidade contra epimastigota, tripomastigotas e amastigota respectivamente: CI ₅₀ =10,83 µM ± 2,2; CI ₅₀ =6,70 µM ± 1,7; CI ₅₀ =1,35 µM ± 0,95 e Benzonidazol (referência) CI ₅₀ =2,21 µM ± 0,85 CI ₅₀ =6,61 µM ± 2,4 CI ₅₀ =2,51 µM ± 0,7.	Os resultados obtidos mostram que cloridratos mesoiônicos (MI) possuem o melhor perfil de atividade, sendo mais ativo contra a forma amastigota do que a droga de referência benzonidazol.
Regasini et al. [25]	Cultura axênica de <i>T. cruzi</i>	Cepas Y epimastigota de <i>T. cruzi</i>	Extratos, frações e compostos foram dissolvidos em DMSO e posteriormente adicionados a um recipiente de 96 poços com placa de cultura de tecidos em diferentes concentrações finais e suas atividades tripanocidas foram avaliadas através do ensaio colorimétrico com MIT.	 Piperilina	Piperilina apresentou atividade de CI ₅₀ de 6,57 µM. Benzonidazol (ref.) CI ₅₀ = 33,6 µM.	Piperilina apresentou maior atividade CI ₅₀ : 6,57 µM, do que o controle positivo, benzonidazol (CI ₅₀ : 33,6 µM).
Singh et al. [26]	Cultura axênica de <i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i> Promastigota e amastigota	Ensaio de viabilidade celular pelo método colorimétrico de MTT frente à proliferação de promastigota para	 3	O compostos 3 apresentou valores para a forma promastigota e amastigota respectivamente CI ₅₀ =0,197 mM e CI ₅₀ =0,075 mM; dentre os compostos testados. Miltefosina (ref.): CI ₅₀ =0,018mM, CI ₅₀ =0,033mM	Os resultados obtidos mostraram que os derivados 3 mostrou-se moderadamente
			diluições dos medicamentos em DMSO (100-500 µg/mL) em triplicata. Avaliação viabilidade celular por método MTT e capacidade de redução do número de amastigotas intracelulares de <i>L. donovani</i> com diluições de medicamentos em DMSO e concentração 20-100 µg/mL (triplicata).			ativo para forma promastigota e ativo para forma amastigota.
Ferreira et al. [27]	Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c	<i>L. amazonensis</i> Promastigota e amastigota	Efeito sobre a proliferação de cultura axênica promastigota de <i>L. amazonensis</i> da Piperina derivados e análogos (50µM) foram avaliados o efeito por contagem direta após 72 h. Avaliação da toxicidade em células peritoneais da piperina e análogos (50µM) e sua capacidade de reduzir o número de amastigotas intracelulares de <i>L. amazonensis</i> em células infectadas in vitro, por contagem direta.	 Piperina Fenilamida	Piperina inibiu 92% e 96% da forma promastigota após 48 e 72h. Fenilamida mostrou inibição de 83% após 48h. Piperina e Fenilamida mostraram inibição de 56% e 70% para amastigota respectivamente. Anfotericina B (ref.)= 1nM	A função piperidinil amida e a cadeia lateral (4 quatro átomos de carbono com ligações duplas) apresentam papel importante na atividade das moléculas.
Naz et al. [28]	Cultura axênica de <i>L. donovani</i>	<i>L. donovani</i> Promastigota	As diluições das moléculas (50-3,1 µg/mL) foram preparadas em suspensão celular em placas de 96 poços, incubadas a 26°C por 48 horas e os efeitos sobre a proliferação de cultura axênica promastigota de <i>L. donovani</i> foi determinada pelo ensaio colorimétrico Alamar Blue	 1 2	Os compostos 1 e 2 apresentaram valores de 1 CI ₅₀ =16 µg/mL CI ₅₀ =30 µg/mL para as formas promastigotas. Pentamidina (ref.): CI ₅₀ =1,3 µg mL e CI ₅₀ =1,3 µg mL	Os compostos 1 e 2 se mostram ativos com menor valor quando comparadas ao medicamento padrão.
Franklin et al. [29]	Macrófagos peritoneais de camundongos BALB/c	<i>T. cruzi</i> Epimastigota Amastigota	Efeitos dos compostos (0,5 a 25 µg/mL) sobre a proliferação de cultura axênica epimastigota de <i>T. cruzi</i> e o número de parasitas foi determinado por contagem direta após 72 h. Macrófagos infectados foram tratados com concentrações (0,5, 1,0, 2,5, 5,0 µg/mL) e avaliação da toxicidade e sua capacidade de redução o número de amastigotas intracelulares de <i>T. cruzi</i> (tripomastigotas diferenciado)	 9f	O derivado 9f apresentou o valores de inibição sobre as formas epimastigotas e amastigotas de <i>T. cruzi</i> , com CI ₅₀ = 18,3 e 8,87 µM, respectivamente. Benzonidazol (ref.) : CI ₅₀ =2,20 µM ± 0,16 e CI ₅₀ = 2,50 µM ± 0,21	O derivado 9f apresentou o melhor perfil tripanocida quando comparado às outras moléculas testadas, mas fraca atividade em comparação ao composto padrão.
Da Silva Carrara, et al. [30].	Macrófagos peritoneais de	<i>L. amazonensis</i>	Efeitos dos compostos (3,125-200 µM) sobre a proliferação de cultura axênica promastigota de <i>L. amazonensis</i> e o ensaio	 2	O composto natural 2 apresentou valores de CI ₅₀ de 15 µM e 14,5 µM,	As amidas isoladas inibiram forma promastigota e

Autor	Forma celular	Parasita	Método	Moléculas (tratamento)	Principais resultados	Principais conclusões
	camundongos BALB/c	Promastigota e amastigota	de viabilidade celular pelo método colorimétrico de MTT. Avaliação da toxicidade dos compostos (12,5-200 μ M) em macrófagos infectados e sua capacidade de reduzir o número de amastigotas intracelulares de <i>L. amazonensis</i> .		contra as formas promastigota e amastigota intracelular respectivamente. Isotonato de Pentamidina (ref.): 2.2 $\pm$ 0.15 1.5 $\pm$ 0.2 μ M	amastigota intracelulares. O composto natural 2 foi o mais ativo de todos os compostos testados.
Fernandes et al. [31]	Cultura axênica de <i>L. amazonensis</i>	<i>L. amazonensis</i> Promastigota	Efeitos dos compostos sobre a proliferação de cultura axênica da cepa Y epimastigota do <i>T. cruzi</i> , após 72 horas o número de parasitas foi determinado por contagem direta com câmara de Neubauer. Ensaio de viabilidade celular pelo método colorimétrico de MTT frente à proliferação de promastigota.		O derivado nitro apresentou o maior valor da série com CI_{50} = 17,24 μ M e potência comparável aos derivados éster de 3,4-benzodioxol e n-hexil carbamatos. Anfotericina B (ref.) CI_{50} = 5.08 μ M	O derivado nitro apresentou a maior atividade da série, mas, todos os compostos mostraram ser menos ativos que a anfotericina B
Wansri et al. [32]	Cultura axênica de <i>T. brucei rhodesiense</i>	<i>T. brucei</i> tripomastigota	Efeitos sobre a proliferação de cultura axênica tripomastigota de <i>L. donovani</i> o determinada pelo ensaio colorimétrico Alamar Blue para determinação de CI_{50} (0.0001, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10, 100 μ M)		Os análogos semi-sintéticos 4 e 5 apresentaram valores contra as formas tripomastigotas respectivamente: 19.87 $\pm$ 2.28 μ M e 15.46 $\pm$ 3.09 μ M Pentamidina (ref.): 0.016 $\pm$ 0.002 μ M	Os análogos semi-sintéticos 4 e 5 foram ativos e com os melhores efeitos da série, mas inibição leve em comparação com a Pentamidina.

MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il) -2,5-brometo de difeniltetrazol]; XTT (2,3-bis-[2-metoxi-4-nitro-5-sulfofenil] -2H-tetrazólio-5-carboxanilida); (ref.) = referência

O Quadro 4, mostra a avaliação do risco de viés para estudos in vitro, adaptada do instrumento OHAT [16]. Nesta adaptação as questões nº 1, 2, 3 e 4 foram adaptadas para as necessidades dos estudos in vitro. Já a questão nº 6 foi alterada para contemplar uma necessidade dos estudos in vivo, pois era específica para estudos com seres humanos e ou in vivo.

Discussão

A partir da questão que norteou o objetivo deste estudo, que foi: quais os análogos ou derivados da piperina que possuem potencial atividade antiparasitária frente ao gênero *Leishmania* e *Tripanossoma*?

A resposta, fundamentada nos resultados, mostraram que a maioria das pesquisas (Quadro 3) apresentaram para Piperina, seus análogos e derivados sintéticos, atividades contra às formas promastigota, amastigota e epimastigota em macrófagos infectados por *Leishmania* bem como para as formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas de *Tripanossoma*.

A análise de risco de viés mostrou um risco baixo pela avaliação OHAT [16] para a maioria

dos artigos analisados, com adaptações realizadas pelos autores, o que pode evidenciar uma adequada qualidade metodológica dos estudos in vitro selecionados. Cabe destacar, que existe uma lacuna na literatura científica sobre ferramentas específicas para avaliar o risco de viés em estudos in vitro e isso foi abordado de forma minuciosa na pesquisa realizada por Rooney et al. [17], o que reforçou e justificou as adaptações realizadas no instrumento OHAT para as necessidades das pesquisas in vitro.

Um estudo desenvolvido por Ribeiro et al. [23] (Quadro 3) mostrou que o alcaloide natural piperina e seus derivados sintéticos foram testados contra as formas epimastigotas e amastigotas do protozoário *T. cruzi*. A piperina mostrou-se um potente inibidor de *T. cruzi*, sendo mais tóxico aos amastigotas intracelulares do que aos epimastigotas. Observou-se para o análogo sintético Piperetina e derivado sintético 12, com valores de toxicidade contra epimastigotas e amastigotas, respectivamente, CI_{50} = 10.67 μ M e CI_{50} = 7.40 μ M; CI_{50} = 17.49 μ M e CI_{50} = 9.63 μ M, a importância da cadeia lateral de carbono estendida na molécula original (Piperetina) e manutenção dos efeitos tóxicos para os parasitas, mesmo com a redução do

grupo carbonilamida da piperina gerando amina (derivado sintético 12). Da Silva et al. Reforça que derivados amida com manutenção da cadeia lateral têm se mostrado ativos contra *T.*

cruzi, servindo de protótipo para análogos que apresentam atividade pronunciada ($CI_{50} < 5.62 \mu M$), ausência de toxicidade e seletividade para atividade tripanocida [11].

Quadro 4. Risco de viés dos estudos individuais pela ferramenta OHAT risk-of-bias adaptada para estudos in vitro

Bias Domains and Questions	Ribeiro et al. [23]	Da Silva Ferreira et al. [24]	Regasini et al. [25]	Singh et al. [26]	Ferreira et al. [27]	Naz et al. [28]	Franklin et al. [29]	Da Silva Carrara, et al. [30]	Fernandes et al. [31]	Wansri et al. [32]
Viés de Seleção in vitro										
1. A concentração administrada ou o nível de exposição foram adequadamente padronizados?	++	++	+	++	+	++	++	++	+	++
2- Os grupos controles positivos e negativos foram adequadamente relatados e tratados com as amostras testes?	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
3. O estudo resultou em comparação apropriada com diferentes concentrações das amostras testes com o controle positivo?	++	++	-	++	++	++	++	++	-	++
Viés de Performance in vitro										
4. O desenho ou análise da pesquisa levou em conta importantes variáveis de confusão, modificação e repetitividade de resultados em três experimentos independentes para estudo in vitro?	+	++	+	+	++	++	++	++	+	+
5. As condições experimentais eram idênticas entre os grupos de estudo?	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
6. A equipe de pesquisa e os seres humanos ficaram cegos para o grupo de estudo durante o estudo?	+	++	++	+	++	+	++	++	+	+
Viés de Atrito/Exclusão										
7. Os dados dos resultados foram completos sem atrito ou exclusão da análise?	+	+	++	++	+	+	+	++	+	++
8. Podemos ter confiança na caracterização da exposição?	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++
9. Podemos ter confiança na avaliação dos resultados?	++	++	+	++	+	++	+	++	+	+
Viés de relatórios seletivos										
10. Todos os resultados medidos foram relatados?	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
Outras fontes de viés										
11. Não houve outras ameaças potenciais à validade interna (por exemplo, os métodos estatísticos eram apropriados e os pesquisadores aderiram ao protocolo do estudo)?	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Para Da Silva Ferreira et al. [24] os derivados cloretos de 1,3,4-tiadiazólio-2-fenilamina (Quadro 3) da piperina foram sintetizados e testados in vitro contra três formas evolutivas do *Trypanosoma cruzi*, bem como sua citotoxicidade em murinos (célula hospedeira). Dentre os nove derivados produzidos na pesquisa, o cloridrato mesoiônico MI apresentou um melhor perfil de atividade com valores de $CI_{50} = 10.83 \mu M \pm 2.2$; $6.70 \mu M \pm 1.7$; $1.35 \mu M \pm 0.95$ para as formas epimastigotas, tripomastigotas e amastigotas, respectivamente. O que é reforçado Serban [33] quando afirma que muitos derivados 1,3,4-tiadiazólicos têm sido relatados por ser considerados compostos líderes para a síntese de medicamentos com atividade antiparasitária e uma promessa para tratamentos futuros fornecendo uma estratégia válida para o desenvolvimento de medicamentos antiparasitários potentes.

Os derivados de conjugados de piperil-aminoácidos foram sintetizados através de reação de hidrólise da piperina, conjugação com ésteres metílicos de aminoácidos e posterior conversão para grupo carboxila livre e duplas reduzidas (Quadro 3). Os derivados foram testados in vitro contra formas promastigotas e amastigotas de *Leishmania donovani*. A molécula mais ativa testada foi o éster metílico de piperil-valina que apresentou valor de $CI_{50} 0,197$ e CI_{50} de $0,075 \text{ mM}$ contra formas promastigotas e amastigotas, mostrando-se moderadamente ativo para forma promastigota e ativo para forma amastigota [26]. Estudos posteriores precisam ser realizados para melhora do perfil de atividade a partir dos derivados conjugados, pois, em análise realizada com síntese e testes biológicos in vitro frente a cepa de *L. amazonensis*, foram demonstrados resultados promissores para adutos híbridos com valores de $CI_{50} = 22,12 \mu M$ [34].

Em outro estudo (Quadro 3), a piperina e seus análogos isolados de *Piper nigrum*, foram analisados através da concentração inibitória (CI_{50}) mostraram-se ativos contra às formas

promastigotas e amastigotas em macrófagos infectados de *Leishmania amazonensis*. A piperina e seu análogo fenilamida levaram à perda da membrana mitocondrial para o parasita e afetaram o ciclo celular promastigota com aumento na fase G1 e diminuição na fase S. Os valores apresentados em formas promastigotas e amastigotas foram de CI_{50} : $14,2 \mu M$ e $28 \mu M$, para piperina e $28,9 \mu M$ e $24,5 \mu M$ para fenilamida. A piperina reduziu os níveis de lipídeos do tipo triglicerídeos, diglicerídeos e monoglicerídeos e a fenilamida, de diglicerídeos [27]. O que pode ser complementado pela pesquisa de Ramos et al. [35] quando afirmam que o metabolismo lipídico é importante para a virulência, crescimento, replicação e diferenciação da espécie, havendo assim, correlação entre acúmulo de lipídios e infectividade. Além disso, nenhuma das moléculas induziram a produção de óxido nítrico.

Os extratos clorofórmicos e de éter de petróleo da raiz de *Piper Chaba* foram avaliados para as atividades: antimicrobiana, antileishmanicida e citotóxica (Quadro 3). Após análise dos extratos, os compostos majoritários piperina (3) e seus análogos: piperato de Bornil (1) e piperlonguminina (2) foram isolados e testados para todas as atividades. Os compostos mostraram potente atividade antifúngica, atividade citotóxica significativa e atividade antileishmanicida. A atividade antileishmania foi testada in vitro contra uma cultura promastigota de *Leishmania donovani*. Os análogos piperato de Bornil (1) e piperlonguminina (2) demonstraram atividade no valor de $CI_{50} = 16 \mu g \text{ mL}^{-1}$ e $CI_{50} = 30 \mu g \text{ mL}^{-1}$ respectivamente [28]. Apesar dos valores serem menores quando comparados à Pentamidina as estruturas podem servir como base para a produção de novos compostos líderes com atividade antiparasitária [36]. Para Ferreira [37] o potencial antiparasitário da piperina e seus análogos têm sido, constantemente, descrito frente a família do Tripanossoma e Leishmania, doenças que envolvem manifestações clínicas severas que podem levar à morte dos pacientes se não tratadas de forma adequada.

Regasini et al. Analisou as frações hexânicas de *P. tuberculatum* e *P. arboreum* [25] e apresentaram efeito tóxico para formas epimastigotas de *T. cruzi* CI_{50} ($\mu\text{g/mL}$) de 32,2 e 31,3, respectivamente. Além disso, para amidas pirrolidínicas isoladas, a piperilina (1) mostrou valor de CI_{50} : 6,57 μM , valor maior do que o controle positivo, benzonidazol (CI_{50} : 33,6 μM), concluindo que ela pode ser a responsável pela atividade da fração.

Além disso, duas amidas naturais isoladas das folhas de *Piper amalago* L., um derivado hidrogenado e sete análogos sintéticos foram testados contra as formas promastigotas e amastigotas intracelulares de *Leishmania amazonensis*. A citotoxicidade foi avaliada, no que se refere, às concentrações citotóxicas para 50% dos macrófagos (CC50), além da análise de produção de óxido nítrico. O composto natural, N-[7-(3',4'-metilenodioxifenil)-2(E),4(E)-heptadienoil] pirrolidina, foi o mais ativo de todos os compostos testados contra o promastigota e formas amastigotas intracelulares com valores de CI_{50} de 15 μM e 14,5 μM , respectivamente. Nenhum dos compostos promoveu produção significativa de óxido nítrico, o que sugere uma ação direta e seletiva dos compostos sobre as formas amastigotas intracelulares. Além disso, todas as amidas eram menos citotóxicas que o composto padrão a Pentamidina (Quadro 3) [30]. Análogos amida da piperina foram extensivamente analisados acerca de suas atividades biológicas, e a exemplo do análogo pirplatina também apresentou atividade leishmanicida [38].

Derivados ésteres e carbamatos foram produzidos a partir de modificações estruturais na subunidade piperidina e benzodioxol da piperina, sintetizados e avaliados contra *L. amazonensis*. Os compostos apresentaram atividade menor em comparação ao composto padrão Anfotericina B. Os resultados para relação estrutura-atividade mostram que os substituintes na subunidade aril e acil são importantes para o efeito leishmanicida, em

que o derivado nitro possui valor de atividade maior que os seus análogos sintéticos, com CI_{50} = 17,24 IM e potência comparável aos derivados do éster 3,4-benzodioxol e do n-hexil carbamato (Quadro 3) [31]. Uma série de derivados sintéticos foram analisados in vitro para formas amastigotas de *Leishmania infantum* e os resultados mostraram valores promissores de CI_{50} , entre 5,1 e 13,5 μM , baixo perfil de toxicidade para células humanas, alta absorção gastrointestinal o que leva a considerar o perfil molecular destes compostos em análises futuras para obtenção de moléculas com potencial atividade antiparasitária [39].

Franklin et al. desenvolveu [29] (Quadro 3) novos derivados 1,2,4-triazol-3-onas sintéticos a partir da piperina, principal constituinte de *Piper nigrum*. Os derivados foram planejados a partir da análise bioisotérica da estrutura da piperina onde a porção do anel piperidina acoplada à carbonila foi substituída por um grupamento triazol. Os derivados de triazol substituídos foram testados para atividade tripanocida contra proliferação de formas epimastigotas e amastigotas de *Trypanosoma cruzi*. O derivado ciclohexila substituído (9f), apresentou o melhor valor de atividade tripanocida com CI_{50} = 18,3 e 8,87 μM contra epimastigotas e amastigotas da série testada, respectivamente.

Em estudo recente, desenvolvido por Wansri et al. [32] (Quadro 3), análogos N-arilamida da piperina foram produzidos através de semi-síntese para obtenção dos compostos 3, 4 e 5. Os compostos foram examinados quanto às suas principais atividades de protease anti-tripanosômica. Os resultados mostraram que a piperamida 5 exibiu atividade biológica com ausência de citotoxicidade para linhagens celulares de mamíferos em comparação aos outros derivados. Os derivados 4 e 5 apresentaram valor de CI_{50} = 19.87 $\mu\text{M} \pm 2.28$ e 15.46 $\mu\text{M} \pm 3.09$ respectivamente para atividade antitripanossômica contra protease de *Trypanosoma brucei rhodesiense*.

Estes resultados enfatizaram o valor da fenilamida substituída por metoxi na estrutura dos derivados para atividade biológica. Isto também foi observado em derivados piperazidas sintéticos testados que demonstraram atividade contra *T. brucei rhodesiense* e que exibiram atividade similar ao medicamento padrão para tripomastigotas, além da toxicidade seletiva e demonstraram atividade e baixa toxicidade em células de primatas e capacidade de inibição da enzima CYP51, essencial para manutenção da vida do parasita [40].

Limitações do estudo

Foram consideradas limitações para este estudo a ausência de ensaio de viabilidade celular para 4 estudos selecionados na revisão sistemática, o que nos impede de visualizar a efetividade, ação e citotoxicidade das moléculas em contato com o hospedeiro nos ensaios de viabilidade celular, pelo fato dos parasitas apresentarem um ciclo de vida heteroxênico.

Conclusão

O estudo realizado responde à questão norteadora, concluindo que os análogos e derivados da Piperina mostraram atividade frente às formas evolutivas dos parasitas do gênero *Leishmania* e *Tripanossoma*. As moléculas observadas para atividade antiparasitária contra *T. cruzi* apresentaram valores de atividade biológica adequados, mas com potência menor e maior que os compostos padrões.

As moléculas testadas para atividade contra o gênero *Leishmania* apresentaram variação no perfil de atividade biológica. As moléculas testadas mostraram-se ativas para formas amastigotas e promastigotas com valores menores que o composto de referência, moderadamente ativo para forma promastigota e o derivado éster metílico de piperil-valina que apresentou valor de CI_{50} de 0,075 mM para forma evolutiva de *L. donovani*, valor melhor que o composto

padrão benzonidazol. E, apesar das moléculas apresentarem valores de atividade menores quando comparados à compostos padrões todas as estruturas podem servir como base para a produção de novos compostos líderes com atividade antiparasitária que apresentem um perfil de citotoxicidade menor em comparação aos fármacos disponíveis.

Sugere-se novos estudos que contemplem os ensaios de viabilidade celular para uma análise total da efetividade frente ao ciclo de vida heteroxênico do parasita, bem como análises in vivo, pois, os ensaios in vitro não contemplam interações de células, receptores ou a ação de neurotransmissores e enzimas, além da farmacocinética, farmacodinâmica e biodisponibilidade do medicamento.

Conflito de interesses: Declaro que não possuo conflito de interesses de ordem pessoal, comercial, acadêmico, público e financeiro na realização deste trabalho.

Financiamento: Não houve financiamento.

Declarações do autor

Joyce Karen Lima Vale: Preparação, criação, formulação, evolução de ideias, objetivos e metas abrangentes de pesquisa, desenvolvimento ou concepção de metodologia, redação original, edição e revisão crítica.

José de Arimatéia Rodrigues do Rego: Liderança pelo planejamento e execução da atividade de pesquisa, Responsabilidade de supervisão e Revisão.

Davi do Socorro Barros Brasil: Gerenciamento e coordenação do planejamento e execução das atividades de pesquisa.

Declaração do uso de inteligência artificial: Os autores acima mencionados, declaram que ferramentas de Inteligência Artificial (IA) não foram utilizadas no processo de elaboração deste trabalho.

Referências

1. Moreira RRD, Santos AGD, Carvalho FA, Perego CH, Crevelin EJ, Crotti AEM, Nakamura CV. Antileishmanial activity of *Melampodium divaricatum* and *Casearia sylvestris* essential oils on *Leishmania amazonensis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 2019; 61. doi: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201961033>.
2. World Health Organization. Leishmaniasis factsheet. Geneva: World Health Organization, 2020; Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.
3. Ikeogu NM, Akaluka GN, Edechi CA, Salako ES, Onyilagha C, Barazandeh AF, Uzonna JE. Leishmania immunity: advancing immunotherapy and vaccine development. *Microorganisms*, 2020;8(8):1201. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8081201>.
4. Franco JR, Simarro PP, Diarra A, Jannin JG. Epidemiology of human African trypanosomiasis. *Clinical epidemiology*, 2014; 257-275. doi: <https://doi.org/10.2147/CLEP.S39728>.
5. Costa PRR. Produtos naturais como ponto de partida para a descoberta de novas substâncias bioativas: Candidatos a fármacos com ação antiofídica, anticâncer e antiparasitária. *Revista Virtual de Química*, 2009;1(1):58-66. doi: <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20090008>.
6. Barreiro EJ, Fraga CAM. Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos. Artmed Editora, 2014. <https://www.meulivro.biz/farmacia/quimica-farmaceutica/903/quimica-medicinal-as-bases-moleculares-da-acao-dos-farmacos-barreiro-fraga-3-ed-pdf/>
7. Pal Singh, I., & Choudhary, A. Piperine and derivatives: trends in structure-activity relationships. *Current topics in medicinal chemistry*, 2015;15(17): 1722-1734. doi: <https://doi.org/10.2174/1568026615666150427123213>.
8. Da Silva YC, Silva EMS, Fernandes NDS, Lopes NL, Orlandi P.P, Nakamura CV, Costa EV, Da Veiga Júnior VF. Antimicrobial substances from Amazonian Aniba (Lauraceae) species. *Natural Product Research*, 2021;35(5):849-852. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1603225>.
9. Wang J, Wang W, Xiong H, Song, D, Cao X. Natural phenolic derivatives based on piperine scaffold as potential antifungal agents. *BMC chemistry*, 2020; 14:1-12. doi: <https://doi.org/10.1186/s13065-020-00676-4>.
10. Yasir A, Ishtiaq S, Jahangir M, Ajaib M, Salar U, Khan KM. Biology-oriented synthesis (BIOS) of piperine derivatives and their comparative analgesic and antiinflammatory activities. *Medicinal Chemistry*, 2018;14(3):269-280. doi: <https://doi.org/10.2174/1573406413666170623083810>.
11. Da Silva MA, Passarini GM, Martinez LDN, Fialho SN, Sales Jr PA, Fokoue HH, Kuenh CC. Atividade Tripanocida in vitro de amidas naturais e seus respectivos análogos sintéticos. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 2020;7(1):186-197. Disponível em: <https://teste-periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/2714>
12. Mancini MC, Sampaio RF. Quando o objeto de estudo é a literatura: estudos de revisão. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 2007;10. doi: <https://doi.org/10.1590/S1413-35552006000400001>
13. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, Moher D. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *International journal of surgery*, 2021;88: 105906. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2021.105906>.
14. Sterne JAC, Hernán MA, Reeves BC, Savović J, Berkman ND, Viswanathan M, Henry D, Altman DG et al. ROBINS-I: a tool for assessing risk of bias in non-randomized studies of interventions. *BMJ*, 2016;355: [i4919]. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.i4919>.
15. Hooijmans CR, Rovers MM, De Vries R.B, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam MW. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC medical research methodology*, 2014;14: 1-9. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>.
16. Office of Health Assessment and Translation (OHAT). National Institute of Environmental Health Sciences. OHAT risk of bias rating tool for human and animal studies. US Department of Health and Human Services, 2015. https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/ntp/ohat/pubs/riskofbiastool_508.pdf.
17. Rooney AA, Boyles AL, Wolfe MS, Bucher JR, Thayer KA. Systematic review and evidence integration for literature-based environmental health science assessments. *Environmental health perspectives*, 2014;122(7):711-718. doi: <https://doi.org/10.1289/ehp.130797>
18. Hilal-Dandan R, Brunton L. *Manual de farmacologia e terapêutica de Goodman & Gilman*. AMGH Editora, 2015. <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=ofidBgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PT2&dq=Manual+de+farmacologia+e+terap%C3%AAutica+de+Goodman+%26+Gilman.&ots=TfM9vji7gs&sig=Oc7iBO9uHAcJ3-wyXcg3XOQOSQQ#v=onepage&q=Manual%20de%20farmacologia%20e%20terap%C3%AAutica%20de%20Goodman%20%26%20Gilman.&f=false>.

19. Da Silva MA, Fokoue HH, Fialho SN, Dos Santos APDA, Rossi NR, Gouveia ADJ, ... Kuehn CC. Antileishmanial activity evaluation of a natural amide and its synthetic analogs against *Leishmania (V.) braziliensis*: an integrated approach in vitro and in silico. *Parasitology Research*, 2021;120(6): 2199-2218.
doi: <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07169-w>.
20. Da Silva TF. Abordagens da química medicinal para o planejamento de protótipos de fármacos. *Revista Virtual de Química*, 2013; 5(5), 921-933. doi: <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20130066>.
21. Nepomuceno LL, Carvalho LD, Soares NP, Cruz VDS, Arnhold E, Ferreira JL, ... Samylla MCS. Padronização metodológica in vitro do ensaio colorimétrico MTT para avaliação da atividade de formazan e dosagem do fármaco: padronização do teste colorimétrico MTT. *Farmacologia Aplicada à Enfermagem: Aspectos Teóricos e Práticos*, 2021; 149-161. <https://downloads.editoracientifica.org/articles/201202541.pdf>.
22. Veiga ASS, Silveira FT, Silva EO, Júnior JAPD, Araújo SC, Campos MB, Marinho AMR, Brandão GC, Vale VV, Percário S, Dolabela MF. Activity of alkaloids from *Aspidosperma nitidum* against *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. *Scientific reports*, 2022; 12,8662. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12396-x>.
23. Ribeiro TS, Freire-de-Lima L, Previato JO, Mendonça-Previato L, Heise N, de Lima MEF. Toxic effects of natural piperine and its derivatives on epimastigotes and amastigotes of *Trypanosoma cruzi*. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 2004; 14(13), 3555-3558. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2004.04.019>.
24. Da Silva Ferreira W, Freire-de-Lima L, Saraiva VB, Alisson-Silva F, Mendonça-Previato L, Previato JO, ... de Lima MEF. Novel 1, 3, 4-thiadiazolium-2-phenylamine chlorides derived from natural piperine as trypanocidal agents: chemical and biological studies. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 2008; 16(6), 2984-2991.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.12.049>
25. Regasini LO, Cotinguiba F, Passerini GD, Bolzani VDS, Cicarelli RMB, Kato M J, Furlan M. Trypanocidal activity of *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum* (Piperaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2009; 19, 199-203.
<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200003>.
26. Singh IP, Jain SK, Kaur A, Singh S, Kumar R, Garg P, Arora SK. Synthesis and antileishmanial activity of piperoyl-amino acid conjugates. *European journal of medicinal chemistry*, 2010; 45(8), 3439-3445.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.04.033>.
27. Ferreira C, Soares DC, Barreto-Junior CB, Nascimento MT, Freire-de-Lima L, Delorenzi JC, Lima MEF, Atella GC, Folly E, Carvalho TMU, Saraiva EM, Pinto-da-Silva LH. Leishmanicidal effects of piperine, its derivatives, and analogues on *Leishmania amazonensis*. *Phytochemistry*, 2011; 72(17), 2155-2164.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.08.006>.
28. Naz T, Mosaddik A, Rahman MM, Muhammad I, Haque ME, Cho SK. Antimicrobial, antileishmanial and cytotoxic compounds from *Piper chaba*. *Natural product research*, 2012; 26(11), 979-986.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2010.535166>.
29. Franklim TN, Freire-de-Lima L, De Nazareth Sá Diniz J, Previato JO, Castro RN, Mendonça-Previato L, De Lima MEF. Design, synthesis and trypanocidal evaluation of novel 1, 2, 4-triazoles-3-thiones derived from natural piperine. *Molecules*, 2013; 18(6), 6366-6382. doi: <https://doi.org/10.3390/molecules18066366>.
30. Da Silva Carrara V, Cunha-Júnior EF, Torres-Santos EC, Corrêa AG, Monteiro JL, Demarchi IG, Cortez DAG. Antileishmanial activity of amides from *Piper amalago* and synthetic analogs. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2013; 23(3), 447-454. doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000022>.
31. Fernandes ÍA, de Almeida L, Ferreira PE, Marques MJ, Rocha RP, Coelho LF, Carvalho DT, Viegas JrC. Synthesis and biological evaluation of novel piperidine-benzodioxole derivatives designed as potential leishmanicidal drug candidates. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2015; 25(16), 3346-3349.
doi: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.05.068>.
32. Wansri R, Lin ACK, Pengon J, Kamchonwongpaisan S, Srimongkolpithak N, Rattanajak R, Chamni S. 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. 2022; *Molecules*, 27(9), 2841.
doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27092841>.
33. Serban G. 2-Amino-1, 3, 4-thiadiazoles as prospective agents in trypanosomiasis and other parasitoses. *Acta Pharmaceutica*, 2020; 70(3), 259-290. doi: <https://doi.org/10.2478/acph-2020-0031>.
34. Oliveira JPGD. Síntese de novos híbridos moleculares entre a estrutura privilegiada 7-cloroquinolina e adutos de morita-baylis-hillman candidatos a fármacos antitumorais e antiparasitários, 2019.
Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/handle/123456789/20227>.

Lima Vale J.K., Rodrigues do Rego J.A., Barros Brasil D.S.
Análogos e derivados da piperina com potencial atividade antiparasitária:
revisão sistemática com avaliação do risco de viés adaptada para estudos in vitro.
Arch Med (Manizales). 2025;25(1)

35. Ramos PK, Diniz JA, Silva EO, Quaresma JA, Saraiva EM, Seabra SH, ... Souza W. Characterization in vivo and in vitro of a strain of *Leishmania* (Viannia) shawi from the Amazon Region. *Parasitology International*, 2009; 58(2), 154-160. doi: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2009.01.009>.
36. Naz T, Mosaddik A, Rahman MM, Muhammad I, Haque ME, Cho SK. Antimicrobial, antileishmanial and cytotoxic compounds from *Piper chaba*. *Natural product research*, 2012; 26(11), 979-986. doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.535166>.
37. Ferreira WS, Franklim TN, Lopes ND, de Lima MEF. Piperina, seus análogos e derivados: potencial como anti-parasitários. *Revista Virtual de Química*, 2012; 4(3), 208-224. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v4n3a03.pdf>
38. Da Silva MA, Da Silva FB, Passarini GM, Fialho SN, Dos Santos APDA, Martinez LDN, ... Kuehn CC. PIPLARTINE AND PIPERINE: a review of their biological activities. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*, 2019; 6(2), 818-858. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/341434761_PIPARTINE_AND_PIPERINE_A_REVIEW_OF_THEIR_BIOLOGICAL_ACTIVITIES_PIPARTINA_E_PIPERINA_UMA_REVISAO_DE_SUAS_ATIVIDADES_BIOLÓGICAS
39. Baltazar FN. Otimização de novos candidatos a fármacos para Leishmaniose Visceral Canina. Tese (Doutorado em Ciências) - Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 119 p, 2022. <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2023/06/1436553/tese-de-doutorado-fabio-navarro-baltazar-fabio-navarro.pdf>.
40. Castro LHE. Desenvolvimento de triazóis derivados da piperina inibidores da CYP51 de *Trypanosoma cruzi*: otimização de um modelo de previsão de atividade teórica, síntese e atividade in vitro. Tese (Doutorado em Química, Química Orgânica) - Instituto de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 175 p, 2021. doi: <https://tede.ufrj.br/jspui/handle/jspui/6553>.

