



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Híbridos Moleculares Derivados do Álcool Perílico e Borneol:
Avaliação Antifúngica**

MARINA DE SOUZA FARIAS SANTOS

**João Pessoa
UFPB – 2020**



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Híbridos Moleculares Derivados do Álcool Perílico e Borneol:
Avaliação Antifúngica

MARINA DE SOUZA FARIAS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.
Área de Concentração:
FARMACOQUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa.

João Pessoa
UFPB - 2020

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

S237h Santos, Marina de Souza Farias.

Híbridos Moleculares Derivados do Álcool Perílico e
Borneol: Avaliação Antifúngica / Marina de Souza Farias
Santos. - João Pessoa, 2020.

128f.

Orientação: Damião Pergentino de Sousa.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Híbridos. 2. Relação Estrutura-Atividade. 3.
Atividade Antifúngica. I. Sousa, Damião Pergentino de.
II. Título.

UFPB/BC



PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 427ª (quadringentésima vigésima sétima) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Marina de Souza Farias Santos**, candidata ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às quatorze horas (14h00) do dia vinte e um de fevereiro do ano de dois mil e vinte (21/02/2020), nas dependências do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos, da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar a aluna **Marina de Souza Farias Santos**, candidata ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os pesquisadores Hilzeth de Luna Freire Pêsoa, Ph.D em Farmacologia, José Maria Barbosa Filho, Ph.D em Química Orgânica e Hemerson Iury Ferreira Magalhães, Ph.D em Farmacologia. Sendo todos integrantes do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Hemerson Iury Ferreira Magalhães, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Marina de Souza Farias Santos**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Híbridos Moleculares derivados do Álcool Perílico e Borneol: Avaliação antifúngica". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADA**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se a examinada **Marina de Souza Farias Santos** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo(a) discente.

Prof. Dr. Hemerson Iury Ferreira Magalhães (Presidente)

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (Examinador)

Prof.ª Dr.ª Hilzeth de Luna Freire Pêsoa (Examinadora)

Marina de Souza Farias Santos (Discente)



Dedicatória

Dedico esta vitória à minha família, especialmente aos meus pais, Thone Cézar e Zenira, que sempre estiveram ao meu lado, acreditaram em mim, me apoiaram e me ajudaram a chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, por toda a proteção e as bênçãos concedidas a mim, todos os dias da minha vida.

Aos meus pais, Zenira e Thone Cezar, meus irmãos Laís e Thone Cezar Jr. Tenho certeza de que não chegaria até aqui sem o apoio, confiança, incentivo, motivação e muita ajuda de vocês. Todas as minhas vitórias são pra vocês. Gostaria também de agradecer minha Tia Zelma por toda a ajuda e apoio em todos os momentos da minha vida.

Agradeço aos meus amigos, Hugo, Matheus e Diógenes por todas as vezes que desabafei sobre o meu andamento no mestrado; às minhas amigas Bia, Camila, Fernanda, Gleice, Gabriela, Geovana, Karoline, Nathalia e Valgricia por tentarem me manter sã nesses dois anos de pesquisa.

Agradeço ao meu Orientador Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa, pela oportunidade concedida, pela confiança em mim depositada para o desenvolvimento do projeto e pela ajuda nos momentos necessários.

Aos colegas do Laboratório de Química Farmacêutica (UFPB): Marianna, Ana Júlia, Alana, Susianne, Lázaro, Anna Emanuella, Mayara, Allana Brunna, Joice, Neto e Carlos; pela companhia nos dias de trabalho, conversas divertidas e ajuda com as dificuldades das nossas reações.

Aos técnicos do LMCA, Marcelo e Evandro por realizar os testes de RMN de ^{13}C e ^1H . Como também, a Rayanne por realizar as análises de Espectroscopia no Infravermelho das minhas amostras.

Ao Professor Dr. Ricardo Castro, e seus alunos, como também a Patrícia, técnica do laboratório, pelo auxílio com os testes biológicos destinados ao projeto. O aprendizado foi imenso e muito gratificante. Agradeço aos professores do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, por todos os ensinamentos e formação.

Agradeço também ao CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo apoio financeiro, através da concessão da minha bolsa de Mestrado.

RESUMO

SANTOS, Marina de Souza Farias. **Híbridos Moleculares Derivados do Álcool Perílico e Borneol: Avaliação Antifúngica**. 129p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2020.

O gênero *Candida* é responsável pela maioria das infecções fúngicas em ambientes hospitalares. Atualmente, diversas pesquisas estão direcionadas na busca de novos fármacos bioativos frente a espécies deste gênero. Dados da literatura relatam moléculas com o núcleo perila ou bornila que possuem atividade antimicrobiana. Em estudos anteriores desenvolvidos pelo nosso grupo de pesquisa foi demonstrado que o uso de derivados cinâmicos e benzoicos conjugados com monoterpenos é uma estratégia interessante para obter novos protótipos anti-*Candida*. Portanto, dando continuidade à busca por candidatos a fármacos antifúngicos, na presente dissertação investigou-se o potencial antifúngico de onze híbridos moleculares derivados do álcool perílico e borneol contendo as subestruturas cinâmicas ou benzoicas. Utilizou-se três metodologias nas reações de esterificação: Reação de cloreto ácido via SOCl_2 , Reação de Steglich e Reação de Schotten-Baumann; os rendimentos dos produtos variaram entre 22,5% e 40,4%. Dos onze híbridos obtidos, oito são derivados sintéticos inéditos na literatura. No teste antifúngico frente as espécies *C. albicans*, *C. krusei* e *C. tropicalis*, determinou-se a concentração inibitória mínima (CIM) com a técnica de microdiluição em placa de 96 poços e a concentração fungicida mínima (CFM) em meio de cultura sólido. Na avaliação da capacidade antifúngica dos híbridos, foi possível observar que todos foram bioativos frente as cepas testadas, apresentando atividade fungicida. Os compostos com maior potência antifúngica foram bioativos contra a cepa de *C. albicans*, na qual, **MF3** apresentou CIM na concentração de 186,88 μM e **MF5** em 622,50 μM , seguido do composto **MF10** que apresentou CIM na concentração de 1659,27 μM contra a cepa de *C. tropicalis*, todos os compostos testados contra *C. krusei* apresentaram atividade na maior concentração testada. Os dados sugerem que a presença de grupos lipofílicos volumosos como substituintes no anel aromático potencializa a ação antifúngica dos híbridos moleculares.

Palavras-chave: Híbridos, Relação Estrutura-Atividade, Atividade Antifúngica.

ABSTRACT

SANTOS, Marina de Souza Farias. **Molecular Hybrids Derived from Perillyl Alcohol and Borneol: Evaluation of their Antifungal Activity.** 129p. Dissertation (Post-graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactives) – Health Sciences Center, Federal University of Paraíba. João Pessoa, 2020.

The genus *Candida* is responsible for the majority of fungal infections in hospital settings. Currently, several researches are directed to search for new bioactive products in the face of species of this genus. Literature data relate molecules with a perillyl or borneol nucleus that have antimicrobial activity. In previous studies, carried out by our research group, it has been demonstrated that the use of chemical and benzoic substances conjugated to monoterpenes is an interesting strategy to obtain new anti-*Candida* prototypes. Therefore, allow the search for candidates for antifungal drugs, in this case, the investigated dissertation or antifungal potential of eleven molecular hybrids composed of perillyl alcohol and alcohol derivatives as substructures chemical or chemical substances. Use three methods in the esterification analysis: Preparation of acid chloride via SOCl₂, Steglich esterification and Schotten-Baumann reaction; the benefits of the products vary between 22.5% and 40.4%. Of the eleven selected hybrids, eight are synthetic derivatives of credits in the literature. No forward antifungal tests such as the species *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis*, determined a MIC (minimal inhibition) with a microdilution technique in the 96-well plate and a minimal fungicide (CFM) in the culture medium. In the evaluation of the antifungal capacity of the hybrids, it was possible to observe all bioactives in front of the tested strains, exhibiting fungicidal activity. The compounds with the greatest antifungal power were bioactive against the strain of *C. albicans*, which, **MF3** shows MIC at a concentration of 186.88 µM and **MF5** at 622.50 µM, followed by compound **MF10** which shows MIC at a concentration of 1659.27 µM against a strain of *C. tropicalis*, all compounds tested against *C. krusei* showed activity at the highest concentration tested. The data suggested for the presence of bulky lipophilic groups as substituents in the aromatic ring potentiate the antifungal action of molecular hybrids

Key-Words: Hybrids, Structure-Activity Relationship, antifungal activity.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1 – Reações para síntese dos híbridos moleculares.....	35
Esquema 2 – Mecanismo da esterificação pela reação de Steglich (DCC/DMAP)...	37
Esquema 3 – Mecanismo de preparação do cloreto ácido via SOCl ₂	39
Esquema 4 – Mecanismo de esterificação pela reação de Schotten-Baumann.....	40
Esquema 5 – Metodologias utilizadas para obtenção dos ésteres.....	44
Esquema 6 – Reação de esterificação dos compostos MF1 , MF2 e MF3	69
Esquema 7 – Reação de esterificação dos compostos MF4 e MF5	70
Esquema 8 – Reação de obtenção do éster MF6	75
Esquema 9 – Reação para obtenção dos ésteres MF7 , MF8 e MF9	76
Esquema 10 – Reação de obtenção dos ésteres MF10 e MF11	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do álcool perfílico.....	32
Figura 2: Estrutura química do borneol.....	34
Figura 3 – Híbridos moleculares preparados no presente estudo.....	43
Figura 4 – Ácidos utilizados nas reações de obtenção de derivados esterificados do álcool perfílico.....	68
Figura 5 – Ácidos utilizados nas reações de obtenção de derivados esterificados do borneol.....	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados gerais dos ésteres derivados do álcool perílico e borneol.....	45
Tabela 2 – Principais dados de espectroscopia de infravermelho dos ésteres preparados.....	46
Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os ésteres MF1 , MF2 e MF3	48
Tabela 4 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os ésteres MF4 , MF5 e MF6	49
Tabela 5 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os ésteres MF7 , MF8 e MF9	50
Tabela 6 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os ésteres MF10 e MF11	51
Tabela 7 – Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δC) para os ésteres.....	52
Tabela 8 – Resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM μM) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	59
Tabela 9 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM μM) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	60
Tabela 10 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM μM) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	61
Tabela 11 – Resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM μM) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	62
Tabela 12 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM μM) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	63

Tabela 13 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM μM) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero <i>Candida</i>	64
---	----

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 2-nitrocinamato de perila (MF1)	86
Espectro 2 - Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-nitrocinamato de perila (MF1)	86
Espectro 3 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2 - nitrocinamato de perila (MF1)	87
Espectro 4 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2 - nitrocinamato de perila (MF1)	87
Espectro 5 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2 - nitrocinamato de perila (MF1)	88
Espectro 6 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 2 – nitrocinamato de perila (MF1)	88
Espectro 7 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-clorocinamato de perila (MF2)	89
Espectro 8 – Espectro de RMN de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-clorocinamato de perila (MF2)	89
Espectro 9 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de perila (MF2)	90
Espectro 10 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de perila (MF2)	90
Espectro 11 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de perila (MF2)	91
Espectro 12 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-bifenilbenzoato de perila (MF3)	91
Espectro 13 – Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-bifenilbenzoato de perila (MF3)	92
Espectro 14 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-fenilbenzoato de perila (MF3)	92
Espectro 15 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-	

bifenilbenzoato de perila (MF3)	93
Espectro 16 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-bifenilbenzoato de perila (MF3)	93
Espectro 17 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 4-bifenilbenzoato de perila (MF3)	94
Espectro 18 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	94
Espectro 19 – Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	95
Espectro 20 – Expansão do Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	95
Espectro 21 – Expansão do Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-bifenilbenzoato de bornila (MF4)	96
Espectro 22 – Expansão do Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-bifenilbenzoato de bornila (MF4)	96
Espectro 23 – Expansão do Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	97
Espectro 24 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	97
Espectro 25 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3,5, di- <i>terc</i> - butil – 4 hidroxibenzoato de bornila (MF5)	98
Espectro 26 – Espectro de RMN de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di- <i>terc</i> -butil – 4 - hidroxibenzoato de bornila (MF5)	98
Espectro 27 – Espectro de RMN de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di- <i>terc</i> -butil – 4-hidroxibenzoato de bornila (MF5)	99
Espectro 28 – Expansão do Espectro de RMN de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, diterbutil – 4 hidroxibenzoato de bornila (MF5)	99
Espectro 29 – Expansão do Espectro de RMN de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di- <i>terc</i> -butil – 4 hidroxibenzoato de bornila (MF5)	100
Espectro 30 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125MHz, CDCl_3) do 3,5, di- <i>terc</i> -butil – 4- hidroxibenzoato de bornila (MF5)	100
Espectro 31 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3-metil - 4-nitrocinamato	

de perila (MF6)	101
Espectro 32 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (MF6)	101
Espectro 33 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (MF6)	102
Espectro 34 – Expansão Espectro de RMN ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (MF6)	102
Espectro 35 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (MF6)	103
Espectro 36 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	103
Espectro 37 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	104
Espectro 38 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	104
Espectro 39 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	105
Espectro 40 – Expansão Espectro de RMN de ^{13}C (100MHz, CDCl_3) do 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	105
Espectro 41 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-clorocinamato de bornila (MF8)	106
Espectro 42 – Espectro de RMN de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de bornila (MF8)	106
Espectro 43 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de bornila (MF8)	107
Espectro 44 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de bornila (MF8)	107
Espectro 45 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de bornila (MF8)	108
Espectro 46 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3-metil 4-nitrocinamato	

de bornila (MF9)	108
Espectro 47 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinaurato de bornila (MF9)	109
Espectro 48 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinaurato de bornila (MF9)	109
Espectro 49 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinaurato de bornila (MF9)	110
Espectro 50 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinaurato de bornila (MF9)	110
Espectro 51 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	111
Espectro 52 – Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	111
Espectro 53 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	112
Espectro 54 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	112
Espectro 55 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	113
Espectro 56 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125MHz, CDCl_3) do 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	113
Espectro 57 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do cinamato de perila (MF11)	114
Espectro 58 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) cinamato de perila (MF11)	114
Espectro 59 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (MF11)	115
Espectro 60 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (MF11)	115
Espectro 61 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (MF11)	116

LISTA DE ABREVIATURAS

µg – Micrograma

µM – Micromolar

APT – *Attached Proton Test*

ASD – Agar Sabouraud Dextrose

CBS – Central *Bureau* de Culturas Fúngicas

CC – Cromatografia em Coluna

CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CFM – Concentração Fungicida Mínima

CIM – Concentração Inibitória Mínima

d – Dubleto

dd – Duplo dubleto

DCC – Dicicloexilcarbodiimida

ddd – Dubleto de dubleto de dubleto

DCU – Diciclohexiureia

DMAP - 4-(dimetilamino) piridina

DMSO – Dimetilsulfóxido

FDA – Food and Drug Administration

FEMA – Federal Emergency Management Agency

HM – Hibridação Molecular

Hz – Hertz

IV – Infravermelho

J – Constante de Acoplamento

m – Multiplete

MHz – Megahertz

mL – mililitro

ppm – Partes por milhão

q – Quarteto

quint – Quinteto

RMN ¹³C – Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s – Singleto

sept – Septeto

sext – Sexteto

sl – singleto largo

SN2 – Substituição nucleofílica bimolecular

t – Tripleto

δ – Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	25
2.1 Considerações gerais sobre fungos	25
2.1.1 O gênero <i>Candida</i> e a Candidíase	25
2.1.2 Terapêutica antifúngica e resistência aos antifúngicos disponíveis	28
2.2 Produtos naturais como fonte de novos fármacos	31
2.3 Terpenos	31
2.3.1 Álcool Perílico	32
2.3.2 Borneol	33
2.4 Híbridos moleculares	33
2.5 Reações para obtenção de ésteres	35
2.6 Relação entre estrutura química e atividade biológica	41
3.0 OBJETIVOS	42
3.1 Objetivo geral	42
3.2 Objetivos específicos	42
4.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
4.1 Etapa de preparação dos ésteres derivados do álcool perílico e borneol	44
4.2 Análise espectroscópica dos ésteres preparados	46
4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho	46
4.2.2 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	47
4.3 Avaliação da atividade antifúngica dos ésteres híbridos	53
5.0 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	65
6.0 PARTE EXPERIMENTAL	66
6.1 Materiais e métodos utilizados	66
6.1.1 Métodos cromatográficos	66
6.1.2 Métodos espectroscópicos	66
6.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear	66
6.1.2.2 Espectroscopia de Infravermelho	67
6.1.2.3 Ponto de fusão	67
6.2 Procedimentos de preparação dos ésteres	67
6.2.1 Preparação dos ésteres MF1- MF5	69
6.2.1.1 Dados espectroscópicos de MF1 a MF5	72
• 2 -nitrocinamato de perila (MF1)	
• 4-clorocinamato de perila (MF2)	
• 4-fenilbenzoato de perila (MF3)	
• 4-fenilbenzoato de bornila (MF4)	
• 3,5-di- <i>terc</i> -butil-4-hidroxibenzoato de bornila (MF5)	
6.2.2 Preparação dos ésteres MF6-MF9	75
6.2.2.1 Dados espectroscópicos dos ésteres MF6-MF9	78
• 3-metil-4nitrobenzaoto de perila (MF6)	
• 2-nitrocinamato de bornila (MF7)	
• 4-clorocinamato de bornila (MF8)	
• 3-metil-4nitrobenzaoto de bornila (MF9)	

6.2.2.2 Preparação dos ésteres MF10 e MF11	80
6.2.2.3 Dados espectroscópicos do éster MF10 e MF11	81
• 3-nitrobenzoato de perila (MF10)	
• Cinamato de perila (MF11)	
6.3 Testes de avaliação da atividade antifúngica	83
6.3.1 Local de Trabalho	83
6.3.2 Produtos testados	83
6.3.3 Meio de cultura	83
6.3.4 Microrganismos	83
6.3.5 Ajuste do inóculo	83
6.3.6 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos produtos testados	84
6.3.7 Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos produtos testados	85
ESPECTROS REFERENTES AOS COMPOSTOS OBTIDOS	86
REFERENCIAS	117

1.0. INTRODUÇÃO

Infecções fúngicas são importantes causas de mortalidade mundial. As leveduras do gênero *Candida*, são responsáveis pela maioria das infecções fúngicas em ambientes hospitalares, principalmente para pacientes imunossuprimidos, e sua incidência aumentou nas últimas décadas, sendo uma preocupação para os profissionais de saúde (BROWN et al., 2012; BHATTACHARJEE, 2016; PILMIS et al., 2016).

A mudança na epidemiologia das espécies patogênicas dos fungos causados pelo uso maciço dos antifúngicos, de forma incorreta e por muitas vezes desnecessárias causaram o surgimento de espécies com susceptibilidade reduzida aos antifúngicos disponíveis. O crescimento microbiano na forma de biofilmes favorece a interação entre espécies e seu metabolismo, assim como a resistência contra antimicrobianos e resposta imune do hospedeiro (PERMAN et al, 2013; ARENDRUP; PERLIN, 2014; BERKOW; LOCKHART, 2017).

Com o aumento de infecções fúngicas resistentes, se direcionou a busca de estratégias alternativas, a fim de identificar novas abordagens terapêuticas. Atualmente, diversas pesquisas estão direcionadas na busca de novas moléculas bioativas frente a diversos fungos patógenos em humanos. Visando contribuir com este cenário, a química de produtos naturais tem por objetivo avançar na identificação e elucidação estrutural de compostos com atividades biológicas, bem como na avaliação de propriedades conferidas a seus metabólitos. Desta forma, é necessário a busca por métodos alternativos de controle de doenças que causem menos impacto ao meio ambiente e seja eficiente no manejo de doenças (BRAZ FILHO, 2010; PERMAN et al, 2013, FERREIRA, 2018).

Em projetos anteriores desenvolvidos no Laboratório de Química Farmacêutica da UFPB, foi evidenciado que o uso de derivados cinâmicos e benzoicos contendo subestruturas de monoterpenos é uma estratégia interessante para aumentar o potencial terapêutico de híbridos moleculares (NASCIMENTO 2017; FERREIRA, 2018; SILVA, 2018).

Buscando a síntese de fármacos mais eficazes e seguros, os terpenos têm servido de fonte natural de moléculas, visando a construção de novos compostos e estudo de sua atividade biológica. É relatado na literatura diversos terpenos com atividades analgésicas, anticonvulsivantes e, especialmente, anti-inflamatórias. Como

também, atividades antitumoral, antimicrobiana, antifúngica, antibiótica, antiviral, hipoglicemiante e antiparasitária (KNOBLOCH, KARL., et al 1989; UYS, CU et al., 2002; TOGASHI, NAKO et al.,2008; ASTANI; REICHLING; SCHNITZLER, 2010).

O álcool perfílico é um derivado hidroxilado do limoneno. Usado como agente flavorizante pelo FEMA, e como aditivo de alimentos pelo FDA e Conselho Europeu, apresentando atividade antitumoral e antifúngica (BATHAIE & TAMANOI, 2014). O Borneol é um monoterpeneo que possui atividade analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e cicatrizante (VIRIATO, 2014).

A hibridação molecular é uma estratégia utilizada no planejamento de substâncias biologicamente ativas. Compreende a união de características estruturais parciais de duas ou mais substâncias bioativas em uma única estrutura. Após a junção dessas duas subunidades, por meio de uma ligação covalente, obtém-se uma nova substância, a qual pode apresentar as propriedades farmacodinâmicas e farmacocinéticas diferentes das subunidades parentais (VIEGAS-JÚNIOR et al., 2007)

Assim, a obtenção de híbridos moleculares derivados do álcool perfílico e borneol com moléculas antifúngicas para gerar novas entidades químicas com elevada ação antimicrobiana é uma estratégia interessante para o desenvolvimento de novos agentes terapêuticos frente a espécies de *Candida*.

2.0 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Considerações gerais sobre fungos

Os fungos são organismos eucariontes, ou seja, apresentam uma membrana nuclear que envolve os cromossomos e o nucleófilo. Podem ser unicelulares (leveduriformes), multicelulares (filamentosos) e haploides (homo ou heterocarióticos). Adaptando-se a diversas condições, sendo encontrados em diversos tipos de ambientes (MOLINARO et al, 2009; BROOKS et al, 2012).

Os fungos são conhecidos da humanidade há vários séculos, tanto por seus benefícios quanto pelos seus malefícios. Em seres humanos, os fungos podem causar alergias respiratórias e cutâneas, sendo elas, leves ou intensas, dependendo da suscetibilidade e pré-disposição do indivíduo. Pode também causar infecções em mucosas e outros tecidos subcutâneos, assim como infecções crônicas e letais envolvendo diferentes tipos de órgãos (MOLINARO et al, 2009; BROOKS et al, 2013).

Atualmente, cerca de 5 milhões de espécies de fungos foram classificadas, dos quais cerca de 300 são capazes de estabelecer a doença em hospedeiros mamíferos. Estudos recentes indicam que mais de 300 milhões de pessoas são afetadas por doenças fúngicas graves em todo o mundo, resultando em 1,6 milhões de mortes por ano (TAYLOR et al, 2001; KÖHLER et al, 2014; BONGOMIN et al, 2017).

2.1.1. O gênero *Candida* e a Candidíase

O gênero *Candida* spp. é classificado taxonomicamente no reino Fungi, divisão *Eumycota*, filo *Deuteromycotina*, ordem *Cryptococcales*, classe *Blastromycetes*, família *Cryptococcaceae* e é constituído de aproximadamente 200 espécies diferentes de leveduras hialinas, com formação de blastoconídios, pseudo-hifas e hifas verdadeiras, que residem como um comensal benigno na maioria dos seres humanos (GIOLO, SVIDZINSKI, 2010; NEPPELENBROEK et al., 2014). Dos quais cerca de 20 são agentes etiológicos de doenças em humanos, sendo a *Candida albicans* o patógeno de maior prevalência. Compreende-se em espécies leveduriformes com comprimento de 2 a 6µm, que se reproduzem por brotamento. As colônias possuem coloração branca a creme e podem apresentar superfície lisa ou rugosa. São patógenos oportunistas, sendo

responsáveis por causar infecções sistêmicas (BARBEDO; SGARBI, 2010; PEIXOTO et al., 2014; LEONHARD & SCHNEIDER-STICKLER, 2015; KASHEM et al., 2015).

As espécies de leveduras do gênero *Candida* mais importantes do ponto de vista clínico e epidemiológico são: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei*, entretanto a *C. albicans* permanece como a espécie mais presente nas infecções humanas. Sendo um constituinte normal do intestino humano, cavidade oral e microflora vaginal, a *C. albicans* é uma das causas mais importantes da fungemia nosocomial. Por outro lado, o número de infecções causadas por espécies não *C. albicans*, como a *C. tropicalis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* e *C. parapsilosis stricto sensu*, aumentou significativamente, devido à sua alta resistência aos antifúngicos azólicos. A prevalência de *Candida* spp. e sua ameaça em constante evolução para a saúde humana é sustentada pelo recente surgimento de *C. auris* (PFALLER; DIEKEMA, 2007; DEORUKHKAR, SAINI, & MATHEW, 2014; LAHKAR et al., 2017; JEFFERY-SMITH et al., 2018).

As espécies de *Candida* podem ser encontradas em diversos ecossistemas, como solo, alimentos, água, objetos inanimados, plantas e animais residem como comensais ou patogênicos (ZAOUTIS et al., 2010), fazem também, parte da microbiota normal dos seres humanos saudáveis, estando presente nas mucosas oral, gastrintestinal e do trato genitourinário (KADOSH; LOPEZ-RIBOT, 2013; POLKE et al., 2015; HOFST et al., 2016). No entanto, quando há uma alteração no balanço normal da microbiota ou quando o sistema imune do hospedeiro se encontra comprometido, as espécies do gênero *Candida* tendem a se tornar patogênicas, e, nestas circunstâncias, podem causar doença em praticamente todos os órgãos e tecidos, resultando em infecção superficial, invasiva ou sistêmica (DIGNANI et al., 2009; BARBEDO; SGARBI, 2010).

As infecções por fungos oportunistas principalmente em ambientes hospitalares, cuja incidência de infecções nosocomiais tem aumentado significativamente nas últimas décadas, desencadeando altos índices de morbidade, mortalidade, além de maior tempo de internação (CRUZ et al., 2007; TAMURA et al., 2007).

Candida spp. estão entre os principais agentes etiológicos de infecções fúngicas oportunistas em humanos. Existem vários fatores de virulência do fungo,

o que inclui a capacidade de aderência as células epiteliais, formação de hifas, secreção de enzimas extracelulares, formação de biofilme, tigmotropismo e mudanças fenotípicas (LI et al, 2017; LIMA, 2018). O polimorfismo, ou seja, habilidade de apresentar diferentes morfologias, dependendo de fatores ambientes, níveis de CO₂ e O₂, temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes fazem parte da virulência deste microrganismo (MODRZEWSKA; KURNATOWSKI, 2013; LU; SU; LIU, 2014; POLKE et al., 2015; HOFST et al., 2016; SAWANT; KHAN, 2017).

Quando ocorre um desequilíbrio com o hospedeiro a *C. albicans*, que se encontra na forma comensal, entra em contato com o tecido celular causando uma fixação do fungo as células epiteliais, primeira linha de defesa do organismo. E dependendo do sistema imune e estado fisiológico do hospedeiro, essa interação pode resultar em um crescimento acentuado e invasão do tecido epitelial, seguido de doença e ativação imune (HOFST et al., 2016; BORAL et al., 2017; NAGLIK et al., 2017).

Quando o fungo se encontra na corrente sanguínea é caracterizada a candidemia, a candidíase de tecido profundo se caracteriza por uma disseminação hematogênica, podendo causar uma infecção secundária em diferentes órgãos (KULLBERG; ARENDRUP, 2015; ANTINORI et al., 2016; BREAK et al., 2017; MELLINGHOFF et al., 2018; TASCINI et al., 2018).

2.1.2. Terapêutica antifúngica e resistência aos antifúngicos disponíveis

O tratamento das infecções desencadeadas por espécies de *Candida* segue dois elementos: identificação e remoção da fonte mais provável da fungemia e a terapia medicamentosa para acelerar a depuração da infecção (SINGHI e DEEP, 2009). Hoje em dia existe uma abundância de agentes antifúngicos disponíveis, de administração oral, tópica e sistêmica que são distribuídos em classes conforme o seu alvo de atuação (MURRAY et al., 2014).

Em geral, os agentes antifúngicos são classificados como drogas fungistáticas, que inibem o crescimento de células fúngicas, ou drogas fungicidas que levam à morte das células fúngicas. Essas classificações são importantes para definir mecanismos de ação de drogas e entender as opções e resultados do tratamento. Atualmente, quatro classes de terapias antifúngicas são rotineiramente usadas em monoterapia ou em combinação: polienos, azóis, análogos da pirimidina e equinocandinas, além desses vários outros agentes podem ser adicionados, como a exemplo das alilaminas (terrinafina), tiocarbamatos (tolnaftato) e análogos de nucleotídeos (flucitosina) (CHANDRASEKAR, 2011; CHANG et al., 2016; SEYEDMOUSAVI et al., 2017; FUENTEFRÍA et al., 2018; PERFECT JR, 2017; GEDDES-MCALISTER, 2019).

Os polienos (anfotericina B e nistatina), inibidores da biossíntese do ergosterol (fluconazol, itraconazol, posaconazol e voriconazol), equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina), análogos de nucleosídeo (5-fluorocitosina), antimetabólicos (fluocitosina) e equinocandinas (que inibem a formação da parede celular) (ALBURQUENQUE et al., 2013; MAUBON et al., 2014).

A escolha do antifúngico para um correto tratamento das infecções fúngicas deve considerar os riscos de co-morbidade, a espécie do fungo vigente, a interação farmacológica e a história clínica do paciente (CASTRO, 2017)

Os polienos, como nistatina e anfotericina B, possuem ação fungicida de amplo espectro e a anfotericina B é considerada droga de primeira escolha, são reconhecidos principalmente por atuarem de forma intensa na membrana celular fúngica, ligando-se ao ergosterol, causando desequilíbrio osmótico devido a formação de canais favorecendo a perda de íons e moléculas, provocando ruptura e morte celular (COSTA, 2017).

O fluconazol e a anfotericina B, por exemplo, são os fármacos mais utilizados e seu uso excessivo e / ou inadequado no tratamento ou profilaxia é visto como causa

do aumento a resistência das *Candida* spp. (SARDI et al., 2013; ALCAZAR-FUOLI; MELLADO, 2014; PARAMYTHIOTOU et al., 2014).

A nistatina é outro poliênico com vasta atividade antifúngica, entretanto, seu uso é limitado a via tópica, devido à baixa solubilidade em água e elevada toxidez, diarreia, aperto no peito, dor de estômago, náuseas, comichão e inchaço na boca ou mãos (SEMIS et al., 2013; SAWANT; KHAN, 2017).

Embora essas classes de agentes antifúngicos sejam frequentemente ativas contra muitas infecções, limitações associadas à toxicidade do hospedeiro alvo, atividade fungicida limitada, interações medicamentosas, cursos de tratamento prolongado e o surgimento de resistência a drogas podem impedir significativamente sua aplicabilidade (PERFECT JR, 2017).

O tratamento das infecções desencadeadas por espécies de *Candida* está voltado para inibição da proliferação da levedura e diminuição dos fatores de riscos favoráveis ao seu crescimento. Quanto mais rápido for iniciado o tratamento, menores serão os índices de mortalidade, permanência hospitalar e gastos terapêuticos (ZARRIN, 2009; LÓPEZ-MARTÉNEZ, 2010).

A resistência antifúngica está aumentando devido ao surgimento de espécies intrinsecamente resistentes e pelo desenvolvimento da resistência secundária em espécies suscetíveis. Com o uso de antibióticos potentes; agentes imunossupressores e citóticos; bem como permanências prolongadas em unidades de terapia intensiva, o risco de infecções nosocomiais associadas a *Candida* está aumentando notavelmente (GUINEA, 2014).

Sendo seres eucariontes que compartilham estruturas celulares e vias metabólicas com os seres humanos, as opções atuais de fármacos antifúngicos são limitadas e estão repletas de sérios efeitos colaterais em humanos. Nos dias atuais, existem quatro classes principais de tratamento usando fármacos antifúngicos para a doença invasiva. Estas classes têm como alvo a membrana fúngica (azóis e polienos), parede celular (equinocandinas) e síntese de RNA / DNA (flucitosina). Embora drogas antifúngicas mais recentes (voriconazol, posaconazol e isavuconazol) tenham sido desenvolvidas a partir de estruturas antifúngicas anteriores, estas ainda são limitadas pela via de administração, o espectro de atividade, propriedades fungicidas reduzidas, interações medicamentosas, toxicidade e biodisponibilidade (DENNING et al., 2010; BROWN et al., 2012).

Após a identificação do patógeno causador da infecção, a falha na terapia

antifúngica pode ocorrer por diversos fatores, a exemplo da resistência *in vitro* (intrínseca, ou desenvolvida ao longo do tratamento) ou resistência clínica. A resistência clínica acontece quando o fungo é predisposto ao antifúngico *in vitro*, porém não *in vivo*, devido à impossibilidade do fármaco antifúngico agir no seu alvo (CHATURVEDI, 2008; VIEIRA, 2017).

Várias espécies de leveduras do gênero *Candida* têm a habilidade de produzir biofilme, inclusive *C. albicans*. Biofilmes são comunidades de micro-organismos que crescem associados a superfícies ou aderem a elas produzindo uma matriz extracelular que é predominantemente formada por polissacarídeos, contendo resíduos de glicose e manose que conferem proteção (CHANDRA et al., 2001; RAMAGE et al., 2012; EL-AZIZI et al., 2015).

Recentemente, tem sido demonstrado que os microrganismos produtores de biofilme têm uma grande associação com mortalidade quando comparados às células fúngicas planctônicas. Sendo estes mais resistentes aos diversos fatores ambientais, como por exemplo, estresse físico e químico, e, ainda podem apresentar cooperação metabólica. Podem servir como reservatórios de fontes persistentes de infecções em pacientes, além de ter efeito na saúde de um número aumentado de indivíduos imunocomprometidos (CHANDRA et al., 2001; RAMAGE et al., 2012; TREVIÑO-RANGEL et al., 2015).

Segundo GEDDES-MCALISTER (2018), devido à essa grande importância das doenças fúngicas, novas opções de tratamento estão em crescente desenvolvimento. Como as células fúngicas eucarióticas compartilham uma estreita relação evolutiva com os hospedeiros humanos, o surgimento de drogas antifúngicas se apresenta como um desafio para a indústria farmacêutica.

A resistência microbiológica, envolve mecanismos moleculares e pode ser intrínseca ou adquirida. A resistência intrínseca é uma característica fenotípica de determinada espécie de microrganismo e confere a ele a resistência inata antes da exposição deste ao antifúngico. A resistência adquirida ocorre em microrganismos que desenvolveram mutações após a exposição ao antifúngico e posteriormente havendo uma seleção, sobrevivência e proliferação daqueles mutantes resistentes (EL-AZIZI et al., 2015).

2.2. Produtos naturais como fonte de novos fármacos

Ao longo dos tempos os seres humanos têm contado com a natureza para atender as suas necessidades básicas. A química de produtos naturais é a sub-área mais antiga da química orgânica e a importância dos produtos naturais hoje na sociedade moderna é irrefutável. A maioria dos medicamentos atualmente utilizados são produtos naturais ou derivados de produtos naturais (NEWMAN & CRAGG, 2016).

Tem como definição de produto natural, uma substância ou composto químico produzido por um ser vivo, que geralmente tem atividade biológica ou farmacológica, pode ser usado como fonte ou inspiração de um produto farmacêutico. Os produtos naturais podem ser obtidos através de animais, plantas, bactérias, algas e fungos (BRANDT et al., 2014; GYAWALI e IBRAHIM, 2014).

Atualmente, a química de produtos naturais vive em pleno auge, de maneira tão extensa e intensa que teve que ser sub-dividida em diversos tópicos, dentre elas os mais conhecidos: a fitoquímica e a farmacognosia. O Brasil se situa em posição privilegiada para a ciência de produtos naturais, em decorrência de ser um dos países com a maior biodiversidade e ter constituído um grande corpo de pesquisadores de química de produtos naturais (BERLINCK et al., 2017).

As análises mais recentes da pesquisa em produtos naturais no Brasil têm foco em produtos naturais de microrganismos, decorrência natural do crescimento e fortalecimento da pesquisa do metabolismo de fungos e bactérias por diferentes grupos nacionais. Oliveira, Pupo e Vieira (2013) assinalam que o uso de ferramentas de biologia molecular no estudo do metabolismo microbiano ainda é incipiente no Brasil.

2.3. Terpenos

Com base na sua estrutura e na origem biossintética, os produtos vegetais podem ser classificados em diferentes grupos, tais como os terpenos, alcaloides e compostos fenólicos. Os terpenos são compostos lipofílicos que formam uma diversificada classe de substâncias e constituem a maior família de produtos naturais. Os terpenos são insolúveis em água e sua origem biossintética é o Acetil-CoA ou outro intermediário da glicólise. É empregado para designar todas as substâncias cuja origem biossintética deriva de unidade de isopreno (SIKKEMA J, 1995; CROTEAU et

al., 2000; SIMÕES e PETROVICK, 2004; MORALES-YUSTE et al., 2010; SINGH B; SHARMA R., 2015).

A unidade isoprênica – $(C_5H_8)_n$, por sua vez, origina-se a partir do ácido mevalônico, na qual se polimeriza para originar moléculas de cadeias crescentes de cinco em cinco átomos de carbono (C_5), neste contexto, os terpenos são classificados de acordo com o número de unidades de isopreno.

Os monoterpenos são conhecidos como componentes voláteis das essências das flores e dos óleos essenciais de ervas e especiarias. Em geral, são isolados por processo de destilação ou extração e encontra uso industrial considerável em indústria de flavorizantes e perfumes. Entre os compostos naturais, os monoterpenos têm demonstrado atividade farmacológica contra diversos tipos de câncer, além da atividade antifúngica (CROTEAU et al., 2000; CHOW et al., 2002).

Nesse contexto, os terpenoides são reconhecidos, por apresentar um enorme potencial biológico, uma vez que vários de seus compostos monoterpênicos, revelaram diversos resultados positivos, o que inclui ação antimicrobiana. Dentre esta classe de compostos há dois importantes monoterpenos, o álcool perílico e o borneol (FRIEDMAN et al., 2004; ALI et al., 2005; QUI et al., 2010; ZORE et al., 2011).

2.3.1 Álcool perílico (AP)

O álcool perílico (AP), quimicamente conhecido como *p*-mentha-1,8-diene-7-ol, é um membro da família dos monoterpenos, é um produto hidroxilado do *d*-limoneno, formado pela junção de duas unidades isoprênicas (Figura 1), sendo encontrado em óleos essenciais de cerejas, lavandas, capim-limão, hortelã, sementes de aipo e gengibre, entre outros (GOULD, 1997; LOUTRARI ET AL., 2004; FISCHER ET AL., 2005; MIRANDA & QUEIROZ., 2007; SALAZAR ET AL., 2014)

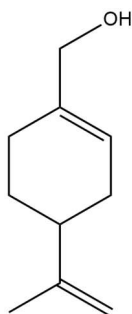


Figura 1: Estrutura química do álcool perílico

Fonte: autoria própria.

O álcool perílico pode ser produzido a partir do limoneno, numa rota caracterizada na substituição da metila do limoneno. Dhavalikar e Bhattacharyya (1996) descreveram a biotransformação de (*R*)-(+)-limoneno por meio de uma linhagem de *Pseudomonas* isolada de uma amostra de solo. Outros estudos relatam a biotransformação do limoneno com obtenção dos compostos perílicos por linhagens de leveduras, fungos filamentosos (*Penicillium digitatum* e *Mortierella minutissima*) e bactérias. A enzima responsável pela transformação do limoneno em álcool perílico é a limoneno 7-monooxigenase (JÚNIOR; PASTORE, 2007).

Atividades biológicas de outras moléculas contendo o núcleo perila vêm sendo relatadas na literatura, como por exemplo, a atividade antibacteriana do limoneno, atividade antimicrobiana e antibacteriana do perilaldeído, e a atividade antitumoral contra câncer de pulmão do ácido. O álcool perílico realiza *upregulation* em Bak (*Bcl-2 Homologous Antagonist/Killer*), caspase-3, FasL (ligante de Fas), TGF- β , c-fos e c-Jun; bloqueia a fosforilação de ERK1/2 (*Extracellular Signal Regulated Kinase*) e a via de Mek-Erk (*Mitogen/Extracellular Signal-Regulated Kinase - Extracellular Signal-Regulated Kinase*). Age na inibição da progressão tumoral por *downregulation* da produção basal de VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) em células cancerosas, como também suprime a via do mevalonato, bem como isoprenilação de pequenas proteínas G, permitindo a regressão tumoral. Além de ser aprovado pela FDA como um aditivo alimentar para os seres humanos, devido a sua natureza não tóxica (KIM, 1995, DORMAN, 2000; SATO, 2006; YERUVA, 2007; FDA, 2014; BATHAIE & TAMANOI, 2014).

2.3.2 Borneol

O borneol ou endo-1,7,7-Trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (CAS: 464-45-9) é um monoterpene bicíclico (Figura 2) presente no óleo essencial de numerosas plantas medicinais das famílias Dipterocarpaceae (*Dipterocarpus turbinatus*), Lamiaceae (*Rosmarinus officinalis* e *Salvia officinalis*), Valerianaceae (*Valeriana officinalis*) e Asteraceae (*Matricaria chamomilla*) (SLAMENŇOVÁ et al., 2009).

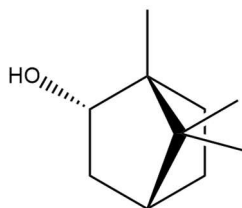


Figura 2: Estrutura química do borneol

Fonte: Autoria própria.

Na medicina popular chinesa, o Borneol é empregado no tratamento da dor de garganta, aftas, feridas, queimaduras e infecções da pele, por exemplo. Tem sido frequentemente encontrado medicamentos para o tratamento de doenças do Sistema Nervoso Central, tais como a doença de Alzheimer e Acidente Vascular Cerebral (LIU et al., 2011; YU et al., 2013).

Estudos mostram que o Borneol possui atividade analgésica, anti-inflamatória, antioxidante, antibacteriana e cicatrizante. Além disso, o uso do Borneol têm-se mostrado como ferramenta para o aumento da penetração de fármacos através da pele e córnea, como também, atuando na aceleração da abertura da barreira hemato-encefálica, aumentando assim, a distribuição de fármacos no tecido cerebral (CANDAN et al., 2003; HORVÁTHOVÁ et al., 2009; LIU et al., 2011; CUI et al., 2012; JINGJING et al., 2012; BARRETO, 2013; YU et al., 2013; QI et al., 2015).

2.4. Híbridos moleculares

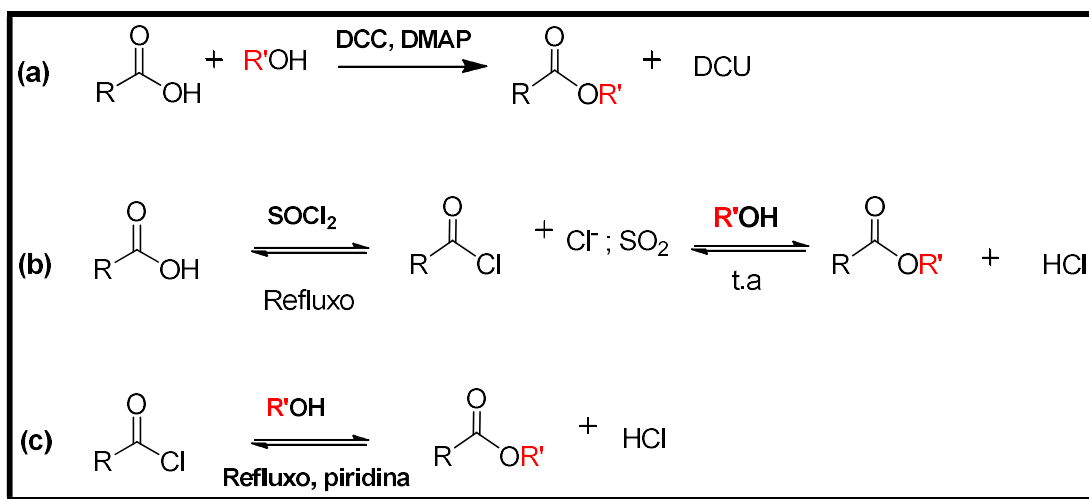
Na química medicinal, quando se busca desenvolver novos candidatos a fármacos, são utilizadas diversas estratégias: bioisosterismo, latenciação, homologação, simplificação e hibridização (VIEGAS-JUNIOR et al., 2007). A hibridação molecular (HM) é uma estratégia clássica de conjugação de estruturas de compostos bioativos distintos em uma única molécula, sendo uma alternativa eficaz de arquitetar racionalmente estruturas moleculares de novos compostos protótipos (BARREIRO, 2014). A HM pode estar baseada na junção de fármacos distintos ou de grupos farmacofóricos de fármacos distintos. Em ambos os casos, a nova molécula produzida por HM passa a se chamar de híbrido, o qual frequentemente apresenta maior afinidade e eficácia que os compostos que lhe deram origem (NEPALI, 2014).

A hibridação molecular é uma estratégia clássica de conjugação de estruturas de compostos bioativos distintos em uma única molécula, sendo uma alternativa eficaz

de arquitetar racionalmente estruturas moleculares de novos compostos protótipos (BARREIRO, 2014). A HM pode estar baseada na junção de fármacos distintos ou de grupos farmacofóricos de fármacos distintos. Segundo NEPALI (2014), para a construção de novas moléculas híbridas potencialmente bioativas, é de praxe que ela seja construída por fragmentos de moléculas que já apresentem atividade biológica, ou outra atividade interessante ao estudo proposto.

2.5. Reações para obtenção de ésteres

No esquema 1 estão representadas as reações que foram realizadas no decorrer desse trabalho.

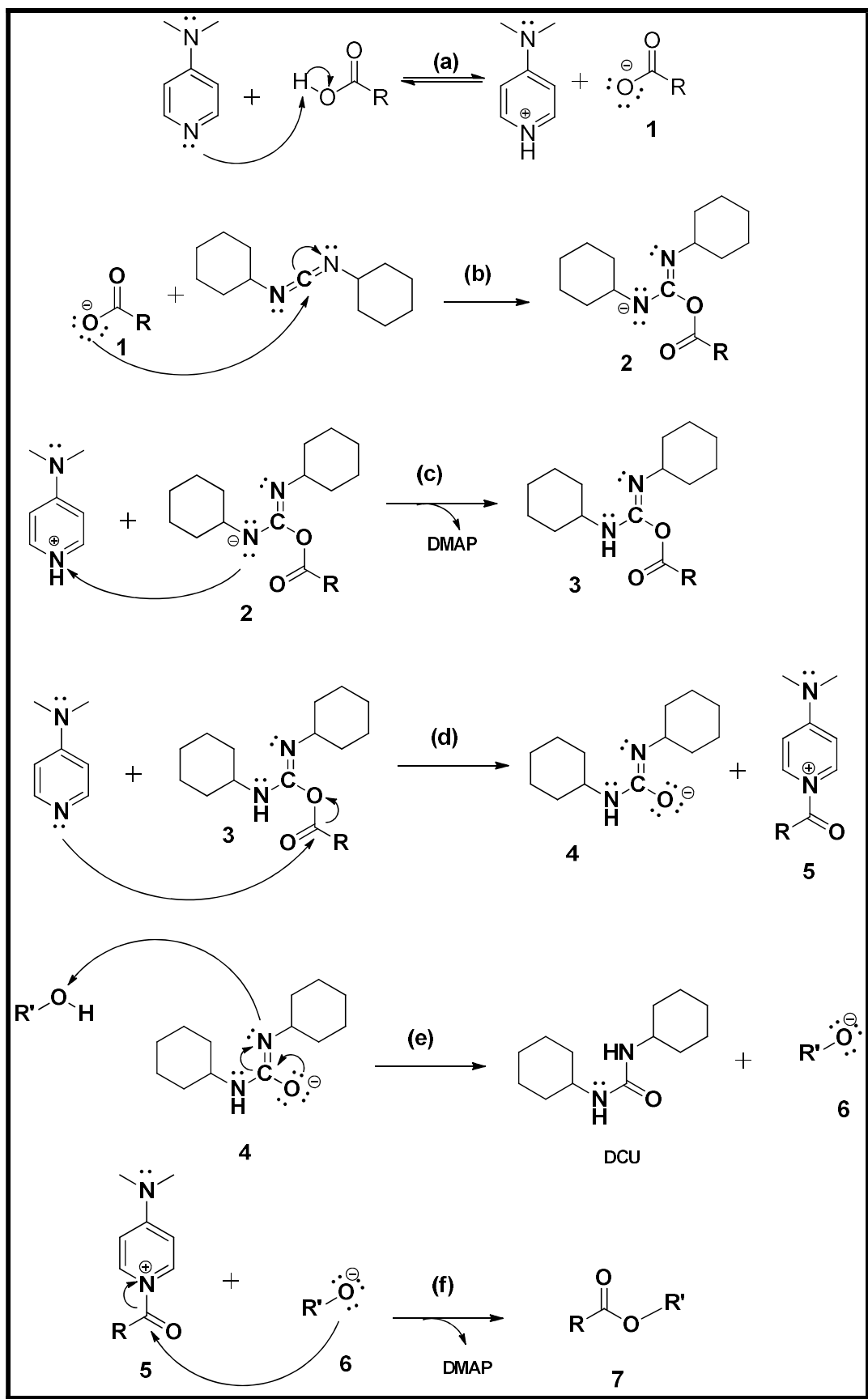


Esquema 1 – Reações para síntese dos híbridos moleculares. (a) Reação de Steglich; (b) Reação de preparação de cloreto ácido via SOCl_2 / Reação de Schotten-Baumann; (c) Reação de Schotten-Baumann (adaptado de JI, XING-YUE et al., 2013; NEISES; STEGLICH, 1978; SCHOTTEN-BAUMANN, 1886).

O método mostrado no esquema 1.a é a reação de Steglich, desenvolvida por Wolfgang Steglich e Bernhard Neises, 1978, frequentemente utilizada para esterificações e amidações. Para esterificações, faz-se o uso de um ácido carboxílico, 4-(dimetilamino)-piridina (DMAP), um catalisador nucleofílico, diclohexilcarbodiimida (DCC), um agente de acoplamento e um álcool. O solvente usual é o diclorometano em temperatura ambiente e agitação constante (STEGlich; NEISES, 1978).

De acordo com o mecanismo representado no esquema 2, inicialmente ocorre uma reação ácido-base entre o DMAP (base) e o ácido carboxílico (etapa a), resultando no ácido conjugado do DMAP e no nucleófilo **1**. Este realiza um ataque

ao carbono eletrofílico do DCC (etapa b), devido ao seu nitrogênio carregado positivamente, originando o composto **2**, O-acil-isouréia; após uma nova protonação do composto **2** (etapa c), que abstrai um próton do ácido conjugado do DMAP, reestabelecendo o catalisador da reação, é gerado o intermediário **3**. O DMAP realiza uma adição ao carbono da carbonila de **3** (etapa d) formando o intermediário **4** e o grupo acila (**5**). Na etapa e, o intermediário **4** abstrai um próton do álcool utilizado formando o grupo alcóxido (**6**) e a diciclohexiureia (**DCU**), que é o subproduto da reação pouco solúvel em diclorometano. Na última etapa (etapa f) o alcóxido (**6**) realiza o ataque ao carbono da carbonila de **5**, eliminando o DMAP e formando no éster (**7**) (GILLES *et al.*, 2015; STEGLICH; NEISES, 1978).

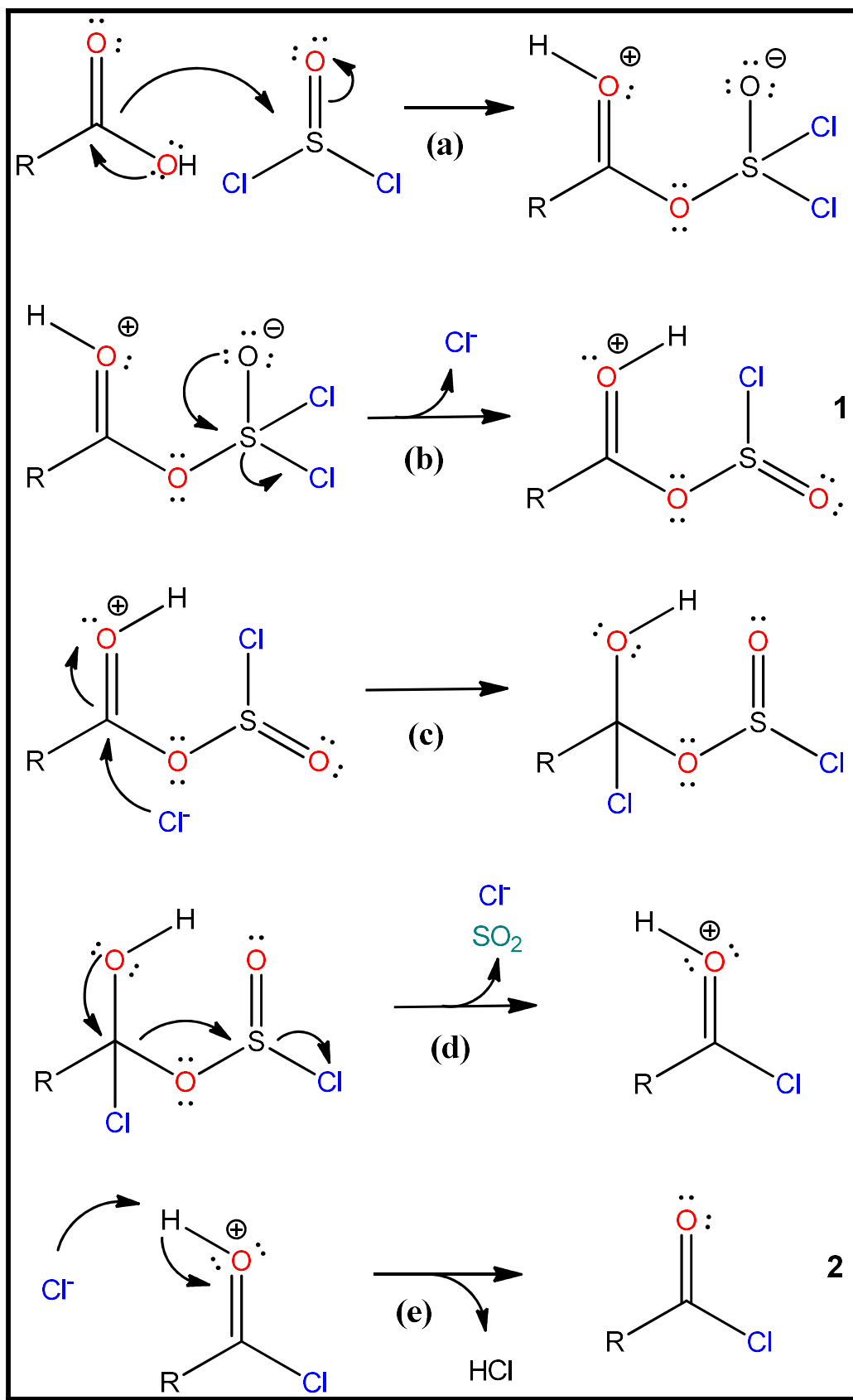


Esquema 2 – Mecanismo da esterificação pela reação de Steglich (DCC/DMAP).

Fonte: Adaptado de (GILLES *et al.*, 2015; LUTJEN *et al.*, 2018; STEGLICH; NEISES, 1978).

Os ésteres formados pelo método mostrado no esquema 1.b é a junção das metodologias descritas por JI, XING-YUE et al., 2013 e Schotten-Baumann; a reação de formação de cloreto ácido consiste na introdução de um grupo acila em uma molécula orgânica, fazendo uso de um agente acilante, como por exemplo o cloreto de tionila (SOCl_2). Tal acilação tem como propósito facilitar a formação de um intermediário mais reativo que o ácido original, dessa forma aumentando o rendimento da síntese (adaptado de JI, XING-YUE et al., 2013).

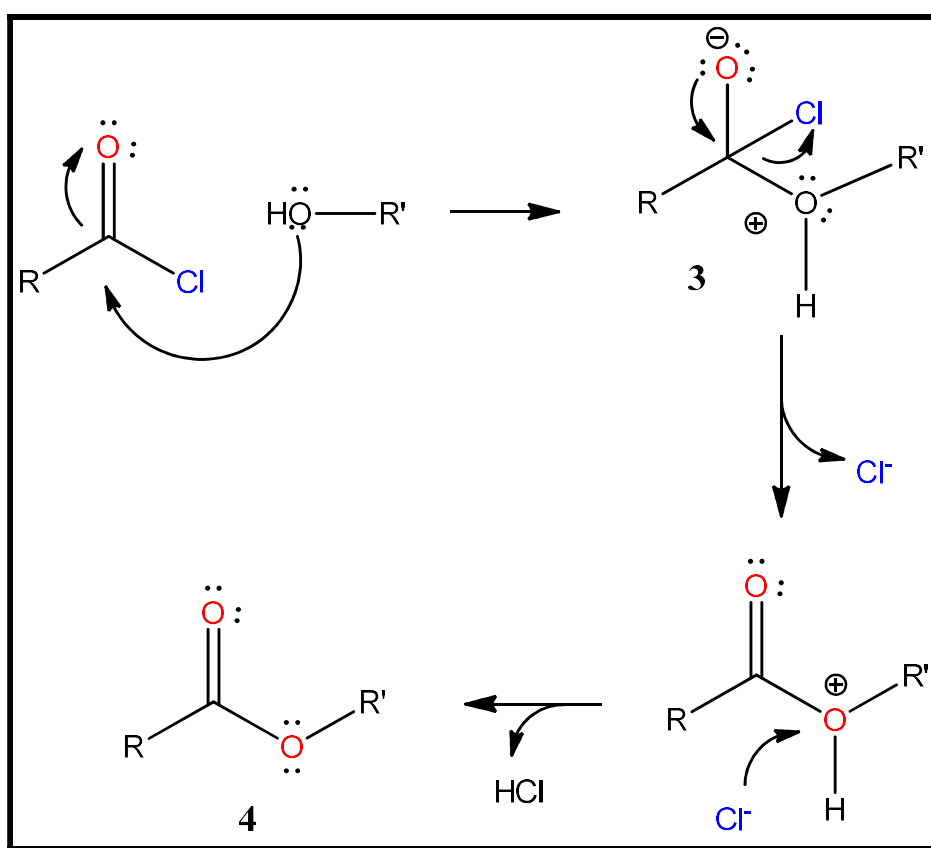
O mecanismo dessa reação (Esquema 3), consiste no ataque nucleofílico da carbonila do ácido ao enxofre do SOCl_2 (etapa a), resultando no deslocamento do íon cloreto (etapa b), desta maneira, é formado o composto **1**. No passo seguinte (etapa c), o íon cloreto ataca o intermediário reacional, seguida de ruptura de ligação, levando à formação do dióxido de enxofre (etapa d), seguida da formação do cloreto de acila **2** e ácido clorídrico (etapa e).



Esquema 3 – Mecanismo de preparação do cloreto ácido via SOCl_2 .

Fonte: Adaptado de (LIBRETEXTS, 2019)

Após a formação do cloreto ácido, utiliza-se a reação de Schotten-Baumann, que consiste em uma reação de esterificação usando cloretos de acila e álcool na presença de um solvente anidro. No esquema 4, com a adição do álcool ao meio reacional, ocorre um ataque nucleofílico da hidroxila alcoólica ao carbono altamente polarizado do cloreto de ácido, originando o intermediário **3**. Finalmente, há saída de cloro e desprotonação, levando à formação do éster **4** (SCHOTTEN-BAUMANN, 1886).



Esquema 4 - Mecanismo de esterificação pela reação de Schotten-Baumann.

Fonte: adaptado (Schotten-Baumann, 1886)

Um problema muito observado neste mecanismo é devido à instabilidade do cloreto ácido, uma espécie altamente reativa, que pode ocasionar hidrólise pela umidade do ar, levando a formação do ácido carboxílico de origem. Para os ésteres formados pelo processo 1.c, foi utilizada a reação de Schotten-Baumann, que foi descrita anteriormente (esquema 4), utilizando a piridina, que atua como solvente e base ao mesmo tempo, dessa forma, neutralizando o ácido clorídrico, liberado pela reação entre o ácido e o cloreto de tionila.

2.6. Relação entre estrutura química e atividade biológica

Na química medicinal, o termo “relação estrutura-atividade” compreende ao estudo dos efeitos que a estrutura química de um composto (ligante) pode acarretar durante sua interação com o receptor biológico, enzimas, canais iônicos ou ácido nucleico e outras macromoléculas biológicas, racionalizando os principais fatores que governam esta interação (ARROIO; HONÓRIO; DA SILVA, 2010).

É importante destacar que as interações de um composto químico orgânico com uma macromolécula ocorrem através de forças intermoleculares hidrofóbicas, polares, covalentes, interações de hidrogênio, eletrostáticas, entre outras. Essas interações são influenciadas por parâmetros estéricos, de conformação espacial; pelas propriedades físico-químicas, eletrônicas e princípios de hidro e lipossolubilidade da molécula em estudo, por exemplo (HUBER et al., 2010; ARROIO; HONÓRIO; DA SILVA, 2010; GUIDO, ADRICOPULO, OLIVA, 2010).

Para entender as influências da estrutura química na bioatividade, podem ser realizadas análises comparativas de uma série de compostos estruturalmente relacionados, obtidos a partir de modificações na estrutura de um composto tido como modelo, já conhecido e que exibe uma determinada atividade biológica. Alterações no tamanho e conformação do esqueleto carbônico, introdução de grupos substituintes ou de centros estereogênicos, são alguns exemplos de modificações estruturais, cujo principal objetivo é otimizar a bioatividade do composto e, possivelmente, aumentar sua seletividade pelo alvo, o que pode reduzir a toxicidade (BARREIRO; FRAGA, 2013, LIMA, 2007; SANTOS, 2013).

3.0 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Realizar a preparação de uma série de derivados de ácidos cinâmicos e ácidos benzoicos com álcool perílico e borneol via abordagem de hibridação molecular e avaliar a atividade antifúngica dos compostos.

3.2 Objetivos específicos

- Planejar a estratégia de hibridação molecular utilizando ácidos cinâmicos, benzoicos e monoterpenos como matérias-primas;
- Preparar e purificar ésteres utilizando ácidos cinâmicos e benzoicos com o álcool perílico como materiais de partida;
- Preparar e purificar ésteres utilizando ácidos cinâmicos e benzoicos com o borneol como materiais de partida;
- Avaliar a capacidade antifúngica das substâncias frente a diversas cepas de *Candida*;
- Estabelecer a relação estrutura-atividade dos compostos testados.

4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, preparou-se onze híbridos moleculares. Seis ésteres derivados do álcool perílico e cinco ésteres derivados do borneol utilizando três diferentes metodologias de síntese. Os mesmos foram purificados e sua confirmação estrutural ocorreu através das técnicas de Espectroscopia de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Em seguida foram submetidos a testes de avaliação da sua capacidade antifúngica, frente a três cepas de *Candida*, com a finalidade de verificar a presença da bioatividade e traçar uma relação entre a estrutura química e a atividade biológica dos produtos obtidos. No quadro 1 estão as estruturas de cada composto preparado.

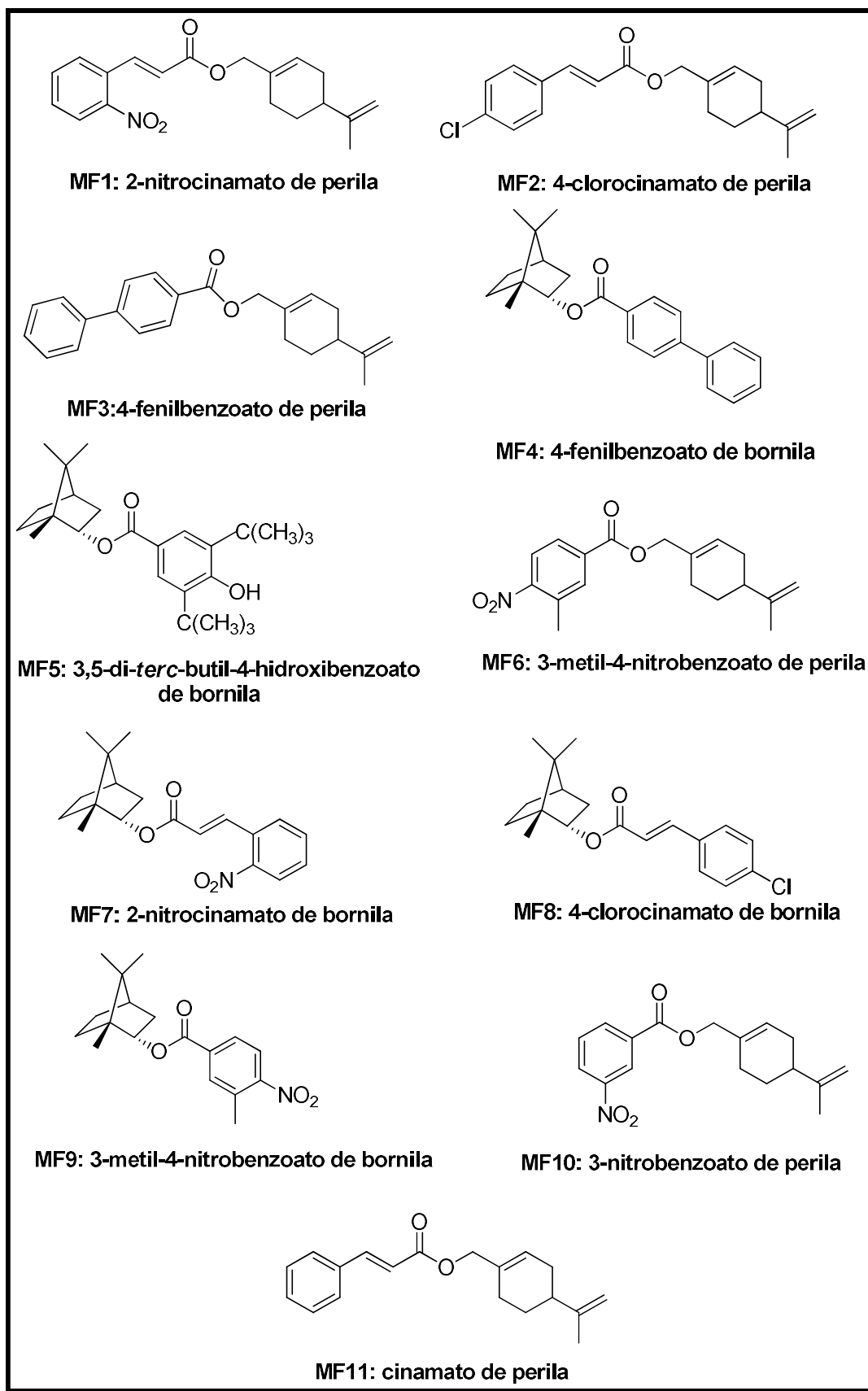
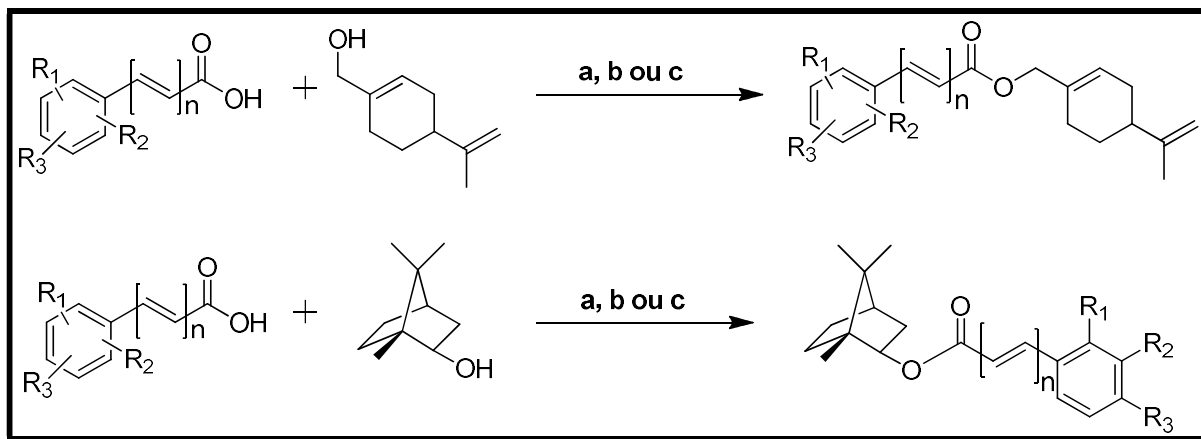


Figura 3 – Híbridos moleculares preparados no presente estudo.
 Fonte: Elaborado pela autora.

4.1. Etapa de preparação dos ésteres derivados do álcool perílico e borneol

Os ésteres foram obtidos por três diferentes metodologias: Reação de Steglich (NEISES; STEGLICH, 1978), Preparação de cloreto ácido via SOCl_2 e Reação de Schotten-Baumann (1883). O esquema geral das diferentes reações utilizadas pode ser observado abaixo (Esquema 5).



Esquema 5 – Metodologias utilizadas para obtenção dos ésteres. (a) Preparação de cloreto ácido via SOCl_2 e Schotten-Baumann; (b) Reação de Steglich; (c) Schotten-Baumann. R_1 , R_2 e/ou R_3 : OH, Cl, H ou NO_2 .

A primeira coleção de híbridos moleculares (**M1**, **M2**, **M3**, **M4** e **M5**) foi obtida através da reação de Preparação de cloreto ácido via SOCl_2 e Schotten-Baumann (a), dois destes ésteres utilizando o álcool perílico como material de partida, SOCl_2 , diclorometano e os ácidos 2-nitrocínâmico (**MF1**) e 4-clorocínâmico (**MF2**); e os três ésteres restantes, utilizando o borneol como material de partida, SOCl_2 , diclorometano e os ácidos 2-nitrocínâmico (**MF3**), 4-clorocínâmico (**MF4**) e 3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzoico (**MF5**). O tempo para formação de cada éster foi de 5 horas. De acordo com a tabela 1, os ésteres apresentaram rendimentos entre 25,3%-40,4%. Sendo **MF1** com maior rendimento e **MF3** com o menor rendimento.

A segunda coleção de híbridos moleculares (**MF6**, **MF7**, **MF8**, **MF9**) foi preparada pela reação de Steglich (b), uma reação de acoplamento, onde foi usando diclorometano, DMAP e a DCC como agente acoplador. Para o híbrido **MF6** foi utilizado o álcool perílico como material de partida e o ácido 3-metil-4-nitrocínâmico, enquanto que para **MF7**, **MF8** e **MF9** foi utilizado o borneol como material de partida e os ácidos 2-nitrocínâmico, 4-clorocínâmico e o 3-metil-4-nitrocínâmico respectivamente. O tempo de cada reação foi de 48 horas. Os híbridos por esse

método apresentaram rendimentos entre 26,7%–38,6%. Sendo o **MF8** com maior rendimento e o **MF6** com o menor rendimento.

O terceiro grupo de híbridos moleculares (**MF10** e **MF11**) foi preparada pela reação de Schotten-Baumann (**c**), para o composto **MF10** foi utilizado o álcool perílico como material de partida, piridina e o cloreto de 3-nitrocinaomóla. Para o composto **MF11** foi utilizado como material de partida o borneol, piridina e o cloreto de cinaomóla. O tempo das reações variaram entre 3-6 horas. O composto **MF10** apresentou rendimento de 22,5%, o **MF11** apresentou o rendimento de 28,5%.

Na tabela 1 encontram-se os dados reacionais, de purificação, ponto de fusão, como também o rendimento de todos os híbridos preparados. Entre eles, com exceção dos ésteres **MF1**, **MF2** e **MF8**, todos os ésteres restantes são inéditos na literatura.

Tabela 1 – Dados químicos e experimentais dos produtos obtidos.

ESTER	R	Formula molecular	Massa molar (g/mol)	Tempo de reação (h)	Solvente de extração	Sistema de purificação (Hex:AcOEt)	R _f (Hex:AcOEt)	Massa (mg)	Rend. (%)	Aspecto	Ponto de Fusão (°C)
MF1	2-nitrocinaurato	C ₁₉ H ₂₁ NO ₄	327,374	5h	AcOEt	9:1	0,59 (85:15)	87	40,4	Sólido amarelo	55,3-56,0
MF2	4-clorocinaurato	C ₁₉ H ₂₁ ClO ₂	316,822	5h	AcOEt	95:5	0,46 (95:5)	81	39	Sólido branco	55,5- 56,3
MF3	4-fenil-benzoato	C ₂₃ H ₂₄ O ₂	332,435	5h	CH ₂ Cl ₂	97:3	0,63 (95:5)	53,2	25,3	Óleo incolor	-
MF4	4-fenil-benzoato	C ₂₃ H ₂₆ O ₂	334,451	5h	AcOEt	97:3	0,62 (95:5)	57,3	26,5	Sólido branco	53,4-53,9
MF5	3,5-di- <i>terc</i> -butil-4-hidroxibenzoato	C ₂₅ H ₃₈ O ₃	386,56	5h	AcOEt	99:1	0,53 (97:3)	80	32,1	Sólido amarelo	128,9 -129,4
MF6	3-metil-4-nitro-benzoato	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	315,364	48h	CH ₂ Cl ₂	97:3	0,50 (97:3)	55,4	26,7	Óleo incolor	-
MF7	2-nitrocinaurato	C ₁₉ H ₂₃ NO ₄	329,39	48h	CH ₂ Cl ₂	9:1	0,56 (97:3)	62,7	37,4	Sólido branco	50,1- 51,7
MF8	4-clorocinaurato	C ₁₉ H ₂₃ ClO ₂	318,83	48h	CH ₂ Cl ₂	99:1	0,68 (97:3)	67,4	38,6	Sólido branco	83,7- 84,2
MF9	3-metil-4-nitro-benzoato	C ₁₈ H ₂₁ NO ₄	317,38	48h	CH ₂ Cl ₂	95:5	0,61 (97:3)	60,3	34,26	Sólido amarelo	115,9 -116,8
MF10	3-nitro-cinamoíla	C ₁₉ H ₂₁ O ₄	327,37	3h	AcOEt	97:3	0,59 (97:3)	47,8	22,5	Óleo amarelo	-
MF11	cinamoíla	C ₁₉ H ₂₂ O ₂	282,37	6h	AcOEt	97:3	0,62 (97:3)	52,3	28,5	Óleo incolor	-

AcOEt: Acetato de etila. CH₂Cl₂: diclorometano

4.2. Análise espectroscópica dos ésteres preparados

4.2.1. Espectroscopia de Infravermelho

Na tabela 2 encontram-se os principais dados de espectroscopia de infravermelho que foram característicos para os ésteres preparados. Os espectros foram interpretados baseando-se na literatura de PAVIA e colaboradores (2010). A partir do infravermelho é possível avaliar a presença e/ou ausência de grupos funcionais das respectivas estruturas químicas.

Nesse caso, em todos os espectros das onze substâncias foram observados sinais característicos da função éster: absorção forte do grupo C=O entre 1727 e 1698 cm^{-1} , valores típicos de carbonila de éster conjugada com anel aromático; absorções de estiramento C-O de éster, que comumente aparecem como duas bandas de absorção entre 1000 e 1300 cm^{-1} sendo uma mais larga e mais forte que a outra; nas substâncias apresentadas nessa dissertação, tais bandas foram observadas entre 1314-1240 cm^{-1} e 1193-1090 cm^{-1} .

Tabela 2 – Principais dados de espectroscopia de infravermelho dos ésteres preparados.

Éster	$\nu(\text{C}=\text{O})$	$\nu(\text{C}-\text{O})$	$\nu(\text{NO}_2)$	$\nu(\text{Cl})$	$\nu(\text{OH})$
MF1	1707	1290-1180	1520 e 1343	-	-
MF2	1707	1277-1186	-	821	-
MF3	1717	1270-1180	-	-	-
MF4	1717	1270-1180	-	-	-
MF5	1698	1240-1152	-	-	3549
MF6	1723	1264-1193	1526 e 1351	-	-
MF7	1714	1293-1186	1528 e 1360	-	-
MF8	1707	1313-1090	-	823	-
MF9	1716	1314-1128	1521 e 1344	-	-
MF10	1727	1262-1132	1535 e 1351	-	-
MF11	1713	1254-1166	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora

4.2.2. Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C

Nas tabelas 3, 4 e 5 estão presentes os deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C que confirmam a formação dos respectivos ésteres. A caracterização foi realizada a partir de comparações com dados já existentes na literatura.

Nos espectros de RMN de ^1H e suas ampliações foram observados a presença de quatro sinais comuns aos híbridos derivados do álcool perílico: um singlete com deslocamento entre 5,88 – 5,82 ppm, referente aos hidrogênios H-2. O segundo sinal indicando a presença de um elemento eletronegativo ligado ao carbono em 4,74 – 4,60 ppm, que corrobora a esterificação das moléculas. O terceiro é referente ao dubleto com deslocamento entre 4,74 – 4,71 referente aos hidrogênios H-9. O quarto sinal é o singlete com deslocamento entre 1,76 – 1,74 ppm referente aos hidrogênios da metila H-10

Para os híbridos derivados do borneol foram observados a presença de um dubleto de dubleto de dubleto em 5,86 – 5,06 ppm, com integral para um hidrogênio (H-2), sinal característico que indica a presença de elemento eletronegativo ligado ao carbono, confirmando a esterificação das moléculas com o borneol.

Outro sinal característico é o de um tripleto entre 1,76 – 1,72 ppm referente ao hidrogênio H-4. Além dos sinais para os hidrogênios ligado aos carbonos metílicos (H-8, H-9, H10) entre 0,99 – 0,88 ppm.

Os espectros de RMN de ^{13}C também evidenciaram a formação das substâncias; a presença do sinal do carbono carbonílico (C=O) entre 167 – 164 ppm é vista em todas as estruturas analisadas.

O sinal de deslocamento entre 70 – 68 ppm sugere a existência de um carbono ligado ao oxigênio, um elemento eletronegativo, confirmando a esterificação das moléculas; reforçando a proposta de que o sinal pertence ao carbono C-7 dos híbridos derivados do álcool perílico. Já para os híbridos derivados do borneol, o sinal entre 81 – 80 ppm, uma região que corresponde a carbonos metínicos ligados a um elemento eletronegativo, caracteriza o sinal assinalado pertencente ao carbono C-2 desses híbridos.

Tabela 3 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) para os ésteres **MF1**, **MF2** e **MF3**.

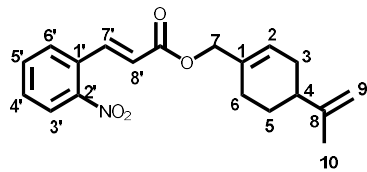
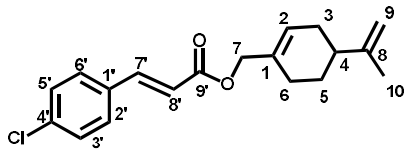
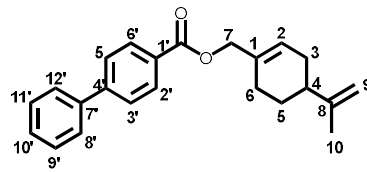
Posição	 MF1	 MF2	 MF3
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	-	-	-
2	5,82 (<i>sl</i> , 1H)	5,83 (<i>sl</i> , 1H)	5,86 (<i>sl</i> , 1H)
3 e 6	2,19 – 2,13 (<i>m</i> , 4H)	2,19 – 2,17 (<i>m</i> , 4H)	2,21 – 2,18 (<i>m</i> , 4H)
4	2,03 – 1,96 (<i>m</i> , 1H)	2,01 – 1,98 (<i>m</i> , 1H)	2,03 – 1,94 (<i>m</i> , 1H)
5	1,89 – 1,86 (<i>m</i> , 1H) 1,54 – 1,49 (<i>m</i> , 1H)	1,88 – 1,82(<i>m</i> , 1H) 1,55 – 1,47 (<i>m</i> , 1H)	1,91 – 1,87 (<i>m</i> , 1H) 1,59 – 1,53 (<i>m</i> , 1H)
7	4,62 (<i>s</i> , 2H)	4,60 (<i>s</i> , 2H)	4,74 (<i>s</i> , 2H)
8	-	-	-
9	4,71 (<i>d</i> , $J=6,2\text{Hz}$, 2H)	4,72 (<i>d</i> , $J=9,42\text{Hz}$, 2H)	4,74 (<i>s</i> , 2H)
10	1,74 (<i>s</i> , 3H)	1,74 (<i>s</i> , 3H)	1,74 (<i>s</i> , 3H)
1'	-	-	-
2'	-	7,45 (<i>d</i> , $J=8,45\text{Hz}$, 1H)	8,13 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)
3'	8,04 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)	7,35 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)	7,66 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)
4'	7,65 – 7,64 (<i>m</i> , 1H)	-	-
5'	7,56 – 7,53 (<i>m</i> , 1H)	7,35 (<i>d</i> , $J=8,5$, 1H)	7,66 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)
6'	7,65 – 7,64 (<i>m</i> , 1H)	7,45 (<i>d</i> , $J=8,45\text{Hz}$, 1H)	8,13 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)
7'	8,11 (<i>d</i> , $J=15,8\text{Hz}$, 1H)	7,63 (<i>d</i> , $J=16,05\text{Hz}$, 1H)	-
8'	6,37 (<i>d</i> , $J=15,8\text{Hz}$, 1H)	6,42 (<i>d</i> , $J=16\text{Hz}$, 1H)	7,66 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)
9'	-	-	7,47(<i>t</i> , $J=15, 7,3\text{Hz}$, 1H)
10'	-	-	7,39 (<i>m</i> , 1H)
11'	-	-	7,47(<i>t</i> , $J=15, 7,3\text{Hz}$, 1H)
12'	-	-	7,66 (<i>d</i> , $J=8,5\text{Hz}$, 1H)

Tabela 4 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) para os ésteres **MF4**, **MF5** e **MF6**.

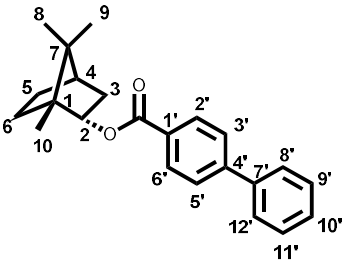
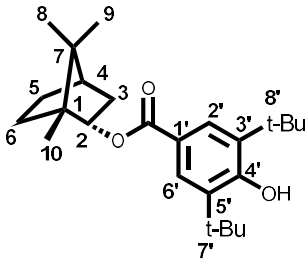
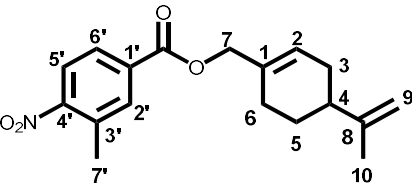
Posição	 MF4	 MF5	 MF6
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	-	-	-
2	5,15 (<i>ddd</i> , $J=9,9$; 3,4; 2,2Hz, 1H)	5,06 (<i>ddd</i> , $J=9,9$; 3,3; 2,3 Hz, 1H)	5,86 (<i>sl</i> , 1H)
3	2,54 – 2,49 (<i>m</i> , 1H) 1,17 – 1,13 (<i>m</i> , 1H)	2,49-2,42 (<i>m</i> , 1H) 1,1 (<i>dd</i> , $J=13,8$; 3,4Hz, 1H)	2,24 – 2,16 (<i>m</i> , 2H)
4	1,76 (<i>t</i> , $J=4,5\text{Hz}$, 1H)	1,72 (<i>t</i> , $J=4,5\text{Hz}$, 1H)	2,05 – 2,00 (<i>m</i> , 1H)
5	1,86 – 1,79 (<i>m</i> , 1H) 1,46 – 1,31 (<i>m</i> , 1H)	1,83 – 1,77 (<i>m</i> , 1H) 1,32-1,28 (<i>m</i> , 1H)	1,92– 1,86 (<i>m</i> , 1H) 1,58 – 1,50 (<i>m</i> , 1H)
6	2,20 – 2,14 (<i>m</i> , 1H) 1,46 – 1,31 (<i>m</i> , 1H)	2,16 – 2,10(<i>m</i> , 1H) 1,61 – 1,59(<i>m</i> , 1H)	2,24 – 2,16 (<i>m</i> , 2H)
7	-	-	-
8	0,91 (<i>s</i> , 3H)	0,91 (<i>s</i> , 3H)	-
9	0,91 (<i>s</i> , 3H)	0,91 (<i>s</i> , 3H)	4,74 – 4,72 (<i>m</i> , 2H)
10	0,99 (<i>s</i> ,3H)	0,97 (<i>s</i> ,3H)	1,74 (<i>s</i> , 3H)
1'	-	-	-
2'	8,15 (<i>t</i> , $J= 10,2\text{Hz}$, 1H)	7,94 (<i>s</i> , 1H)	8,01-7,97 (<i>m</i> , 2H)
3'	7,69 (<i>t</i> , $J= 1,84\text{Hz}$, 1H)	-	-
OH	-	5,65 (<i>s</i> , 1H)	-
5'	7,66 (<i>t</i> , $J=1,88\text{Hz}$, 1H)	-	8,03 – 8,02 (<i>m</i> , 1H)
6'	8,12 (<i>t</i> , $J=1,84 \text{ Hz}$, 1H)	7,94 (<i>s</i> , 1H)	8,01 – 7,97 (<i>m</i> , 1H)
7'	-	1,47 (<i>s</i> , 18H)	2,63 (<i>s</i> , 3H)
8'	7,64 – 7,62 (<i>m</i> , 1H)		-
9'	7,50 – 7,45 (<i>m</i> , 1H)	-	-
10'	7,42-7,38 (<i>m</i> , 1H)	-	-
11'	7,50 – 7,45 (<i>m</i> , 1H)	-	-

Tabela 5 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) para os ésteres **MF7**, **MF8** e **MF9**.

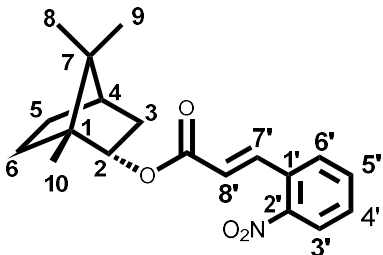
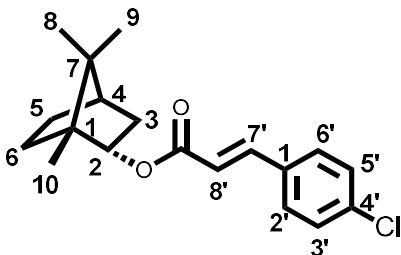
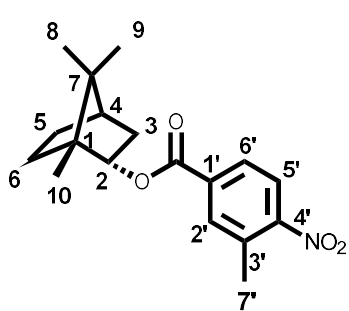
Posição	 <p style="text-align: center;">MF7</p>	 <p style="text-align: center;">MF8</p>	 <p style="text-align: center;">MF9</p>
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	-	-	-
2	5,02 (<i>ddd</i> , $J=9,9$; 3,5; 2,2 Hz, 1H)	5,04 (<i>sl</i> , 1H)	5,13 (<i>ddd</i> , $J=9,9$; 3,5; 2,2 Hz, 1H)
3	2,46 – 2,10 (<i>m</i> , 1H)	2,45 – 2,37 (<i>m</i> , 1H)	2,52 – 2,44 (<i>m</i> , 1H)
4	1,08 (<i>dd</i> , $J=10,32$; 3,48 Hz, 1H)	1,05 (<i>dd</i> , $J=10,48$; 3,52 Hz, 1H)	1,12 (<i>dd</i> , $J=13,9$; 3,5 Hz, 1H)
5	1,71 (<i>t</i> , $J=4,5$ Hz, 1H)	1,72 (<i>t</i> , $J=4,5$ Hz, 1H)	1,76 (<i>t</i> , $J=4,5$ Hz, 1H)
6	1,81 – 1,74 (<i>m</i> , 1H)	1,81 – 1,74 (<i>m</i> , 1H)	1,85 – 1,78 (<i>m</i> , 1H)
7	-	-	-
8	2,05 – 1,98 (<i>m</i> , 1H)	2,06 – 1,99 (<i>m</i> , 1H)	2,10 – 2,03 (<i>m</i> , 1H)
9	1,39 – 1,24 (<i>m</i> , 1H)	1,61 (<i>s</i> , 1H)	1,47 – 1,39 (<i>m</i> , 1H)
10	-	-	-
1'	0,89 (<i>s</i> , 3H)	0,89 (<i>s</i> , 3H)	0,82 (<i>s</i> , 3H)
2'	0,88 (<i>s</i> , 3H)	0,87 (<i>s</i> , 3H)	0,82 (<i>s</i> , 3H)
3'	0,95 (<i>s</i> , 3H)	0,94 (<i>s</i> , 3H)	0,97 (<i>s</i> , 3H)
4'	-	-	-
5'	-	7,48 (<i>m</i> , 1H)	7,98 (<i>t</i> , $J=1,8$ Hz, 1H)
6'	-	7,36 (<i>m</i> , 1H)	-
7'	8,06 (<i>m</i> , 1H)	-	-
8'	7,68 – 7,62 (<i>m</i> , 1H)	7,37 (<i>m</i> , 1H)	8,01 – 8,00 (<i>m</i> , 1H)
9'	7,55 – 7,51 (<i>m</i> , 1H)	7,48 (<i>m</i> , 1H)	7,98 (<i>t</i> , $J=1,8$ Hz, 1H)
10'	7,68 – 7,62 (<i>m</i> , 1H)	7,61 (<i>d</i> , $J=16$ Hz, 1H)	2,64 (<i>s</i> , 3H)
11'	6,39 (<i>d</i> , $J=15,8$ Hz, 1H)	6,44 (<i>d</i> , $J=16$ Hz, 1H)	-

Tabela 6 – Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) para os ésteres **MF10** e **MF11**.

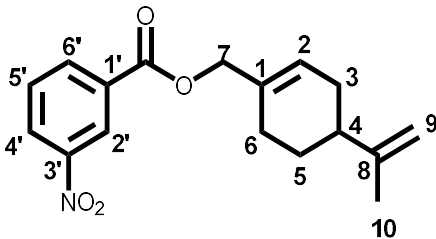
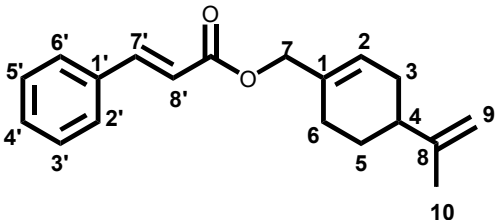
Posição	 <p style="text-align: center;">MF10</p>	 <p style="text-align: center;">MF11</p>
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
1	-	-
2	5,88 (s, 1H)	5,82 (s, 1H)
3	2,22 – 2,17 (m, 2H)	2,20 – 2,13 (m, 2H)
4	2,06 – 1,96 (m, 1H)	2,04 – 2,00 (m, 1H)
5	1,91 – 1,87 (m, 1H) 1,58 – 1,54 (m, 1H)	1,89 – 1,85 (m, 1H) 1,54 – 1,49 (m, 1H)
6	2,22-2,17 (m, 2H)	2,20 – 2,13 (m, 2H)
7	4,77 (s, 2H)	4,62 (s, 2H)
8	-	-
9	4,74 – 4,72 (m, 2H)	4,73 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 2H)
10	1,74 (s, 3H)	1,75 (s, 3H)
1'	-	-
2'	8,86 (s, 1H)	7,53 – 7,51 (m, 1H)
3'	-	7,38 – 7,37 (m, 1H)
4'	8,41 (ddd, $J=8.2, 2.3, 1.1\text{ Hz}$, 1H)	7,38 – 7,37 (m, 1H)
5'	7,65 (t, $J=8\text{Hz}$, 1H)	7,38 – 7,37 (m, 1H)
6'	8,38-8,36 (m, 1H)	7,53 – 7,51 (m, 1H)
7'	-	7,70 (d, $J=16\text{Hz}$, 1H)
8'	-	6,47 (d, $J=16\text{Hz}$, 1H)

Tabela 7 – Deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δ_{C}) para os ésteres.

	MF1	MF2	MF3	MF4	MF5	MF6	MF7	MF8	MF9	MF10	MF11
1	130,81	132,75	132,87	48,05	49,20	134,50	49,12	48,02	48,10	132,35	134,61
2	125,16	126,10	125,82	80,70	80,09	126,56	80,73	80,33	81,74	124,72	125,94
3	30,63	30,63	30,65	37,09	37,23	30,92	36,96	37,00	36,96	30,63	30,66
4	40,98	40,96	41,04	45,17	45,21	40,96	45,08	45,10	45,04	40,89	41,02
5	27,45	27,46	26,64	27,58	28,23	26,73	27,35	28,33	27,52	27,47	27,51
6	26,65	26,59	27,53	28,26	27,55	28,15	28,18	29,84	28,20	26,65	26,62
7	69,06	68,76	69,01	49,27	47,98	70,14	48,11	49,10	49,29	69,99	68,86
8	149,73	149,69	149,75	19,70	19,89	149,69	19,98	19,88	20,30	149,53	149,75
9	108,94	108,94	108,95	19,08	19,18	109,07	19,01	19,03	19,83	109,04	108,93
10	20,89	20,89	20,91	13,78	13,77	20,42	13,69	13,70	13,76	20,88	20,90
C=O	165,80	166,76	166,52	166,86	167,45	164,60	166,24	167,23	165,20	164,50	167,09
1'	132,58	136,30	129,30	129,79	122,03	134,10	130,95	133,28	134,59	132,33	129,02
2'	148,46	129,35	127,18	127,43	127,09	133,82	148,73	129,35	133,98	127,38	128,22
3'	126,32	129,30	127,42	127,19	135,80	133,34	129,29	129,28	133,54	148,47	125,94
4'	129,27	133,06	145,79	145,66	158,14	151,79	129,95	136,18	151,87	126,94	130,29
5'	133,64	129,30	127,42	127,19	135,80	125,20	130,32	129,28	124,70	129,73	132,89
6'	130,41	129,35	127,18	127,43	127,09	128,46	125,15	129,35	128,07	135,44	128,22
7'	140,22	143,47	140,21	140,27	34,51	21,63	133,62	142,90	19,02	-	144,96
8'	123,42	118,84	128,26	128,24	30,32	-	139,68	119,53	-	-	118,29
9'	-	-	129,06	130,17	30,32	-	-	-	-	-	-
10'	-	-	130,28	129,08	30,32	-	-	-	-	-	-
11'	-	-	129,06	130,17	-	-	-	-	-	-	-
12'	-	-	128,26	128,24	34,51	-	-	-	-	-	-
13'	-	-	-	-	30,32	-	-	-	-	-	-
14'	-	-	-	-	30,32	-	-	-	-	-	-
15'	-	-	-	-	30,32	-	-	-	-	-	-

4.3. Avaliação da atividade antifúngica dos ésteres híbridos

Os onze híbridos preparados foram submetidos ao teste de microdiluição em placa de 96 poços, para determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) e a Fungicida Mínima (CFM) em meio sólido; frente às cepas de *C. albicans* (CBS 562), resistente a fluconazol e cetoconazol, *C. krusei* (CBS 573) resistente a fluconazol e *C. tropicalis* (CBS 94) resistente a cetoconazol e fluconazol.

A partir dos dados antimicrobianos obtidos nos testes antifúngicos, foi realizada a análise das características estruturais que, provavelmente, estão envolvidas com a bioatividade de cada híbrido sintetizado. A análise foi baseada nos resultados da concentração inibitória mínima (CIM) sobre as três cepas fúngicas testadas do gênero *Candida*, que foi desenvolvida no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (CCS/UFPB), coordenado pelo prof. Dr. Ricardo Dias de Castro, e estão expostos na Tabela 8. Na tabela 9, encontram-se os valores da CFM e da relação CIM/CFM para cada híbrido.

A atividade antifúngica dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou inativa de acordo com os seguintes parâmetros: < abaixo de 500 µg/mL = forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL = moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL = fraca atividade ou produto inativo (SARTORATTO *et al.*, 2004; BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016).

A preparação dos compostos apresentou mudanças no tipo de substituintes do anel aromático dos ácidos benzoicos ou cinâmicos utilizados, como presença de grupos retiradores ou doadores de elétrons, que promovem alterações significativas nas propriedades das moléculas, podendo resultar em modificações na atividade antifúngica. Todos os híbridos apresentaram bioatividade contra as cepas testadas.

Na análise dos resultados obtidos frente a *C. albicans* (CBS 562), verificou-se que o 4-fenilbenzoato de perila (**MF3**) exibiu melhor atividade antifúngica com o valor da CIM de 186,88 µM, seguido do 3,5-di-*tert*-butil-4-hidroxibenzoato de bornila (**MF5**) (CIM de 622,50 µM), todos os demais compostos apresentaram de ótima a moderada atividade frente as cepas analisadas. Dos compostos com a presença do núcleo perila, a presença da porção olefínica (C7'- C8') encontradas nos compostos **MF1**, **MF2** e **MF11** conferiu uma menor atividade antifúngica quando comparado ao composto **MF3** (ausência dessa porção em sua estrutura e presença de um grupo fenil na posição *para* do anel), que obteve a melhor atividade.

Apesar da introdução de grupos retiradores de elétrons (como o grupo nitro, por exemplo) em estruturas aromáticas estar ligada a melhora na bioatividade da molécula frente a fungos e bactérias (ARAÚJO et al., 2013, JADHAV et al., 2016), a presença do grupo nitro na posição *orto* do anel do composto **MF1** apresentou concentração inibitória na maior concentração testada com valor de CIM de 3054,60 μM , conferindo uma ligeira redução na atividade em comparação ao composto **MF2**, que também foi bioativo em sua maior concentração testada apresentando CIM de 3156,34 μM e redução na atividade quando comparado ao composto **MF11** (CIM 1770,68 μM).

A presença do substituinte cloro (Cl^-) na posição *para* do anel benzênico da estrutura do composto **MF2**, também conferiu redução na atividade em comparação ao composto **MF11**. Dessa forma, sugere-se que o anel benzênico com um ligante eletronegativo esteja contribuindo para a diminuição da atividade biológica do composto, característica também analisada no trabalho de NASCIMENTO (2017). Entretanto quando a estrutura do anel apresenta ausência de grupo substituinte é possível observar o aumento dessa atividade, característica observada no composto **MF11**, que obteve a melhor atividade entre as estruturas semelhantes analisadas anteriormente.

Quando se compara os compostos **MF3**, **MF6** e **MF10** observa-se que para o composto **MF6**, mesmo com a introdução de um grupo doador, como a metila na posição *meta*, que pode alterar significativamente a potência biológica de um ligante em 500 vezes (LEUG, TIRADO; JORGENSEN, 2012; SCHONHERR; CERNAK, 2013), e um grupo nitro (NO_2) na posição *para* não foi tão eficaz em relação a inserção de um grupo fenil nesta mesma posição no composto **MF3**, que apresentou a melhor atividade.

Em relação ao composto **MF10**, foi observado que a presença do grupo nitro na posição *meta* diminuiu ligeiramente a atividade em relação ao composto **MF6**, que apresenta o mesmo grupo na posição *para*. Pode-se inferir que a mudança na posição do substituinte retirador de elétrons causou uma ligeira mudança na atividade. Dentre os compostos com a presença do núcleo bornila, o composto **MF5** teve a melhor atividade (622,50 μM), como já citado anteriormente. Importante destacar a presença da hidroxila, grupo doador de elétrons, na posição *para* do anel, que contribuiu para a melhor bioatividade em relação aos demais compostos com essa característica.

O composto **MF9**, mesmo com a presença de um grupo nitro na posição *para*

e uma metila na posição *meta* conferiu uma diminuição da atividade antifúngica em comparação ao composto **MF5**, o composto com a melhor atividade com o borneol.

A presença do grupo perila na estrutura de **MF6** (1585,47 μM), conferiu uma melhor atividade em relação a **MF9** (3150,80 μM), que possui o grupo bornila. Enquanto, a presença do grupo bornila resultou em menor potência antifúngica para **MF4** (1494,98 μM) em comparação ao híbrido **MF3**, composto que obteve a melhor bioatividade e contendo o grupo perila em sua estrutura. Tal característica indica que essa porção está diretamente ligada a atividade da estrutura **MF3**.

A presença de um grupo nitro (retirador de elétrons) na posição *orto* do composto **MF7** conferiu uma melhor bioatividade quando comparado ao composto **MF8**, que possui um substituinte cloro (Cl^-) na posição *para* do anel. Comparando os compostos **MF1** e **MF7**, observa-se a presença do núcleo bornila do composto **MF7** (1517,95 μM), o qual potencializou atividade antifúngica em relação a **MF1** (3054,60 μM), que apresenta o núcleo perila em sua estrutura, indicando que a essa porção da estrutura está diretamente relacionada com a ação antimicrobiana do híbrido. Enquanto, nos resultados obtidos para os híbridos **MF2** (3156,34 μM) e **MF8** (3136,39 μM), é possível observar que a mudança do grupo perila para o grupo bornila não alterou a potência antifúngica, indicando que a atividade dessas duas substâncias pode estar relacionada com a presença do substituinte Cl^- na posição *para* do anel.

Considerando os resultados obtidos frente a *C. krusei* (CBS 573) todos os compostos foram bioativos. O composto **MF1** apresentou concentração inibitória na maior concentração testada, já **MF2** também foi bioativo em sua maior concentração testada, comparando essas duas estruturas observa-se que a presença de um grupo nitro (retirador de elétrons) na posição *orto* do composto **MF1** e a presença de um substituinte eletronegativo como o Cl^- na posição *para*, do composto **MF2**, não causaram alterações significativas nos valores da CIM das moléculas.

Entretanto quando a estrutura do anel apresenta ausência de grupo substituinte foi observado uma diminuição na atividade frente a *C. krusei*, conforme constatado no composto **MF11** que apresentou CIM de 3541,36 μM . Enquanto, o composto **MF3** que apresenta um substituinte fenila na posição *para* apresentou atividade na maior concentração testada, com valor de CIM de 3008,10 μM . Tal característica também esteve presente em **MF4**, que possui a presença do grupo bornila em sua estrutura, indicando que a atividade do composto está ligada com a presença do substituinte fenila no anel. Entretanto, com a presença de um grupo nitro na posição *para* do anel

aromático do composto **MF6** conferiu a essa molécula a melhor atividade da coleção frente a cepa analisada, apresentando valor de CIM de 1585,47 μM , devido a esse caráter de aceptor de elétrons da molécula.

Analisando o **MF10** (3318,54 μM), que apresentou atividade na sua maior concentração testada, é possível observar que a presença de um grupo nitro na posição *meta* não foi tão favorável quanto a introdução desse mesmo substituinte na posição *para*, observado no **MF6**, que obteve a melhor atividade. Enquanto, presença da hidroxila na posição *para* do anel juntamente com os dois grupos *t*-butilícos na posição *meta* favoreceu um aumento na atividade do composto **MF5** em relação aos compostos **MF4** e **MF9**.

Analisando as estruturas de **MF6** e **MF9** é possível observar que a presença do grupo perila do composto **MF6** conferiu uma melhor atividade em relação a **MF9**, que apresenta o grupo bornila em sua estrutura. Implicando que a porção perila de **MF6** é responsável pela atividade da molécula. Em relação aos compostos **MF7** (3035,91 μM) e **MF8** (3136,39 μM) é possível observar que a presença de um grupo retirador de elétrons no **MF7** e a presença de um substituinte eletronegativo no **MF8** não causou alterações significativa na potência antifúngica, apresentando valores de CIM semelhantes. Tais características também foram observadas nos compostos **MF1** e **MF2**, indicando que a atividade desses compostos não está relacionada com a porção terpênicas das estruturas.

Analisando os resultados obtidos para *C. tropicalis* (CBS 94), observa-se que todas as moléculas testadas foram bioativas. Com exceção dos compostos **MF2**, **MF4** e **MF5**, todas as moléculas apresentaram atividade em sua maior concentração testada.

Dentre os compostos com o núcleo perila, o **MF2** obteve a melhor atividade antifúngica, a presença de um grupo Cl na posição *para* do anel conferiu ao composto **MF2** uma melhor atividade em comparação ao composto **MF1**, que possui um grupo substituinte nitro no anel. Enquanto nos compostos com o núcleo bornila, a presença de uma hidroxila na posição *para* do anel favoreceu a atividade do composto **MF5** em relação ao composto **MF4** que apresenta um grupo fenila nessa mesma posição. Em relação ao composto **MF4** é possível observar que a presença do núcleo perila do composto **MF3** em sua estrutura não foi tão favorável quanto ao substituinte bornila, indicando que este substituinte está diretamente ligado com a atividade da estrutura da molécula **MF4**.

Todos os compostos analisados de acordo com as Tabelas 9, apresentaram relação atividade fungicida, apresentando relação CFM/CIM<4.

Tabela 8 – Resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM µg/mL) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

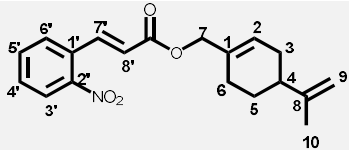
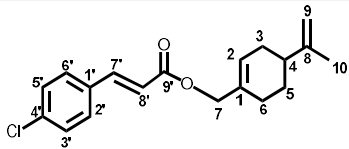
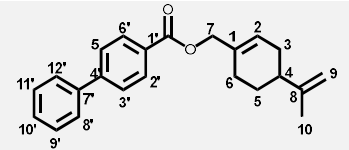
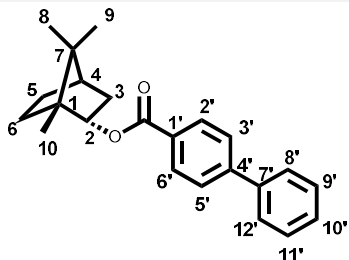
Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 <p>MF1</p>	1000 µg/mL (3054,60 µM)	1000 µg/mL (3054,60 µM)	1000 µg/mL (3054,60 µM)
 <p>MF2</p>	1000 µg/mL (3156,34 µM)	1000 µg/mL (3156,34 µM)	1000 µg/mL (3156,34 µM)
 <p>MF3</p>	62,5 µg/mL (186,88 µM)	1000 µg/mL (3008,10 µM)	1000 µg/mL (3008,10 µM)
 <p>MF4</p>	500 µg/mL (1494,98 µM)	1000 µg/mL (2989,97 µM)	1000 µg/mL (2989,97 µM)

Tabela 9 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM μM) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

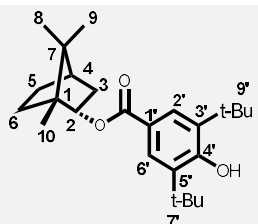
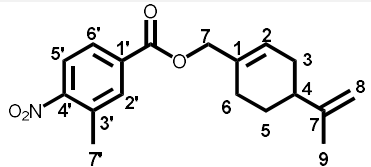
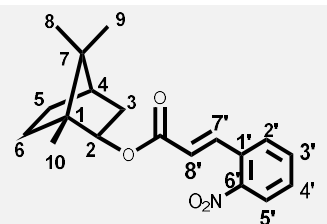
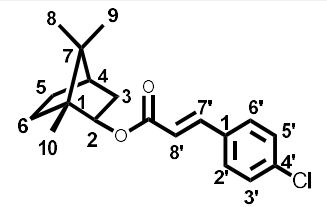
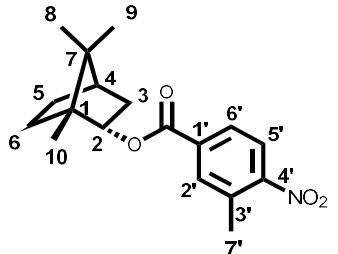
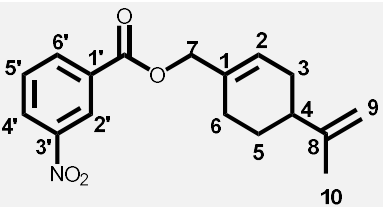
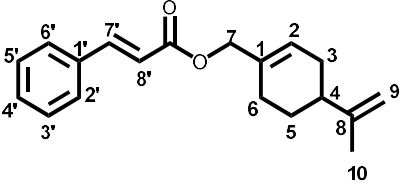
Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 MF5	250 $\mu\text{g/mL}$ (622,5 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (2490,02 μM)	500 $\mu\text{g/mL}$ (1245,01 μM)
 MF6	500 $\mu\text{g/mL}$ (1585,47 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3170,94 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3170,94 μM)
 MF7	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)
 MF8	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)

Tabela 10 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM µg/mL) para os híbridos preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 <p>MF9</p>	1000 µg/mL (3150,80µM)	1000 µg/mL (3150,80µM)	1000 µg/mL (3150,80µM)
 <p>MF10</p>	500 µg/mL (1659,27 µM)	1000 µg/mL (3318,54µM)	500 µg/mL (1659,27 µM)
 <p>MF11</p>	500 µg/mL (1770,68 µM)	1000 µg/mL (3541,36 µM)	1000 µg/mL (3541,36 µM)
Nistatina	3,75 µg/mL (0,43 µM)	3,75 µg/mL (0,43 µM)	3,75 µg/mL (0,43 µM)
Controle do meio	-	-	-
Controle do microrganismo	+	+	+

(+):crescimento de microrganismo. (-): não crescimento de microrganismo.

Tabela 11 – Resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM $\mu\text{g/mL}$) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

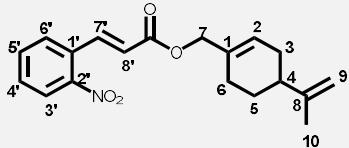
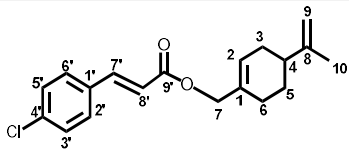
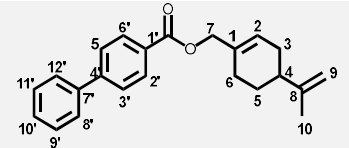
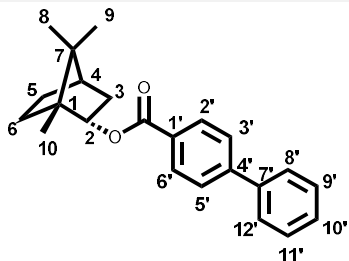
Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 <p>MF1</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3054,60 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3054,60 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3054,60 μM)
 <p>MF2</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3156,34 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3156,34 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3156,34 μM)
 <p>MF3</p>	62,5 $\mu\text{g/mL}$ (186,88 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3008,10 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3008,10 μM)
 <p>MF4</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (2989,97 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (2989,97 μM)	500 $\mu\text{g/mL}$ (1494,98 μM)

Tabela 12 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM $\mu\text{g/mL}$) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

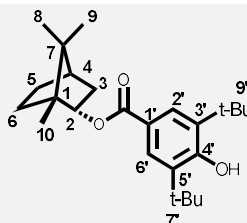
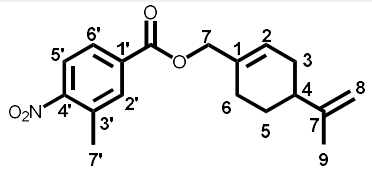
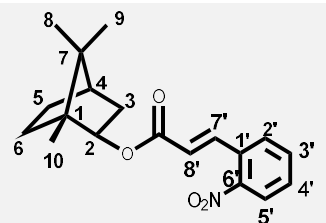
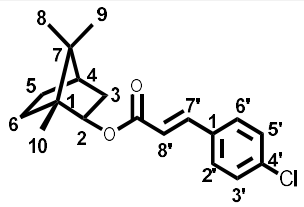
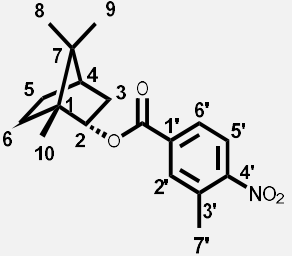
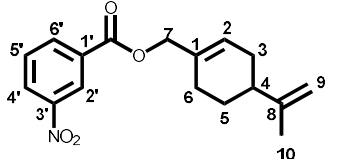
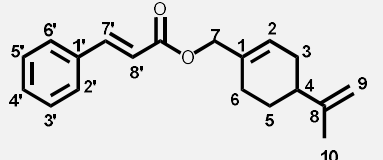
Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 <p>MF5</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (2586, 87 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (2586, 87 μM)	500 $\mu\text{g/mL}$ (1293,43 μM)
 <p>MF6</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3170,94 μM)	500 $\mu\text{g/mL}$ (1585,47 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3170,94 μM)
 <p>MF7</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3035,91 μM)
 <p>MF8</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3136,39 μM)

Tabela 13 – Continuação dos resultados obtidos no teste de determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM $\mu\text{g/mL}$) para os ésteres preparados, frente a espécies do gênero *Candida*.

Híbrido molecular	<i>Candida albicans</i> (CBS 562)	<i>Candida krusei</i> (CBS 573)	<i>Candida tropicalis</i> (CBS 94)
 <p>MF9</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3150,80 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3150,80 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3150,80 μM)
 <p>MF10</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3318,54 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3318,54 μM)	500 $\mu\text{g/mL}$ (1659,27 μM)
 <p>MF11</p>	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3541,36 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3541,36 μM)	1000 $\mu\text{g/mL}$ (3541,36 μM)
Nistatina	3,75 $\mu\text{g/mL}$ (0,43 μM)	3,75 $\mu\text{g/mL}$ (0,43 μM)	3,75 $\mu\text{g/mL}$ (0,43 μM)
Controle do meio	-	-	-
Controle do microrganismo	+	+	+

(+): crescimento de microrganismo. (-): não crescimento de microrganismo.

5.0. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

No presente estudo foram preparados e purificados seis híbridos derivados do álcool perílico e cinco híbridos derivados do borneol, utilizando três diferentes metodologias. As reações foram desenvolvidas com relativa dificuldade. Todas as estruturas químicas das substâncias foram confirmadas por espectroscopia de Infravermelho e por RMN de ^1H e ^{13}C . Dos ésteres preparados apenas os compostos **MF1**, **MF2**, **MF4** e **MF8** não são inéditos na literatura.

Com a análise da capacidade antifúngica dos híbridos obtidos, pode-se afirmar que todos foram bioativos frente todas as cepas de *Candida* spp. testadas, apresentando atividade fungicida em concentrações variadas entre forte a moderada. Os melhores resultados encontrados foram frente a *C. albicans*, em que os ésteres **MF3 (186,88 μM)** (4-fenilbenzoato de perila) e o **MF5 (622,50 μM)** (3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzoato de bornila) foram os híbridos moleculares com maior ação antifúngica indicando que a presença de grupos lipofílicos volumosos ligados ao anel aromático devem contribuir para potencializar a bioatividade.

Os resultados obtidos podem ser utilizados em pesquisas que objetivam desenvolver compostos orgânicos com elevada atividade antifúngica. Também torna-se significativa a sugestão de novas modificações estruturais que possam otimizar a ação antimicrobiana de tais substâncias.

6.0. PARTE EXPERIMENTAL

6.1. Materiais e métodos utilizados

A etapa química foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica da Universidade Federal da Paraíba (DCF/CCS/UFPB). Os reagentes e solventes utilizados nos procedimentos foram adquiridos das empresas Sigma Aldrich, Vetec, Neon, Dinâmica, Qhemis, entre outras. Todos apresentavam alto grau de pureza.

6.1.1 Métodos cromatográficos

As reações foram acompanhadas através da cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), utilizando cromatofolhas de alumínio suportadas com sílica gel 60 (fase estacionária) e tendo como fase móvel uma mistura entre hexano e acetato de etila em diferentes proporções. A visualização das placas cromatográficas se deu através da irradiação em câmara de luz ultravioleta com dois comprimentos de onda (254 e 356 nm) e utilizando revelador químico de ácido sulfúrico a 5% em álcool etílico.

Na a purificação das substâncias obtidas foi utilizada a técnica de cromatografia de absorção em coluna (CC). A fase estacionária utilizada foi sílica gel 60 ART 7734 da Merk (partículas de dimensões entre 0,063-0,200 mm) suportada em colunas de vidro cilíndricas. A fase móvel constituiu-se de uma mistura entre hexano e acetato de etila com proporções variáveis.

6.1.2 Métodos espectroscópicos

6.1.2.1 Ressonância Magnética Nuclear

Os espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C foram obtidos por meio dos espectrofotômetros de Mercury-Varian operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C), e o Varian-RMN- System operando à 500 MHz (^1H) e 125 MHz para (^{13}C); todos localizados no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA/UFPB).

As amostras foram solubilizadas em clorofórmio deuterado (CDCl_3) da Merk. Os deslocamentos químicos (δ) foram medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Para os espectros de RMN de

^1H os desdobramentos referentes aos acoplamentos dos hidrogênios foram indicados como: *s* (singleto), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *t* (triplete), *q* (quarteto), *quint* (quinteto), *sext* (sexteto), *sept* (septeto), *m* (multiplete).

Para os espectros de RMN de ^{13}C foi utilizada a técnica de APT em que os carbonos quaternários e metilênicos ficam na face positiva do gráfico (para cima) e os sinais de carbonos metínicos e metílicos ficam na face negativa do gráfico (para baixo).

6.1.2.2 Espectroscopia de Infravermelho

Os ésteres foram caracterizados por espectrofotômetro FTIR Cary 630, do fabricante Agilent Technologies, no Laboratório Analítico Multiusuário (CCS-UFPB), utilizando pastilhas de brometo de potássio (KBr) e frequência medida em cm^{-1} .

6.1.3 Ponto de Fusão

O ponto de fusão de cada amostra foi determinado utilizando placa de aquecimento de aparelho digital de marca Microquímica Equipamentos, modelo MQAPF 302; funcionando a 220V, com temperatura que varia de 10-350°C.

6.2. Procedimentos de preparação dos ésteres

Para a preparação dos onze ésteres foram utilizadas três metodologias sintéticas: reação de preparação de cloreto ácido via SOCl_2 e Schotten-Baumann, reação de Steglich e reação de Schotten-Baumann. Utilizou-se como material de partida os monoterpenos álcool perílico e borneol; e ácidos cinâmicos, ácidos benzoicos e cloretos ácidos. Nas figuras 7 e 8 estão representadas as estruturas químicas dos ácidos orgânicos que foram utilizados.

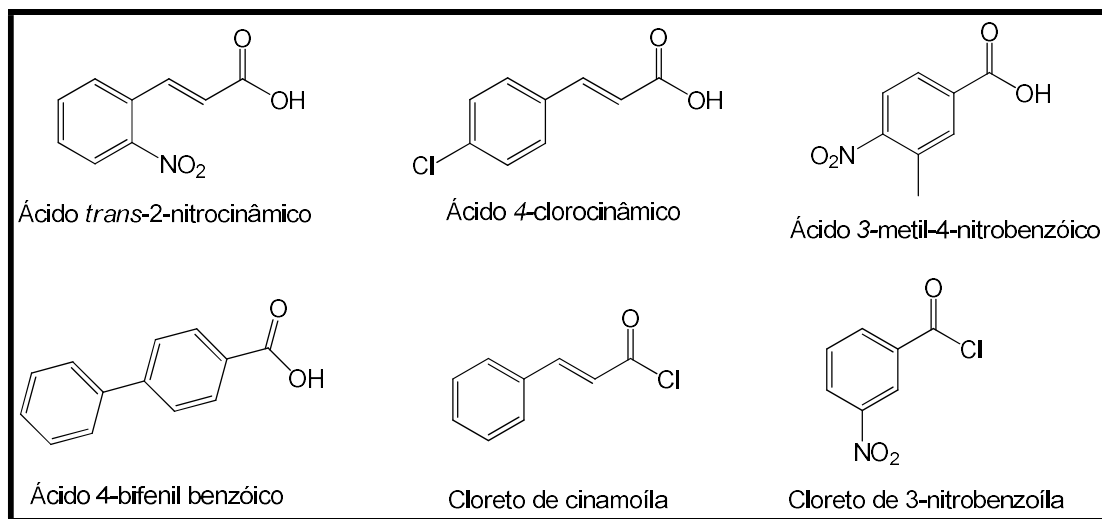


Figura 4: Ácidos orgânicos e cloretos ácidos utilizados nas reações de obtenção dos híbridos do álcool perílico.

Fonte: Elaborado pela autora.

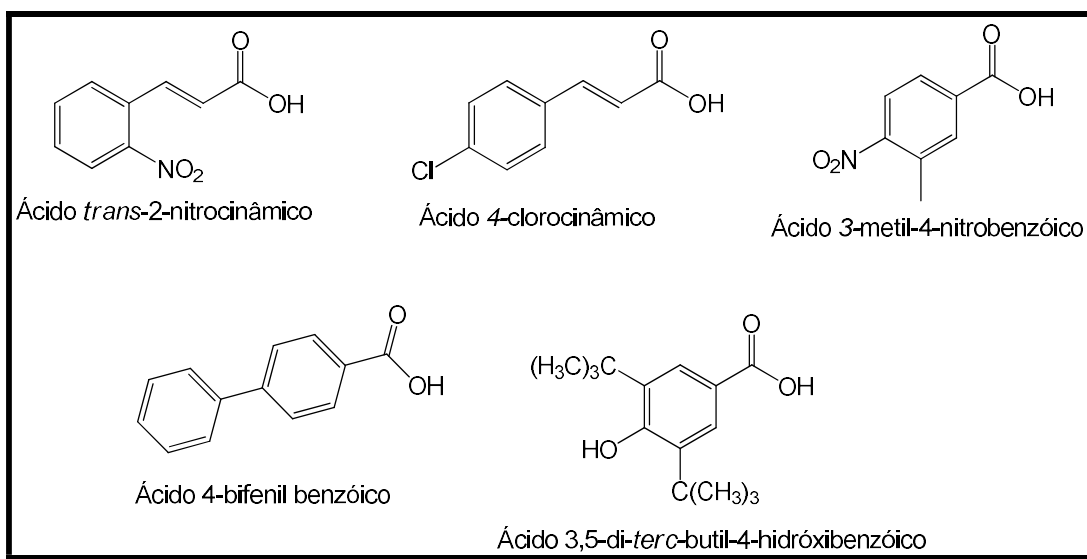
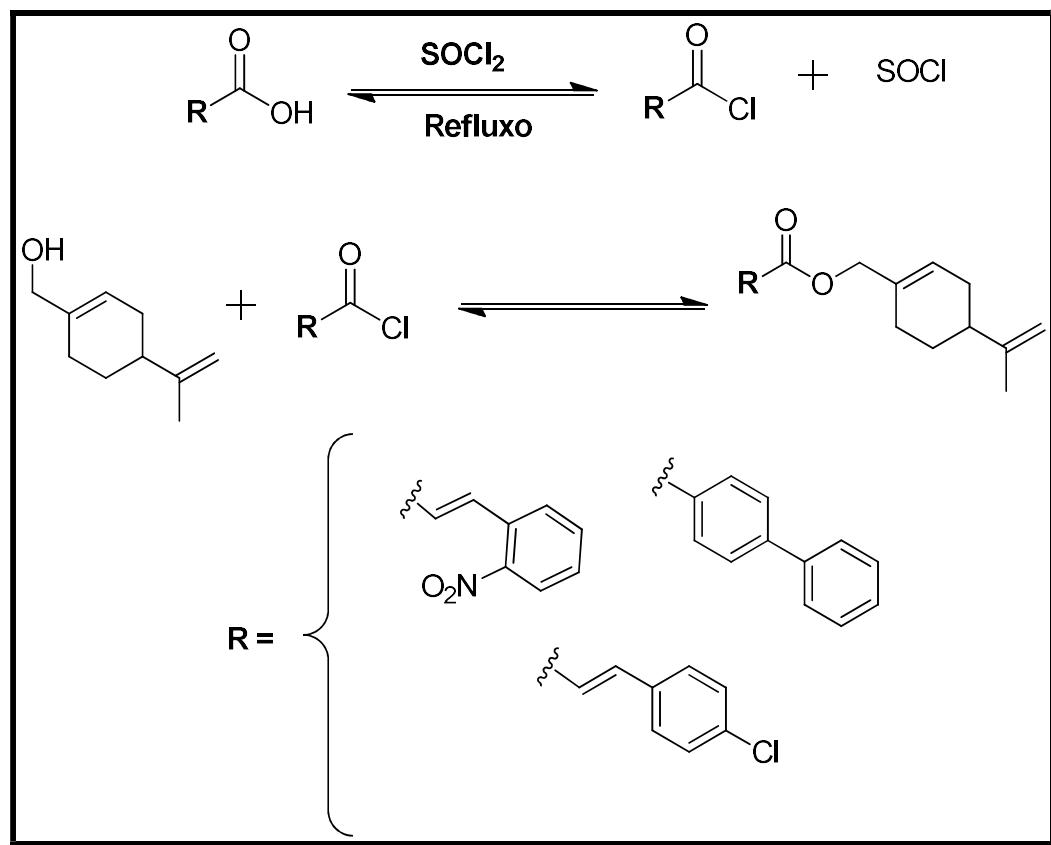


Figura 5 – Ácidos utilizados nas reações de obtenção dos híbridos do borneol.

Fonte: Elaborado pela autora.

6.2.1. Preparação dos ésteres MF1- MF5

O método utilizado foi esterificação via SOCl_2 e Schotten-Baumann. Nos esquemas gerais abaixo (Esquemas 7 e 8) encontra-se os produtos das reações.



Esquema 6- Reação de esterificação para obtenção de **MF1**, **MF2** e **MF3**.

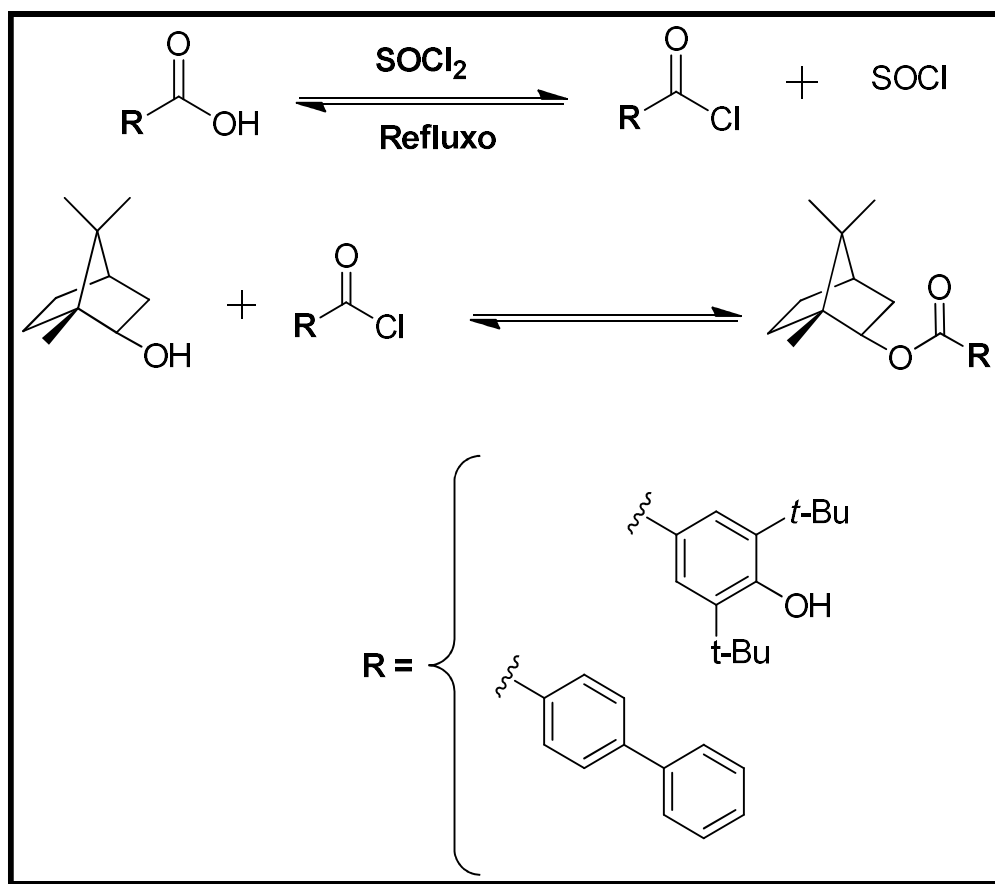
Fonte: Elaborado pela autora.

Procedimento geral de preparação dos híbridos MF1, MF2 e MF3

Foram adicionados, sob agitação magnética, em um balão de 50 mL, 0,7882 mmol do ácido orgânico (1,2 eq) e 5,30 mL (72,75 mmol; 92,3 eq) de $SOCl_2$. A mistura foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 3 horas. Depois, o excesso de $SOCl_2$ foi removido com o auxílio de um rotaevaporador. Em seguida, adicionou-se 2,5 mL de diclorometano. A solução foi adicionada lentamente em um balão a 0 °C, contendo 0,1 mL (0,65 mmol) do monoterpene e 2,5 mL de diclorometano; As reações foram mantidas sob agitação magnética, a temperatura ambiente, e o desenvolvimento da reação foi monitorado por CCDA utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções decrescentes (adaptado de JI, XING-YUE et al., 2013).

O produto foi concentrado em rotaevaporador e em seguida o conteúdo foi vertido em funil de separação. Colocou-se 10 mL de água destilada e 10 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa foi tratada com acetato de etila (3 x 10 mL). À fase orgânica final foi tratada com 10 mL de uma solução de bicarbonato de sódio à 5% ($NaHCO_3$). Em seguida adicionou-se 10 mL de água destilada. A fase

orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada em evaporador rotativo (BUZZI et. al, 2009; SANDERSON et. al, 2013).



Esquema 7- Reação de esterificação dos compostos **MF4** e **MF5**.

Fonte: Elaborado pela autora

Procedimento geral de preparação dos híbridos MF4 e MF5

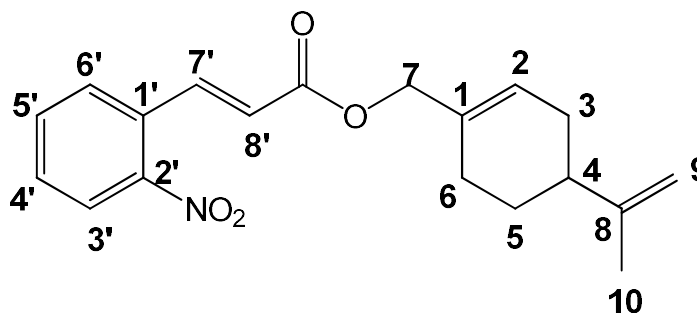
Os compostos derivados do borneol foram adicionados 0,7778 mmol do ácido orgânico (1,2 eq ao borneol) e 5,23 mL (71,79 mmol; 92,3 eq) de SOCl_2 . A mistura foi mantida sob agitação magnética e refluxo durante 3 horas. Depois, o excesso de SOCl_2 foi removido com o auxílio de um rotaevaporador. Em seguida, adicionou-se 2,5 mL de diclorometano. A solução foi adicionada lentamente em um balão a 0 °C, contendo 0,1 g (0,6482 mmol) do borneol e 2,5 mL de diclorometano; As reações foram mantidas sob agitação magnética, a temperatura ambiente, e o desenvolvimento da reação foi monitorado por CCDA utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções decrescentes (adaptado de JI, XING-YUE et al., 2013).

O produto foi concentrado em rotaevaporador e em seguida o conteúdo foi vertido em funil de separação. Colocou-se 10 mL de água destilada e 10 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi separada e a fase aquosa foi tratada com acetato de etila (3 x 10 mL). À fase orgânica final foi tratada com 10 mL de uma solução de bicarbonato de sódio à 5% (NaHCO_3). Em seguida adicionou-se 10 mL de água destilada. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada em evaporador rotativo (BUZZI et. al, 2009; SANDERSON et. al, 2013).

Todas as cinco substâncias foram submetidas a uma purificação em coluna cromatográfica de sílica gel 60, utilizando como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções variadas.

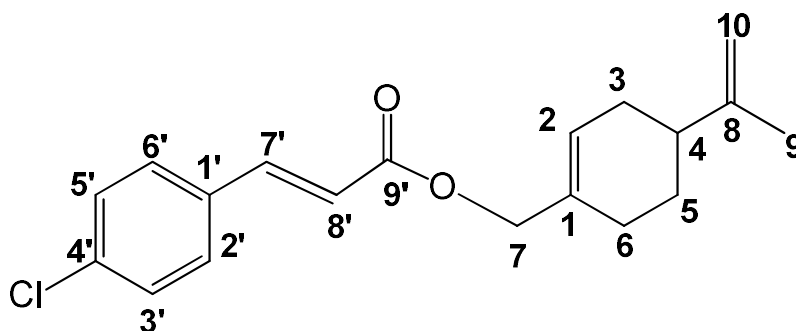
6.2.1.1. Dados espectroscópicos de MF1 a MF5

- 2-nitrocinaurato de perila (MF1)



Sólido amarelo. Rendimento: 40,4% (87 mg). P.F.: 55,3-56,0. *R_f*: 0,59 (85:15 Hex:AcOEt). IV (KBr, cm^{-1}): 1707 (estiramento C=O); 1520 e 1343 (estiramento C-NO₂); 1290 e 1180 (estiramento C-O). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8,11 (d, J = 15,8 Hz, 1H, H-7'); 8,04 (d, J = 8,5 Hz, 1H, H-3'); 7,65 – 7,64 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,56 – 7,53 (m, 1H, H-5'); 6,37 (d, J = 15,8 Hz, 1H, H-8'); 5,82 (sl, H-2'); 4,71 (d, J = 6,2 Hz, 2H, H-9); 4,62 (s, 2H, H-7); 2,19 – 2,13 (m, 4H, H-3; H-6); 2,03 – 1,96 (m, 1H, H-4); 1,89 – 1,86 (m, 1H, H-5a); 1,74 (s, 3H, H-10); 1,54 – 1,49 (m, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 165,80 (C=O), 149,73 (C-8), 148,46 (C-2'), 140,22 (C-7'), 133,64 (C-5'), 132,58 (C-1'), 130,81 (C-1), 130,41 (C-6'), 129,27 (C-4'), 126,32 (C-3'), 125,16 (C-2), 123,42 (C-8'), 108,94 (C-10), 69,06 (C-7), 40,98 (C-4), 30,63 (C-3), 27,45 (C-5), 26,65 (C-6), 20,89 (C-9).

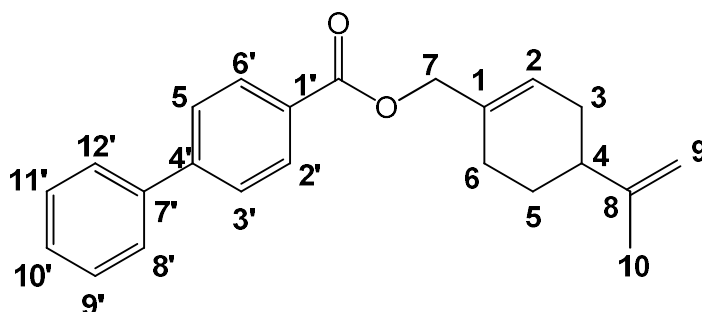
- 4-clorocinaurato de perila (MF2)



Sólido branco. Rendimento: 39% (81 mg). P.F.: 55,5-56,3. *R_f*: 0,46 (95:5 Hex: AcOEt). IV (KBr, cm^{-1}): 1707 (estiramento C=O); 821 (estiramento C-Cl); 1277 e 1186

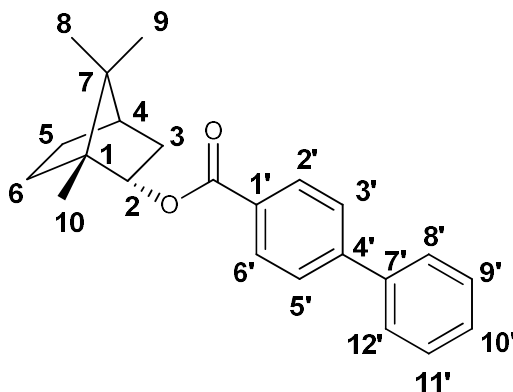
(estiramento C-O). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 7,63$ (d, $J = 16,05\text{Hz}$, 1H, H-7'); 7,45 (d, $J = 8,45\text{Hz}$, 2H, H-2', H-6'); 7,35 (d, $J = 8,5$, 2H, H-3', H-5'); 6,42 (d, $J = 16\text{Hz}$, 1H, H-8'); 5,83 (sl, 1H, H-2); 4,72 (d, $J = 9,42\text{Hz}$, 2H, H-9); 4,60 (s, 2H, H-7); 2,19 – 2,17 (m, 4H, H-3, H-6); 2,01 – 1,98 (m, 1H, H-4); 1,88 – 1,82 (m, 1H, H-5a); 1,74 (s, 3H, H-10); 1,55 – 1,47 (m, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 166,76$ (C=O), 149,69 (C-8), 143,47 (C-7'), 136,30 (C-1), 133,06 (C-4'), 132,75 (C-1), 129,35 (C-2', C-6'), 129,30 (C-3', C-5'), 126,10 (C-2), 118,84 (C-8'), 108,94 (C-10), 68,76 (C-7), 40,96 (C-4), 30,63 (C-3), 27,46 (C-5), 26,59 (C-6), 20,89 (C-9).

- **4-fenilbenzoato de perila (MF3)**



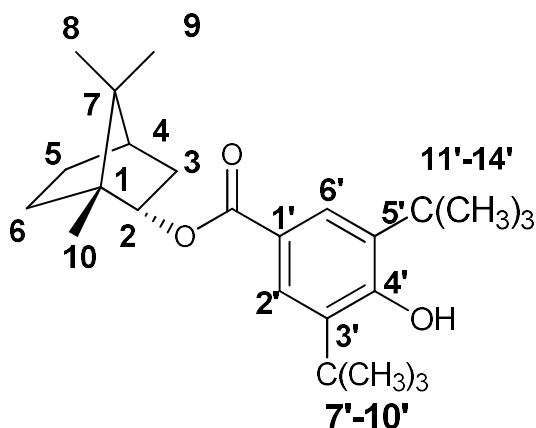
Óleo incolor. Rendimento: 25,3% (39 mg). Rf: 0,63 (95:5 Hex: AcOEt). IV (KBr, cm^{-1}): 1717 (estiramento C=O); 1270 e 1180 (estiramento C-O). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 8,13$ (d, $J = 8,5\text{Hz}$, 2H, H-2', H-6'); 7,66 (d, $J = 8,5\text{Hz}$, 4H, H-3', H-5', H-8', H-12'); 7,47 (t, $J = 15, 7,3\text{Hz}$, 2H, H-9', H-11'); 7,39 (m, 1H, H-10'); 5,86 (sl, 1H, H-2); 4,74 (s, 4H, H-7, H-9); 2,21 – 2,18 (m, 4H, H-3, H-6); 2,03 – 1,94 (m, 1H, H-4); 1,91 – 1,87 (m, 1H, H-5a); 1,74 (s, 3H, H-10); 1,59 – 1,53 (m, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 166,52$ (C=O), 149,75 (C-8), 145,79 (C-4'), 140,21 (C-7'), 132,87 (C-1), 130,28 (C-10'), 129,30 (C-1'), 129,06 (C-9', C-11'), 128,26 (C-8', C-12'), 127,42 (C-3', C-5'), 127,18 (C-2', C-6'), 125,82 (C-2), 108,95 (C-10), 69,01 (C-7), 41,04 (C-4), 30,65 (C-3), 27,53 (C-6), 26,64 (C-5), 20,91 (C-9).

- **4-fenilbenzoato de bornila (MF4)**



Sólido branco. Rendimento: 26,5% (57,3 mg). P.F.: 53,4-53,9. *R_f*: 0,62 (95:5). IV (KBr, cm^{-1}): RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 8,15$ (t, $J = 10,2\text{Hz}$, 1H, H-2'); 8,12 (t, $J = 1,84\text{ Hz}$, 1H, H-6'); 7,69 (t, $J = 1,84\text{ Hz}$, 1H, H-3'); 7,66 (t, $J = 1,88\text{Hz}$, 1H, H-5'); 7,64 – 7,62 (m, 1H, H-8'); 7,50 – 7,45 (m, 1H, H-9'); 7,50 – 7,45 (m, 1H, H-11'); 7,42-7,38 (m, 1H, H-10'); 5,15 (ddd, $J = 9,9; 3,4; 2,2\text{Hz}$, 1H, H-2); 2,54 – 2,49 (m, 1H, H-3a); 1,17 – 1,13 (m, 1H, H-3b); 1,76 (t, $J = 4,5\text{Hz}$, 1H, H-4); 1,86 – 1,79 (m, 1H, H-5a); 1,46 – 1,31 (m, 1H, H-5b); 2,20 – 2,14 (m, 1H, H-6a); 1,46 – 1,31 (m, 1H, H-6b); 0,99 (s, 3H, H-10); 0,91 (s, 3H, H-9); 0,91 (s, 3H, H-8). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 166,86$ (C=O), 145,66 (C-4'), 140,27 (C-7'), 130,17 (C-9', C-11'), 129,79 (C-1'), 129,08 (C-10'), 128,24 (C-8', C-12'), 127,43 (C-2', C-6'), 127,19 (C-3', C-5'), 80,09 (C-2), 49,27 (C-7), 48,05 (C-1), 45,17 (C-4), 37,09 (C-3), 28,26 (C-6), 27,58 (C-5), 19,70 (C-8), 19,08 (C-9), 13,78 (C-10).

• **3,5-di-*terc*-butil-4-hidroxibenzoato de bornila (MF5)**

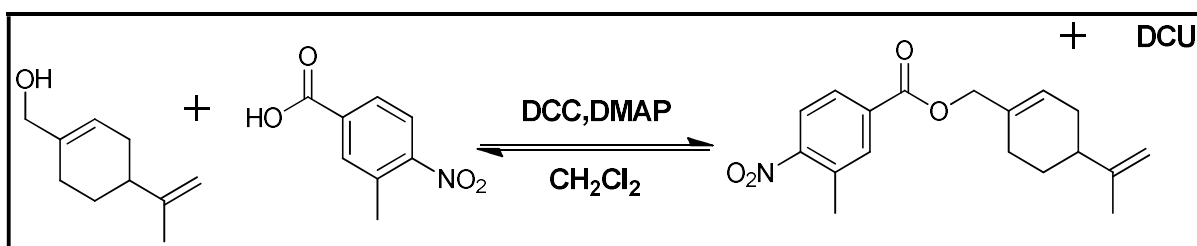


Sólido amarelo. Rendimento: 32,1% (80 mg). P.F.: 128,9-129,4. *R_f*: 0,53 (97:3). IV (KBr, cm^{-1}): 1698 (estiramento C=O); 1240 e 1152 (estiramento C-O); 3549 (estiramento C-OH). RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 7,94$ (s, 2H, H-2', H-6');

5,65 (s, 1H, OH); 5,06 (ddd, $J = 9,9; 3,3; 2,3$ Hz, 1H, H-2); 2,49-2,42 (m, 1H, H-3a); 2,16 – 2,10 (m, 1H, H-6a); 1,83 – 1,77 (m, 1H, H-5a); 1,72 (t, $J = 4,5$ Hz, 1H, H-4); 1,61 – 1,59 (m, 1H, H-6b); 1,47 (s, 18H, H-7', H-8'); 1,32-1,28 (m, 1H, H-5b); 1,1 (dd, $J = 13,8; 3,4$ Hz, 1H, H-3b); 0,97 (s, 3H, H-9); 0,91 (s, 3H, H-8); 0,91 (s, 3H, H-7). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 167,45$ (C=O), 158,14 (C-4'), 135,80 (C-5'), 127,09 (C-2', C-6'), 122,03 (C-1'), 80,09 (C-2), 49,20 (C-1), 47,98 (C-7), 45,21 (C-4), 37,23 (C-3), 34,51 (C-7', C-11'), 30,32 (C-7', C-8', C-9', C-12', C-13', C-14'), 28,23 (C-5), 27,55 (C-6), 19,89 (C-8), 19,18 (C-9), 13,77 (C-10).

6.2.2. Preparação dos ésteres MF6-MF9

O método utilizado foi através da reação de Steglich. O esquema geral se encontra abaixo (Esquema 8 e Esquema 9)



Esquema 8 – Reação de obtenção do éster MF6.

Fonte: Elaborado pela autora.

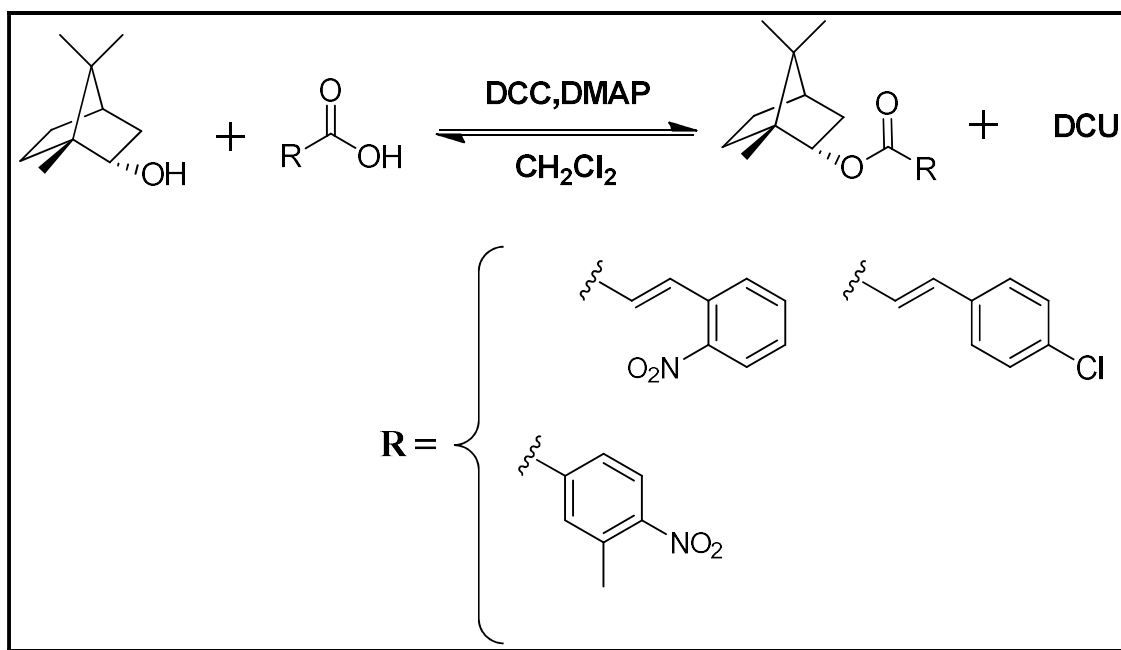
Procedimento geral de preparação do híbrido MF6

Foram adicionados, sob agitação magnética, em um balão de 50 mL, durante 5 minutos, 0,11 g (0,6568 mmol, 1,3 eq) do ácido 3-metil-4-nitrobenzoico, 0,080g (0,6568 mmol, 1,3 eq) de 4-(dimetilamino)-piridina (DMAP), 0,10mL do álcool perílico esse conteúdo foi dissolvido em 5,05 mL de diclorometano. Em seguida, 0,135 g (1,3 eq) de diciclohexilcarbodiimida (DCC) foi dissolvido em 7,57 mL de diclorometano e a solução foi adicionada lentamente ao meio reacional; As reações foram mantidas sob agitação magnética, a temperatura ambiente, durante 48 horas e o desenvolvimento da reação foi monitorado por CCDA utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções decrescentes (NEISES; STEGLICH, 1978).

Após a retirada do conteúdo reacional da agitação o mesmo foi filtrado para a retirada da DCU, pouco solúvel em diclorometano, foram necessárias três filtrações. O conteúdo foi vertido em funil de separação, onde foram adicionados

10 mL de água destilada e 10 mL de diclorometano, com posterior separação da fase orgânica. A fase aquosa foi tratada com 2 x 10 mL de diclorometano. A fase orgânica resultante foi tratada com 10 mL de uma solução de ácido clorídrico (HCl) à 0,5 N, em seguida, foi tratada com 10 mL de uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO₃) à 5% e com 10 mL de água destilada. A solução foi seca com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e rotaevaporada.

Após todo o processo de extração, as moléculas foram submetidas à purificação em coluna cromatográfica de silica gel 60, tendo como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila na proporção de 97:3 como fase móvel.



Esquema 9 - Reação para obtenção dos ésteres MF7, MF8 e MF9.

Fonte: Elaborado pela autora.

Procedimento geral de preparação dos híbridos MF7, MF8 e MF9

Foram adicionados, sob agitação magnética, em um balão de 50 mL, durante 5 minutos 0,6482 mmol (1,3 eq) do ácido orgânico, 0,0791 g (0,6482 mmol) de DMAP, 0,1 g do borneol e 5 mL de diclorometano. Em seguida, adicionou-se 7,5 mL de diclorometano e 0,1337 g (1,3 eq) do DCC, a solução foi adicionada lentamente; As reações foram mantidas sob agitação magnética, a temperatura ambiente, durante 48 horas e o desenvolvimento da reação foi monitorado por CCDA utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções decrescentes

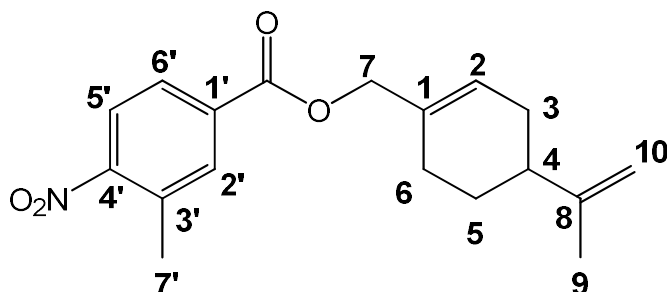
(NEISES; STEGLICH, 1978).

Após a retirada do conteúdo reacional da agitação o mesmo foi filtrado para a retirada da DCU, pouco solúvel em diclorometano, foram necessárias três filtrações. O conteúdo foi vertido em funil de separação, onde foram adicionados 10 mL de água destilada e 10 mL de diclorometano, com posterior separação da fase orgânica. A fase aquosa foi tratada com 2 x 10 mL de diclorometano. A fase orgânica resultante foi tratada com 10 mL de uma solução de ácido clorídrico (HCl) à 0,5 N, em seguida, foi tratada com 10 mL de uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) à 5% e com 10 mL de água destilada. A solução foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e rotaevaporada.

Após todo o processo de extração, as moléculas foram submetidas à purificação em coluna cromatográfica de sílica gel 60, tendo como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em diferentes proporções.

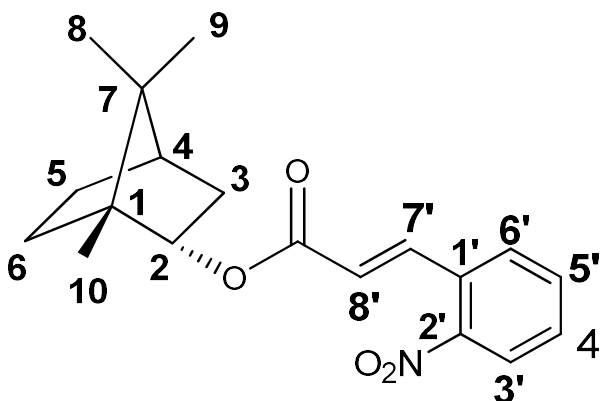
6.2.2.1. Dados espectroscópicos dos ésteres MF6-MF9

- 3-metil-4-nitrobenzoato de perila (MF6)



Óleo incolor. Rendimento: 26,7% (55,4 mg). IV (KBr, cm^{-1}): 1723 (estiramento C=O); 1526 e 1351 (estiramento NO_2); 1264 e 1193 (estiramento C-O). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8,03 – 8,02 (m, 1H, H-5'); 8,01-7,97 (m, 2H, H-2'); 8,01 – 7,97 (m, 1H, H-6'); 5,86 (sl, 1H, H-2); 4,74 – 4,72 (m, 2H, H-9); 2,63 (s, 3H, H-7'); 2,24 – 2,16 (m, 2H, H-6a, H-6b); 2,24 – 2,16 (m, 2H, H-3); 2,05 – 2,00 (m, 1H, H-4); 1,92 – 1,86 (m, 1H, H-5a); 1,74 (s, 3H, H-10'); 1,58 – 1,50 (m, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (100MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 164,60 (C=O), 151,79 (C-4'), 149,69(C-8), 134,50 (C-1), 134,10 (C-1'), 133,82 (C-2'), 133,34 (C-3'), 131,71 (), 128,46 (C-6'), 126,57 (C-2), 125,20 (C-5'), 109,07(C-10), 70,14(C-7), 40,96(C-4), 30,92 (C-2'), 28,15 (C-6), 26,73 (C-5), 21,63 (C-7'), 20,42 (C-9).

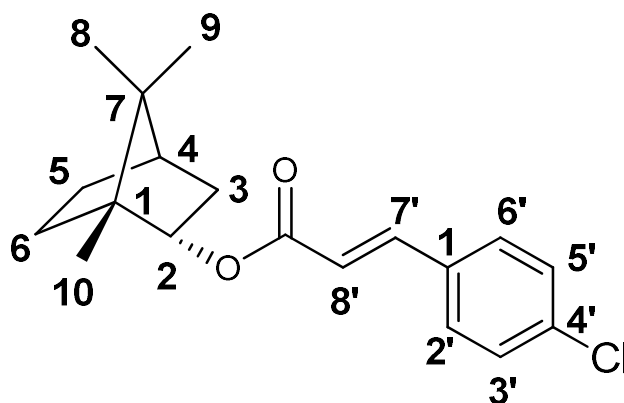
- 2-nitrobenzoato de bornila (MF7)



Sólido branco. Rendimento: 37,4% (62,7 mg), P.F.: 50.1-50.7°C. IV (KBr, cm^{-1}): 1714 (estiramento C=O); 1528 e 1360 (estiramento NO_2); 1293 e 1186 (estiramento C-O). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 8,06 (m, 1H, H-3'); 7,68 – 7,62 (m, 2H, H-4', H-7'); 7,55 – 7,51 (m, 1H, H-5'); 6,39 (d, $J=15,8\text{Hz}$, 1H, H-8'); 1,71 (t, $J=4,5\text{Hz}$, 1H, H-10').

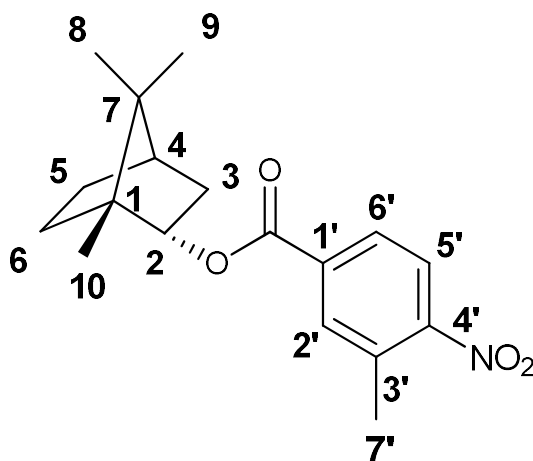
4); 5,02 (ddd, $J = 9,9; 3,5; 2,2$ Hz, 1H, H-2); 1,08 (dd, $J = 10,32; 3,48$ Hz, 1H, H-3b); 2,46 – 2,10 (m, 1H, H-3a); 1,39 – 1,24 (m, 1H, H-6b); 2,05 – 1,98 (m, 1H, H-6a); 1,81 – 1,74 (m, 1H, H-5); 0,95 (s, 3H, H-10); 0,89 (s, 3H, H-8); 0,88 (s, 3H, H-9). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 166,24$ (C=O), 148,43 (), 139,68, 133,62, 130,95, 130,32, 129,29, 125,15, 123,95, 80,73, 49,12, 48,11, 45,08, 36,96, 28,18, 27,35, 19,98, 19,01, 13,69 ().

• **4-clorobenzoato de bornila (MF8)**



Sólido branco. Rendimento: 52% (87,8 mg). P.F.: 87,3-84,2°C. IV (KBr, cm^{-1}): 1707 (estiramento C=O); 823 (estiramento C-Cl); 1313 e 1090 (estiramento C-O). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 7,61 (d, $J = 16\text{Hz}$, 1H); 7,48 (m, 1H, H-2', H-6'); 7,37 (m, 1H, H-5'); 7,36 (m, 1H, H-3'); 6,44 (d, $J = 16\text{Hz}$, 1H, H-8'); 5,04 (sl, 1H, H-2); 2,45 – 2,37 (m, 1H, H-3); 2,06 – 1,99 (m, 1H, H-6a); 1,81 – 1,74 (m, 1H, H-6b); 1,72 (t, $J = 4,5\text{Hz}$, 1H, H-4); 1,61 (s, 1H); 1,25 (s, 1H); 1,05 (dd, $J = 10,48; 3,52$ Hz, 1H); 0,94 (s, 3H); 0,89 (s, 3H); 0,87 (s, 3H). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): $\delta(\text{ppm}) = 167,23$ (C=O), 142,90 (C-6'), 136,18 (C-4'), 133,28 (C-1'), 129,35 (C-2'), 129,28 (C-3'), 119,53 (C-8'), 80,33 (C-2); 49,10; 48,02 (C-1), 45,10 (C-4), 37,00 (C-3), 29,84 (C-6), 28,33 (C-5), 27,38 (C-), 19,88 (C-8), 19,03 (C-9), 13,70 (C-10).

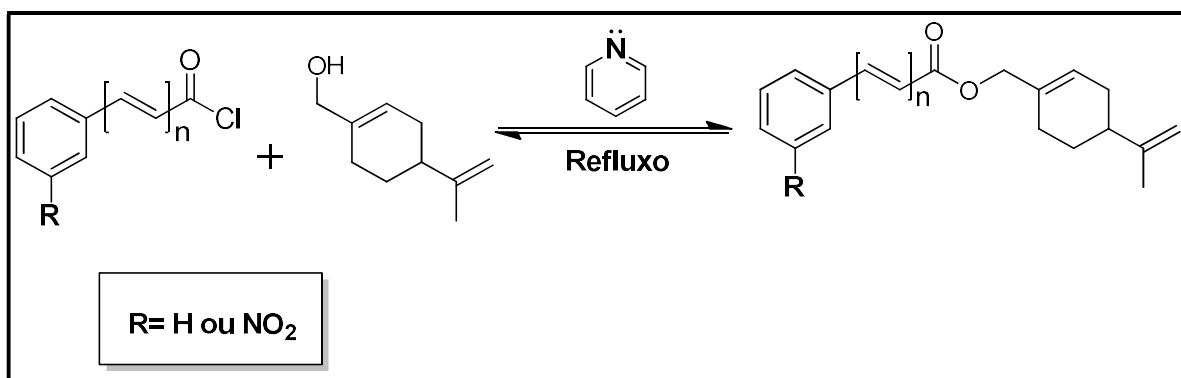
• **3-metil-4-nitrobenzoato bornila (MF9)**



Sólido amarelo. Rendimento: 34,26% (60,4 mg). P.F.: 115,9-116,8°C. IV (KBr, cm^{-1}): 1716 (estiramento C=O); 1521 e 1344 (estiramento NO_2); 1314 e 1128 (estiramento C-O). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 8,01 – 8,00 (m, 1H, H-5'); 7,98 (t, J = 1,8 Hz, 1H, H-2', H-6'); 5,13 (ddd, J = 9,9; 3,5; 2,2 Hz, 1H, H-2); 2,64 (s, 3H, H-7'); 2,52 – 2,44 (m, 1H, H-3a); 2,10 – 2,03 (m, 1H, H-6a); 1,76 (t, J = 4,5 Hz, 1H, H-4); 1,47 – 1,39 (m, 1H, H-6b); 1,85 – 1,78 (m, 1H, H-5a); 1,34 – 1,28 (m, 1H, H-5b); 1,12 (dd, J = 13,9; 3,5 Hz, 1H, H-3b); 0,97 (s, 3H, H-10); 0,82 (s, 6H, H-8, H-9). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 165,20 (C=O), 151,87 (C-4'), 134,59 (C-1'), 133,98 (C-2'), 133,59 (C-3'), 128,07 (C-6'), 124,70 (C-5'), 81,74 (C-2), 49,29 (C-7), 48,10 (C-1), 45,04 (C-4), 36,96 (C-3), 28,20 (C-6), 27,52 (C-5), 20,30 (C-8), 19,83 (C-9), 19,02 (C-7'), 13,76 (C-10).

6.2.3. Preparação dos ésteres MF10 e MF11

O método utilizado foi a reação de Schotten-Baumann. De acordo com os esquemas reacionais descritos abaixo (esquema 10):



Esquema 10 - Reação de obtenção dos ésteres MF10 e MF11.

Fonte: Elaborado pela autora.

Procedimento de preparação dos ésteres MF10 e MF11

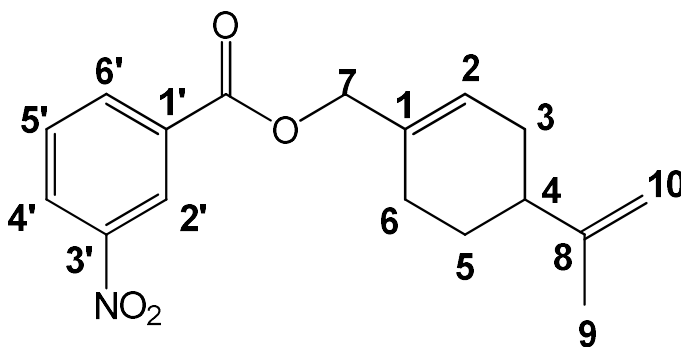
Em um balão de 50 mL, 0,6569 mmol do cloreto ácido correspondente e 0,1g do álcool perílico (0,6569 mmol), foram dissolvidos com 3 mL de piridina. A mistura reacional ficou sob agitação magnética, em refluxo, entre 3-6 horas. O desenvolvimento da reação foi monitorado por CCDA utilizando como eluente uma mistura de hexano e acetato de etila em proporções decrescentes.

O conteúdo foi vertido em funil de separação, onde foram adicionados 3 x 10 mL de HCl para neutralizar a piridina e 10 mL de acetato, com posterior separação da fase orgânica. A fase aquosa foi tratada com 2 x 10 mL de acetato. A fase orgânica resultante foi tratada com 10 mL de uma solução de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) à 5% e com 10 mL de água destilada. A solução foi seca com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e rotaevaporada (NEISES; STEGLICH, 1978).

O resíduo foi purificado em coluna cromatográfica de silica gel 60 como fase estacionária e uma mistura entre hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade.

6.2.3.1. Dados espectroscópicos do éster MF10 e MF11

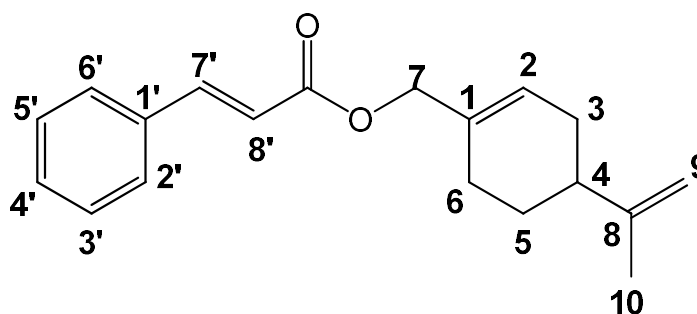
- 3-nitrobenzoato de cinamoíla (MF10)



Óleo incolor. Rendimento: 22,5% (47,8 mg). IV (KBr, cm^{-1}): RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ (ppm)= 8,86 (s, 1H, H-2'); 8,41 (ddd, $J=8.2, 2.3, 1.1$ Hz, 1H, H-4'); 8,38-8,36 (m, 1H, H-6'); 7,65 (t, $J=$ Hz, 1H, H-5'); 5,88 (s, 1H, H-2); 4,77 (s, 2H, H-7); 4,74 – 4,72 (m, 2H, H-9); 2,06 – 1,96 (m, 1H, H-4); 2,22-2,17 (m, 2H, H-6a, H-6b); 2,22 – 2,17 (m,

2H, H-3a, H-3b); 1,91 – 1,87 (*m*, 1H, H-5a); 1,74 (*s*, 3H, H-10); 1,54 – (*m*, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 164,50 (C=O), 149,53 (C-8), 148,47 (C-3'), 135,44 (C-6'), 132,33 (C-1'), 132,25 (C-1), 129,73 (C-5'), 127,48 (C-2'), 126,94 (C-4'), 124,72 (C-2), 109,04 (C-9), 69,99 (C-7), 40,89 (C-4), 30,63 (C-3), 27,43 (C-5), 26,65 (C-6), 20,88 (C-10).

- **Cinamato de perila (MF11)**



Óleo incolor. Rendimento: 28% (49 mg). IV (KBr, cm^{-1}): 2960 (C-H sp^3); 1726 (estiramento C=O); 1529 e 1352 (estiramento NO_2); 1286 e 1195 (estiramento C-O). RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 7,70 (*d*, $J = 16$ Hz, 1H, H-7'); 7,53 – 7,51(*m*, 2H, H-2', H-6'); 7,38 – 7,37 (*m*, 3H, H-3', H-5'); 6,47 (*d*, $J = 16$ Hz, 1H, H-8'); 5,82 (*s*, 1H, H-2); 4,73 (*d*, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-9); 4,62 (*s*, 2H, H-7); 2,20 – 2,13 (*m*, 4H, H-3a, H-3b, H-6); 2,04 – 2,00 (*m*, 1H, H-4); 1,89 – 1,85 (*m*, 1H, H-5a); 1,75 (*s*, 3H, H-10); 1,54 – 1,49 (*m*, 1H, H-5b). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ (ppm) = 167,09 (C=O), 149,75 (C-8), 144,96 (C-7'), 134,61 (C-1), 132,89 (C-5'), 130,29 (C-4'), 129,02 (C-1'), 128,22 (C-2'), 125,94 (C-3'), 118,29 (C-8'), 108,93 (C-9), 68,66 (C-7), 41,02 (C-4), 30,66 (C-3), 27,51 (C-5), 26,62 (C-6), 20,90 (C-10).

6.3. Testes de avaliação da atividade antifúngica

6.3.1. Local de Trabalho

Os ensaios biológicos de avaliação da atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba (CCS/UFPB).

6.3.2. Produtos testados

Os produtos foram submetidos a ensaios biológicos para testes de avaliação da atividade antifúngica sobre cepas de fungos leveduriformes. Os mesmos foram solubilizados em 400 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e em seguida em água destilada e esterilizada (quantidade suficiente para 1,0 mL) obtendo-se uma solução em que a concentração inicial, na primeira linha da placa de microdiluição foi de 1000 µg/mL das substâncias testadas. (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

6.3.3. Meio de cultura

O meio de cultura utilizado nos ensaios de avaliação da atividade antifúngica foi o Caldo Sabouraud Dextrose (ASD), da Kasvi, preparado segundo as normas do fabricante.

6.3.4. Microrganismos

Para os testes de avaliação da atividade antifúngica foram utilizadas as seguintes cepas: *Candida albicans* CBS 562; *Candida krusei* CBS 573 e *Candida tropicalis* 207. Os microrganismos pertencem ao laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (CCS/UFPB).

6.3.5. Ajuste do Inóculo

Para a reativação dos microrganismos, os mesmos foram inoculados em meio de cultura estéril (ASD), incubados por 24 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. A quantidade de leveduras para a realização dos testes foi ajustada da seguinte maneira: utilizando a absorbância (lida em espectrofotômetro) do inóculo inicial, detectou-se o volume (em µL) necessário deste inóculo, que foi submetido a posterior diluição em meio ASD e obtenção de um inóculo ajustado com concentração de $2,5 \times 10^3$ UFC/mL (PEIXOTO

et al., 2017).

6.3.6. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos produtos testados

A Concentração Inibitória Mínima das substâncias avaliadas foi realizada utilizando a técnica de Microdiluição em placa de 96 poços com fundo em –U; de acordo com o previsto pelo CLSI (Instituto de Padrões para Laboratório Clínico), (2002). Inicialmente foram distribuídos 100 µL do caldo sabouraud dextrose (ASD) duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da solução dos produtos preparados foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. Por meio de uma diluição seriada a uma razão 1:2, foi obtida concentrações de 1000 µg/mL até 7,8 µg/mL. Por fim, foi adicionado 100 µL do inóculo da cepa fúngica em cada orifício das placas. Em paralelo foram realizados os controles: controle do meio (ASD), controle dos microrganismos (ASD + inóculo), controle para as substâncias (ASD + 50µL de cada produto). Para comprovação da viabilidade do meio, do microrganismo e das substâncias. As placas foram fechadas e submetidas a uma temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. A nistatina foi utilizada como controle positivo na concentração de 0,4 µg/mL.

Após o período de incubação foi adicionado a cada poço, 50 µL de cloreto de trifeniltetrazólio (TCT) a 1% (Sigma-Aldrich®), um indicador colorimétrico de óxido- redução para fungos. As placas foram incubadas novamente $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas (GRABE, 1976; DESWAL; CHAND, 1997; DUARTE *et al.*, 2005).

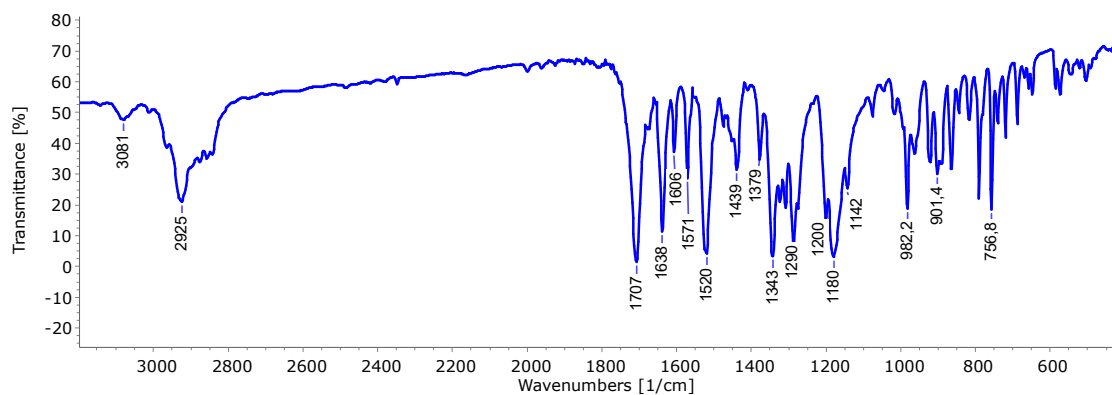
A CIM foi definida como a menor concentração capaz de produzir uma inibição visível do crescimento fúngico observado através da coloração vermelha nas cavidades, quando comparado ao controle. Os testes foram realizados em triplicatas. A atividade antifúngica dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou inativa conforme os seguintes critérios: < abaixo de 500 µg/mL = forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL = moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL = fraca atividade ou produto inativo (SARTORATTO *et al.*, 2004; BALOUIRI; SADIKI; IBNSOUDA, 2016).

6.3.7. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos produtos testados

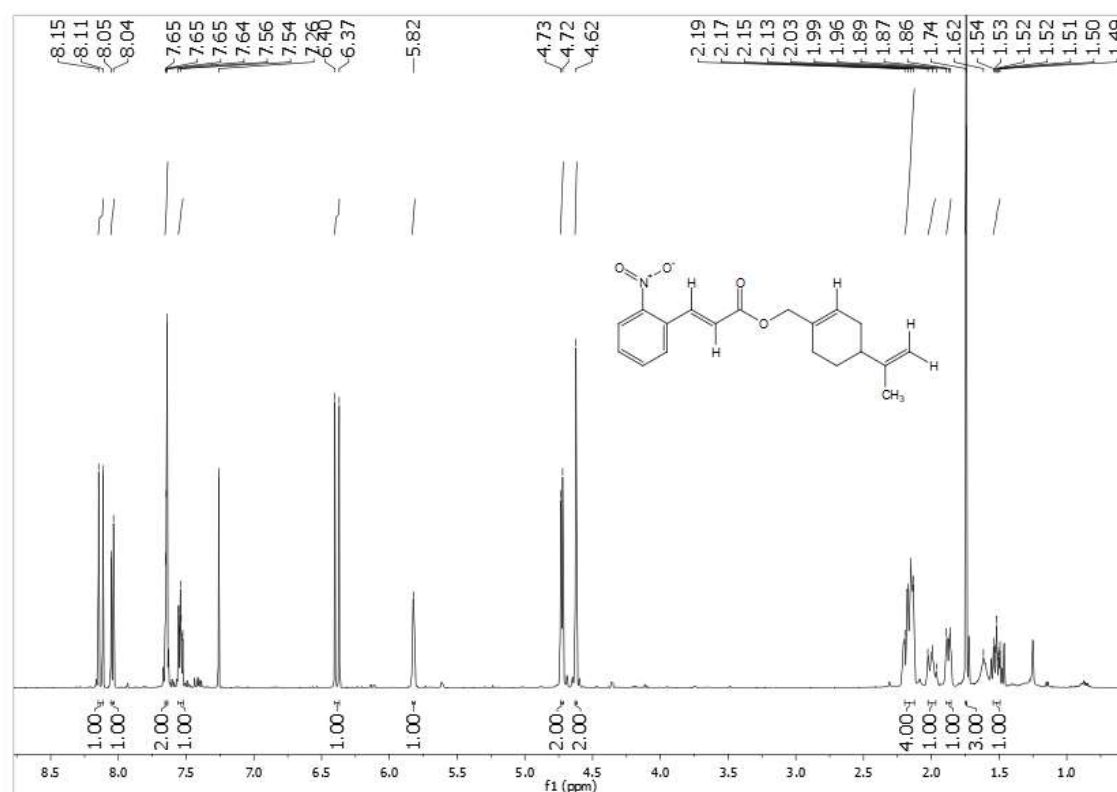
A determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM) das substâncias foi realizada após leitura da CIM. Foram retiradas três alíquotas de 30 µL do sobrenadante dos orifícios onde foi observado completa inibição do crescimento fúngico e semeadas em placas de petri contendo 15 mL de Ágar Sabouraud. A incubação foi a 35 ± 2 °C por 24 horas. A CFM foi definida como a menor concentração que inibiu visualmente o crescimento fúngico em meio sólido (PEIXOTO, et al, 2017).

A relação entre CFM/CIM foi calculada para determinar se as substâncias são fungistática ($CFM/CIM \geq 4$) ou fungicida ($CFM/CIM < 4$) (PEIXOTO et al, 2017).

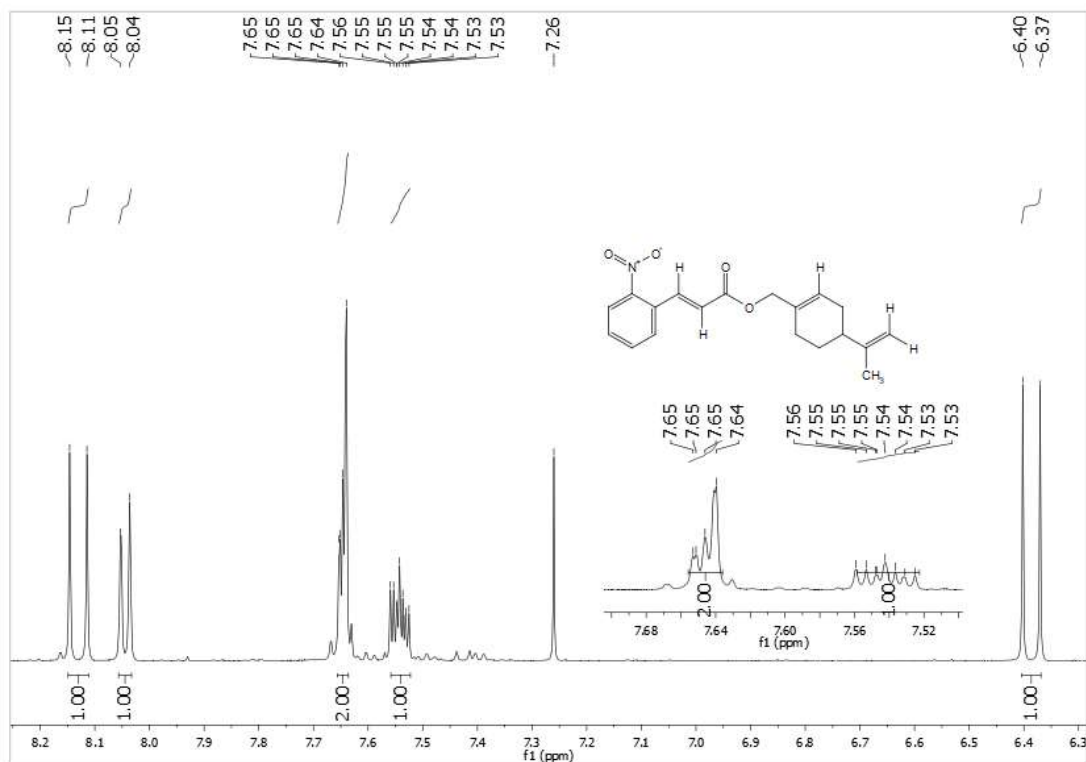
ESPECTROS REFERENTES AOS COMPOSTOS OBTIDOS



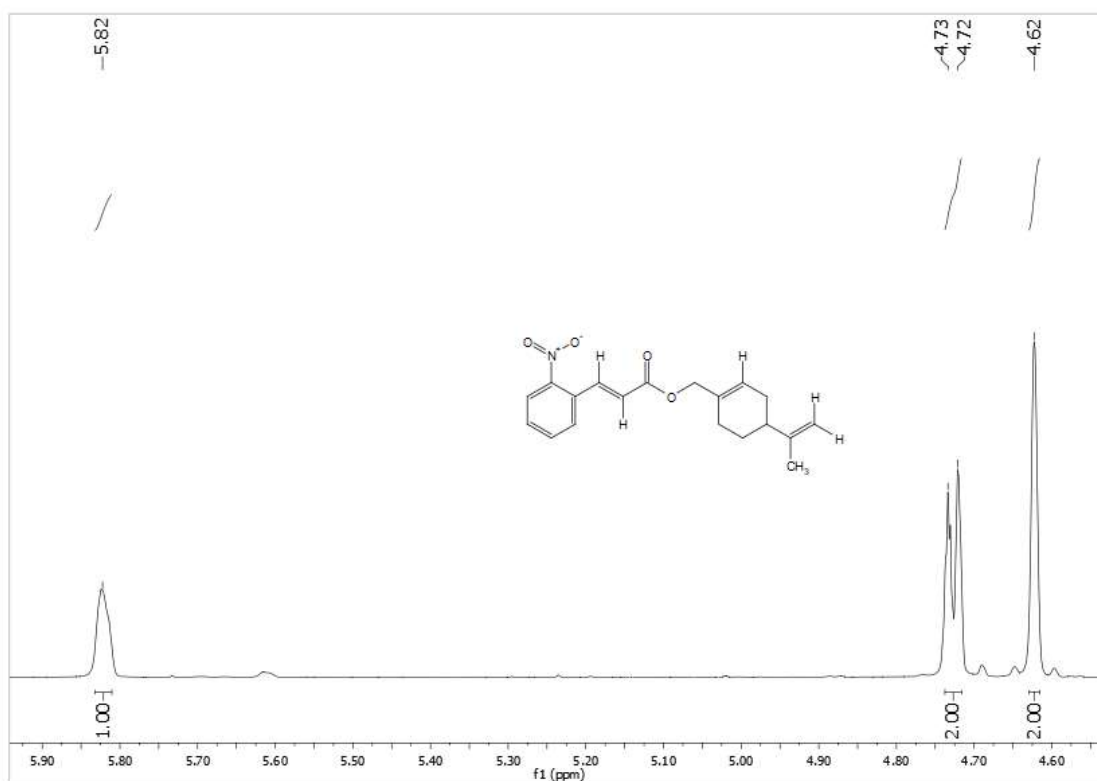
Espectro 1 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 2-nitrocinamato de perila (MF1)



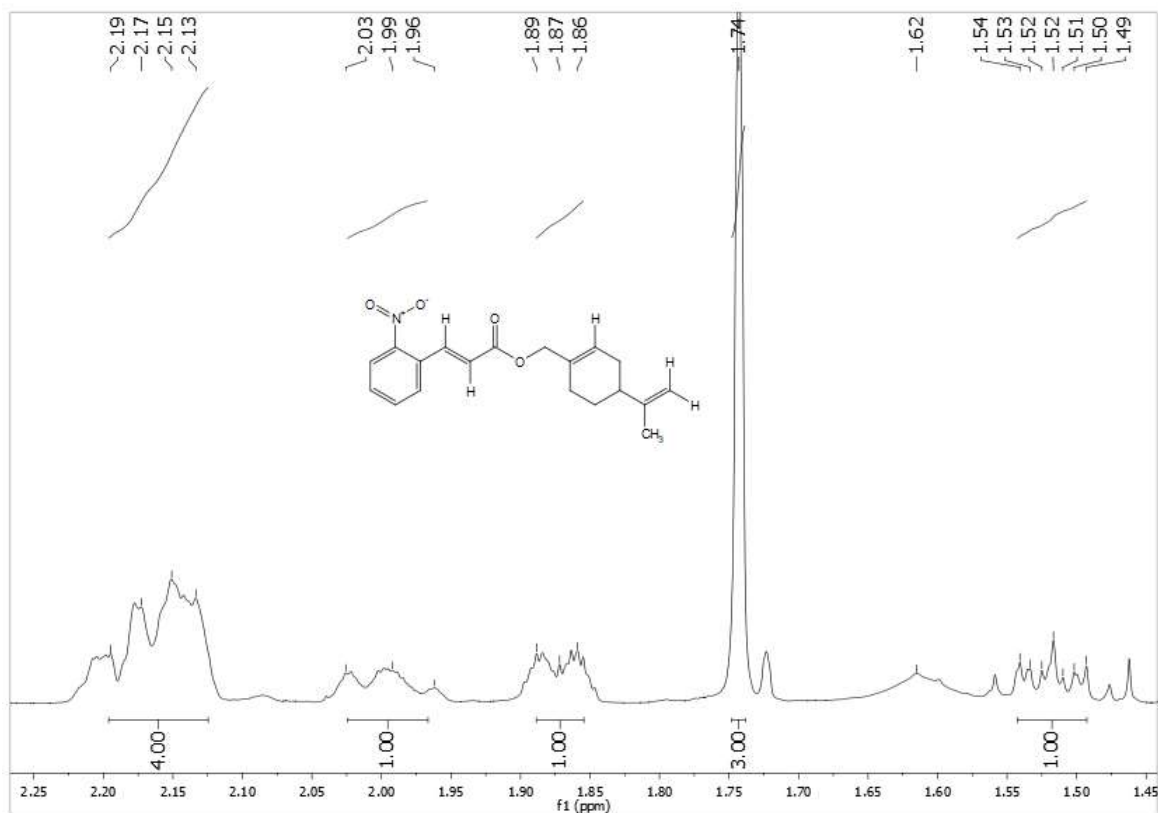
Espectro 2 - Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) do 2-nitrocinamato de perila (MF1).



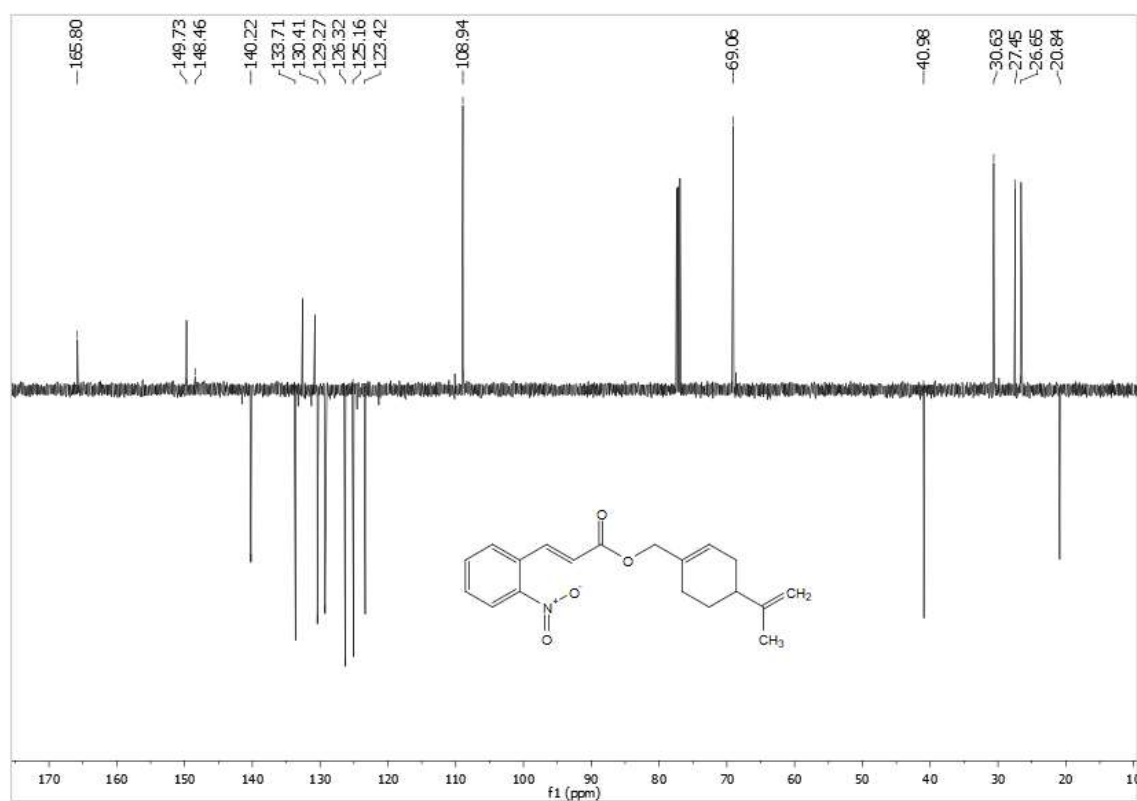
Espectro 3 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) do 2 - nitrocinamato de perila (**MF1**).



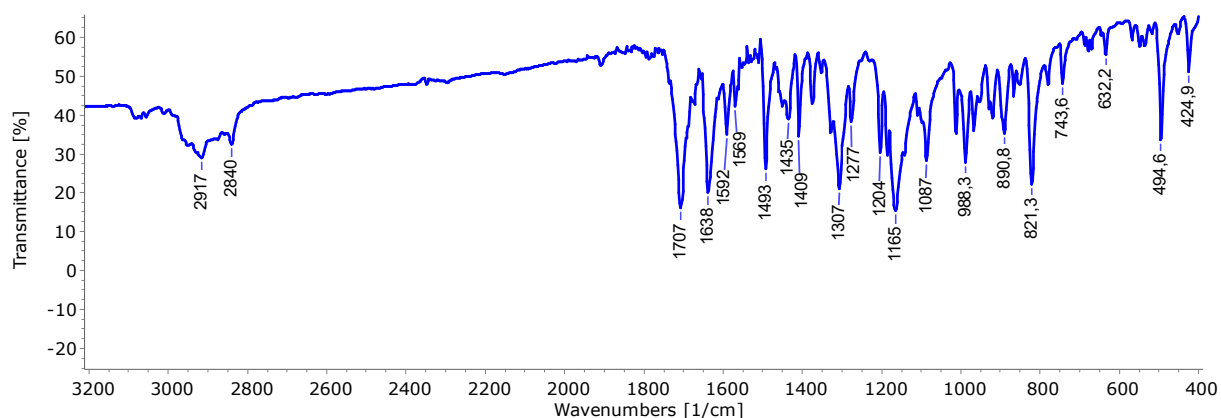
Espectro 4 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2 - nitrocinamato de perila (**MF1**).



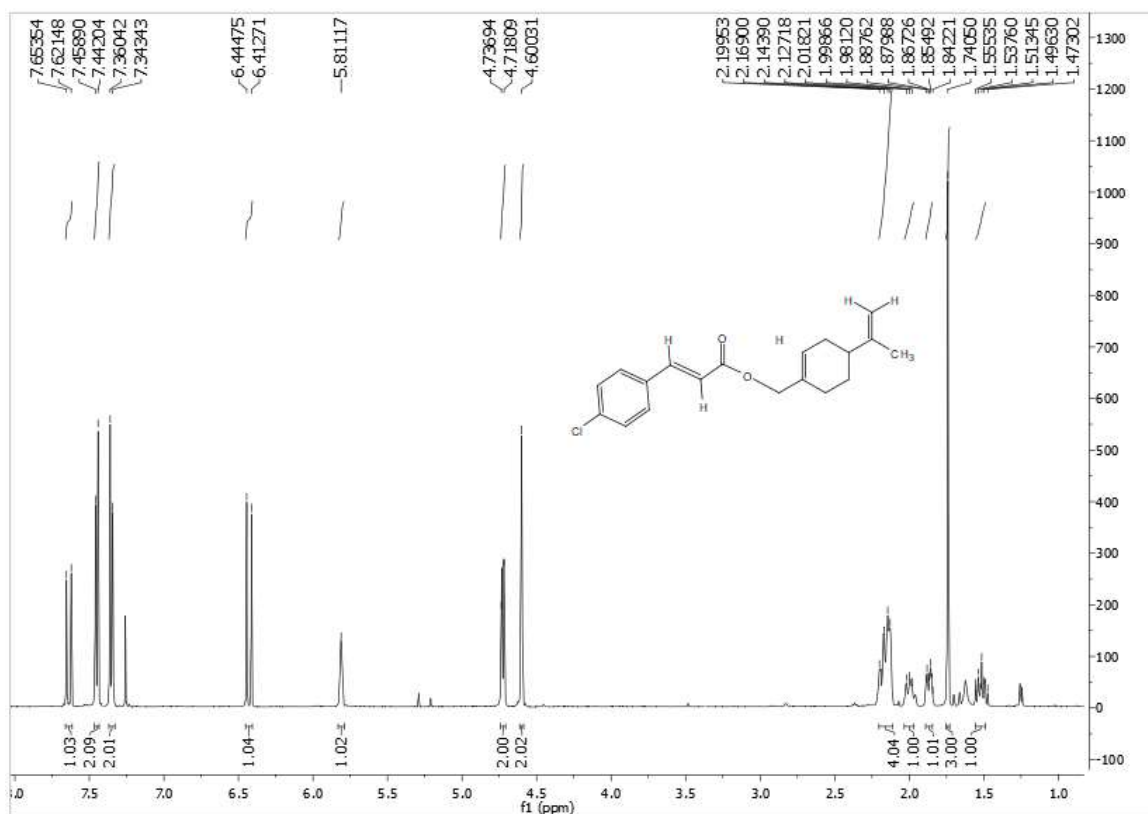
Espectro 5 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2 - nitrocinamato de perila (**MF1**).



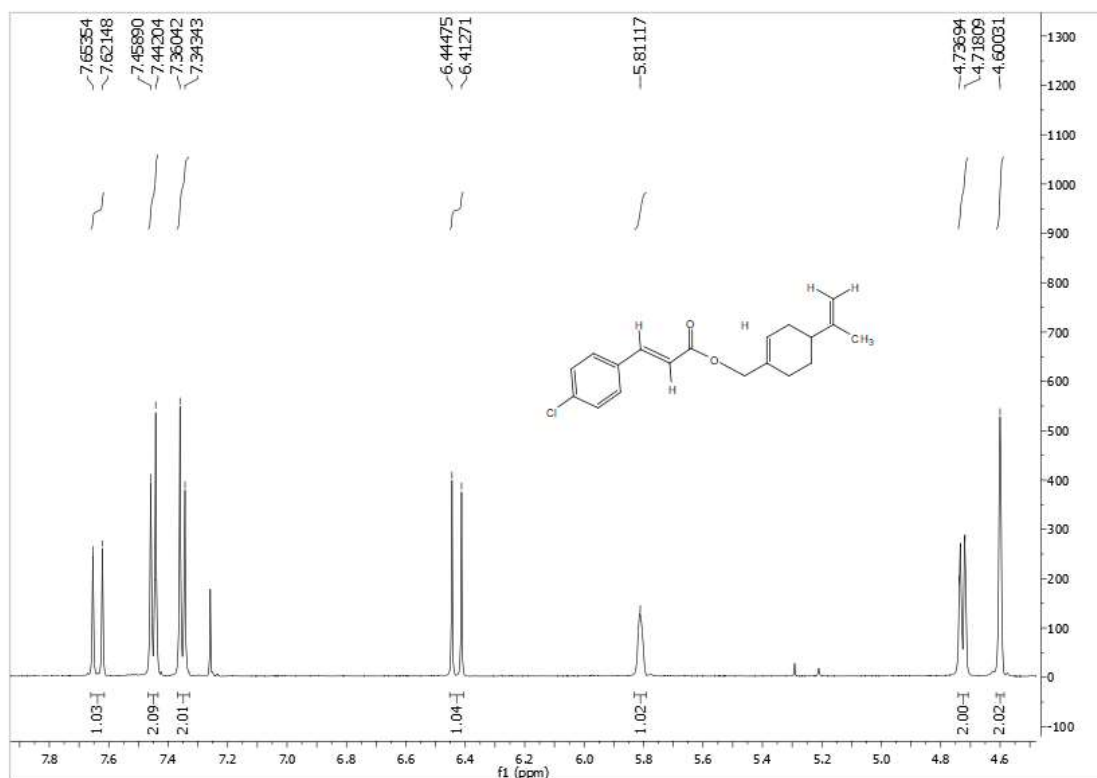
Espectro 6 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 2 – nitrocinamato de perila (**MF1**).



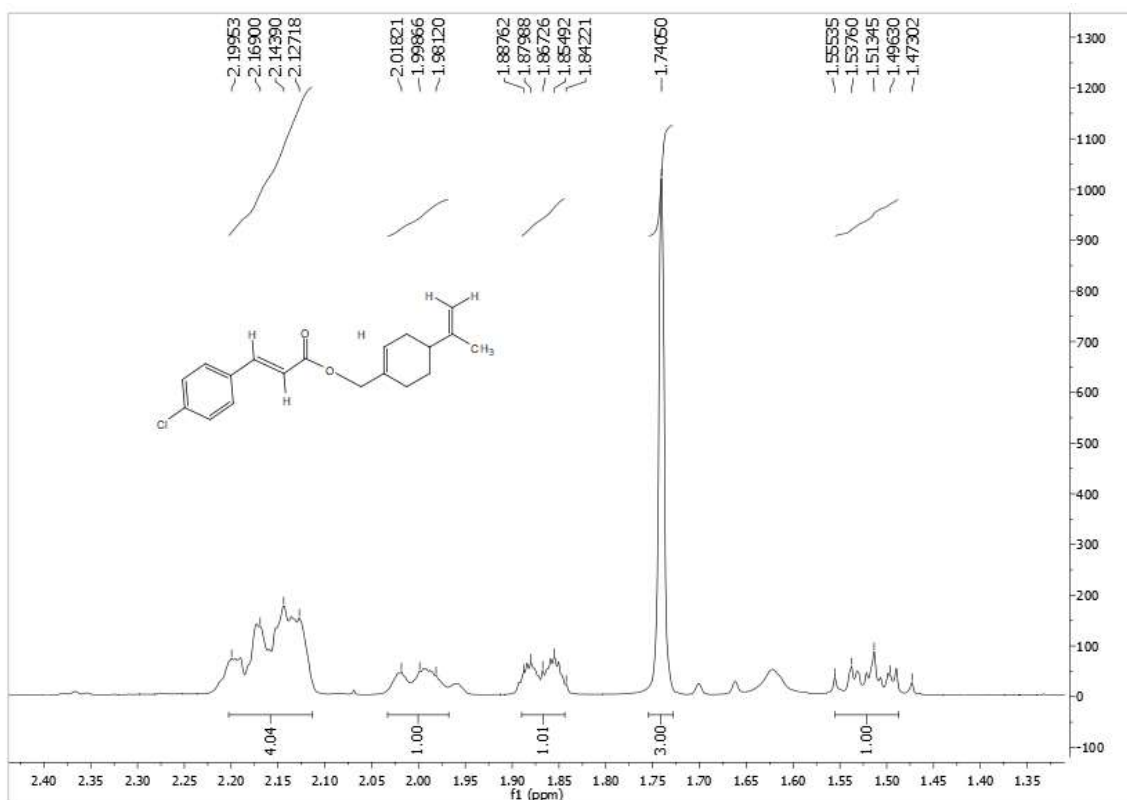
Espectro 7 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-clorocinamato de perila (**MF2**).



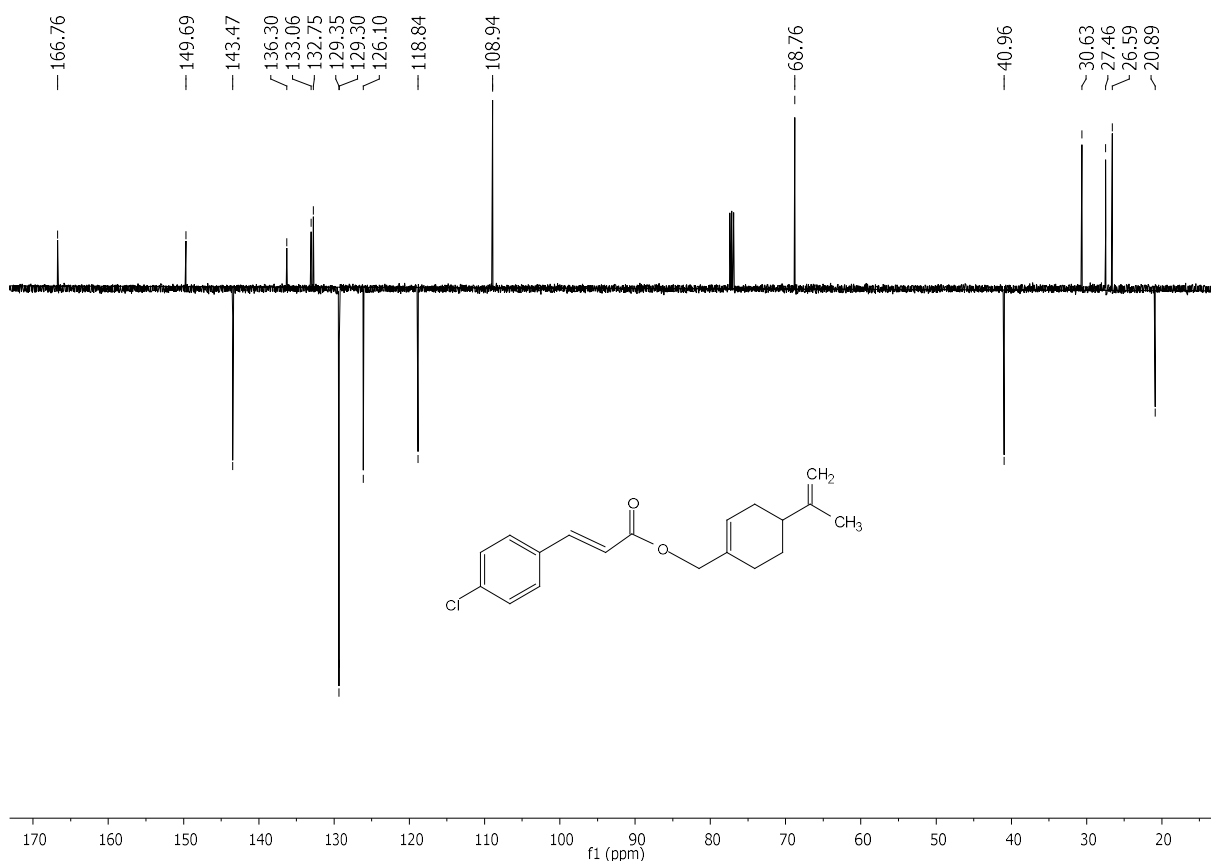
Espectro 8 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) 4-clorocinamato de perila (**MF2**).



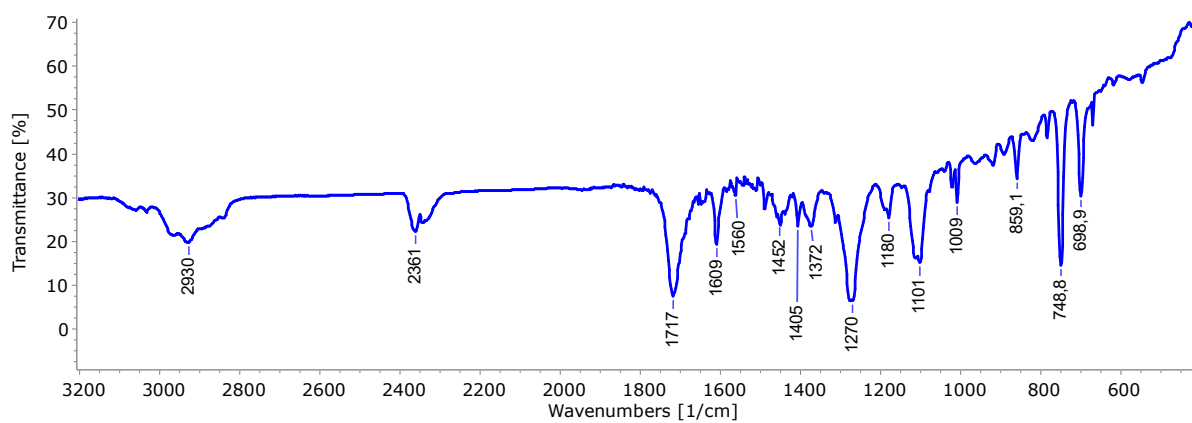
Espectro 9 – Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de perila (**MF2**).



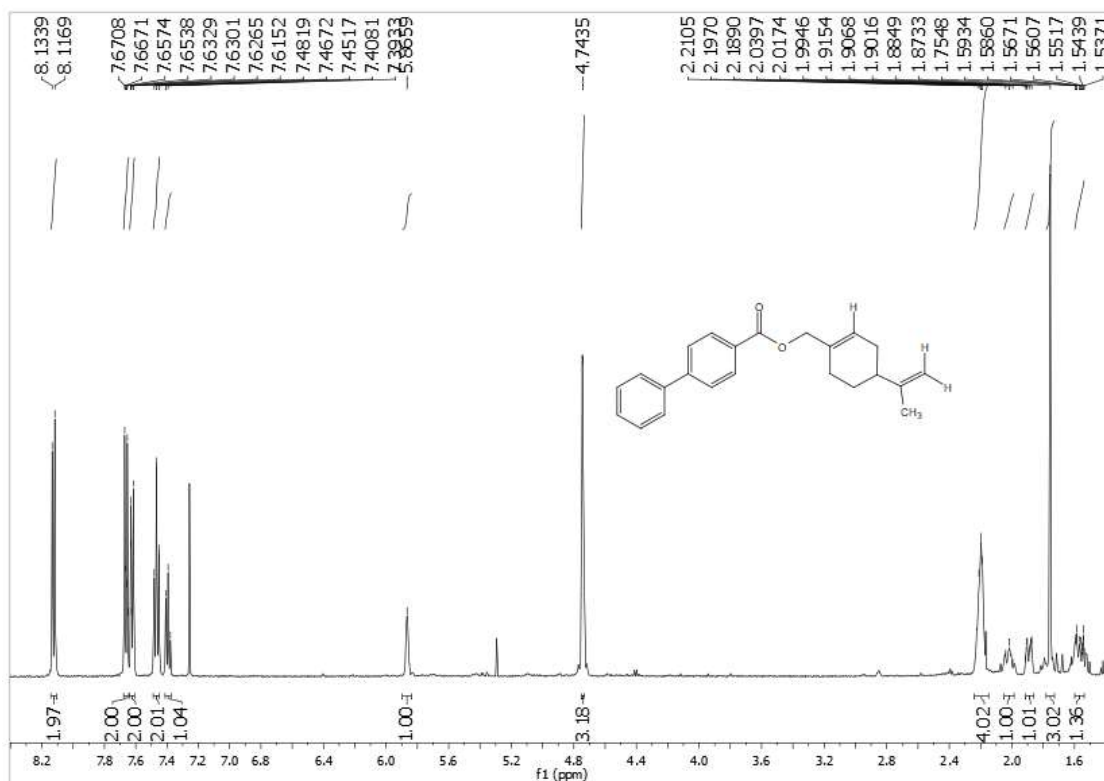
Espectro 10 – Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de perila (**MF2**).



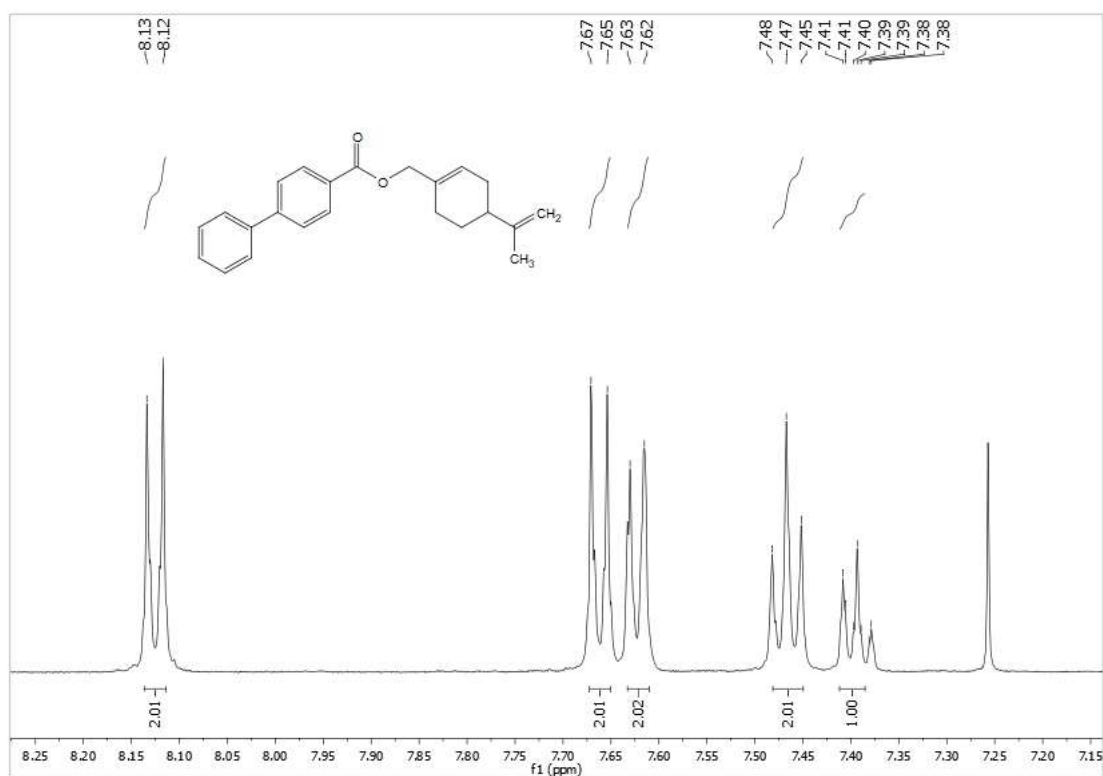
Espectro 11 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de perila (MF2).



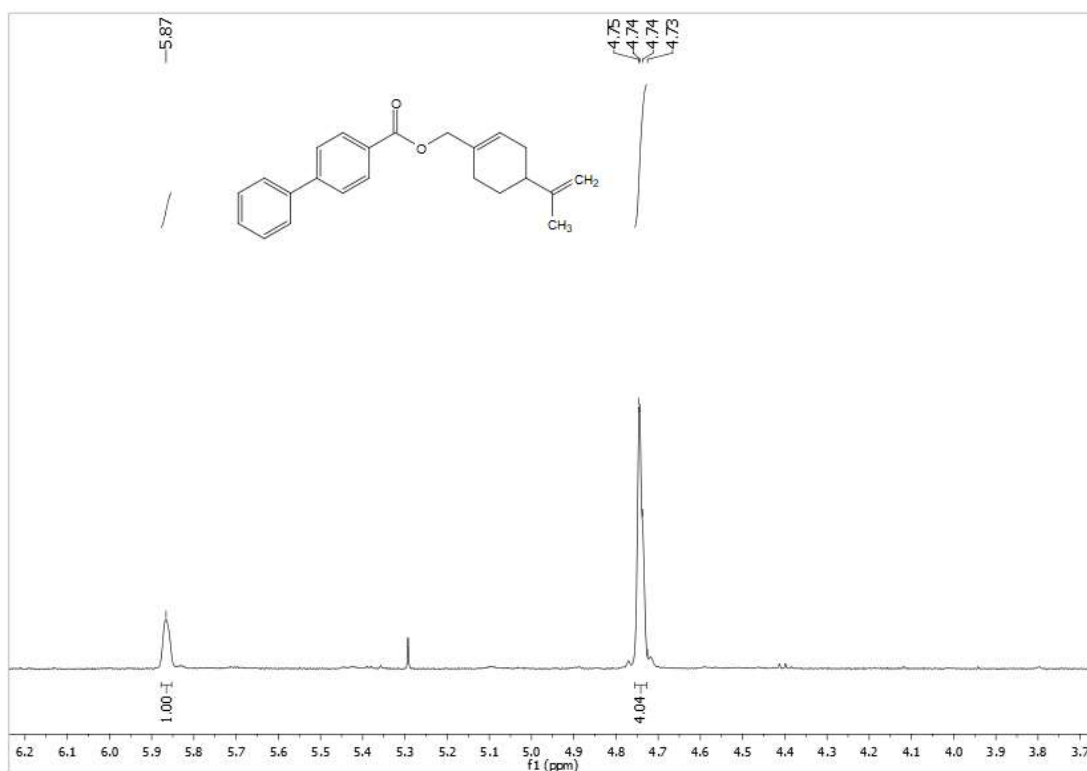
Espectro 12 – Espectro de Infravermelho (KBr cm⁻¹) do 4-bifenilbenzoato de perila (MF3).



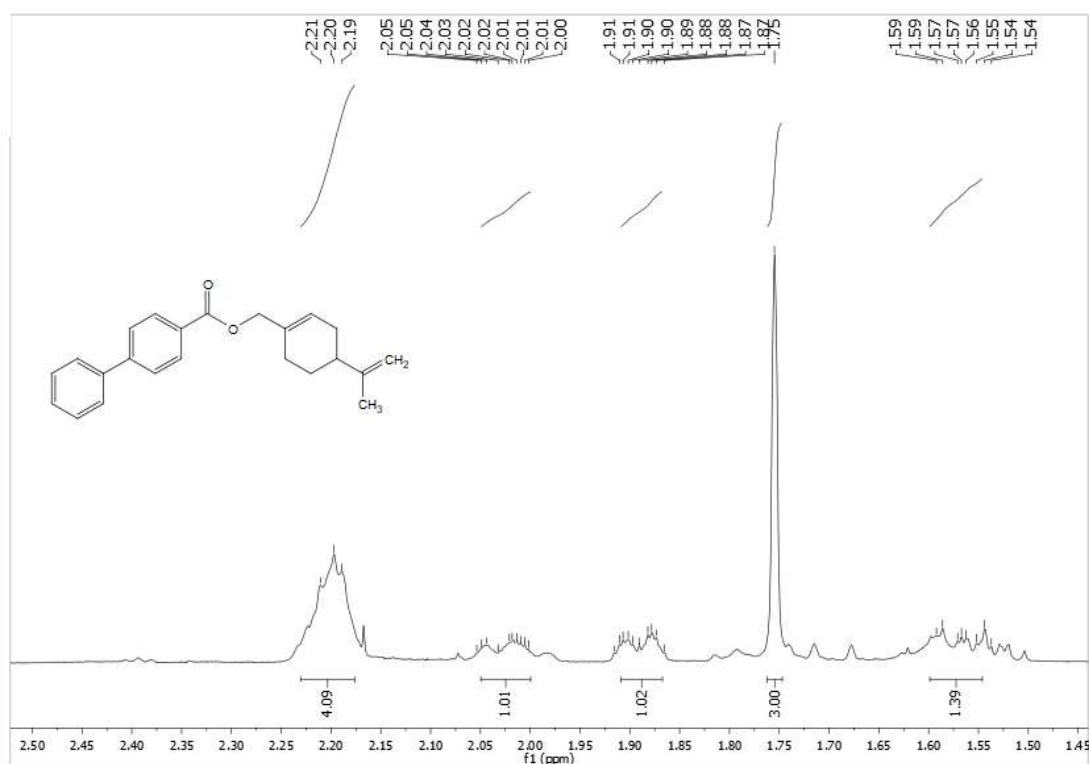
Espectro 13 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 4-bifenilbenzoato de perila (MF3).



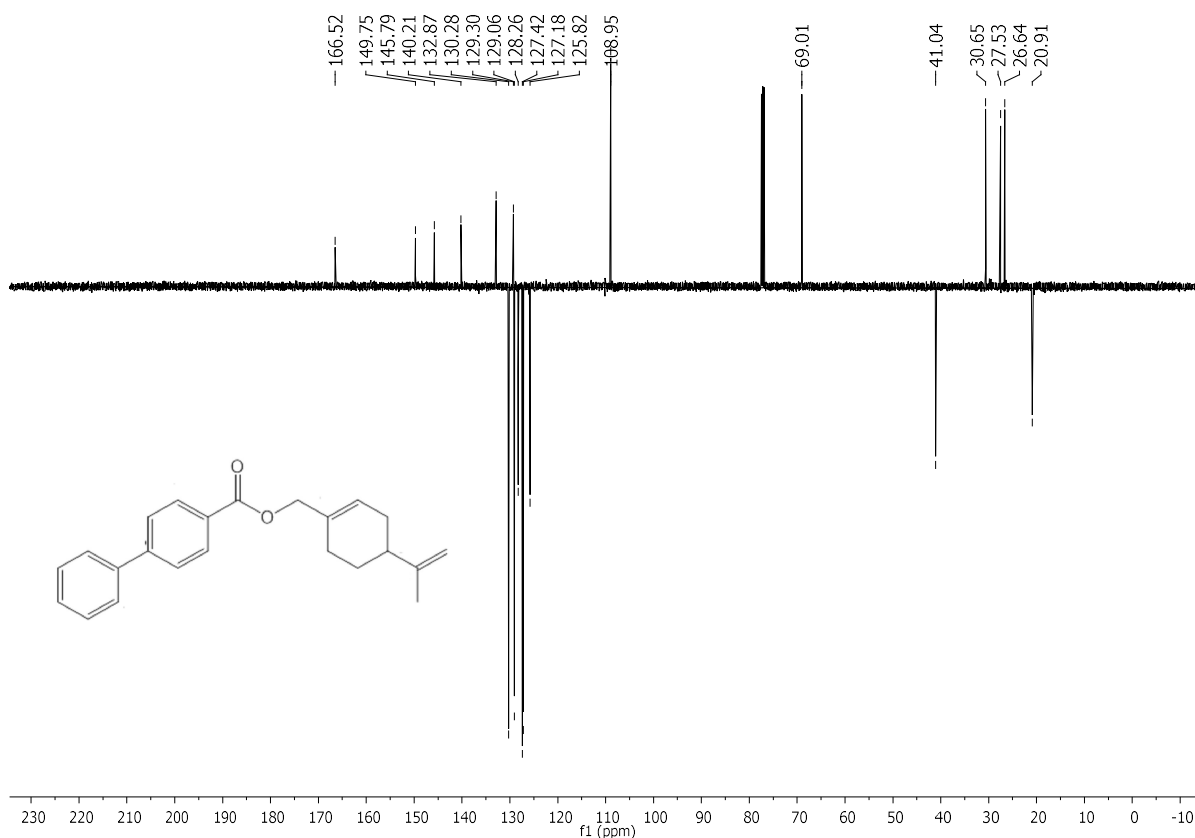
Espectro 14 – Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 4-fenilbenzoato de perila (MF3).



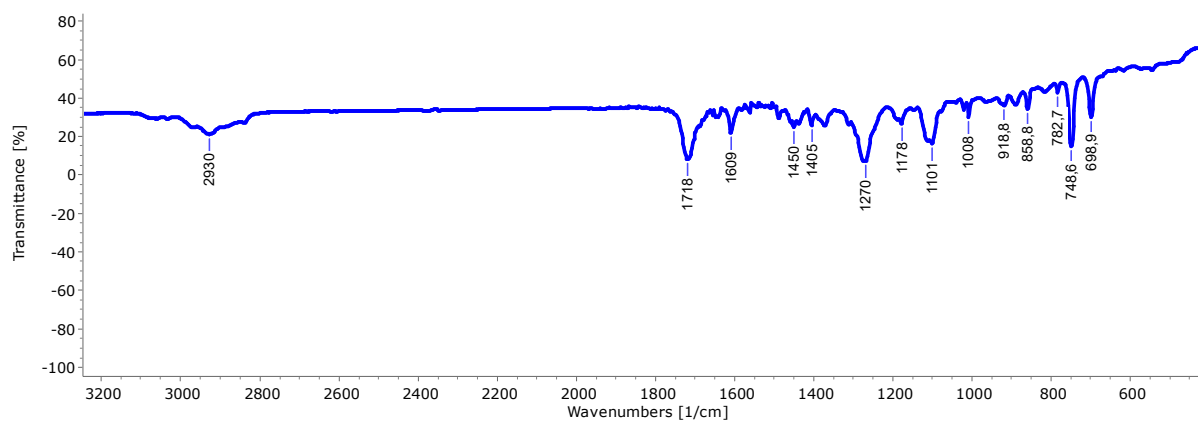
Espectro 15 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 4-bifenilbenzoato de perila (**MF3**)



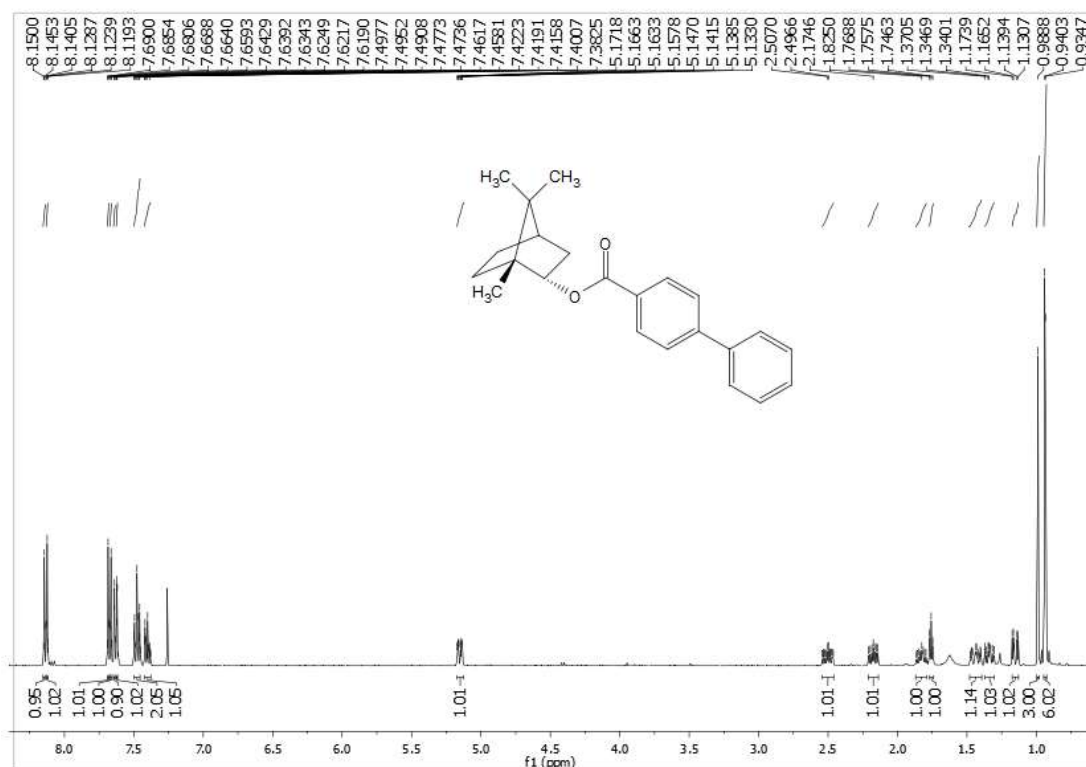
Espectro 16 – Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) do 4-bifenilbenzoato de perila (**MF3**)



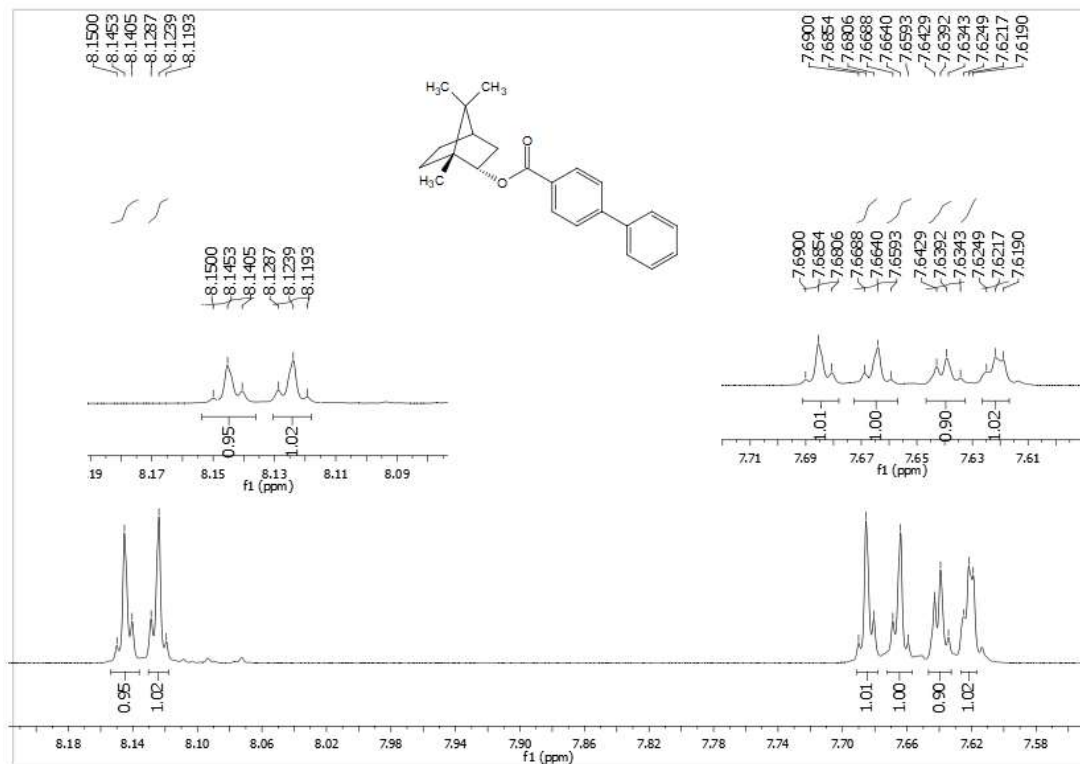
Espectro 17 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 4-bifenilbenzoato de perila (MF3)



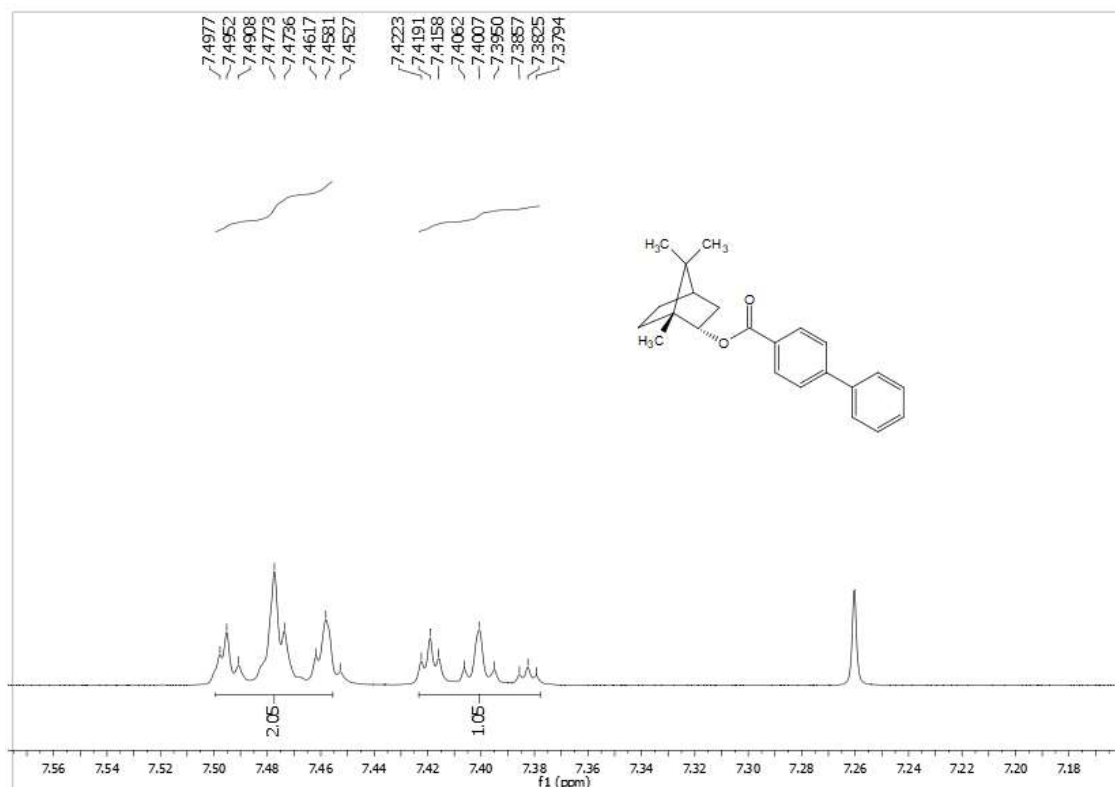
Espectro 18 – Espectro de Infravermelho (KBr cm⁻¹) do 4-fenilbenzoato de bornila (MF4).



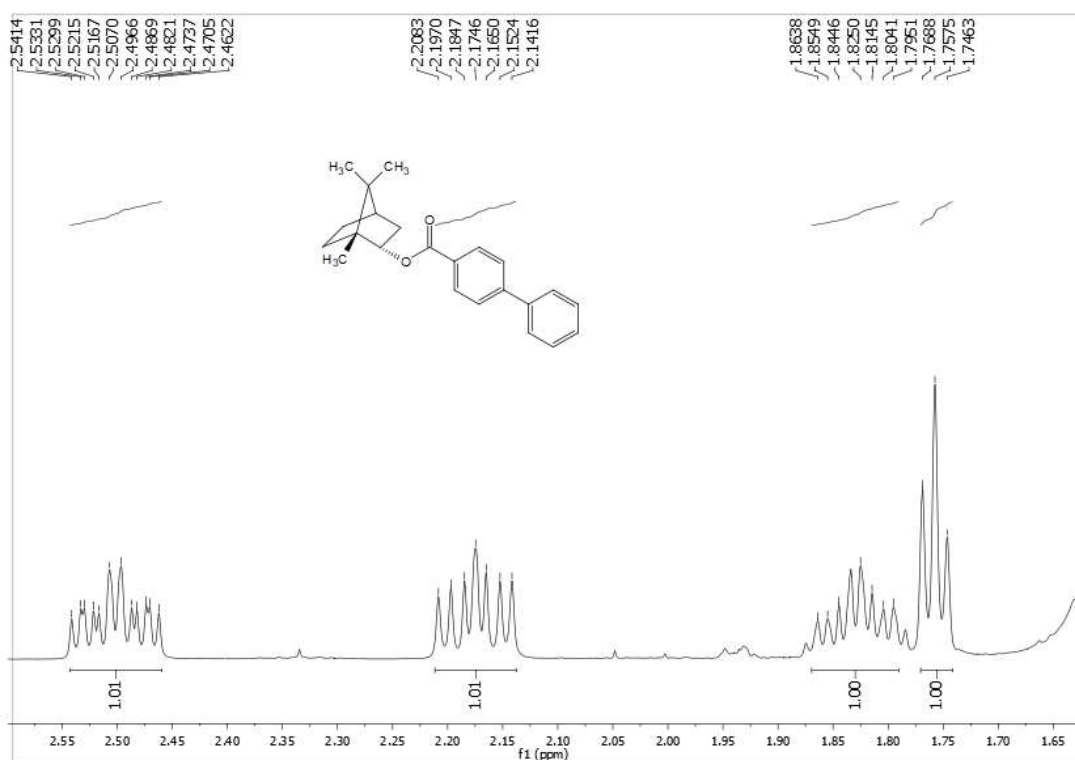
Espectro 19 – Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4).



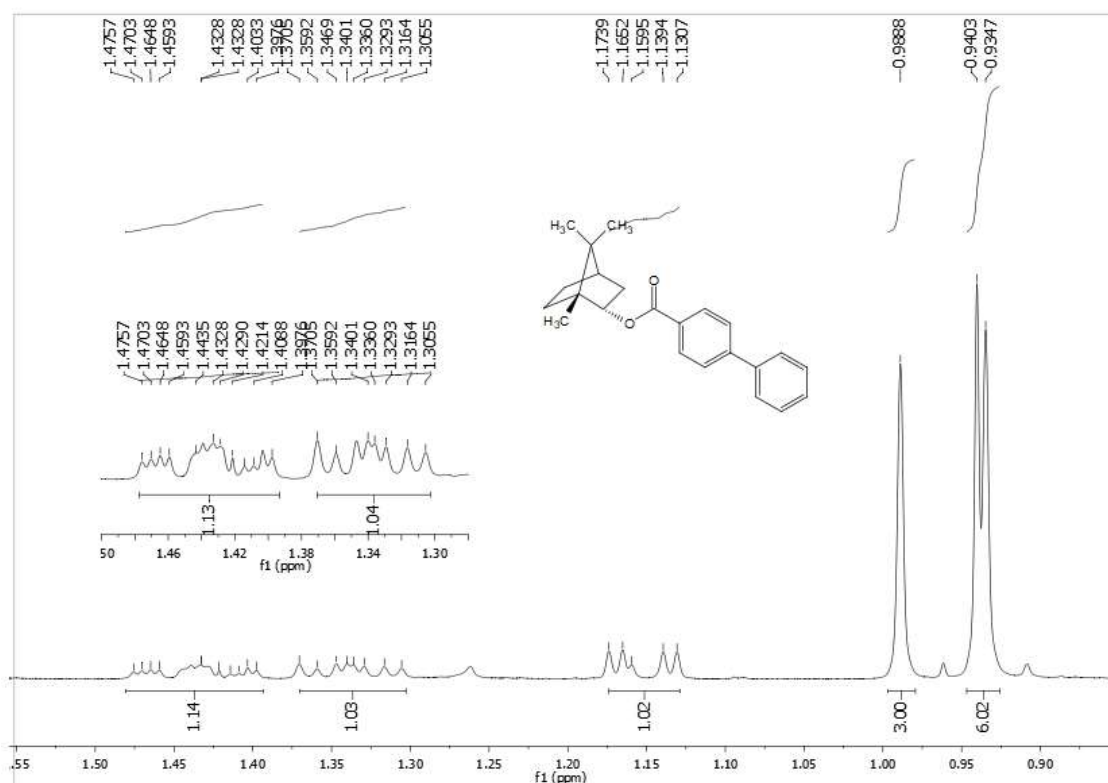
Espectro 20 – Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4).



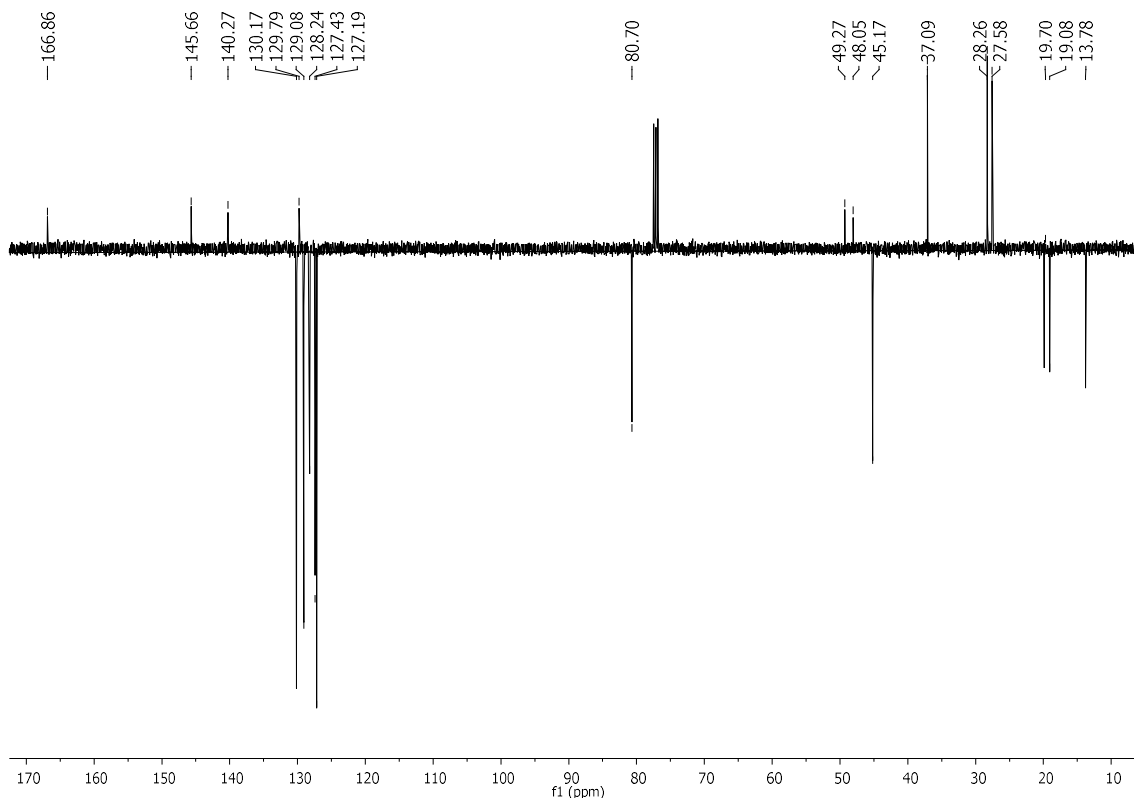
Espectro 21 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 4-bifenilbenzoato de bornila (**MF4**).



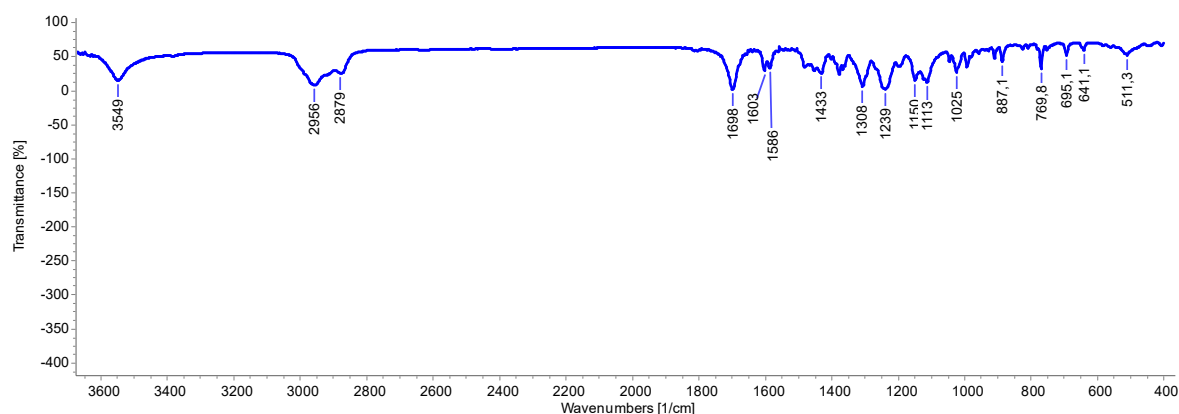
Espectro 22 – Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 4-bifenilbenzoato de bornila (**MF4**).



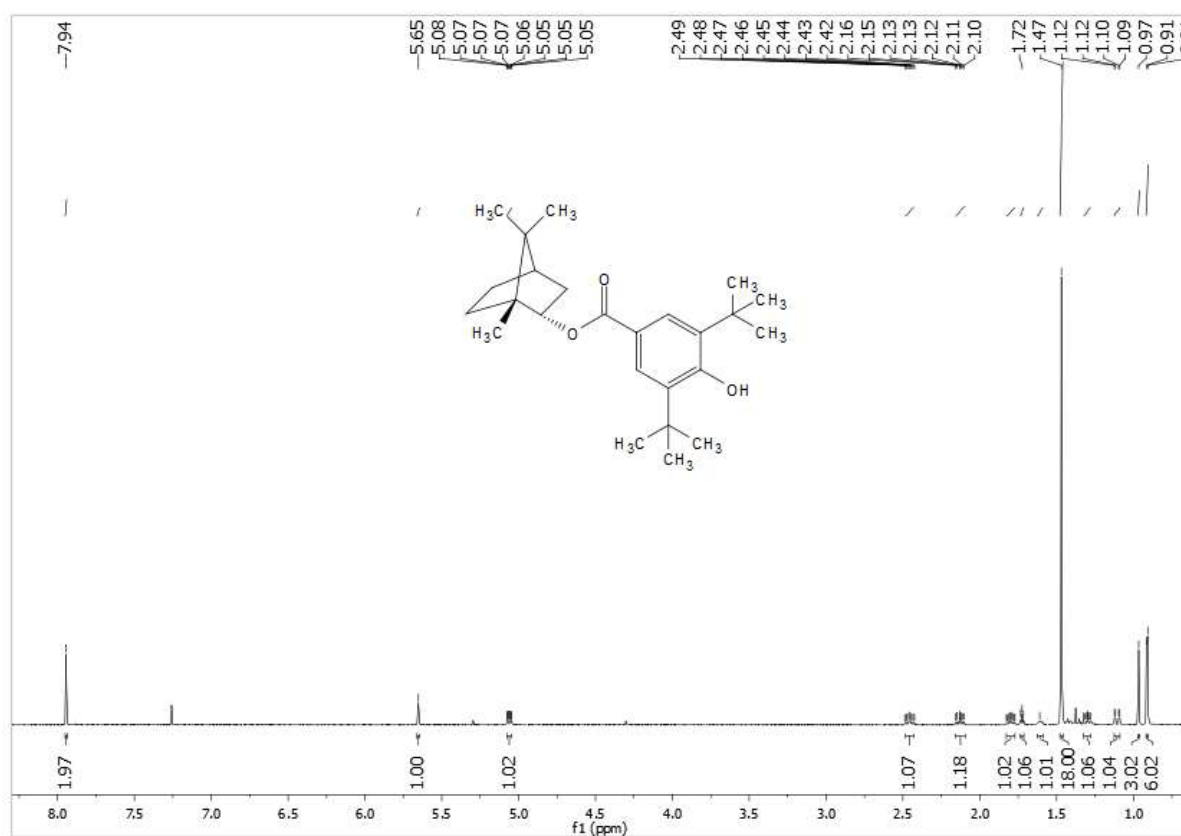
Espectro 23 – Expansão do Espectro de RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) 4-fenilbenzoato de bornila (MF4).



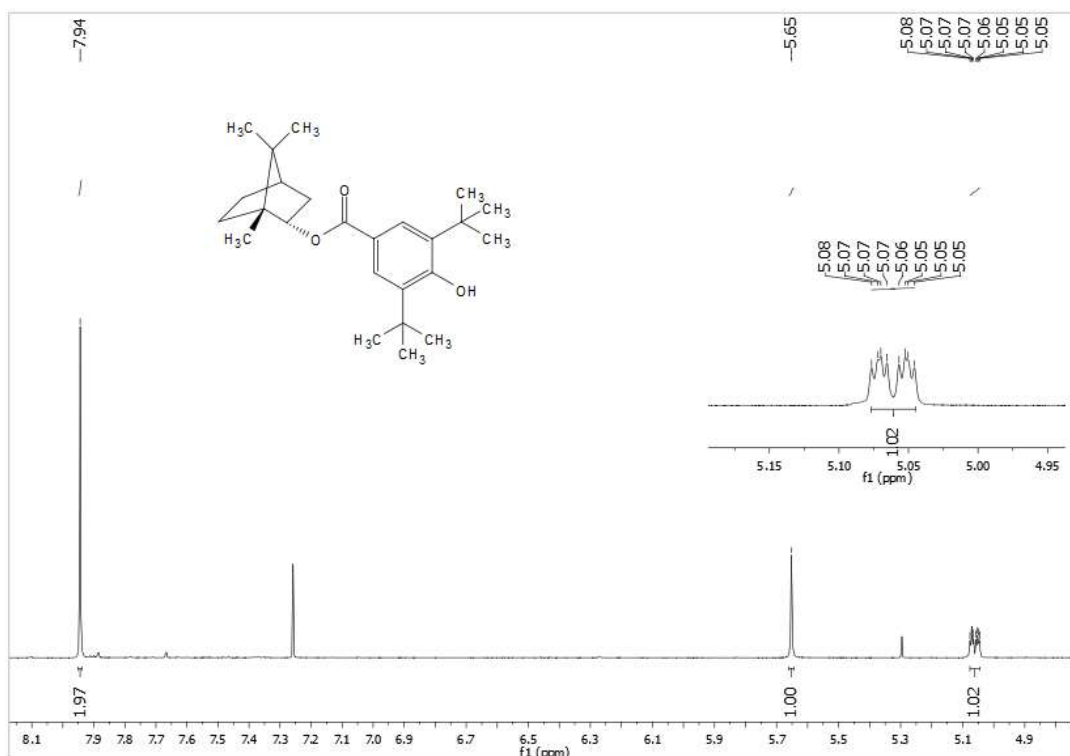
Espectro 24 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 4-fenilbenzoato de bornila (MF4).



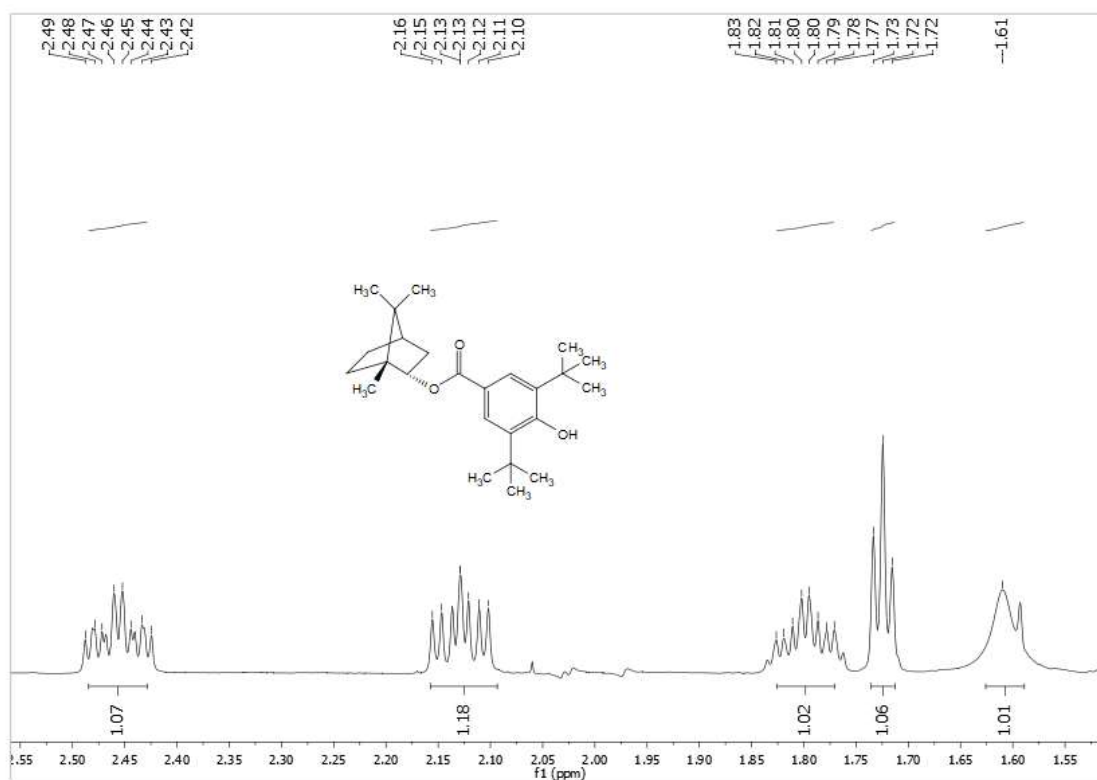
Espectro 25 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3,5, di- *tert*- butil – 4 hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).



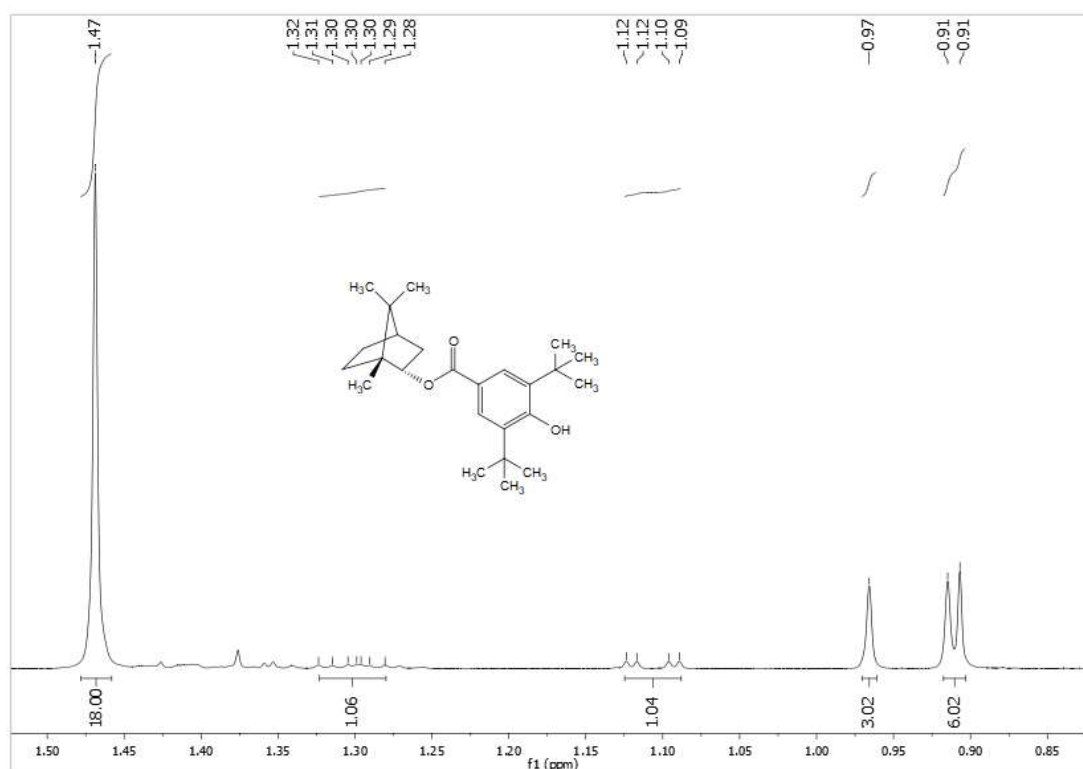
Espectro 26 – Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di-*tert*-butil – 4 - hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).



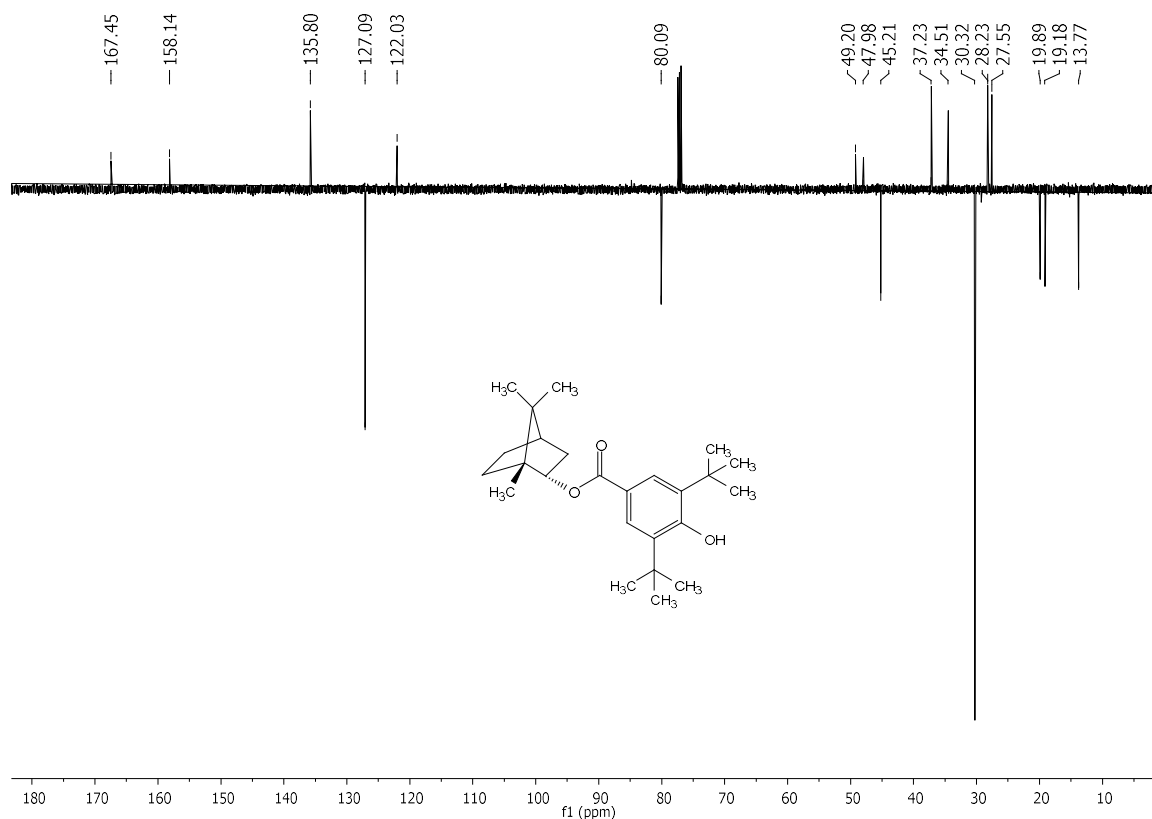
Espectro 27 – Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di-*tert*-butil – 4-hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).



Espectro 28 – Expansão do Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di-*tert*-butil – 4 hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).



Espectro 29 – Expansão do Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3,5, di-*tert*-butil – 4 hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).



Espectro 30 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125MHz, CDCl_3) do 3,5, di-*tert*-butil – 4- hidroxibenzoato de bornila (**MF5**).

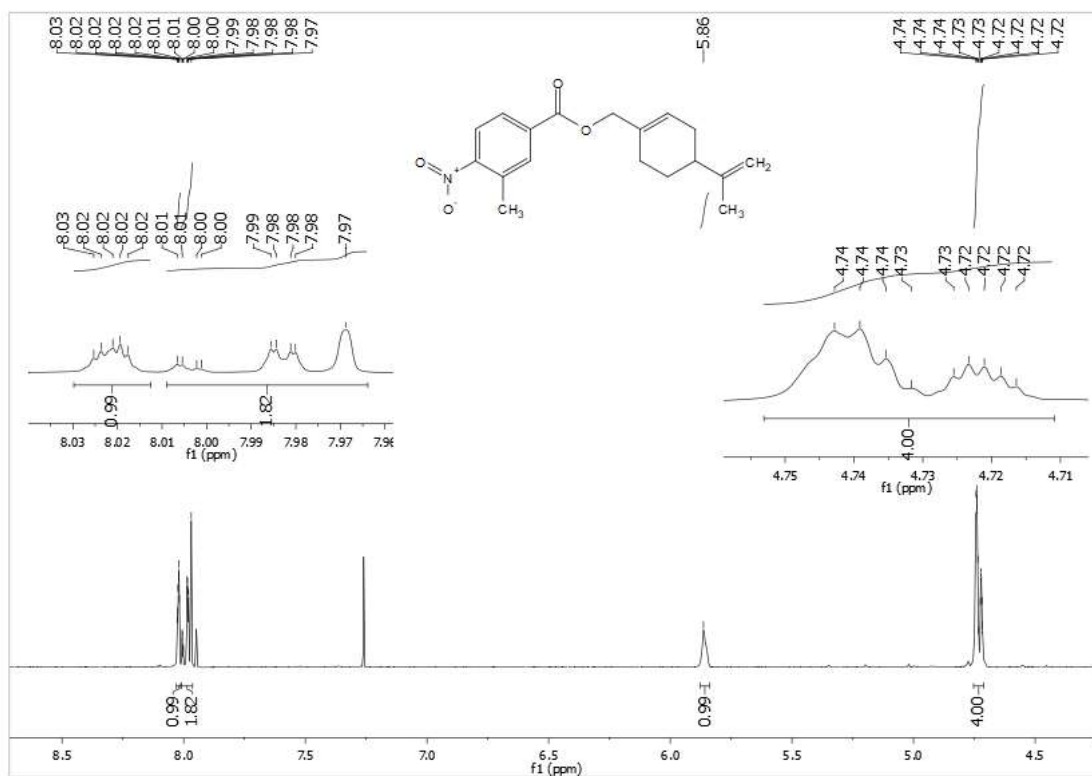
Chemical structure of the compound is shown above the spectrum. The structure is a benzene ring substituted with a nitro group (NO_2) and a methyl group (CH_3), connected via an ester linkage to a cyclohexane ring substituted with a methyl group (CH_3) and a vinyl group (CH=CH_2).

The ^1H NMR spectrum (400 MHz, CDCl_3) shows the following peaks (ppm):

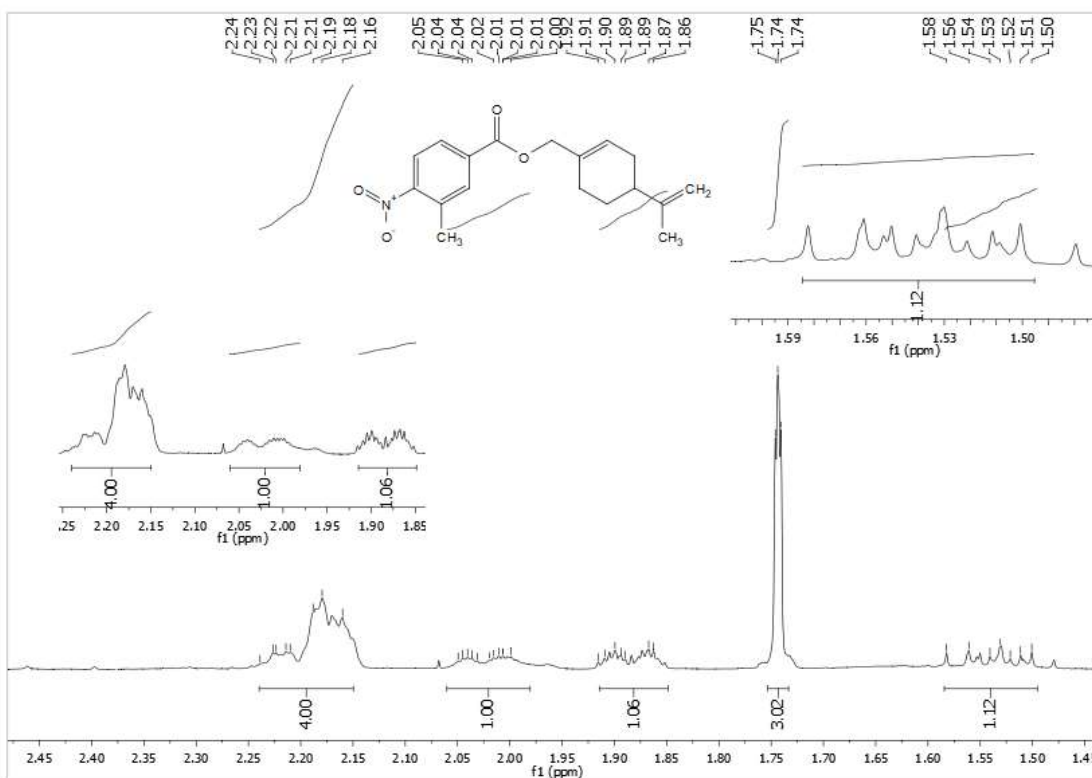
- 8.03, 8.02, 8.02, 8.02, 8.01, 8.00, 8.00, 7.99, 7.98, 7.98, 7.97, 5.86, 4.74, 4.74, 4.74, 4.73, 4.73, 4.72, 4.72, 4.72, 2.63, 2.23, 2.22, 2.21, 2.21, 2.19, 2.18, 2.16, 2.05, 2.04, 2.04, 2.02, 2.01, 2.01, 2.01, 2.00, 1.91, 1.90, 1.89, 1.87, 1.86, 1.75, 1.74, 1.74, 1.58, 1.56, 1.54, 1.53, 1.52, 1.51, 1.50

The spectrum displays several multiplets in the aromatic region (7.97-8.03 ppm), a singlet at 5.86 ppm, a multiplet at 4.72-4.74 ppm, a singlet at 2.21 ppm, a large singlet at 1.74 ppm, and a complex multiplet in the aliphatic region (1.50-2.04 ppm). Integration values are provided below the baseline: 0.99, 1.98, 0.99, 4.00, 3.00, 4.00, 1.00, 1.06, 3.02, 1.12.

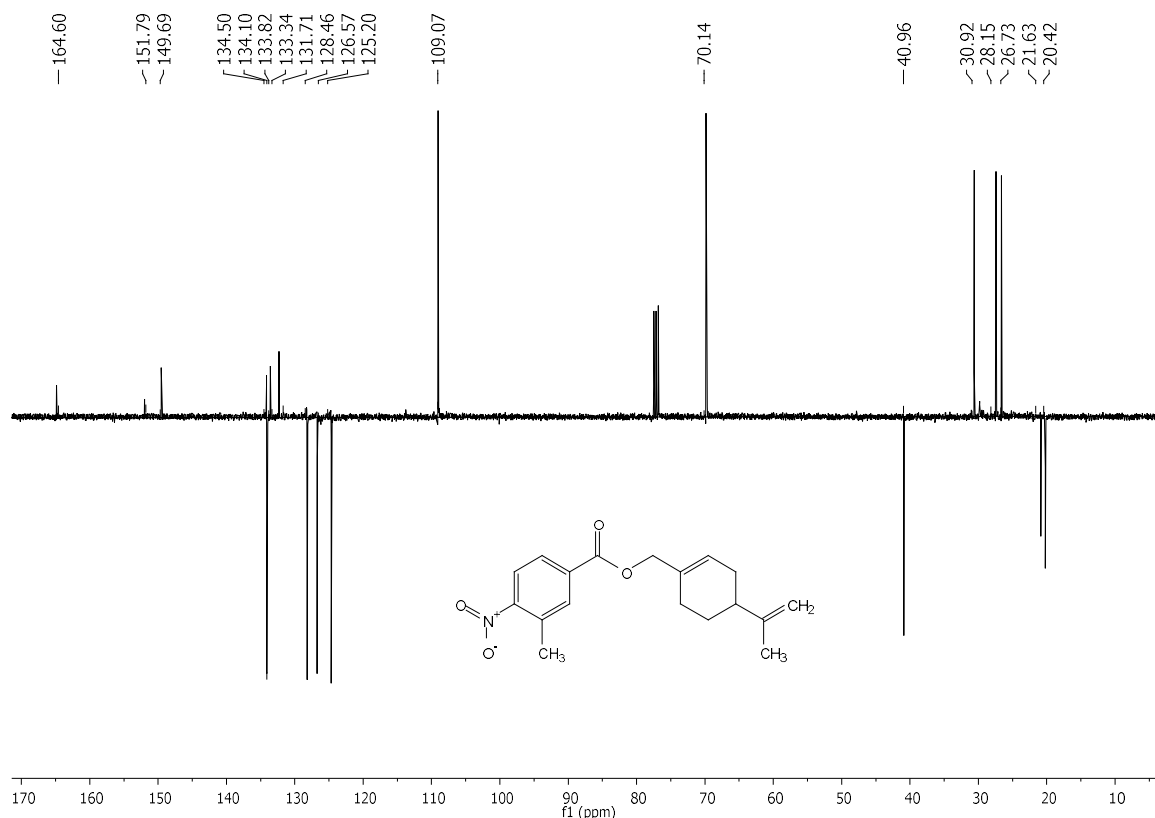
Espectro 32 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (**MF6**).



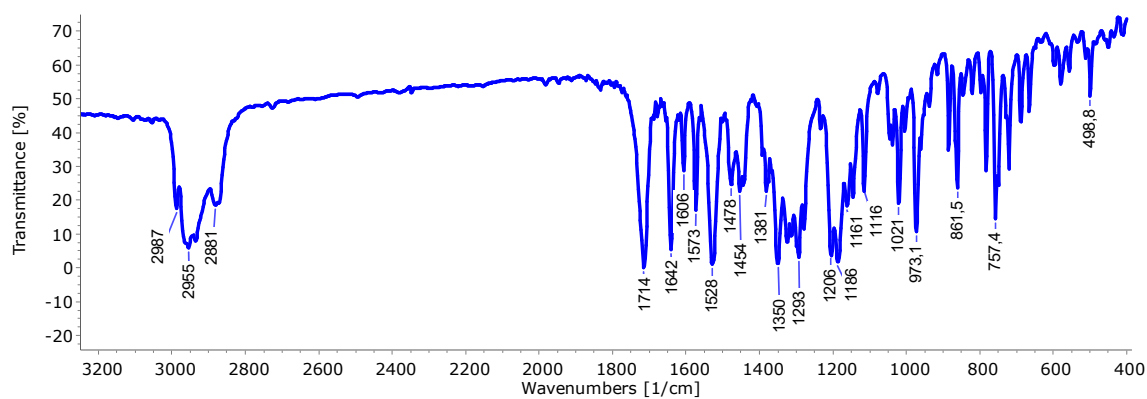
Espectro 33 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (**MF6**)



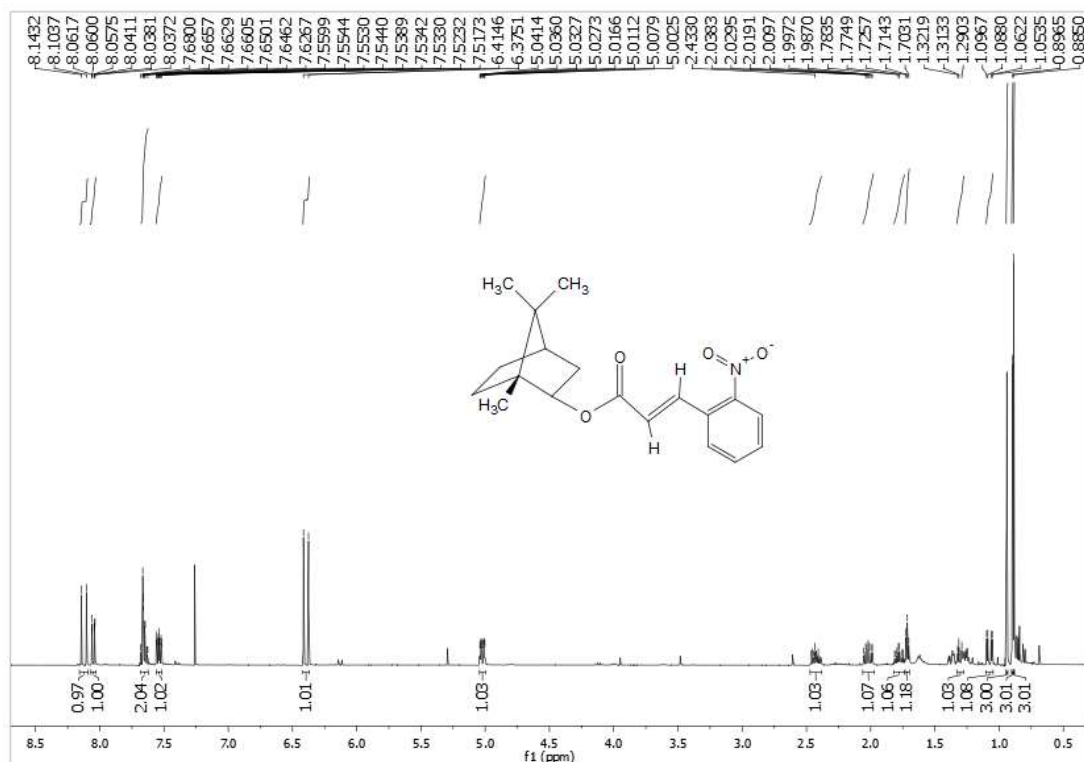
Espectro 34 – Expansão Espectro de RMN ¹H (400MHz, CDCl₃) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (**MF6**)



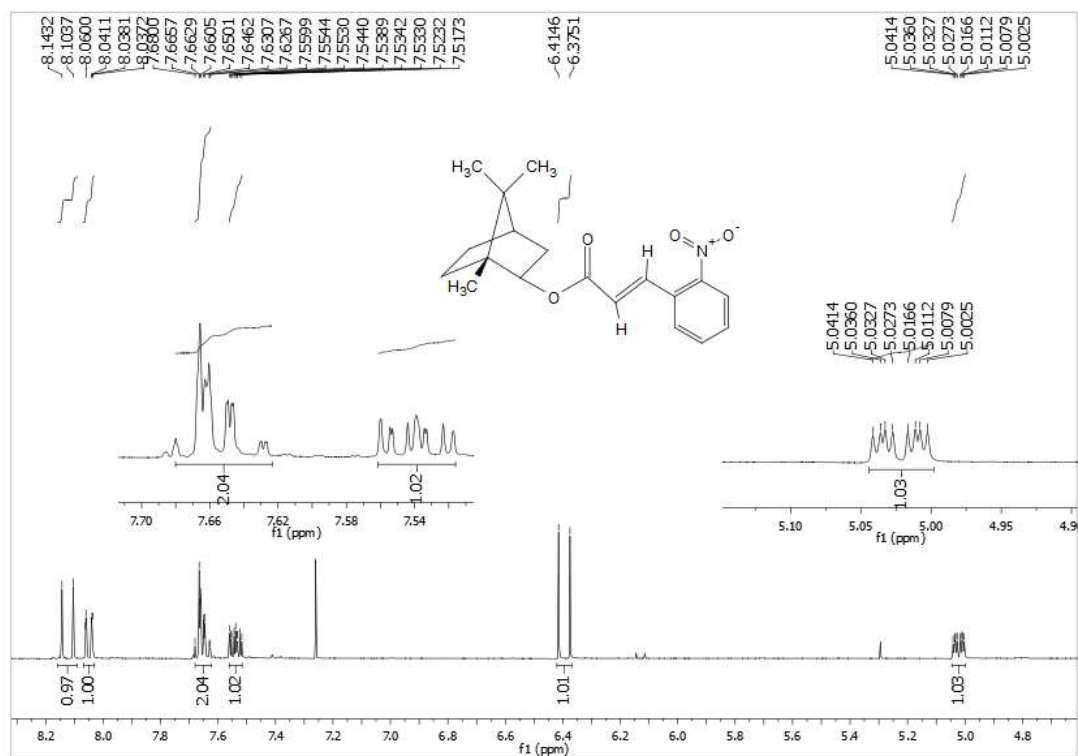
Espectro 35 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do 3-metil - 4-nitrocinamato de perila (MF6)



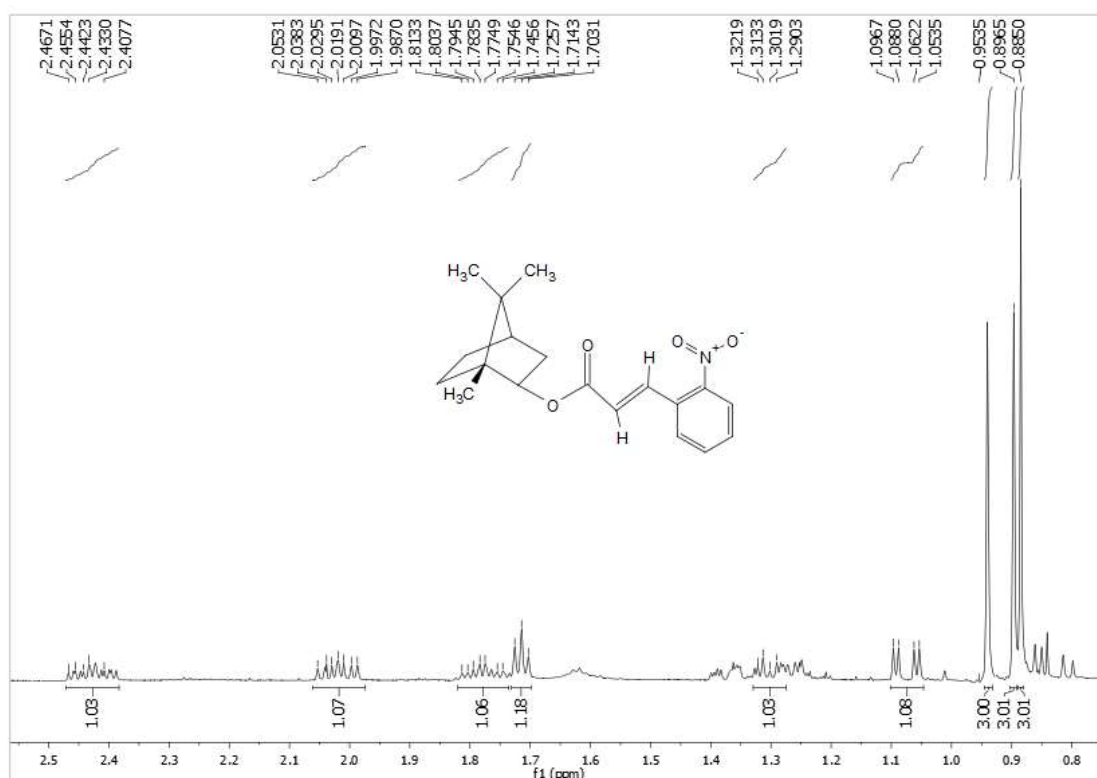
Espectro 36 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 2-nitrocinamato de bornila (MF7).



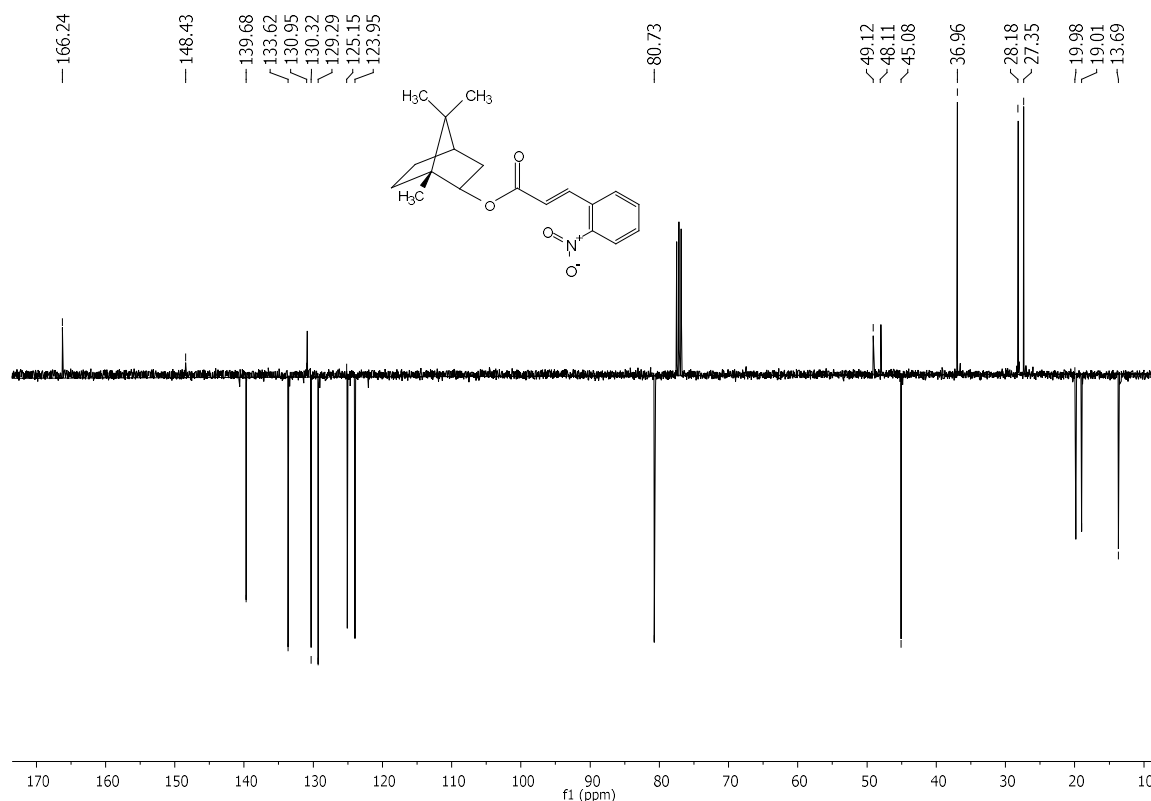
Espectro 37 – Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) 2-nitrocinnamato de bornila (MF7).



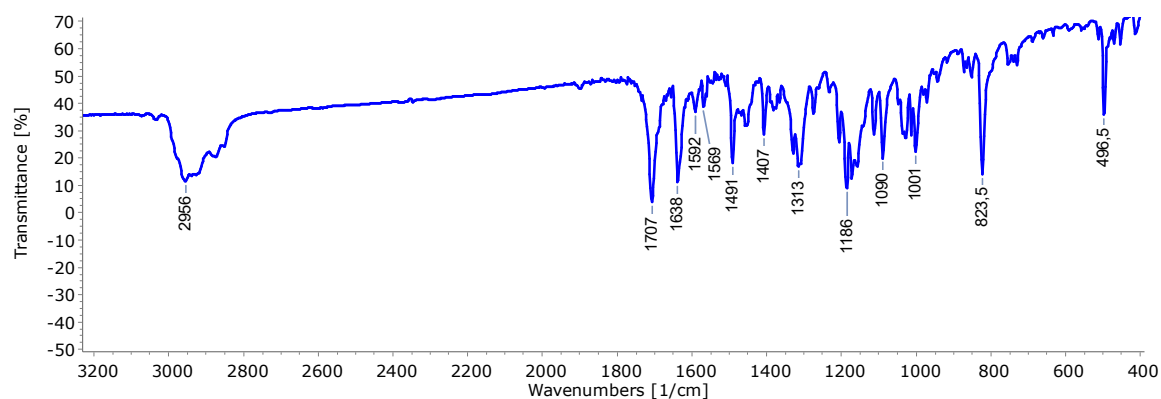
Espectro 38 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-nitrocinnamato de bornila (MF7).



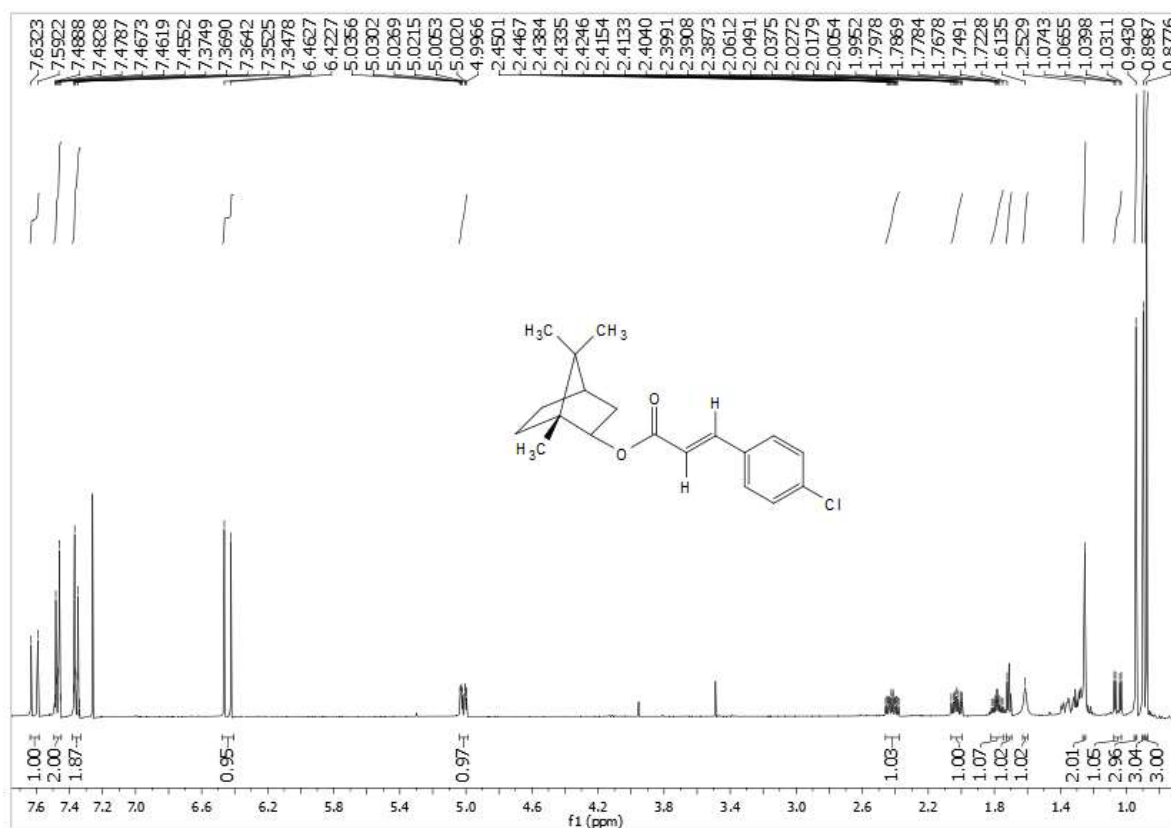
Espectro 39 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-nitrocinamato de bornila (**MF7**).



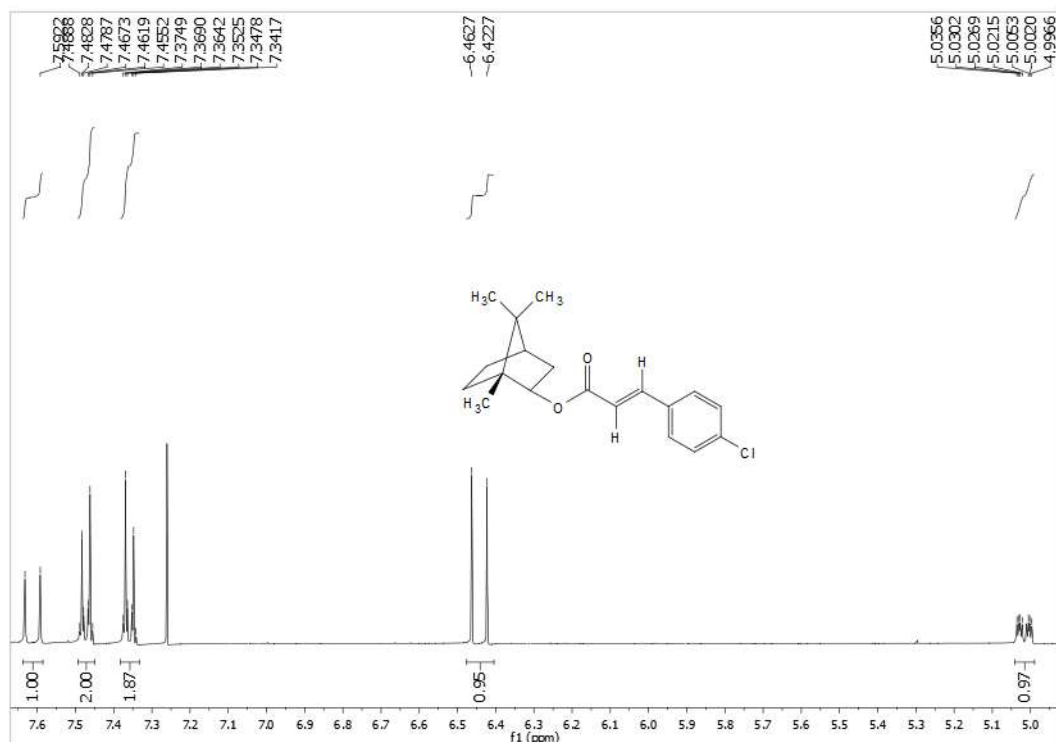
Espectro 40 – Expansão Espectro de RMN de ¹³C (100MHz, CDCl₃) do 2-nitrocinamato de bornila (**MF7**).



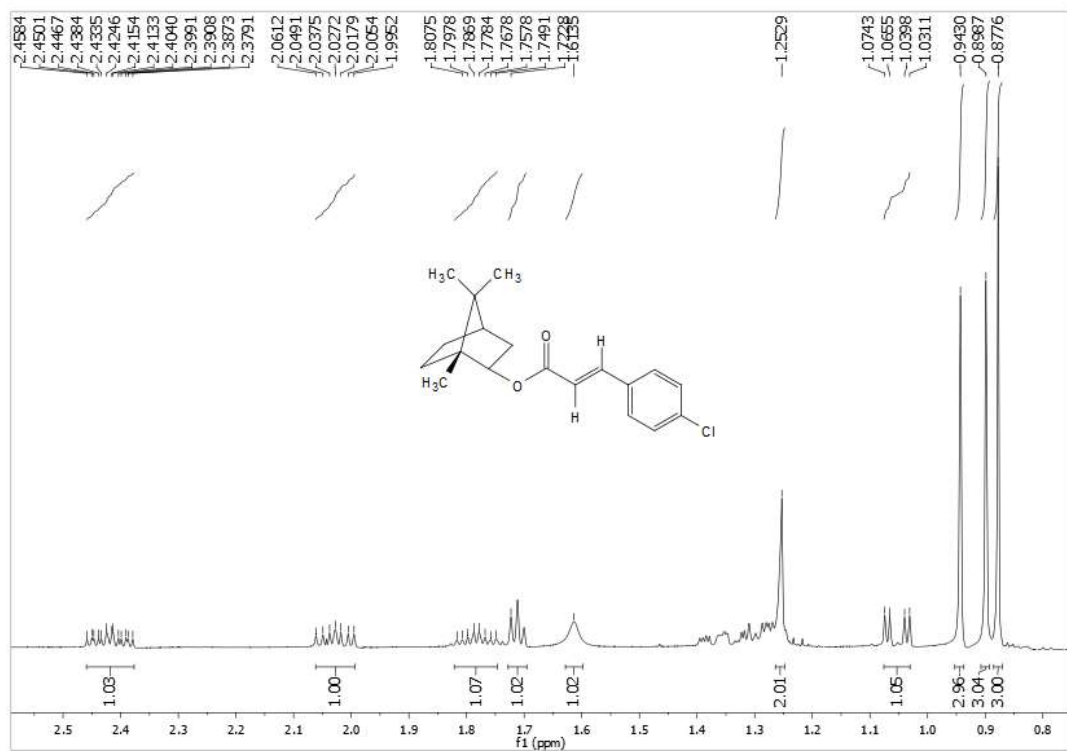
Espectro 41 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 4-clorocinamato de bornila (MF8).



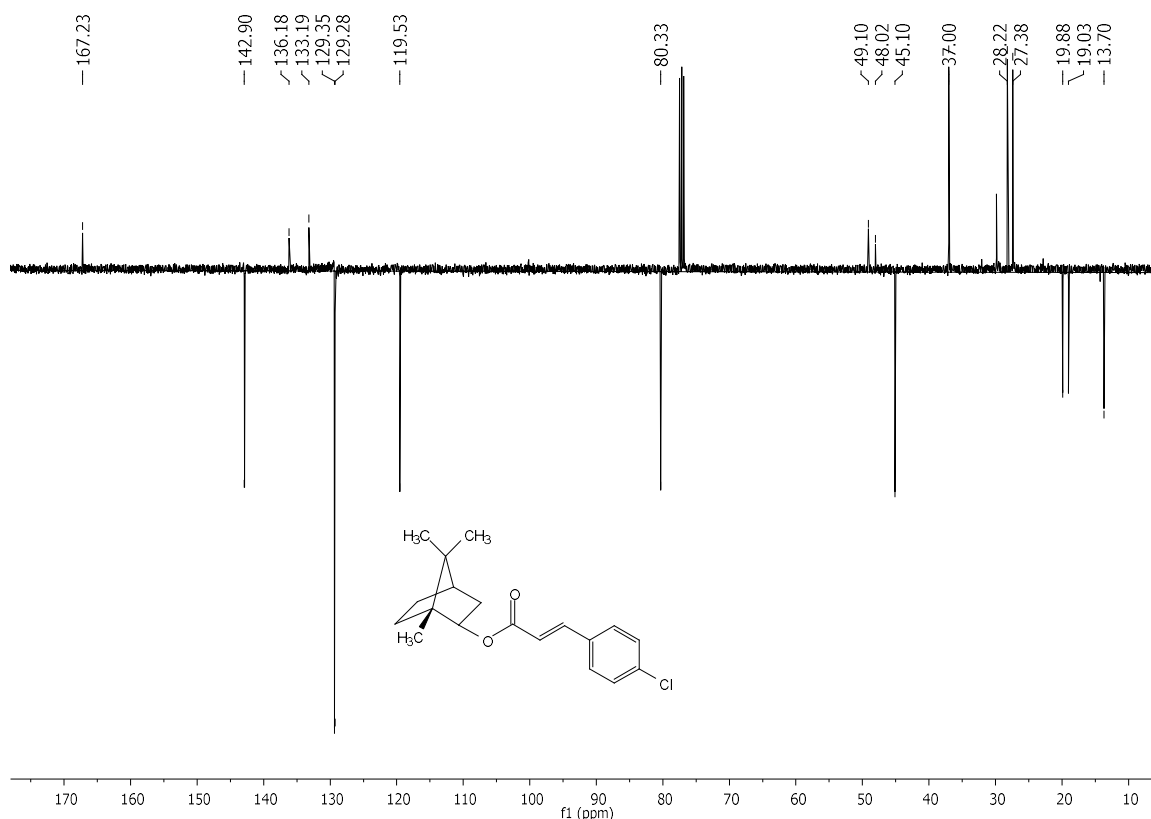
Espectro 42 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 4-clorocinamato de bornila (MF8).



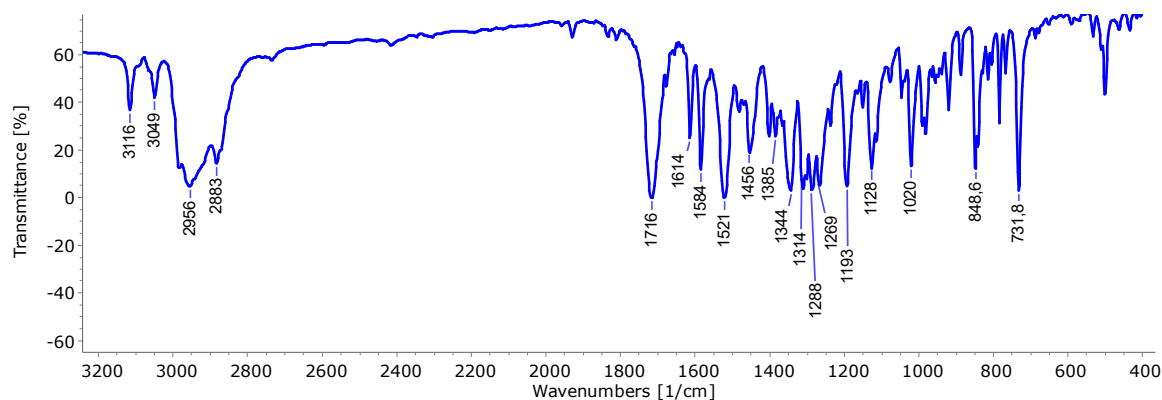
Espectro 43 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de bornila (**MF8**).



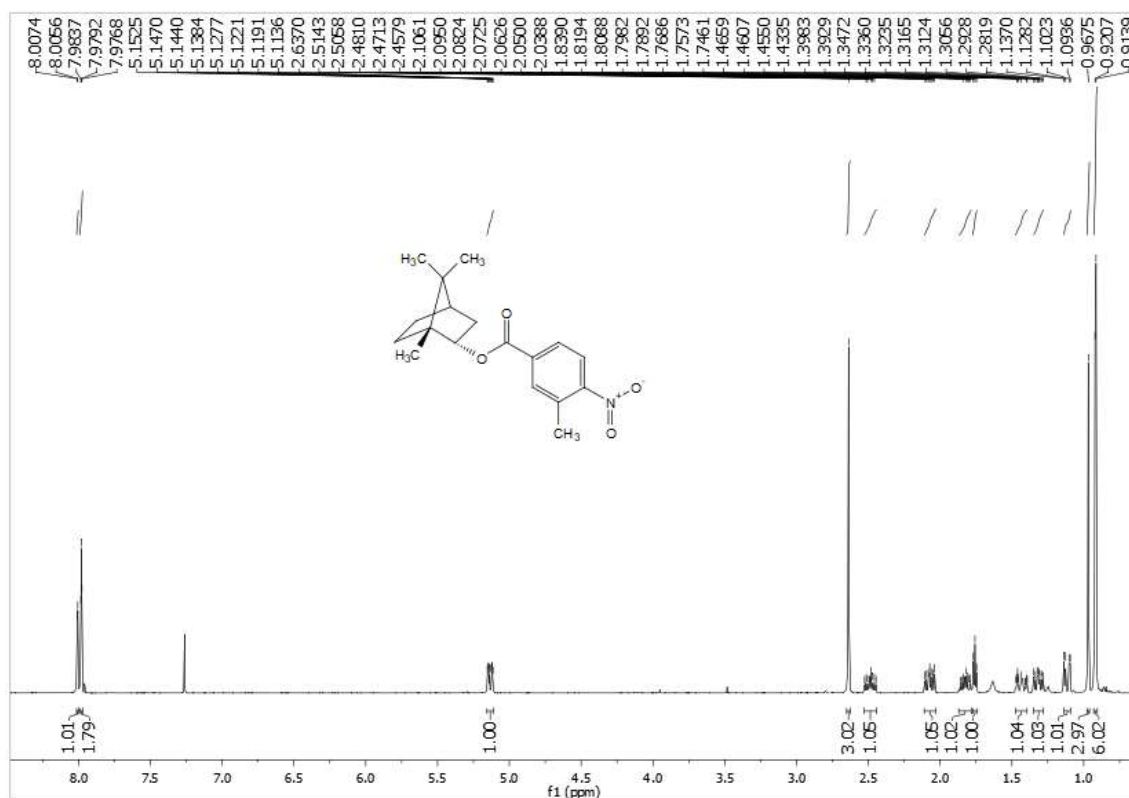
Espectro 44 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de bornila (**MF8**)



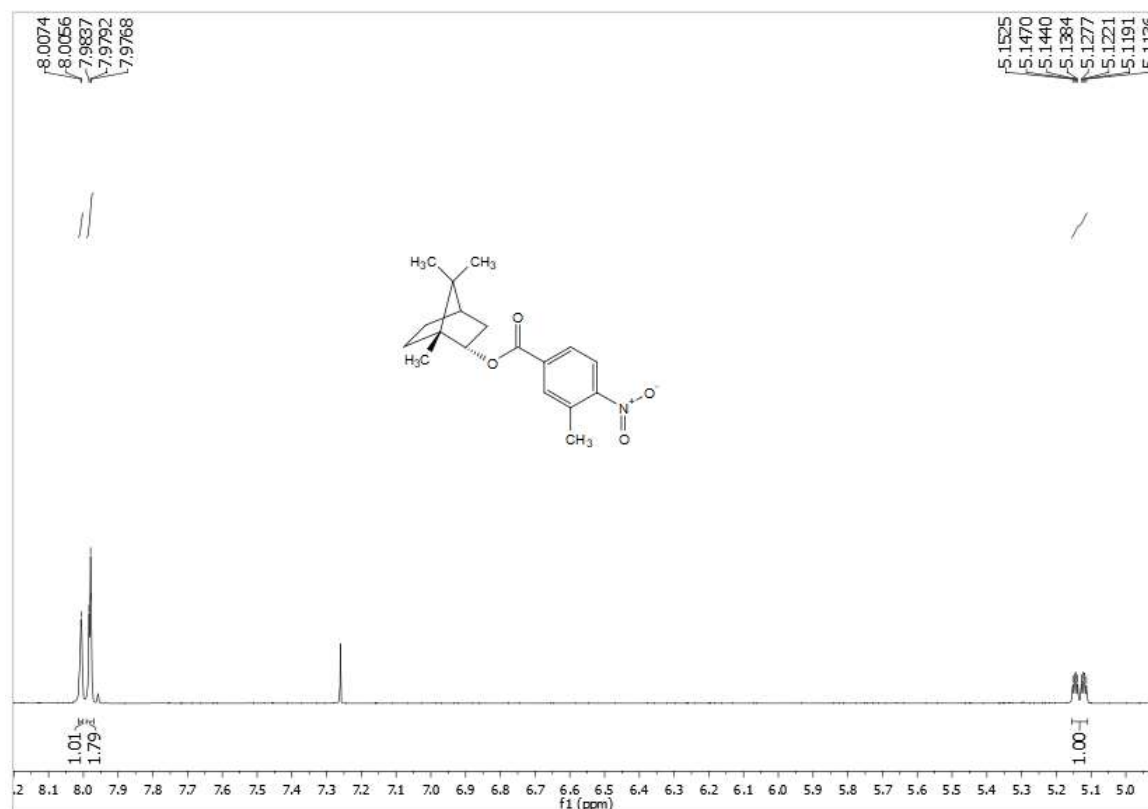
Espectro 45 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 4-clorocinamato de bornila (MF8).



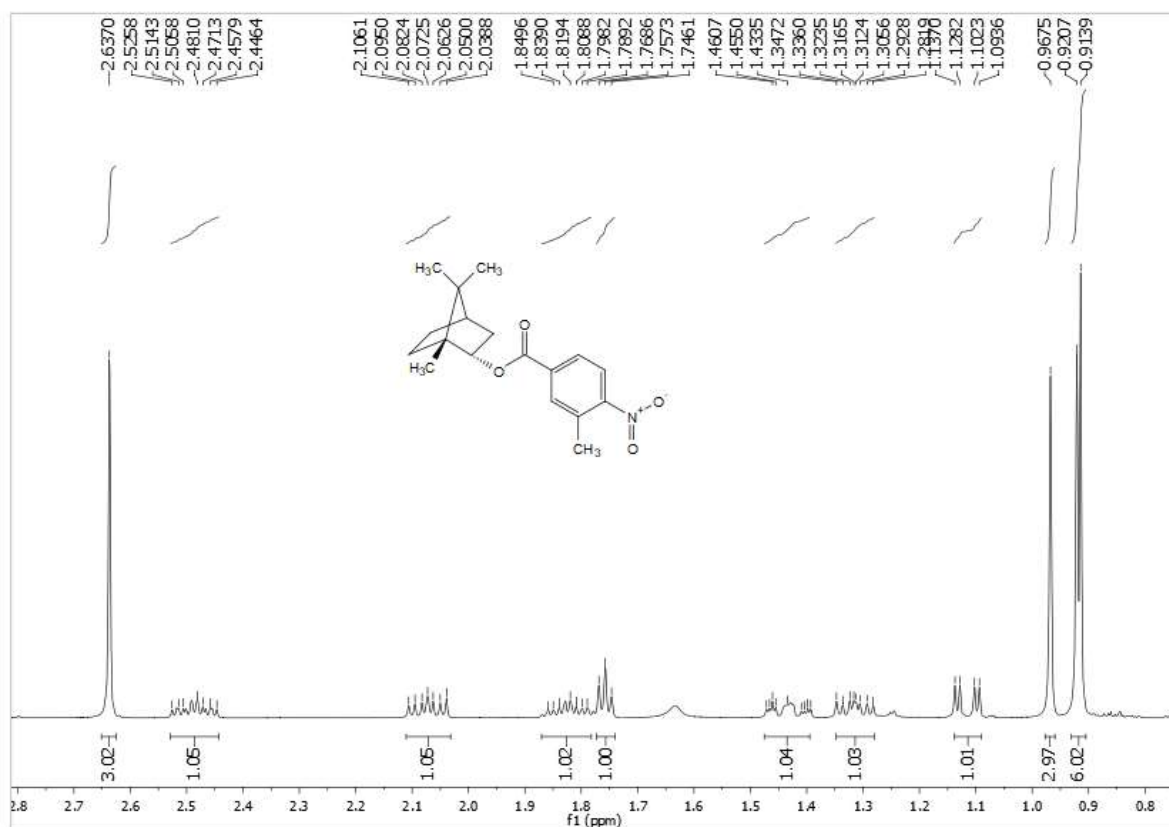
Espectro 46 – Espectro de Infravermelho (KBr cm⁻¹) do 3-metil 4-nitrocinamato de bornila (MF9).



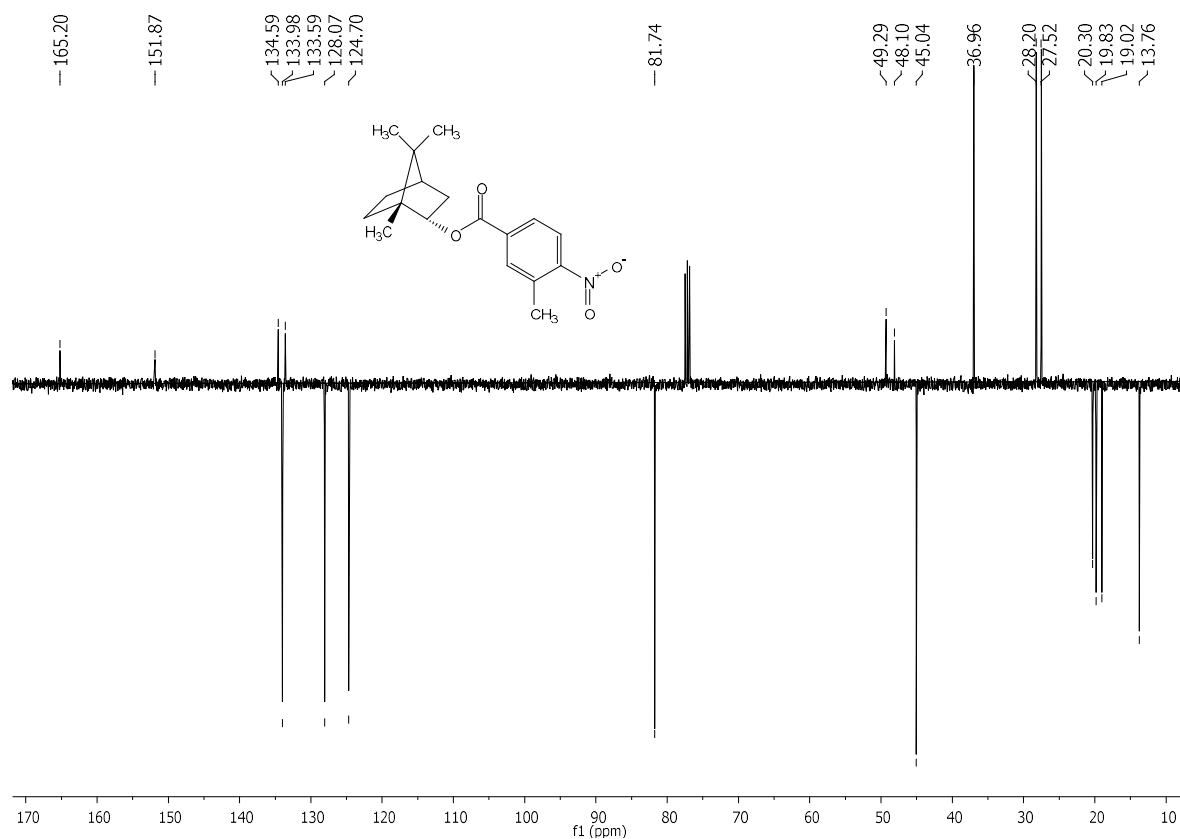
Espectro 47 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinnamato de bornila (MF9).



Espectro 48 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 3-metil 4-nitrocinnamato de bornila (MF9).

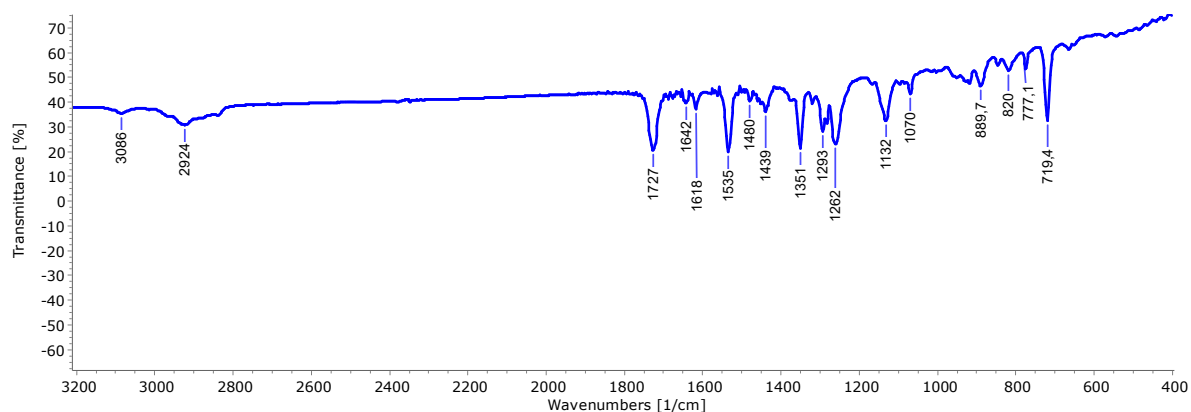


Espectro 49 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 3-metil 4-nitrocinamato de bornila (MF9).

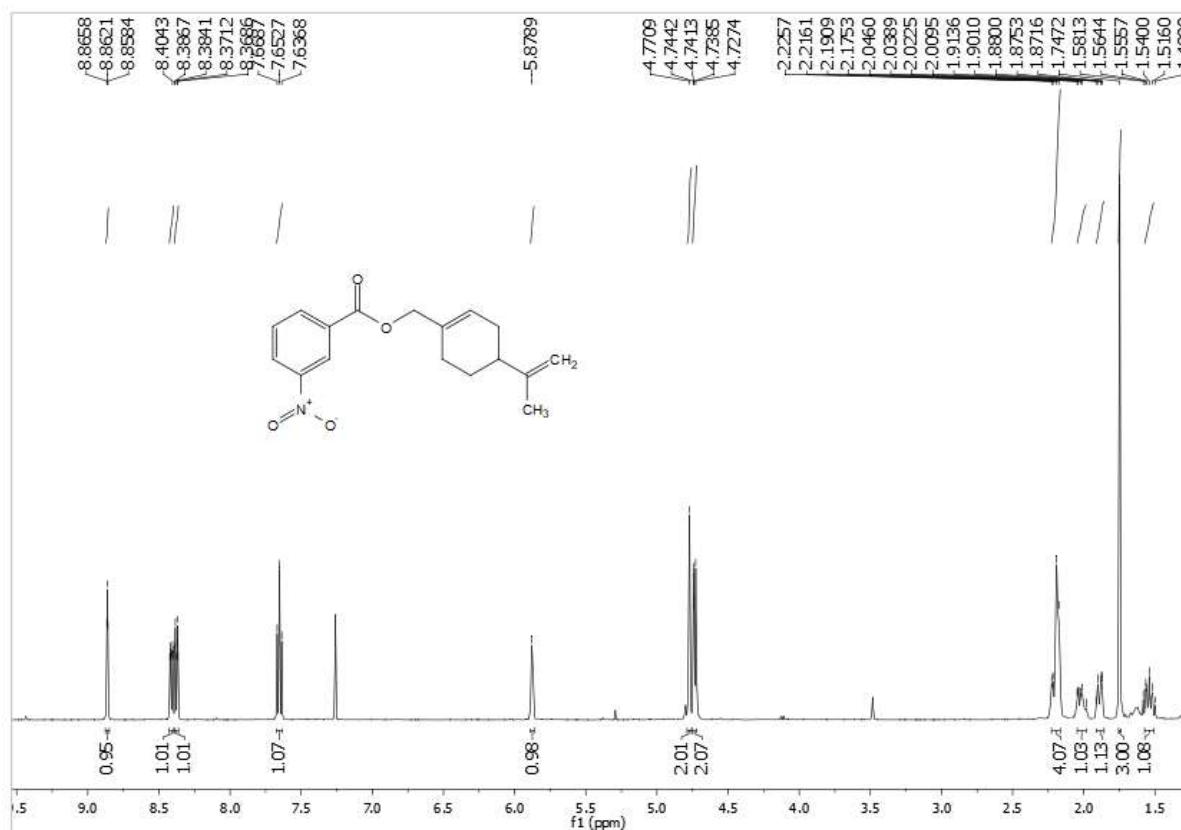


Espectro 50 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (100MHz, CDCl₃) do 3-metil 4-

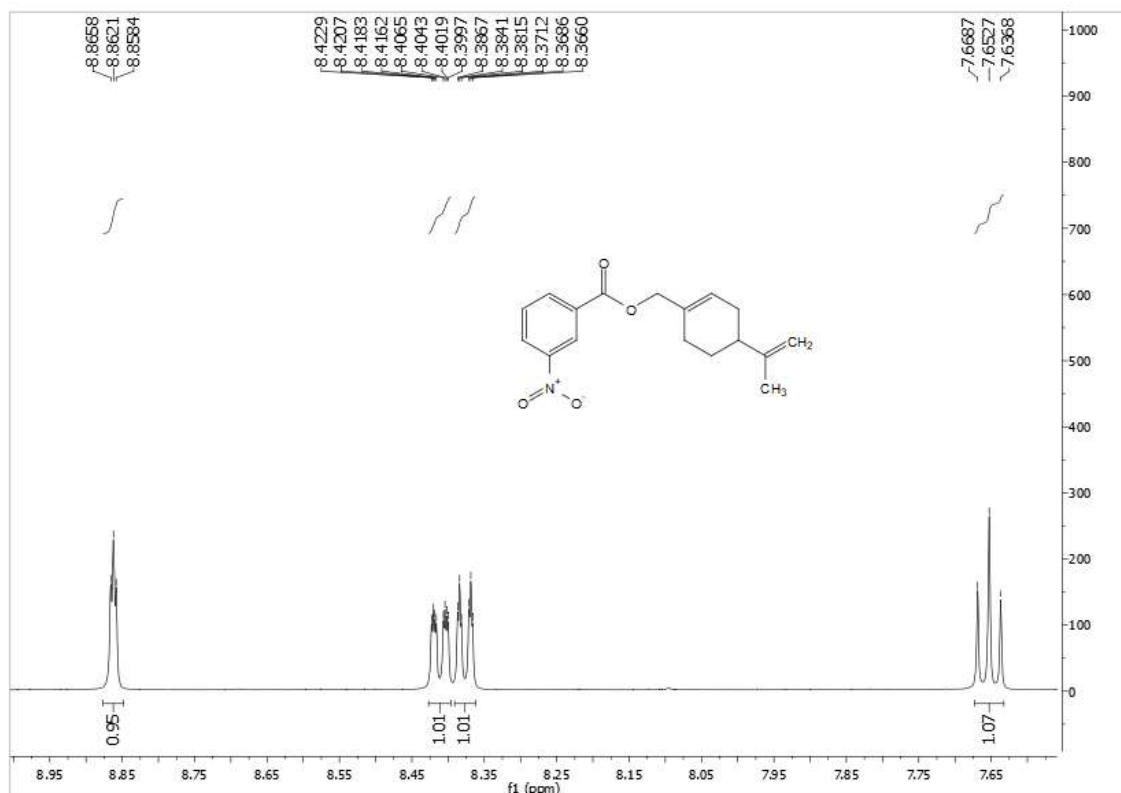
nitrocinamato de bornila (MF9).



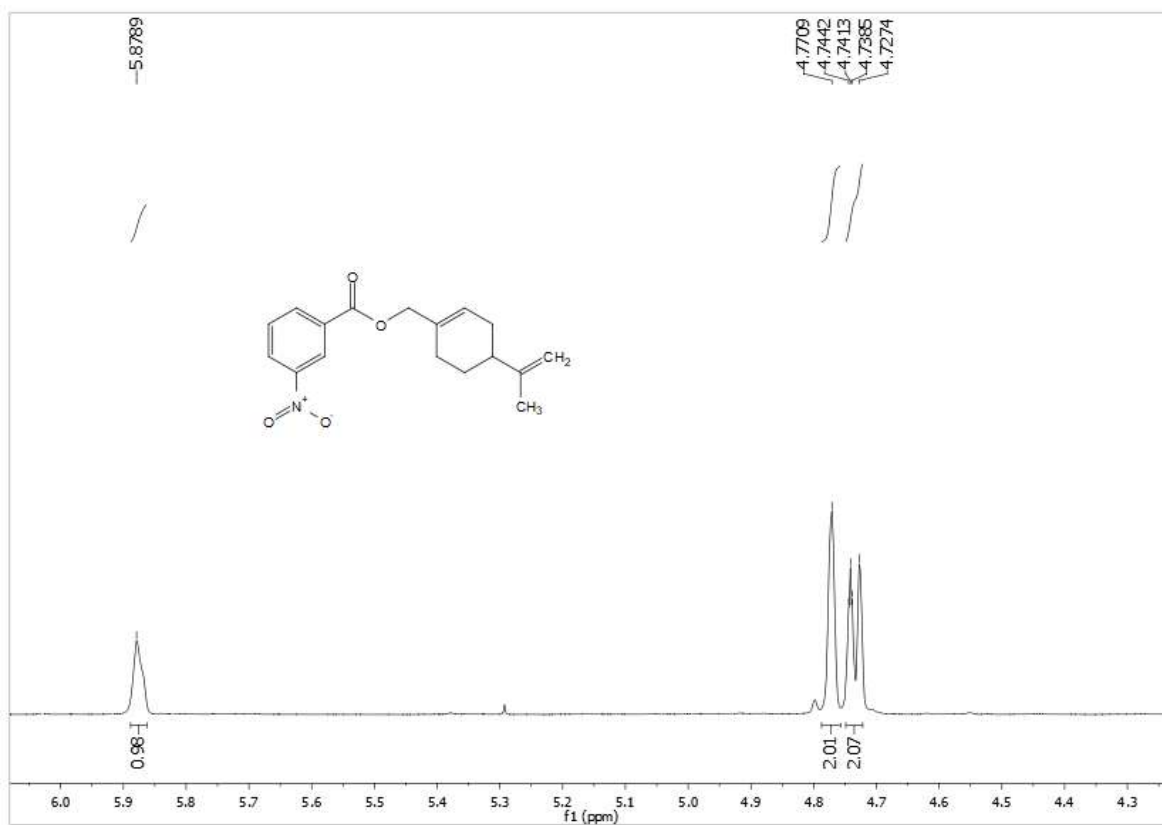
Espectro 51 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



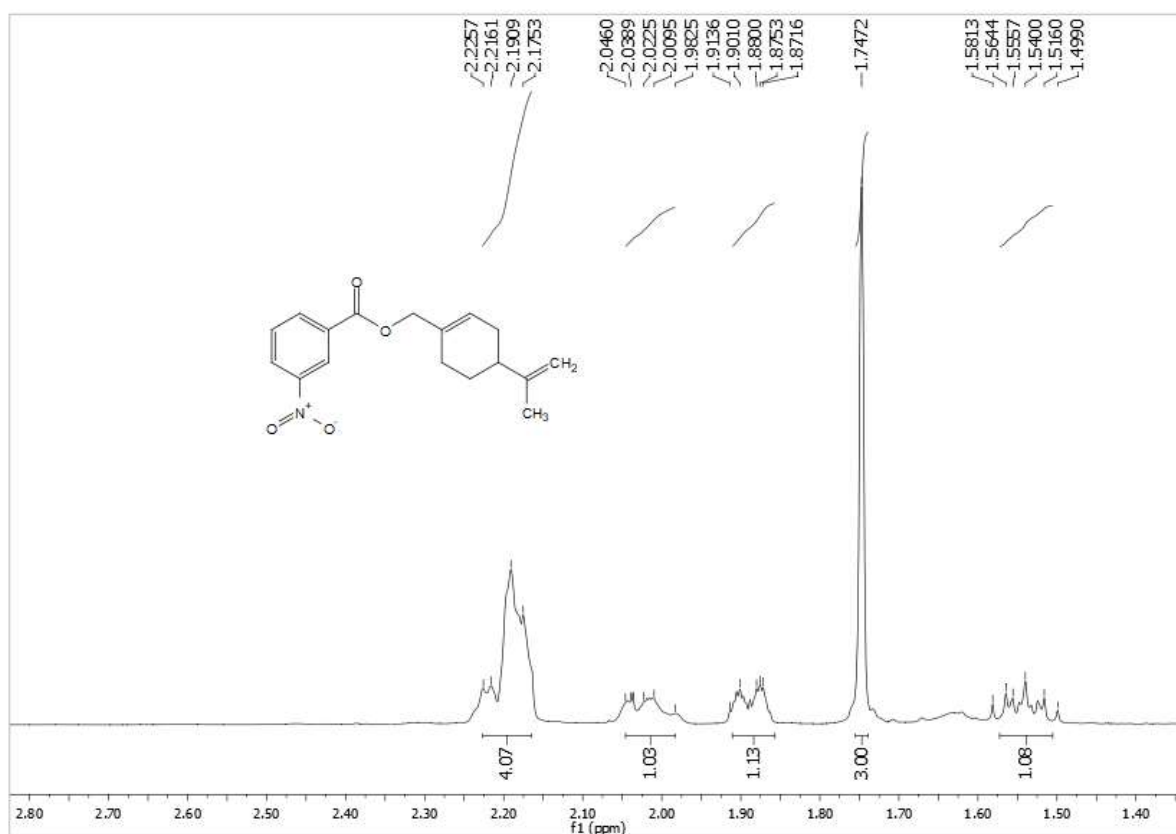
Espectro 52 – Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



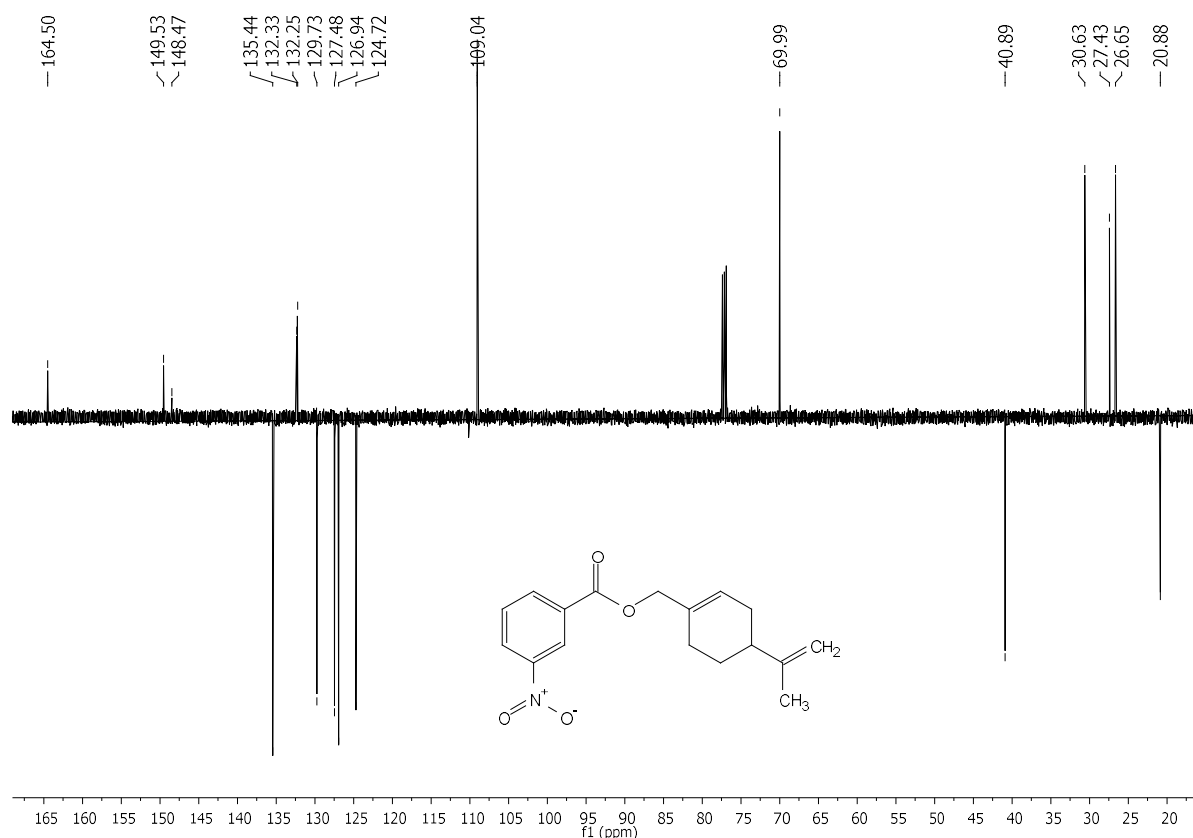
Espectro 53 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (500MHz, CDCl₃) 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



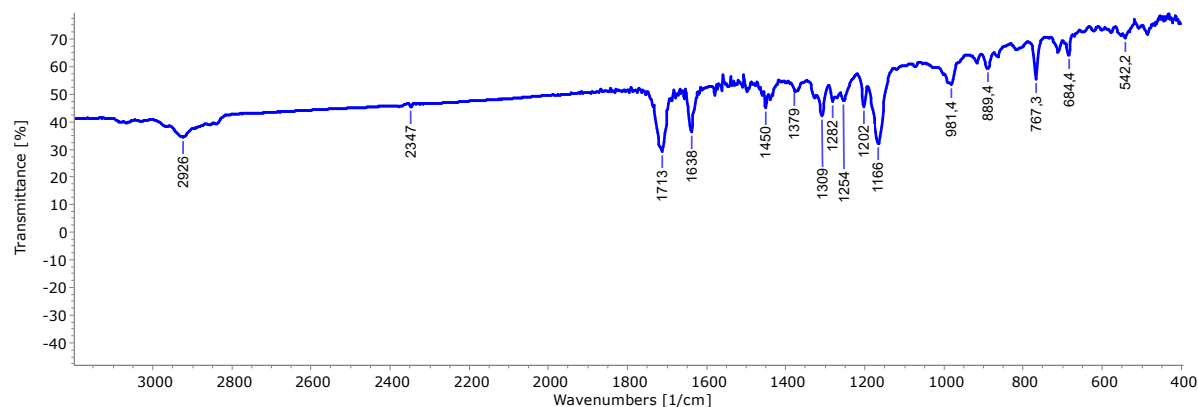
Espectro 54 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (500MHz, CDCl₃) 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



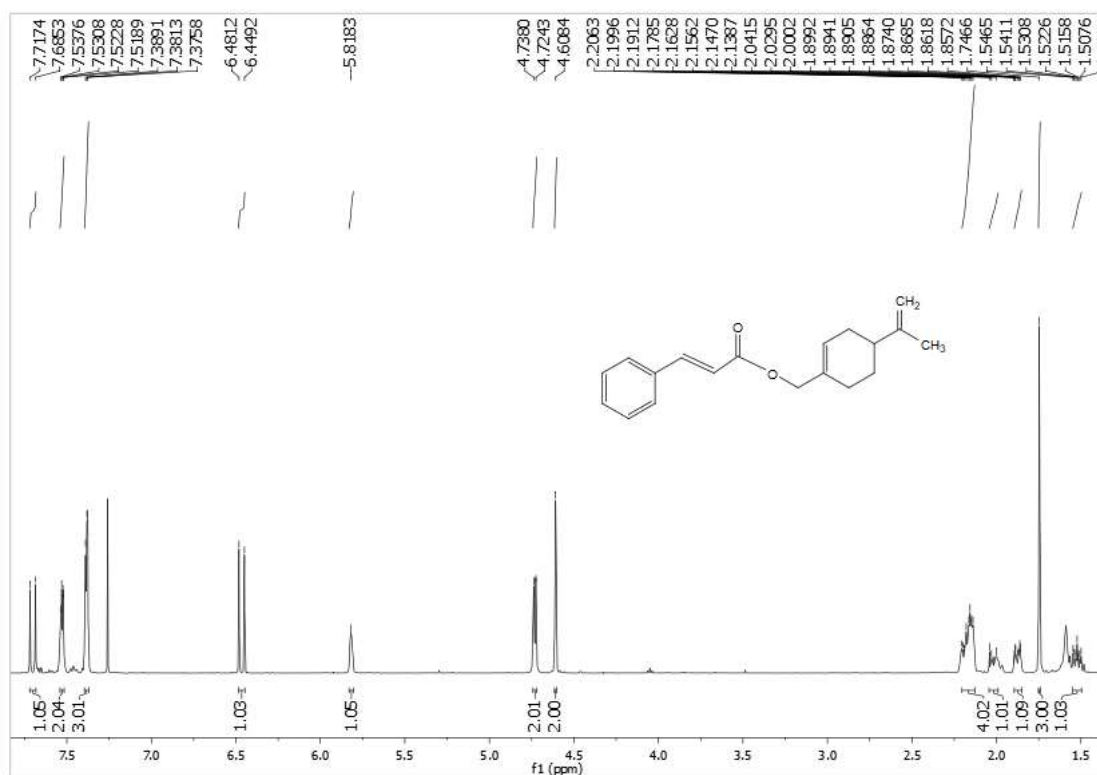
Espectro 55 – Expansão Espectro de RMN de ¹H (500MHz, CDCl₃) 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



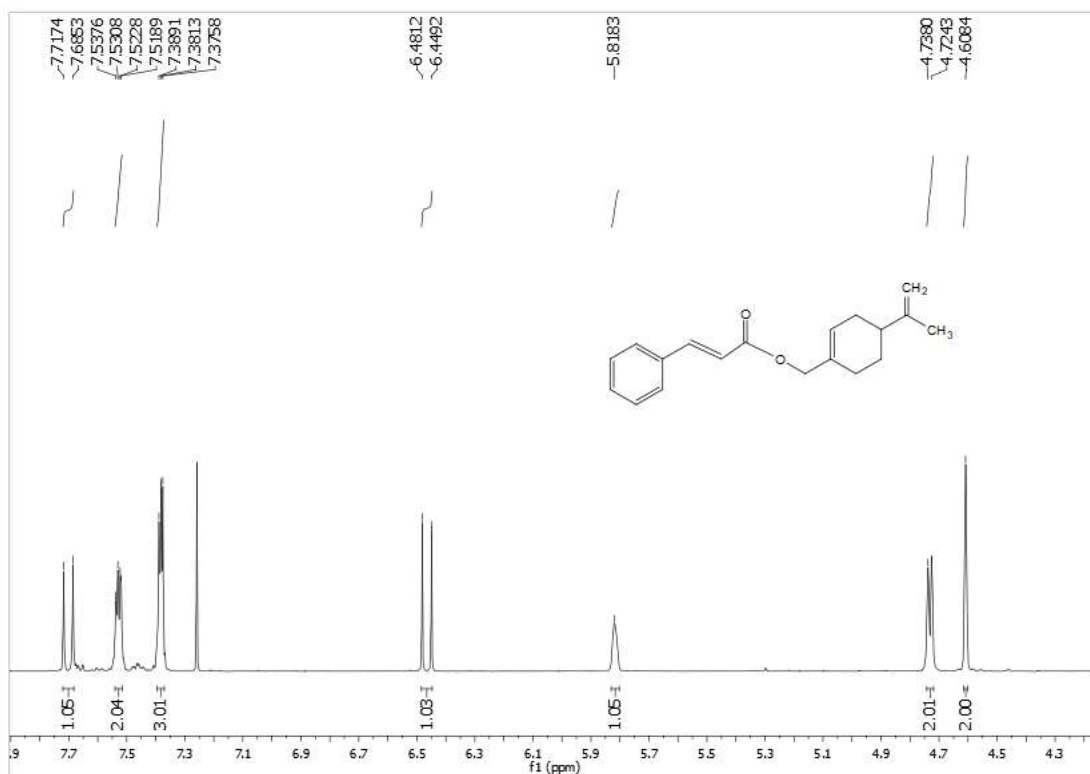
Espectro 56 – Espectro de RMN de ¹³C-APT (125MHz, CDCl₃) do 3-nitrobenzoato de perila (MF10).



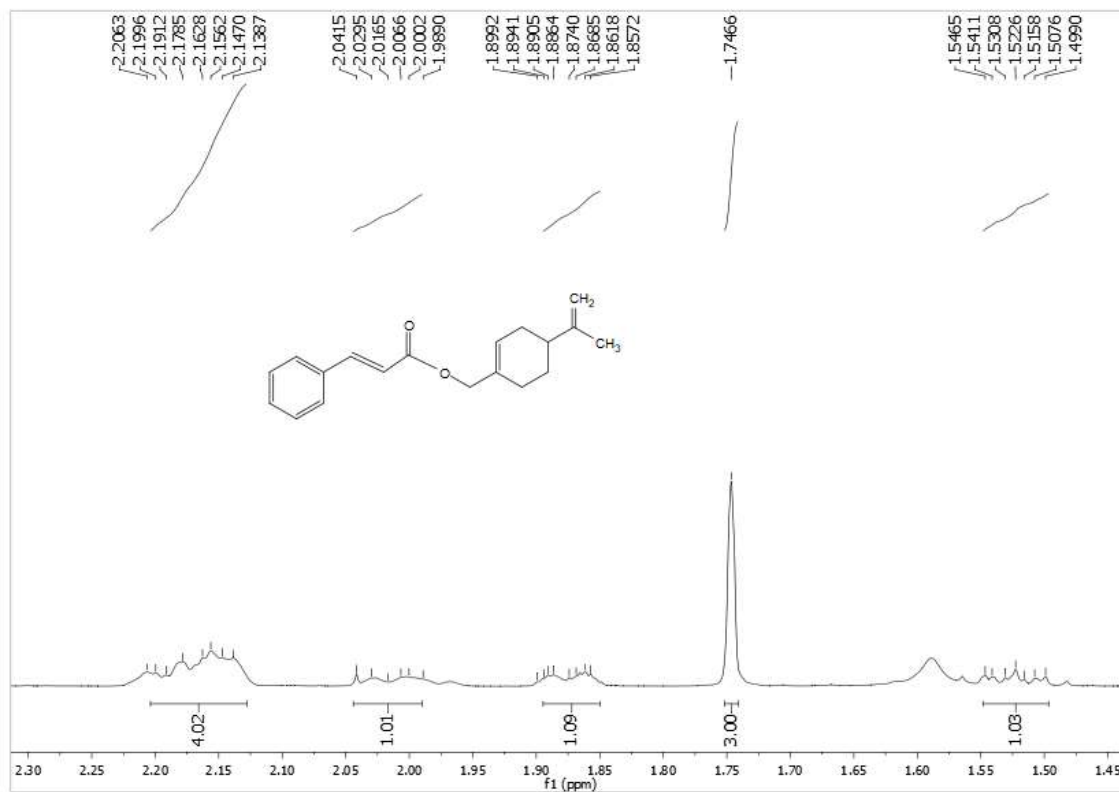
Espectro 57 – Espectro de Infravermelho (KBr cm^{-1}) do cinamato de perila (**MF11**).



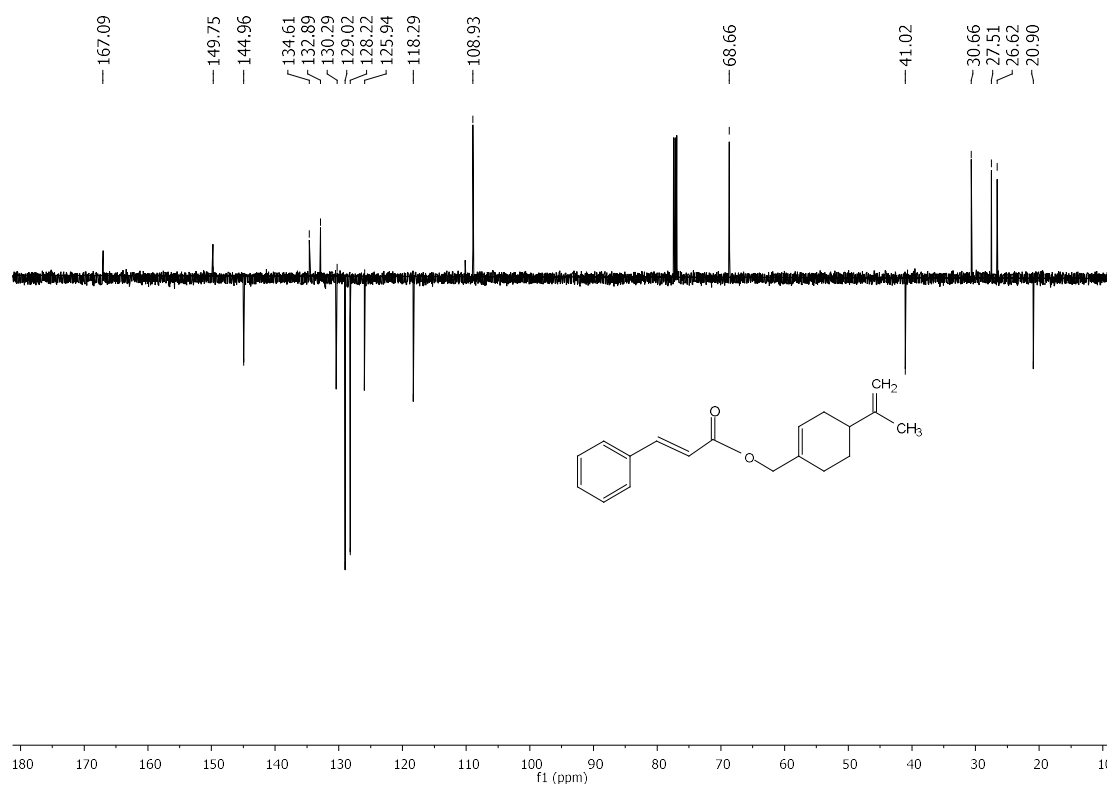
Espectro 58 – Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) cinamato de perila (**MF11**).



Espectro 59 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (MF11)



Espectro 60 – Expansão Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (MF11)



Espectro 61 – Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100MHz, CDCl_3) do cinamato de perila (**MF11**)

REFERENCIAS

ALCAZAR-FUOLI, L.; MELLADO, E. Current status of antifungal resistance and its impact on clinical practice. **British journal of Haematology**, 166, n. 4, p. 471-484, 2014.

ALI, S. M. et al. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 4, 2005.

ANN CHAI, L. Y.; DENNING, D. W.; WARN, P. **Candida tropicalis in human disease**, 2010.

ANTINORI, S. MILAZZO, L.; SOLLIMA, S.; GALLI, M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. **European Journal of Internal Medicine**, v. 34, p. 21–28, 2016.

ARENDRUP, M. C. Update on antifungal resistance in *Aspergillus* and *Candida*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, p. 42–48, 2014.

ARROIO, A.; HONÓRIO, K. M.; SILVA, A. B. F. Da. Propriedades químico-quânticas empregadas em estudos das relações estrutura-atividade. **Química Nova**, v. 33, n. 3, p. 694–699, 2010.

ASTANI, A.; REICHLING, J.; SCHNITZLER, P. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. **Phytotherapy Research**, v. 24, n. 5, p. 673–679, 2010.

BALL, B. et al. Mass spectrometry-based proteomics of fungal pathogenesis, host-fungal interactions, and antifungal development. **Journal of Fungi**, v. 5, n. 2, 2019.

BALOUIRI, M.; SADIKI, M.; IBNSOUDA, S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 71–79, 2016.

BANERJEE, M.; UPPULURI, P.; ZHAO, X. R.; CARLISLE, P. L. et al. Expression of UME6, A Key Regulator Of *Candida Albicans* Hyphal Development, Enhances Biofilm

Formation Via Hgc1-and Sun41-dependent mechanisms. **Eukaryotic Cell**, 12, n. 2, p. 224-232, 2013.

BARBARA MODRZEWSKA, P. K. D. Invasion of host cells by fungi progresses in several phases. **Polish Parasitological Society**, v. 59, n. 2, p. 57–66, 2013.

BARBEDO, L. SGARBI DBG. Candidíase: Revisão. DST. **Journal Brasileiro Doenças Sexualmente Transmissíveis**, 22, p. 22-38, 2010.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal: As bases moleculares da ação dos fármacos**. Artmed Editora, 2014. 8582711182.

BAUMANN, E. Ueber eine einfache Methode der Darstellung von Benzoësäureäthern. **Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft**, v. 19, n. 2, p. 3218-3222, 1886.

BATHAIE, S. Z.; TAMANOI, F. In The Enzymes: Natural Products and Cancer Signaling Targets: Isoprenoids, Polyphenols and Favonoids. **Academic Press**. v. 36p. p. 1–6, 2014.

BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R. **Fluconazole resistance in Candida species: A current perspective**, Dove Medical Press Ltd., 2017.

BERLINCK, R. G.; BORGES, W. D. S.; SCOTTI, M. T.; VIEIRA, P. C. A química de produtos naturais do Brasil do século XXI. **Química Nova**, v. 40, n. 6, p. 706-710, 2017.

BHATTACHARJEE, P. Epidemiology and antifungal susceptibility of Candida species in a tertiary care hospital, Kolkata, India. **Current Medical Mycology**, v. 2, n. 2, 2016.

BONGOMIN, F.; GAGO, S.; OLADELE, R. O.; DENNING, D. W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. **Journal of Fungi**, v. 3, n. 4, p. 57, 2017.

BORAL, H. et al. Overview of selected virulence attributes in *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton rubrum*, and *Exophiala dermatitidis*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 111, p. 92–107, 2018.

BORGES, W. de S. et al. A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI.

Química Nova, v. 40, n. 6, p. 706–710, 2017.

BOREL, C. R.; BARBOSA, L. C.; MALTHA, C. R.; FERNANDES, S. A. et al. Synthesis Of 2-(2-Pyridyl) Quinolines Promoted by Microwaves and their Antifungal Activities. *Química Nova*, 40, n. 9, p. 1065-1073, 2017.

BRANDT, A. R.; HEATH, G.; KORT, E.; O'SULLIVAN, F. et al. Methane Leaks From North American Natural Gas Systems. **Science**, v. 343, n. 6172, p. 733-735, 2014.

BREAK, T. J. DESAI, J. V.; NATARAJAN, M.; FERRE, E. M. VT-1161 protects mice against oropharyngeal candidiasis caused by fluconazole-susceptible and -resistant *Candida albicans*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 73, n. 1, p. 151–155, 2018.

BROWN, G. D. et al. **Hidden killers: Human fungal infections**, 2012.

CANDAN, F. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 87, n. 2–3, p. 215–220, 2003.

CASTRO, M. C. A. **Ocorrência de espécies do complexo *Candida parapsilosis* em amostras biológicas de pacientes e profissionais de hospitais do Natal/RN**. 2017. 77f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017.

CHANDRA, J.; MUKHERJEE, P.; LEIDICH, S.; FADDOUL, F. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: Development, architecture, and drug resistance. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 18, p. 5385–5394, 2001.

CHANDRASEKAR, P. Management Of Invasive Fungal Infections: A Role For Polyenes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 66, n. 3, p. 457-465, 2011.

CHATURVEDI, R.; RAMANI, R.; GHANNOUM, M. A.; KILLIAN, S. B. Plastid ω 3-fatty acid desaturase-dependent accumulation of a systemic acquired resistance inducing activity in petiole exudates of *Arabidopsis thaliana* is independent of jasmonic acid. **Plant Journal**, v. 54, n. 1, p. 106–117, 2008.

CLAUDIO VIEGAS-JUNIOR; ELIEZER J. BARREIRO; CARLOS ALBERTO

MANSSOUR FRAGA. Molecular Hybridization: A Useful Tool in the Design of New Drug Prototypes. **Current Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 17, p. 1829–1852, 2007.

COSTA, Aratã Oliveira Cortez. **Estudo in vitro e in silico da atividade antifúngica dos isômeros r-(+) e s-(-)citronelal sobre fungos do gênero cryptococcus**. 2017. 52 f. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos)-Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

BUZZI, C. F. et al. Antinociceptive properties of caffeic acid derivatives in mice. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4596–4602, 2009.

OLIVEIRA, P. F. et al. Antifungal activity of geraniol and citronellol, two monoterpenes alcohols, against *Trichophyton rubrum* involves inhibition of ergosterol biosynthesis. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 2, p. 228–234, 2015.

DEORUKHKAR, S. C.; SAINI, S.; MATHEW, S. Non- albicans *Candida* infection: An emerging threat. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2014, 2014.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry And Molecular Biology Of Plants*, v. 24, p. 1250-1319, 2000.

DENNING, D. W.; HOPE, W. W. Therapy for fungal diseases: opportunities and priorities. **Trends In Microbiology**, v.18, n. 5, p. 195-204, 2010.

DORMAN, H.; DEANS, S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88, n. 2, p. 308-316, 2000.

FERNANDES, J. P. d. S.; SAVINO, G.; AMARANTE, A. C. G.; SOUSA, M. R. d. et al. Estudo das relações entre estrutura e atividade de parabenos: uma aula prática. *Química Nova*, 36, n. 6, p. 890-893, 2013.

DIGNANI, D. F. **Peperomia blanda (PIPERACEAE): AVALIAÇÃO DAS ATIVIDADES ANTIBACTERIANA E ANTIOXIDANTE**. UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 111 pgs, 2009.

EL-AZIZI, M.; FARAG, N.; KHardORI, N. Antifungal activity of amphotericin B and voriconazole against the biofilms and biofilm-dispersed cells of *Candida albicans*

employing a newly developed in vitro pharmacokinetic model. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 14, n. 1, 2015.

FERREIRA, Alana Rodrigues. **Ésteres sintéticos derivados do ácido 3-metil-4-nitrobenzoico e avaliação da sua atividade antifúngica**. 117p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, 2018.

FUENTEFRIA, A. M.; PIPPI, B.; DALLA LANA, D. F.; DONATO, K. K. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in applied microbiology**, 66, n. 1, p. 2-13, 2018.

GEDDES-MCALISTER, J.; SHAPIRO, R. S. New pathogens, new tricks: emerging, drug-resistant fungal pathogens and future prospects for antifungal therapeutics. **Annals Of The New York Academy Of Sciences**, v. 1435, n. 1, p. 57-78, 2019.

GILLES, V. et al. A New, Simple and Efficient Method of Steglich Esterification of Juglone with Long-Chain Fatty Acids: Synthesis of a New Class of Non-Polymeric Wax Deposition Inhibitors for Crude Oil. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 1, p. 74–83, 2014.

GIOLO, M. P.; SVIDZINSKI, T. I. E. Fisiopatogenia, epidemiologia e diagnóstico laboratorial da candidemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 46, n. 3, p. 225-234, 2010.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G. Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 70, p. 81–98, 2010.

GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, p. 5-10, 2014.

GRABE, D.F. **Manual do teste de tetrazólio em sementes**. Brasília, DF: AGIPLAN.

GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A. Natural products as antimicrobial agents. **Food Control**, v. 46, p. 412–429, 2014.

HÖFS, S.; MOGAVERO, S.; HUBE, B. Interaction of *Candida albicans* with host cells:

virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of Microbiology**, v. 54, n. 3, p. 149-169, 2016.

HUBER, P. C.; MARUIAMA, C. H.; ALMEIDA, W. P. Glicoproteína-P, resistência a múltiplas drogas (MDR) e relação estrutura-atividade de moduladores. **Química Nova**, v. 33, n. 10, p. 2148–2154, 2010.

JEFFERY-SMITH, A.; TAORI, S. K.; SCHELENZ, S.; JEFFERY, K. et al. *Candida auris*: a review of the literature. **Clinical Microbiology Reviews**, 31, n. 1, p. 17-29, 2018.

JI, X.-Y. WANG, H.-Q.; HAO, L.-H.; HE, W.Y. Synthesis and Antiviral Activity of N-Phenylbenzamide Derivatives, a Novel Class of Enterovirus 71 Inhibitors. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3630–3640, 2013.

KADOSH, D.; LOPEZ-RIBOT, J. L. **Candida albicans: Adapting to Succeed**, Cell Press, 2013.

KASHEM, S. W.; IGYÁRTÓ, B. Z.; GERAMI-NEJAD, M.; KUMAMOTO, Y. *Candida Albicans Morphology And Dendritic Cell Subsets Determine T Helper Cell Differentiation*. **Immunity**, v. 42, n. 2, p. 356-366, 2015.

KNOBLOCH, K. PAULI, A.; IBERL, B.; WEIGAND, H.. Antibacterial and Antifungal Properties of Essential Oil Components. **Journal of Essential Oil Research**, v. 1, n. 3, p. 119–128, 1989.

KULLBERG, B. J.; ARENDRUP, M. C. Invasive candidiasis. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 15, p. 1445-1456, 2015.

LAHKAR, V.; SAIKIA, L.; PATGIRI, S. J.; NATH, R. et al. Estimation Of Biofilm, Proteinase & Phospholipase Production Of The *Candida* Species Isolated From The Oropharyngeal Samples In HIV-Infected Patients. **The Indian Journal Of Medical Research**, 145, n. 5, p. 635, 2017.

LEUNG, C. S; LEUNG, S. S.; TIRADO-RIVES, J.; JORGENSEN, W. L Methyl effects on protein-ligand binding. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 55, n. 9, p. 4489–4500, 2012.

LEONHARD, M.; SCHNEIDER-STICKLER, B. Voice Prostheses, Microbial Colonization And Biofilm Formation. In: **Biofilm-based Healthcare-associated Infections**: Springer, 2015. p. 123-136.

LIU, J. et al. The effects of combined menthol and borneol on fluconazole permeation through the cornea ex vivo. **European Journal of Pharmacology**, v. 688, n. 1–3, p. 1–5, 2012.

LIU, R. et al. Protection by borneol on cortical neurons against oxygen-glucose deprivation/reperfusion: involvement of anti-oxidation and anti-inflammation through nuclear transcription factor kappaB signaling pathway. **Neuroscience**, v. 176, p. 408–419, 2011.

LÓPEZ-MARTÍNEZ, R. Candidosis, a new challenge. **Clinics in Dermatology**, v. 28, n. 2, p. 178–184, 2010.

LU, Y.; SU, C.; LIU, H. Candida albicans hyphal initiation and elongation. **Trends in Microbiology**, v. 22, n. 12, p. 707–714, 2014.

LUTJEN, A. B. et al. Synthesis of (E)-cinnamyl ester derivatives via a greener Steglich esterification. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 19, p. 5291–5298, 2018.

MAUBON, D. et al. Resistance of Candida spp. to antifungal drugs in the ICU: Where are we now?. **Intensive Care Medicine**, 40, n. 9, p. 1241-1255, 2014.

MELLINGHOFF, S. C. et al. Primary prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematological malignancies: 2017 update of the recommendations of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society for Haematology and Medical Oncology (DGHO), **Annals Of Hematology**, v. 97, n. 2, p. 197-207, 2018.

MENDES GIANNINI, M. J. S. et al. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. 1, p. 10–24, 2013.

MOLINARO, E. M.; CAPUTO, L. F. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde, v. 4. 2009.

MODRZEWSKA, B.; KURNATOWSKI, P. Selected pathogenic characteristics of fungi from the genus *Candida*. **Annals Of Parasitology**, 59, n. 2, 2013.

MORALES-YUSTE, M.; M.; MORILLAS-MÁRQUEZ, F.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; VALERO-LÓPEZ, A. Activity of (-)- α -bisabolol against *Leishmania infantum* promastigotes. **Phytomedicine**, v. 17, n. 3–4, p. 279–281, 2010.

MURRAY, J. L. et al. **Mechanisms of synergy in polymicrobial infections**, 2014.

NAGLIK, J. R.; KÖNIG, A.; HUBE, B.; GAFFEN, S. L. *Candida albicans*–epithelial interactions and induction of mucosal innate immunity. **Current Opinion in Microbiology**, v. 40, p. 104–112, 2017.

NASCIMENTO, P. F. C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 108–113, 2007.

NASCIMENTO, Lázaro Gomes. **Preparação de ésteres nitrocinâmicos e avaliação da sua atividade antimicrobiana**. 115p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2017.

NEISES, B.; STEGLICH, W. Simple method for the esterification of carboxylic acids. **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 17, n. 7, p. 522–524, 1978.

NEPALI, K. et al. Rational approaches, design strategies, structure activity relationship and mechanistic insights for anticancer hybrids. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 422–487, 2014.

NEPPELENBROEK, K. H.; SEÓ, R.; URBAN, V.; SILVA, S. et al. Identification Of *Candida* Species In The Clinical Laboratory: A Review Of Conventional, Commercial, And Molecular Techniques. **Oral Diseases**, v. 20, n. 4, p. 329–344, 2014.

OLIVEIRA, L. G. De; PUPO, M. T.; VIEIRA, P. C. Explorando produtos naturais microbianos nas fronteiras da Química e da Biologia. **Química Nova**, v. 36, n. 10, p. 1577–1586, 2013.

PARAMYTHIOTOU, E.; FRANTZESKAKI, F.; FLEVARI, A.; ARMAGANIDIS, A.

Invasive fungal infections in the icu: How to approach, how to treat. **Molecules**, v. 19, n. 1, p. 1085–1119, 2014.

PARE, P. W. et al. De Novo Biosynthesis of Volatiles Induced by Insect Herbivory in Cotton Plants. **Plant physiology**, v. 114, n. 4, p. 1161–1167, 1997.

PEIXOTO, J.; ROCHA, M.; NASCIMENTO, R.; MOREIRA, V. et al. Candidiasis—A Literature Review. **BJSCR**, 8, n. 2, p. 75-82, 2014.

PEMÁN, J.; ZARAGOZA, R.; SALAVERT, M. Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de Candida y otras levaduras. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 26, n. 4, 2013.

PERFECT, J. R. The Antifungal Pipeline: A Reality Check. **Nature Reviews Drug Discovery**, 16, n. 9, p. 603, 2017.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. **Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem**, **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 1, p. 133-163, 2007.

PILMIS, B. et al. **New clinical phenotypes of fungal infections in special hosts**, Elsevier B.V., 2016.

POLKE, M.; HUBE, B.; JACOBSEN, I. D. Candida Survival Strategies. **Advances in Applied Microbiology**, v. 91, p. 139–235, 2015.

QI, H.-P. et al. In vitro evaluation of enhancing effect of borneol on transcorneal permeation of compounds with different hydrophilicities and molecular sizes. **European Journal of Pharmacology**, v. 705, n. 1–3, p. 20–25, 2013.

QIU, J. et al. Subinhibitory concentrations of thymol reduce enterotoxins A and B and α -hemolysin production in Staphylococcus aureus isolates. **PLoS ONE**, v. 5, n. 3, 2010.

RAMAGE, G. et al. **Fungal biofilm resistance**, 2012.

ROBERTO, M. et al. Biotransformação De Limoneno: Uma Revisão Das Principais Rotas Metabólicas. **Quim. Nova**. v.30 n.2. 2007

ROY; C. Evaluation of new antimicrobials in vitro and in experimental animal infection. **Antibiotics in laboratory medicine**, 1991.

SANDERSON, J. T. et al. Antiproliferative, antiandrogenic and cytotoxic effects of novel caffeic acid derivatives in LNCaP human androgen-dependent prostate cancer cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 7182–7193, 2013.

SARDI, J.; SCORZONI, L.; BERNARDI, T.; FUSCO-ALMEIDA, A. et al. Review Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, p. 10-24, 2013.

SARTORATTO, A. et al. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275–280, 2004.

SAWANT, B.; KHAN, T. Recent advances in delivery of antifungal agents for therapeutic management of candidiasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 96, p. 1478–1490, 2017.

SCHÖNHERR, H.; CERNAK, T. Profound Methyl Effects in Drug Discovery and a Call for New C–H Methylation Reactions. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 52, n. 47, p. 12256-12267, 2013.

SEMIS, R. et al. Mechanism of activity and toxicity of Nystatin-Intralipid. **Medical Mycology**, v. 51, n. 4, p. 422–431, 2013.

SEYEDMOUSAVI, S. et al. **Emerging and Epizootic Fungal Infections in Animals**: Springer International Publishing, 2018.

SIKKEMA, J.; DE BONT, J. A. M.; POOLMAN, B. Mechanisms of Membrane Toxicity of Hydrocarbons. **MICROBIOLOGICAL REVIEWS**. v. 59, n. 2, p. 201–222, 1995.

SILVA, Rayanne Hellen do Nascimento. **Derivados sintéticos do ácido 4-clorocinâmico e atividade antimicrobiana**. 155p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – 2018.

SINGH, B.; SHARMA, R. A. Plant terpenes: defense responses, phylogenetic analysis, regulation and clinical applications. **3 Biotech**, v. 5, n. 2, p. 129–151, 2015.

SINGHI, S.; DEEP, A. Invasive Candidiasis in Pediatric Intensive Care Units. **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 76, n. 10, p. 1033-1044, 2009.

SLAMEŇOVÁ, D.; HORVÁTHOVÁ, E.; WSÓLOVÁ, L.; ŠRAMKOVÁ, M. Investigation of anti-oxidative, cytotoxic, DNA-damaging and DNA-protective effects of plant volatiles eugenol and borneol in human-derived HepG2, Caco-2 and VH10 cell lines. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 677, n. 1–2, p. 46–52, 2009.

SUDHAN, S. S. et al. Identification of Candida Species in the Clinical Laboratory: A Review of Conventional, Commercial and Molecular Techniques. **International Journal of Medical Research Professionals**, v. 2, n. 6, 2016.

TAGHIZADEH-ARMAKI, M.; HEDAYATI, M. T.; ANSARI, S.; OMRAN, S. M. et al. Genetic diversity and in vitro antifungal susceptibility of 200 clinical and environmental *Aspergillus flavus* isolates. **Antimicrobial Agents And Chemotherapy**, v. 61, n. 5, p.4-17, 2017.

TAMURA, N. K.; NEGRI, M. F. N.; BONASSOLI, L. A.; SVIDZINSKI, T. I. E. Virulence factors for *Candida* spp recovered from intravascular catheters and hospital workers' hands. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, 2007.

TASCINI, C. et al. The role of biofilm forming on mortality in patients with candidemia: a study derived from real world data. **Infectious Diseases**, v. 50, n. 3, p. 214–219, 2018.

TOGASHI, N. et al. Effects of Two Terpene Alcohols on the Antibacterial Activity and the Mode of Action of Farnesol against *Staphylococcus aureus*. **Molecules**, v. 13, n. 12, p. 3069–3076, 2008.

TREVIÑO-RANGEL, R. de J. et al. Association between *Candida* biofilm-forming bloodstream isolates and the clinical evolution in patients with candidemia: An observational nine-year single center study in Mexico. **Revista Iberoamericana de Micología**, v. 35, n. 1, p. 11–16, 2018.

VASCONCELOS, C. N. E. d.; SILVA, N. N. P.; BATISTA, P. N.; SOUZA, J. H. K. d. Estudo comparativo entre terapia oral e local no tratamento de corrimentos vaginais: candidíase, tricomoníase e vaginose bacteriana. 2016.

VIEIRA, A. J. H.; SANTOS, J. Mecanismos de resistência de *Candida albicans* aos antifúngicos anfotericina B, fluconazol e caspofungina. **RBAC**, 49, n. 3, p. 235-239, 2017.

VIRIATO, A. Terpenoides com atividade antifúngica para *Candida Berkhout*, causadoras de infecções hospitalares. **Mundo saúde**, v. 38, n. 1, p. 40-50, 2014.

UENOJO, M.; MAROSTICA JR, M.; PASTORE, G. M. Carotenoids: Properties, Applications And Biotransformation In Flavor Compounds. **Quimica Nova**, 2007.

US Food and Drug Administration. 21CFR172.515 Code of Federal Regulations Title 21, April 1, 2014. Part 172: Food additives permitted for direct addition to food for human consumption.

UYS, A. C. U; MALAN, S. F.; VAN DYK, S.; VAN ZYL, R. L. Antimalarial compounds from *Parinari capensis*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 12, n. 16, p. 2167–2169, 2002.

YERUVA, L.; PIERRE, K. J.; ELEGBEDE, A.; WANG, R. C. et al. Perillyl alcohol and perillic acid induced cell cycle arrest and apoptosis in non small cell lung cancer cells. **Cancer Letters**, 257, n. 2, p. 216-226, 2007.

YU, B.; RUAN, M.; DONG, X.; YU, Y. The mechanism of the opening of the blood–brain barrier by borneol: A pharmacodynamics and pharmacokinetics combination study. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, n. 3, p. 1096–1108, 2013.

ZAOUTIS, T. E.; PRASAD, P. A.; LOCALIO, A. R.; COFFIN, S. E. Risk Factors and Predictors for Candidemia in Pediatric Intensive Care Unit Patients: Implications for Prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 5, p. 38–45, 2010.

ZARRIN, M.; MAHMOUDABADI, A. Z. Invasive candidiasis; a review article. **Jundishapur Journal of Microbiology**. **Jundishapur Journal of Microbiology**. v. 2, n. 1, p. 1-6, 2009.

ZORE, G. B. et al. Terpenoids inhibit *Candida albicans* growth by affecting membrane integrity and arrest of cell cycle. **Phytomedicine**, v. 18, n. 13, p. 1181–1190, 2011.