



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

TESE DE DOUTORADO

**DERIVADOS DO EUGENOL E ISOEUGENOL E SUAS
POTENCIALIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBIOFILME**

JEANE UILMA GALINDO JARDIM



JOÃO PESSOA – PB – BRASIL

OUTUBRO/2018



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

TESE DE DOUTORADO

**DERIVADOS DO EUGENOL E ISOEUGENOL E SUAS
POTENCIALIDADES ANTIFÚNGICA E ANTIBIOFILME**

JEANE UILMA GALINDO JARDIM

Tese de Doutorado apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba, como requisito para a obtenção do título de Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de concentração: FARMACOQUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho

Coorientador: Prof. Dr. Petrônio Filgueiras Athayde Filho

JOÃO PESSOA – PB – BRASIL

OUTUBRO/2018

J37d Jardim, Jeane Uilma Galindo.

Derivados do eugenol e isoeugenol e suas potencialidades antifúngica e antibiofilme / Jeane Uilma Galindo Jardim. - João Pessoa, 2019.

165 f.

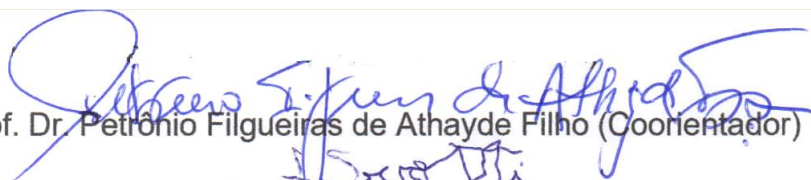
Orientação: José Maria Barbosa Filho. Coorientação: Petrônio Filgueiras Athayde Filho. Tese (Doutorado)- UFPB/CCS.

1. derivados do eugenol. 2. derivados do isoeugenol. 3. acetamidas substituídas. 4. Candida albicans. 5. Staphilococcus aureus. I. Filho, José Maria Barbosa.

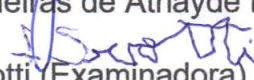
"Derivados do eugenol e isoeugenol e suas potencialidades antifúngica e antibiofilme".

Tese de Doutorado submetida a banca examinadora como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Aprovada em 31 de outubro de 2018.

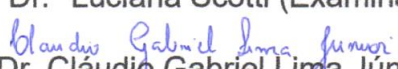
COMISSÃO EXAMINADORA



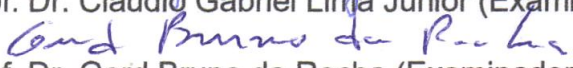
Prof. Dr. Petronio Filgueiras de Athayde Filho (Coorientador)



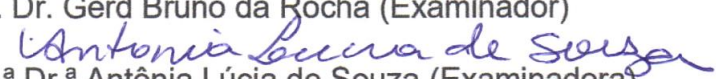
Prof.ª Dr.ª Luciana Scotti (Examinadora)



Prof. Dr. Cláudio Gabriel Lima Júnior (Examinador)



Prof. Dr. Gerd Bruno da Rocha (Examinador)



Prof.ª Dr.ª Antônia Lúcia de Souza (Examinadora)

*Em memória do meu tio
Joseano Torres Galindo.*

Dedicatória

***Aos meus pais Iracema e Eraldo e ao meu
irmão Charles pelo apoio e incentivo.***

AGRADECIMENTOS

À Deus agradeço por tudo e por todos que foram colocados em meu caminho.

Aos meus pais Iracema e Eraldo e ao meu irmão Charles por todo sacrifício que fizeram em meu favor.

Às minhas tias Marinalva e Juraci pelo apoio psicológico e financeiro durante meus estudos ao longo de minha vida.

Aos professores Dr. José Maria Barbosa Filho e Dr. Petrônio Filgueiras de Athayde Filho por me orientar e pela gentileza com que sempre me trataram.

Aos professores Dr. Fábio Correia Sampaio e Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima pelos estudos biológicos que vieram para enriquecer o trabalho.

Ao professor Dr. Luis Cezar Rodrigues pela fundamental ajuda para meu ingresso no doutorado.

Ao meu amigo Helivaldo pela amizade, pela ajuda imprescindível para realização deste trabalho. Serei eternamente grata.

Ao meu amigo Ricardo pela amizade, por todos os incentivos, pelas incontáveis ajudas e pelo estudo QSAR.

À equipe docente do Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Aos técnicos Dr. Bruno e Rogério.

A CAPES pelo apoio financeiro.

À minha amada Universidade Federal da Paraíba.

JARDIM, J.U.G. **Derivados do eugenol e isoeugenol e suas potencialidades antifúngica e antibiofilme**, 2018. 162 f. Tese (Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos – Área de concentração: Farmacoquímica) – UFPB/ CCS, João Pessoa.

RESUMO

Neste trabalho descreve-se a síntese, caracterização e potencial antifúngico e antibiofilme de dezoito derivados de monoterpenos, sendo nove derivados do eugenol e outros nove do isoeugenol. A síntese desses compostos, que apresentou rendimentos satisfatórios (74 a 92 %), ocorreu em duas etapas: inicialmente foram sintetizadas nove acetamidas e em seguida estas foram derivatizadas com o eugenol e o isoeugenol, separadamente, em uma reação de eterificação do tipo SN₂. Todos os compostos, acetamidas e derivados, foram caracterizados por técnicas espectroscópicas de IV, RMN de ¹H e ¹³C e avaliou-se o potencial antifúngico dos derivados contra cepas de *Candida albicans* e a atividade antibiofilme contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Dentre os dezoito derivados investigados, os estudos antifúngicos indicaram que os derivados do isoeugenol (E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-fenilacetamida e (E)-N-(4-clorofenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida e o derivado do eugenol 2-(4-alil-2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida inibiram moderadamente o crescimento das espécies de *Candida* e o derivado do eugenol 2-(4-alil-2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida apresentou uma forte atividade inibitória de 85 % das cepas do gênero *Candida*. A atividade antiaderente foi observada em seis dos dez derivados do isoeugenol frente a *E. coli*, sendo evidenciado a aderência de apenas 2,9% do derivado do isoeugenol (E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-fenilacetamida. Em relação a *S. aureus*, os derivados do isoeugenol (E)-N-(4-etilfenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida e (E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(p-tolil)acetamida apresentaram atividade antiaderente inferior a 10%, e os derivados do eugenol apresentaram atividade antiaderente entre 3,72 e 90,43%. Todos os derivados do eugenol apresentaram atividade antibiofilme inferior a 10% contra *E. coli*. Os estudos antibacterianos mostraram que a mais baixa CIM foi observada no composto (E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida frente a *E. coli* (35 µg/mL) e por 2-(4-alil-2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (66,8 µg/mL) para *S. aureus*. Os estudos de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR) indicaram que os descritores que contribuíram significativa e positivamente para a série do isoeugenol são os DIFF (difusividade, controle da dispersão química em água a 25°C) e CP (Parâmetro de embalagem crítica), enquanto, para a série do eugenol, apenas o descritor V (volume molecular) o qual influencia de forma crescente, ou seja, um maior volume em uma solução aquosa e maior repulsão à água resulta em atividade antifúngica considerável.

Palavras-chave: derivados do eugenol, derivados do isoeugenol, acetamidas substituídas, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*.

JARDIM, J.U.G. **Eugenol and isoeugenol derivatives and their antifungal and antibiofilm potentials**, 2018. 162 f. Thesis (PhD in Bioactive Synthetic and Natural Products - Concentration Area: Pharmacochemistry) - UFPB / CCS, Joao Pessoa.

ABSTRACT

This work describes the synthesis, characterization and antifungal potential and antibiofilm of eighteen monoterpene derivatives, nine of which are derived from eugenol and nine from isoeugenol. The synthesis of these compounds, which yielded satisfactory yields (74 to 92%), occurred in two steps: nine acetamides were initially synthesized and then these were derivatized with eugenol and isoeugenol separately in an etherification reaction of type SN₂. All compounds, acetamides and derivatives were characterized by IR spectroscopic techniques, ¹H and ¹³C NMR and the antifungal potential of the derivatives against *Candida albicans* strains and antibiofilm activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were evaluated. Among the eighteen derivatives investigated, antifungal studies indicated that isoeugenol (E) - 2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) -N-phenylacetamide and (E) - N- (4-chlorophenyl) -2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) acetamide and the eugenol derivative 2- (4-allyl-2-methoxyphenoxy) -N- (4-allyl-2-methoxyphenyl) -N- (4-chloro-3-nitrophenyl) acetamide showed a strong inhibitory activity of 85 % of strains of the genus *Candida*. Anti-adherent activity was observed in six of the ten isoeugenol derivatives against *E. coli*, and the adhesion of only 2.9% of the isoeugenol (E) -2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) -N-phenylacetamide. For *S. aureus*, derivatives of isoeugenol (E) -N- (4-ethylphenyl) -2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) acetamide and (E) -2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) -N- (p-tolyl) acetamide exhibited excellent non-stick activity of less than 10%, and eugenol derivatives showed non-stick activity between 3.72 and 90.43%. All eugenol derivatives showed less than 10% antibiofilm activity against *E. coli*. Antibacterial studies showed that the lowest MIC was observed in the compound (E) - 2- (2-methoxy-4- (prop-1-en-1-yl) phenoxy) -N- (4-methoxyphenyl) acetamide *E. coli* (35 µg / mL) and 2- (4-allyl-2-methoxyphenoxy) -N- (4-chloro-3-nitrophenyl) acetamide (66.8 µg / mL) for *S. aureus*. Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) studies indicated that the descriptors that contributed significantly and positively to the isoeugenol series are DIFF (diffusivity, control of chemical dispersion in water at 25 ° C) and CP (critical packaging parameter), whereas for the eugenol series only the descriptor V (molecular volume) which influences increasing, that is, a larger volume in an aqueous solution and greater repulsion to water results in considerable antifungal activity.

Keywords: eugenol derivatives, isoeugenol derivatives, substituted acetamides, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*.

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 - Estrutura molecular do eugenol.</i>	7
<i>Figura 2 - Estrutura molecular do isoeugenol.</i>	12
<i>Figura 3 - Alguns fármacos que apresentam a função amida</i>	14
<i>Figura 4 - Métodos usados na síntese de amidas</i>	15
<i>Figura 5 - Formação de biofilme bacteriano</i>	18
<i>Figura 6 - Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA1.</i>	22
<i>Figura 7 - Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA1.</i>	23
<i>Figura 8 - Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA1.</i>	25
<i>Figura 9 - Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA1.</i>	29
<i>Figura 10 - Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1.</i>	30
<i>Figura 11 - Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1</i>	31
<i>Figura 12- UFC/mL de E. coli frente aos compostos de Isoeugenol.</i>	40
<i>Figura 13 - UFC/mL de S. aureus frente aos compostos de Isoeugenol.</i>	41
<i>Figura 14 - UFC/ mL de E. coli frente aos compostos de eugenol.</i>	42
<i>Figura 15 - UFC/ mL de S. aureus frente aos compostos de eugenol.</i>	42
<i>Figura 16 - Plotagem de r^2 e q^2 versus o número de variáveis latentes (LV) considerando os modelos PLS da série isoeugenol.</i>	45
<i>Figura 17 - Plotagem de r^2 e q^2 versus o número de variáveis latentes (LV) considerando os modelos PLS da série eugenol.</i>	45
<i>Figura 18 - Gráfico de escores discriminantes t1-t2 do PLS para série eugenol</i>	47
<i>Figura 19 - Gráfico de escores discriminantes t1-t2 do PLS para série isoeugenol.</i>	48
<i>Figura 20 - Gráfico de pesos LV1xLV2 do PLS para série isoeugenol.</i>	49
<i>Figura 21 - Gráfico de pesos LV1xLV2 do PLS para série eugenol</i>	50
<i>Figura 22 - Gráfico dos pesos do PLS da série isoeugenol.</i>	51
<i>Figura 23 - Gráfico dos pesos do PLS da série eugenol.</i>	52
<i>Figura 24- Campos de interações dos compostos 1 (a), 6 (b), 7 (c) e 9 (d), com nível das sondas DRY (sonda hidrofóbica) de OH2 no programa Volsuf.</i>	54

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 - Rendimentos e tempo de reação da formação dos híbridos de eugenol/iseugenol com acetamidas</i>	21
<i>Tabela 2 - Dados dos espectros de RMN ^{13}H (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do eugenol EA1 a EA9.</i>	27
<i>Tabela 3 - Dados dos espectros de RMN ^{13}C (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do eugenol EA1 a EA9.</i>	28
<i>Tabela 4 - Dados dos espectros de RMN ^1H (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do isoeugenol ISOA1 a ISOA9.</i>	32
<i>Tabela 5 - Dados dos espectros de RMN ^{13}C (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do isoeugenol ISOA1 a ISOA9.</i>	33
<i>Tabela 6 - Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos acetamidas/com isoeugenol e eugenol contra cepas de leveduras – Técnica de microdiluição</i>	34
<i>Tabela 7 - Concentração inibitória mínima dos derivados do isoeugenol contra bactérias Escherichia coli e Staphylococcus aureus.</i>	37
<i>Tabela 8 - Variância dos modelos PLS.</i>	46

LISTA DE ESQUEMAS

<i>Esquema 1 – Reação utilizada para a síntese das acetamidas substituídas A1-9</i>	<i>19</i>
<i>Esquema 2 – Mecanismo proposto para a acetilação da amina primária pela reação de cloreto de ácido.</i>	<i>19</i>
<i>Esquema 3 – Esquema geral da reação entre o eugenol/isoegenol com as acetamidas</i>	<i>20</i>
<i>Esquema 4 – Mecanismo proposto para a adição nucleofílica da acetamida substituída ao eugenol/isoegenol</i>	<i>21</i>
<i>Esquema 5 – Formação das acetamidas substituídas.</i>	<i>57</i>
<i>Esquema 6 – Síntese dos derivados do eugenol.</i>	<i>60</i>
<i>Esquema 7– Síntese dos derivados do isoegenol.</i>	<i>60</i>

LISTA DE ESPECTROS

<i>Espectro 1 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A1.</i>	81
<i>Espectro 2 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A1</i>	82
<i>Espectro 3 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A1.</i>	83
<i>Espectro 4– Espectro de IV (KBr) da acetamida A2.</i>	84
<i>Espectro 5 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A2</i>	85
<i>Espectro 6 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A2.</i>	86
<i>Espectro 7 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A3.</i>	87
<i>Espectro 8 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A3</i>	88
<i>Espectro 9 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A3.</i>	89
<i>Espectro 10 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A4.</i>	90
<i>Espectro 11 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A4</i>	91
<i>Espectro 12 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A4.</i>	92
<i>Espectro 13 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A5.</i>	93
<i>Espectro 14 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A5</i>	94
<i>Espectro 15 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A5.</i>	95
<i>Espectro 16 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A6.</i>	96
<i>Espectro 17 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A6</i>	97
<i>Espectro 18– Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A6</i>	98
<i>Espectro 19 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A7.</i>	99
<i>Espectro 20 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A7</i>	100
<i>Espectro 21 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A7.</i>	101
<i>Espectro 22 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A8</i>	102
<i>Espectro 23 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A8.</i>	103
<i>Espectro 24 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A8.</i>	104
<i>Espectro 25 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A9</i>	105
<i>Espectro 26 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A9</i>	106
<i>Espectro 27 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A9</i>	107
<i>Espectro 28 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA1.</i>	108
<i>Espectro 29 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA1.</i>	109
<i>Espectro 30 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA1.</i>	110
<i>Espectro 31 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA2.</i>	111
<i>Espectro 32 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA2.</i>	112
<i>Espectro 33 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA2.</i>	113
<i>Espectro 34 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA3.</i>	114
<i>Espectro 35 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA3.</i>	115
<i>Espectro 36 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA3.</i>	116
<i>Espectro 37 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA4.</i>	117
<i>Espectro 38 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA4.</i>	118

<i>Espectro 39 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA4.</i>	<i>119</i>
<i>Espectro 40 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA5.</i>	<i>120</i>
<i>Espectro 41 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA5.</i>	<i>121</i>
<i>Espectro 42 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA5.</i>	<i>122</i>
<i>Espectro 43 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA6.</i>	<i>123</i>
<i>Espectro 44 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA6.</i>	<i>124</i>
<i>Espectro 45 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA6.</i>	<i>125</i>
<i>Espectro 46 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA7.</i>	<i>126</i>
<i>Espectro 47 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA7.</i>	<i>127</i>
<i>Espectro 48 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA7.</i>	<i>128</i>
<i>Espectro 49 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA8.</i>	<i>129</i>
<i>Espectro 50 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA8.</i>	<i>130</i>
<i>Espectro 51 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA8.</i>	<i>131</i>
<i>Espectro 52 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA9.</i>	<i>132</i>
<i>Espectro 53 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA9.</i>	<i>133</i>
<i>Espectro 54 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA9.</i>	<i>134</i>
<i>Espectro 55 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA1.</i>	<i>135</i>
<i>Espectro 56 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA1.</i>	<i>136</i>
<i>Espectro 57 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA1.</i>	<i>137</i>
<i>Espectro 58 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA2.</i>	<i>138</i>
<i>Espectro 59 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA2.</i>	<i>139</i>
<i>Espectro 60 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA2.</i>	<i>140</i>
<i>Espectro 61 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA3.</i>	<i>141</i>
<i>Espectro 62 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA3.</i>	<i>142</i>
<i>Espectro 63 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA3.</i>	<i>143</i>
<i>Espectro 64 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA4.</i>	<i>144</i>
<i>Espectro 65 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA4.</i>	<i>145</i>
<i>Espectro 66 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA4.</i>	<i>146</i>
<i>Espectro 67 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA5.</i>	<i>147</i>

<i>Espectro 68 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA5.</i>	<i>148</i>
<i>Espectro 69 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA5.</i>	<i>149</i>
<i>Espectro 70 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA6.</i>	<i>150</i>
<i>Espectro 71 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA6.</i>	<i>151</i>
<i>Espectro 72 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA6.</i>	<i>152</i>
<i>Espectro 73 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA7.</i>	<i>153</i>
<i>Espectro 74 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA7.</i>	<i>154</i>
<i>Espectro 75 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA7.</i>	<i>155</i>
<i>Espectro 76 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA8.</i>	<i>156</i>
<i>Espectro 77 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA8.</i>	<i>157</i>
<i>Espectro 78 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA8.</i>	<i>158</i>
<i>Espectro 79 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol ISOA9.</i>	<i>159</i>
<i>Espectro 80 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA9.</i>	<i>160</i>
<i>Espectro 81 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3, 400 MHz) do derivado do eugenol ISOA9.</i>	<i>161</i>

LISTA DE ABREVIATURAS

APT	Do Inglês, Attached Proton Test
CIM	Concentração Inibitória Mínima
d	Dubleto
IV	Infravermelho
J	Constante de acoplamento
m	Multiplete
MHz	Mega Hertz
p.f.	Ponto de fusão
ppm	Partes por milhão
q	Quarteto
QSAR	Do inglês, Quantitative structure–activity relationship
t	Triplete
TMS	Tetrametilsilano
UFC	Unidade de Formação de Colônias
δ	Deslocamento químico
ν	Deformação axial
$\nu_{\text{ass.}}$	Deformação axial assimétrica
$\nu_{\text{s.}}$	Deformação axial simétrica
ν_{δ}	Deformação angular no plano
ν_{ω}	Deformação angular fora do plano

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	4
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo Geral.....	5
2.2. Objetivos Específicos.....	5
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	5
3.1. Propriedades dos óleos essenciais.....	5
3.2. Potencialidades farmacológicas do eugenol	7
3.3. Potencialidades farmacológicas do isoeugenol.....	11
3.4. Potencialidades farmacológicas das amidas.....	14
3.5 Derivados de eugenol e isoeugenol com potencial farmacológico.....	15
3.6 Biofilmes	17
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
4.1. Síntese das acetamidas substituídas	18
4.2. Síntese dos derivados do eugenol e do isoeugenol.....	20
4.3. Determinação estrutural.....	22
4.3.1. Interpretação dos espectros dos derivados do eugenol	22
4.3.2. Interpretação dos espectros dos derivados do isoeugenol.....	29
4.4. Estudos Biológicos dos novos derivados de eugenol e isoeugenol.....	34
4.4.1. Atividade antifúngica	34
4.4.2. Atividade antibacteriana.....	36
4.4.2.1 Concentração inibitória mínima.....	36
4.4.2.2 Teste de aderência	39
4.5. Estudos de relações estrutura-atividade quantitativas (QSAR).....	44
5. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	55
5.1. Conclusões.....	55
5.2. Perspectivas	56
6. ESTUDOS EXPERIMENTAIS.....	56
6.1. Materiais.....	56
6.2. Equipamentos.....	57
6.3. Síntese e caracterização de 2-cloro-N- acetamidas	57
6.4. Síntese e caracterização dos Compostos Finais.....	60

6.5. Estudos Biológicos	66
6.5.1.Atividade antifúngica	66
6.5.2.Atividade antibacteriana	68
6.5.2.1.Concentração inibitória mínima	68
6.5.2.2. Teste de aderência.....	69
6.6. Estudos de relações quantitativas estrutura-atividade (QSAR)	70
REFERÊNCIAS	71
ESPECTROS.....	81
A1.....	81
A2.....	84
A3.....	87
A4.....	90
A5.....	93
A6.....	96
A7.....	99
A8.....	102
A9.....	105
EA1.....	108
EA2.....	111
EA3.....	114
EA4.....	117
EA5.....	120
EA6.....	123
EA7.....	126
EA8.....	129
EA9.....	132
ISOA1.....	135
ISOA2.....	138
ISOA3.....	141
ISOA4.....	144
ISOA5.....	147
ISOA6.....	150
ISOA7.....	153
ISOA8.....	156
ISOA9.....	159

ANEXOS.....	162
ARTIGO PUBLICADO.....	163
ARTIGO ACEITO.....	164

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais apresentam formidáveis atividades biológicas, que são objeto de estudo de diversos profissionais. Atualmente estes compostos fornecem modelos para modificações estruturais e otimizações das propriedades farmacológicas e bioquímicas, servindo inclusive, para a inspiração de químicos orgânicos, estimulando-os para enfrentar desafios na construção de novas arquiteturas moleculares de sintéticos bioativos (BRAZ-FILHO, 2010).

Os fenilpropanoides, como o eugenol e o isoeugenol, destacam-se pela excelente ação antimicrobiana (HEMAISWARYA; DOBLE, 2009) e antiparasitária (MACHADO et al., 2011). Estes fenois são exemplos de uma classe de compostos que apresentam alto potencial antimicrobiano e são parte ou principal constituinte de uma grande variedade de produtos naturais (NAZZARO et al., 2013).

Vários compostos fenólicos com baixo peso molecular são voláteis constituintes das plantas e são fáceis de serem obtidos (PINHEIRO et al., 2017). O caráter ácido dos fenois pode ser um dos fatores que contribuem para a atividade antimicrobiana (GUTIÉRREZ-LARRAÍNZA, M. et al., 2012).

Os fenois possuem versatilidade química para aplicações em síntese visto que a propriedade ácida do grupo hidroxila nestes é devida à interação mesomérica como anel aromático. Os elétrons de valência do átomo de oxigênio do grupo hidroxila encontram-se parcialmente deslocados sobre as posições orto e para do anel benzênico, sendo o átomo de hidrogênio removido como um próton. Assim a acidez aumentada do fenol é o outro lado do poderoso efeito orto-para orientador do grupo hidroxila nas substituições eletrofílicas (NESMEYANOV & NESMEYANOV, 1974).

No presente trabalho descreve-se uma metodologia experimental para obtenção sintética de alguns derivados do eugenol e do isoeugenol que são isômeros de posição, utilizando poucas, simples, conhecidas e consagradas reações químicas, como por exemplo, reação de acetilação e alquilação. O caráter inovador está em empregar reações conhecidas em dois passos ainda não concatenados entre os terpenos eugenol e isoeugenol e acetamidas que são moléculas com potencial atividade antimicrobiana, de forma a obter no final uma série de híbridos do eugenol e outra do isoeugenol usando reagentes disponíveis ou acessíveis economicamente e condições reacionais compatíveis com a infraestrutura disponível.

2.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo de sintetizar derivados dos monoterpenos eugenol e isoeugenol com acetamidas, bem como avaliar suas potencialidades farmacológicas como agentes antimicrobianos e antibiofilme.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar modificações moleculares no eugenol e no isoeugenol através da adição de diferentes moléculas de acetamidas;
- Avaliar as propriedades farmacocinéticas das moléculas inéditas obtidas através do estudo por PLS;
- Integrar a síntese dos derivados do eugenol e do isoeugenol aos estudos farmacológicos, especialmente em relação às atividades antifúngica e antibiofilme.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Propriedades dos óleos essenciais

Os óleos essenciais são metabólitos secundários produzidos por plantas e podem ser extraídos de diversas partes das mesmas como flores, folhas, sementes, casca e madeira. Até o momento foram descritos cerca de 3.000 óleos onde cerca de 300 destes estão em uso comercial. Estes produtos tem por característica serem hidrofóbicos, solúveis em álcool e normalmente se apresentam incolores ou amarelo pálido. As plantas secretam essas substâncias muitas vezes para lhe conferir proteção frente a patógenos como fungos e insetos e impedir a ingesta por herbívoros (BARBOSA, FILOMENO e TEIXEIRA, 2016).

A maior parte dos OEs é insolúvel em água e menos denso que a mesma. Por outro lado dissolvem-se bem em álcool e podem compor misturas com gorduras ou óleos vegetais (MATOS & MATOS, 1989). Quimicamente, os OEs são uma combinação de diversos compostos químicos (denominados constituintes) como

terpenos, sesquiterpenos, aldeídos, fenóis, álcoois, cetonas, compostos sulfurados e nitrogenados (MATOS & FERNANDES, 1978; LAVABRE, 1993).

Esses constituintes podem ser ativos ou inativos do ponto de vista farmacológico e as ações dos OEs provavelmente refletem uma ação combinada desses dois tipos de constituintes. Os constituintes ativos podem atuar de forma sinérgica ou não, ao passo que os constituintes inativos podem influenciar a farmacocinética dos ativos. Além disso, a composição química dos OEs pode variar durante o dia e ao longo do ano e depender do clima, do solo, da variedade e da parte da planta de onde é extraído (folha, casca, caule, raiz). Devido a essa complexa composição química, postula-se que os OEs apresentam também uma diversidade de ações farmacológicas, sendo fontes potenciais para o desenvolvimento de novas drogas (CRAVEIRO et al., 1978, 1980; ALBUQUERQUE, 1982; MAGALHÃES, 1997).

Assim como as plantas aromáticas das quais são extraídos, são empregados na medicina popular na forma de chás no tratamento da rinite alérgica (BEZERRA, 1994), da cólica menstrual, da diarreia sanguinolenta, da amebíase e giardíase, e como sedativos, estomáquicos, anti-espasmódicos, anti-diarreicos (FREISE, 1935; ITOKAWA et al., 1981; KIUCHI et al., 1992; BEZERRA, 1994), antiparasitários, anti-microbianos, analgésicos, diuréticos (LUZ et al., 1984; MENDONÇA, 1989; MENDONÇA et al., 1991), anti-maláricos (KLAYMAN, 1985), anti-sifilíticos (MENDONÇA, 1989), hipotensores e /ou anti-hipertensivos (LUZ et al., 1984; MENDONÇA, 1989).

Os OEs são conhecidos por seu poder antisséptico, bactericida, virucida e fungicida, e são muito usados na preservação de alimentos (BAKKALI et al., 2008). Óleos essenciais, ou seus constituintes, possuem largo espectro farmacológico, sendo utilizados como antimicrobianos, analgésicos, sedativos, anti-inflamatórios, anti-espasmódicos e anestésicos locais, funcionando também como anti-helmínticos e anti-protozoários (ALVIANO et al., 2012; BAKKALI et al., 2008; BASSOLÉ e JULIANI, 2012; HAMMER et al., 1999; LIMA et al., 2006; YORK et al., 2012). Estudos realizados com essa diversidade de óleos essenciais demonstraram que estes possuem também atividade, anti-hiperglicêmica e antioxidante (TYAGI et al., 2014).

No Brasil, os principais óleos essenciais são extraídos de *Eucalyptus staigeriana*, *E. citriodora* e *E. globulus* (VITTI e BRITO, 2003). O óleo de *E. staigeriana* já apresenta relatos na literatura com atividade inseticida, nematicida e

antimicrobiana (GILLES et al., 2010; MACEDO et al., 2010; MACIEL et al., 2010). Em cerca de 300 espécies de eucalipto são extraídos óleos essenciais voláteis que são utilizados pela indústria farmacêutica para produção de produtos de higiene pessoal, cosméticos e na indústria alimentícia (VUONGA et al., 2015; BARBOSA, FILOMENO e TEIXEIRA, 2016).

Diferentes partes das plantas são utilizadas para extração de óleos essenciais como as folhas, tanto secas como verdes, troncos e casca que irão servir de matéria prima para indústria farmacêutica e cosmética. No subproduto da planta do *Eucalyptus* apresentam-se compostos voláteis e não-voláteis como flavonoides, triterpenóides e taninos que mostraram atividades relatadas na literatura por atuar frente a resfriados, dor, inflamação e atividade anticâncer (VOUNG et al., 2015).

A atividade dos OEs está associada à característica lipofílica das moléculas que os constituem. Estas moléculas atravessam a membrana celular e rompem a estrutura da camada de fosfolipídios que constituem as membranas, podendo levar a um extravasamento de moléculas e à lise celular (BAKKALI et al., 2008). A habilidade de difusão através de membranas dá a estas moléculas vantagens em agir sobre componentes celulares, estabelecendo uma opção valiosa na procura por componentes bioativos (ALVIANO et al., 2012).

3.2. Potencialidades farmacológicas do eugenol

O Eugenol (FIGURA 1), 2-Metoxi-4-(prop-2-en-1-il)fenol, é o principal composto identificado no óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (cravo) e também está presente em *Cinnamomum zeylanicum* (canela), *Ocimum gratissimum* L. (manjerição), *Pimenta dioica* (pimenta jamaicana), e em outras plantas e condimentos (KONG et al., 2014).

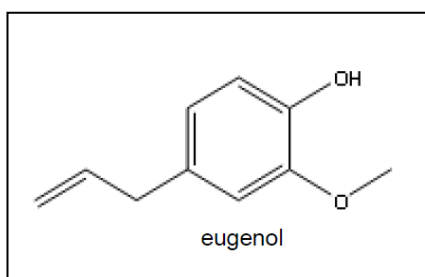


Figura 1 – Estrutura molecular do eugenol.

Tanto a Organização para Alimentação e Agricultura (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) têm permitido uma dose diária aceitável de eugenol de 2,5 mg/kg de peso corporal para os seres humanos. Além disso, a *Food and Drug Administration* (FDA) reportou o eugenol como substância segura e considerada não carcinogênica e não mutagênica (KONG et al., 2014).

O eugenol, foi isolado pela primeira vez em 1929 e sua produção comercial teve início nos Estados Unidos em 1940. Pode ser produzido sinteticamente, no entanto é predominantemente extraído a partir de óleos essenciais de várias espécies vegetais. Essa substância é classificada como um fenilpropanoide do tipo alilfenol e possui aspecto de um óleo amarelo claro com um odor característico de cravo e um sabor picante. É uma substância com inúmeras aplicações nas indústrias farmacêutica, alimentícia, agrícola e cosmética (KAUFMAN, 2015).

Ele encontra amplas aplicações que vão desde perfumarias, aromatizantes e em medicamentos. O eugenol é usado em combinação com óxido de zinco como curativo cirúrgico, agente de capsulagem, revestimento de cavidade, cimento temporário em lavagens bucais e terapia endodôntica, no estudo de secreções mucosas e em citologia gástrica (BANSODE, 2017). Na indústria ele é empregado para acentuar o paladar de doces e bebidas, sendo ainda empregado na manufatura de cosméticos (LEAL-CARDOSO, 1994).

Diversos estudos relatam a atividade farmacológica do eugenol, o qual apresentou atividade hepatoprotetora em ratos submetidos a doses de tiacetamida (TA), substância hepatotóxica, que reconhecidamente provoca danos ao fígado. Quando os animais receberam tratamento prévio com eugenol houve um decréscimo no índice de peroxidação lipídica, redução na oxidação de proteínas e de marcadores inflamatórios. Esses resultados sugerem que o eugenol é capaz de reduzir os efeitos tóxicos da TA no fígado (BASKARANA, PERIYASAM e , 2010).

A capacidade anti-aterogênica do eugenol também foi relatada recentemente em estudo que envolveu a administração tanto do eugenol como de extrato vegetal de *Piper betle*, rico nessa substância, em ratos alimentados com uma dieta presumivelmente aterosclerótica. Os resultados apontaram para um efeito anti-aterogênico tanto para o extrato e ainda mais pronunciado para o eugenol, possivelmente relacionado com seu potencial antioxidante (VENKADESWARAN, THOMAS e GERALDINE, 2016).

A avaliação do potencial do eugenol como um anti-hiperglicêmico demonstrou melhoria eficaz na hiperglicemia através da inibição da gliconeogênese hepática, o que promove essa substância como um agente terapêutico promissor para prevenção de diabetes tipo 2 (JEONG, KIM, *et al.*, 2014). Essa indicação do eugenol como possível droga para combate de complicações de diabetes também foi recentemente relatada na Literatura (PRASAD, BHARATH e MURALIDHARA, 2016).

A aplicação do eugenol em folhas de tomateiros resultou em uma maior resistência ao vírus da folha amarela do tomate, micro-organismo que provoca imensas perdas agrícolas e que não possui um controle químico ou biológico eficaz. Esses resultados fornecem base para utilização do eugenol como possível agente antiviral agrícola, o que pode contribuir para a segurança alimentar da população ao mesmo tempo que faz uso de uma substância natural ambientalmente menos danosa quando comparado com outros agroquímicos (SUN, LV, *et al.*, 2016).

Estudo avaliando a capacidade anestésica do eugenol frente ao *Nephrops norvegicus*, em diferentes concentrações demonstrou que em uma concentração de 300µL/L já foi suficiente para provocar a anestesia geral em mais de 50% dos indivíduos, com tempo de recuperação menor que 12 minutos, indicando que a substância pode ser utilizada como um anestésico eficaz para esta espécie (COWING, POWELL e JOHNSON, 2015). A ação anestésica do eugenol em peixes começa com a inibição do córtex cerebral (representando a perda tátil), em seguida atuação no gânglio basal e cerebelo (período de excitação) e finalmente coluna vertebral (estágio de narcose) (KONG, LIU, *et al.*, 2014).

A capacidade de suprimir a cascata de radicais livres, responsáveis pela peroxidação lipídica, foi também atribuída ao eugenol, demonstrando que o mesmo apresenta atividade antioxidante através da sua habilidade na formação de complexos com íons metálicos (ITO, MURAKAMI e YOSHINO, 2005). Também relacionada com a capacidade antioxidante apresentada pelo eugenol, o trabalho demonstrou sua capacidade de inibição sobre enzimas metaloproteases (MMP-9), sugerindo seu uso como agente terapêutico promissor na prevenção de metástases relacionadas ao estresse oxidativo. A literatura relata que a expressão de MMPs está fortemente associada a capacidade de invasão do tumor, reforçando o conceito que as mesmas estão correlacionadas com o câncer humano (NAM e KIM, 2013).

Além do eugenol, derivados do mesmo foram relatados na literatura como portadores de atividade citotóxica frente a linhagens de células cancerosas MCF-7,

oriundas de paciente com câncer de mama. Os estudos demonstraram que a concentração letal para 50% das células com metástases foi entre 21,7 a 96,9 µg/ml. Resultados estes considerados promissores (RUDYANTO, WIDIANDANI e SYAHRANI, 2015).

Evidências do efeito biológico do eugenol sobre lesão pulmonar aguda apontam que a substância provoca a diminuição de citotoxinas pró-inflamatórias atuando no processo de controle inflamatório e no estado redox, sugerindo que o uso do eugenol pode ser benéfica para o tratamento da lesão pulmonar (HUANG, LIU, *et al.*, 2015).

Esse vasto espectro de efeitos biológicos apresentados pelo eugenol tem tornado essa substância promissora para o desenvolvimento de novos fármacos, tanto buscando ampliar a aplicabilidade da molécula em si como utilizando-a como precursora de novas substâncias através de modificações químicas em sua estrutura conduzindo a formação de seus respectivos derivados.

Junior e colaboradores (2016) relataram em seu trabalho os efeitos pró-apoptóticos do eugenol sobre linhagens celulares de adenocarcinoma de mama humano (MDA-MB-231 e MCF7). Notou-se que o eugenol induz bloqueio do ciclo celular na fase G2/M, associado à produção de espécies reativas de oxigênio, toxicidade mitocondrial e, conseqüentemente, apoptose.

A atividade antimicrobiana de eugenol tem sido relatada contra importantes microrganismos patogênicos como *Helicobacter pylori* e *Salmonella Typhi*. Compostos fenólicos geralmente apresentam atividade antimicrobiana e podem ser usados para reduzir ou impedir a multiplicação de microorganismos patogênicos ou deteriorantes. Os fenóis naturais timol, carvacrol, guaiacol e eugenol, assim como os fenóis clorados semi-sintético e seus respectivos alil-feniléteres apresentaram grande potencial para ser usado como antimicrobianos e podem ser úteis nas indústrias de alimentos e medicamentos, bem como sanitizantes e desinfetantes. A maioria dos compostos apresentou uma ampla espectro de ação antimicrobiana porque os valores de CIM encontrados foram inferiores a 220 µg/mL contra *E. coli*, *S. aureus*, *L. innocua*, *P. aeruginosa*, *S. entérica Typhimurium*, *S. enterica ssp. enterica* e *B. cereus* (PINHEIRO, 2017)

Ésteres tosilatos derivados do eugenol foram avaliados quanto a sua capacidade de inibição frente ao fungo *Candida albicans*. Os resultados demonstraram através das concentrações inibitórias mínimas (CIM) que o micro-

organismo apresenta susceptibilidade aos seis derivados testados, sendo possível perceber inclusive maior vulnerabilidade dos microorganismos aos derivados que ao próprio eugenol. (AHMAD, WANI, *et al.*, 2015).

Carrasco e colaboradores (2012) realizaram a síntese de nove derivados do eugenol e avaliaram o efeito dos mesmos frente a capacidade de inibição ao crescimento antimicrobiano, sendo que das nove substâncias sintetizadas, duas apresentaram atividade antimicrobiana frente a *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *S. cerevisiae*, *Microsporum*, *Trichophyton* spp. O éster derivado do eugenol com o ácido acetilsalicílico apresentou a capacidade de inibição da agregação de plaquetas por possuir efeito positivo sobre a prevenção de trombose *in vivo*, entre outros fatores, devido a capacidade desta inibição da agregação plaquetária (MA, LIU, *et al.*, 2015).

Matrizes de bases biológicas foram preparadas utilizando derivados do eugenol através de reações fotocatalítica na presença de tióis e avaliadas quanto ao potencial antibacteriano e antioxidante. O material obtido apresentou uma capacidade anti-adesão promissora contra *Staphylococcus Aureus* (*S.aureus*) e *Escherichia coli* (*E. coli*), além de boa atividade antioxidante, sendo capaz de eliminar 90% dos radicais livres avaliados (MODJINOU, VERSACE, *et al.*, 2016).

Como observado, vários trabalhos confirmam as propriedades terapêuticas do eugenol, sendo assim, essa substância pode ser utilizada como ponto de partida na síntese de novos candidatos a protótipos de fármacos com potencial ação biológica.

3.3. Potencialidades farmacológicas do isoeugenol

O isoeugenol (2-metóxi-4-prop-1-enilfenol) (FIGURA 2), um isômero do eugenol, pode ser extraído do cálam, cananga do Japão (ylang-ylang), manjerição, cravo, noz-moscada, semente de endro, tabaco, junquilha, sândalo, gardênia, petúnia e outras flores ou pode ser sintetizado pela isomerização do eugenol (CERVENY *et al.*, 1987).

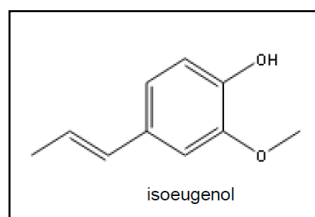


Figura 2 – Estrutura molecular do isoeugenol.

Por possuir uma fragrância com o odor picante do cravo, ele é incorporado em vários produtos cosméticos e de higiene pessoal, incluindo perfumes, loções creme, sabonetes e detergentes. Como um agente aromatizante, o isoeugenol é adicionado às bebidas não alcoólicas, alimentos cozidos e gomas de mascar (BADGER et al., 2002).

O isoeugenol, assim como o eugenol, são isômeros de posição em relação à ligação C=C alifática. O isoeugenol tem poucos estudos relatados na literatura quanto à sua propriedade antifúngica, uma vez que, a grande maioria dos relatos aborda as atividade antifúngica do eugenol, que está presente como fitoconstituente em uma grande variedade de óleos essenciais, como nas espécies *Myristica fragrans* Houtt., *Cinnamomum verum* J.Presl, *Ocimum gratissimum* Forssk, *Ocimum basilicum* L. e *Eugenia caryophyllata* (KAMATOU; VERMAAK; VILJOEN, 2012).

O isoeugenol, um metoxifenol com uma cadeia curta de hidrocarbonetos, é encontrado em alguns vegetais, como laranja de macaco (*Posoqueria latifolia*), ele também atua como um antioxidante e é usado como um aditivo alimentar perfumado. No estudos recentes, as propriedades antioxidantes do isoeugenol foram analisadas com base no efeito protetor sobre peroxidação lipídica. A atividade antioxidante do isoeugenol tem sido explicada pela sua estrutura metoxifenólica (FINDIK, 2011).

Isoeugenol é um candidato promissor como um futuro conservante de alimentos porque funciona quase igualmente bem contra bactérias e biofilmes planctônicos. O encapsulamento tem benefícios potenciais para a eficácia do isoeugenol, mas o efeito do encapsulamento depende das propriedades da matriz alimentar qual isoeugenol deve ser aplicado. Independentemente do encapsulamento, o isoeugenol mostrou ser mais eficaz contra biofilmes de *P. fluorescens* e bactérias planctônicas. Normalmente os óleos essenciais são mais eficazes contra bactérias Gram-positivas mas esta tendência geral parece não se aplicar ao isoeugenol (NIELSEN, 2016)

O composto natural isoeugenol, tem um amplo espectro antimicrobiano de atividade superior ao do eugenol. O isoeugenol foi anteriormente sugerido como o mais composto antimicrobiano ativo na fumaça líquida, que poderia ser adicionado para carnes processadas como um obstáculo eficaz para limitar o crescimento de uma gama de Bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (HYLDGAARD, 2015).

A avaliação da atividade antifúngica de isoeugenol mostrou que as concentrações inibitórias mínimas (CIMs) do isoeugenol contra 31 cepas de *Candida* variaram de 100 a 250 µg/ml. O mecanismo sugerido para a atividade antifúngica indica que o alvo é a H⁺-ATPase localizada nas membranas de espécies de *Candida* patogênicas (BHATIA, 2011).

Usando modelo de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas *Escherichia coli* e *Listeria innocua*, Hyldgaard e colaboradores, 2015 verificaram que o isoeugenol afeta a morfologia celular e a permeabilização da membrana celular, interage com as membranas de uma maneira reversível e não disruptiva semelhante ao detergente, o que causa desestabilização da membrana. Além disso, o isoeugenol aumenta a fluidez da membrana.

A atividade antibacteriana do isoeugenol tem sido proposta como sendo devido ao seu grupo livre de hidroxila e sua posição de ligação dupla na posição 3 da cadeia lateral, e um grupo metoxila (LAEKEMAN et al.f 1990). A atividade antibacteriana do isoeugenol abrange uma ampla gama de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *Escherichia coli*, *Bacillus licheniformis*, *Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* tipo B e *Staphylococcus aureus* (HYLDGAARD, 2015b).

Um estudo de atividade antifúngica mostrou que o inibidor mais ativo do crescimento fúngico de *Aspergillus parasiticus* AF54 foi o isoeugenol, que suprimiu completamente o crescimento dos micélios em concentrações superiores a 2,0 mM, seguido de timol, carvacrol e eugenol (PIZZOLITTO, 2015).

O estudo de Nielsen e colaboradores, 2017 revelou que o revestimento de superfícies de aço inoxidável e polietileno com isoeugenol preparado com adsorção simples mostrou-se eficaz na prevenção da formação de biofilme de *S. aureus*, *L. monocytogenes* e *P. fluorescens*.

3.4. Potencialidades farmacológicas das amidas

O grupo funcional amida é comum em diversos produtos farmacêuticos com aplicação em clínica médica (FIGURA 3). A função amida faz parte da constituição química de mais de 25% dos fármacos conhecidos. Este grupo funcional também está presente em moléculas essenciais à vida, tais como ceramidas,

glicosídeos, lipídeos *N*-acilados e lipoproteínas bacteriais (D'OCA, 2010). A ligação N-C apresenta estabilidade metabólica e confere à molécula a capacidade de estabelecer interações de hidrogênio além de aumentar a solubilidade dos compostos no meio (D'OCA, 2010).

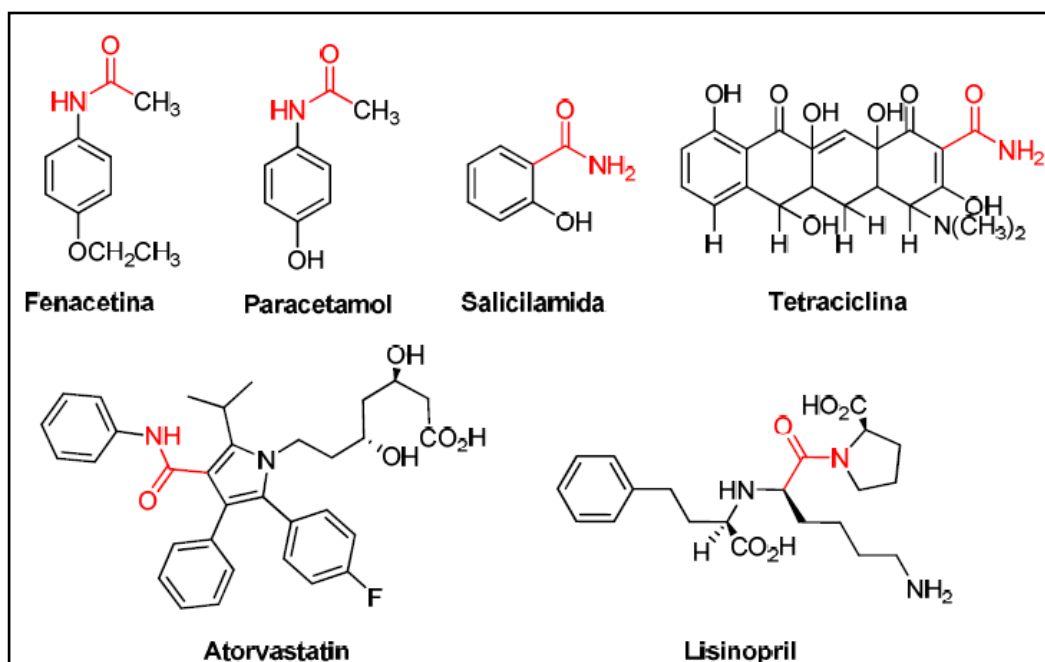


Figura 3 – Alguns fármacos que apresentam a função amida.

Fonte: D'OCA, 2010

A função carboxila origina vários compostos denominados de derivados dos ácidos carboxílicos, dentre eles estão as amidas, formadas basicamente da reação entre um ácido carboxílico e uma amina, ilustrada na figura 4. As amidas são comumente encontradas na natureza e se destacam pela baixa reatividade em comparação com os outros derivados carboxílicos, pois formam ligações de hidrogênio altamente estáveis. Uma consequência disso são seus altos pontos de fusão e ebulição, uma vez que suas interações moleculares se tornam mais fortes devido a essas ligações. Por outro lado, amidas terciárias não formam ligações de hidrogênio e, portanto, tem pontos de fusão ebulição baixos (VALEUR & BRADLEY 2009).

As amidas são uma das classes mais importante de compostos. Essa classe tem sido encontrada em abundância na natureza como produtos naturais (KUNG et al. 2010) proteínas e em polímeros biológicos e sintéticos (GLOMB & PFAHLER, 2001). Consequentemente, muitos métodos para a síntese das amidas têm sido descritos, como as reações de aminas com os cloreto de acila (a), ou com anidridos

(b), ou com ésteres (c), rearranjo de aldoximas (KIM et al., 2009) (d) e hidratação de nitrilas (e) (Figura 04) (WU et al. 2014).

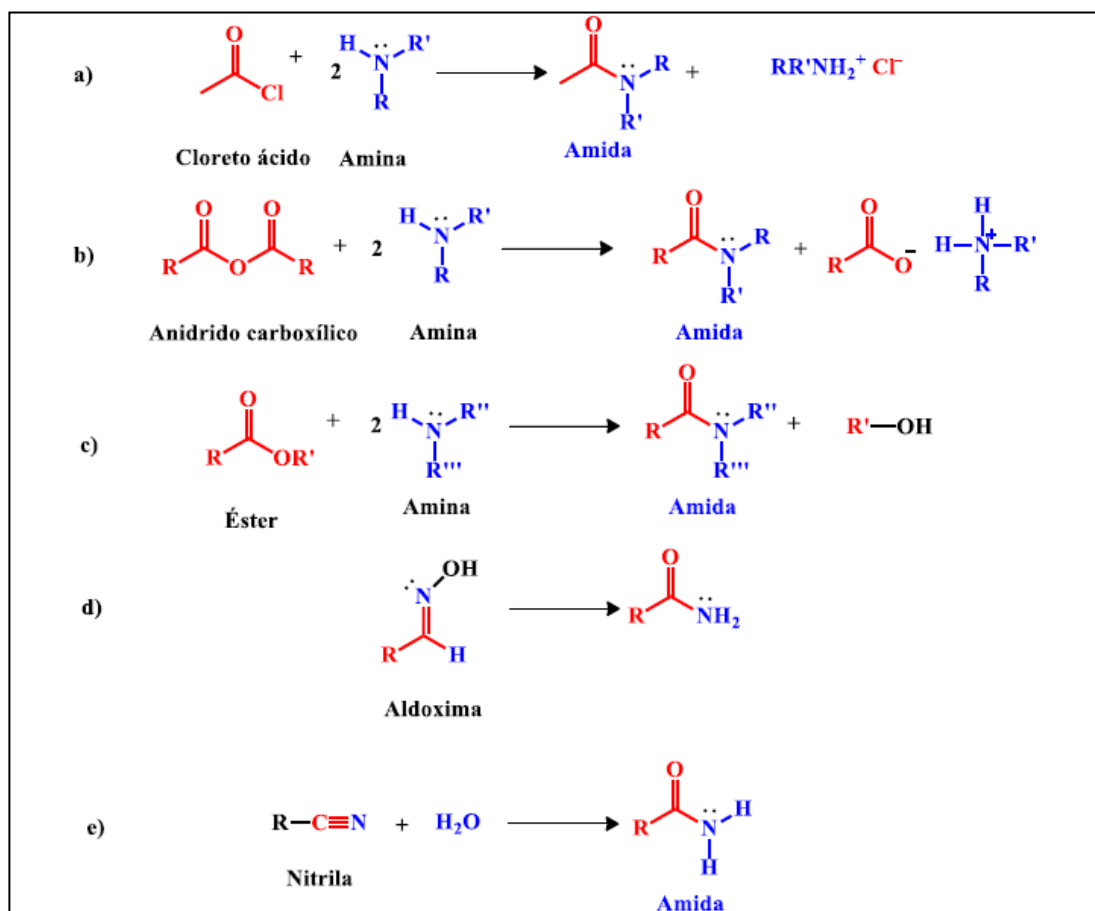


Figura 4 - Métodos usados na síntese de amidas. Os produtos podem ser obtidos a partir de os cloretos ácidos (a), anidridos (b), ésteres (c), rearranjo de aldoximas (d) e hidratação de nitrilas (e).

Fonte: MONTES, 2016.

3.5. Derivados do eugenol e do isoeugenol com potencial farmacológico

As modificações moleculares realizadas neste estudo têm como objetivo melhorar a atividade antimicrobiana a partir da hibridização dos óleos eugenol e isoeugenol com acetamidas que diferem entre seus grupos químicos substituintes no anel aromático. Segundo Thomas (2003), grupos metilênicos aumentam a solubilidade da molécula nas membranas e a inserção de anéis aumenta a resistências às enzimas devido ao impedimento estérico, ainda segundo este autor, a introdução de grupos básicos aumenta a interação com receptores farmacológicos por formar ligações de

hidrogênio com estes e a inserção de grupos metílicos podem diminuir os efeitos colaterais por prevenir a hidroxilação.

A hibridação molecular, estratégia da Química Medicinal, consiste em uma importante técnica de planejamento racional de candidatos a fármacos, visto que há um crescente aumento de novas patologias e de micro-organismos resistentes aos fármacos existentes no mercado (LAZAR et al., 2004).

Esta técnica consiste na união de subunidades farmacofóricas, tanto de substâncias naturais quanto sintéticas, a fim de obter um derivado híbrido que conserve características pré-selecionadas das substâncias que o originaram. Por conseguinte, espera-se que a nova molécula apresente melhorias na ação farmacológica, reduzidos efeitos colaterais e menor toxicidade (YEMPALA et al., 2012).

As moléculas precursoras podem apresentar a mesma ação biológica, porém com atuação em alvos distintos, fornecendo um híbrido com ação sinérgica; também podem exibir atividades diferentes, resultando em uma molécula com dupla ação sobre determinada fisiopatologia; pode-se ainda unir moléculas onde uma delas apresenta atividade biológica e a outra atua sobre determinado efeito adverso causado pela primeira, obtendo-se um híbrido chamado de modulador (ARAÚJO, 2015).

Como exemplos de substâncias bioativas obtidas por meio da estratégia de hibridação molecular, podem-se citar os fármacos benorilato, com ação anti-inflamatória, analgésica e antipirética, planejado a partir da união entre o paracetamol e o ácido acetilsalicílico (ARAÚJO et al., 2015); tropisetron (Navoban®), com ação antiemética, desenhado a partir das estruturas da cocaína e serotonina e o indinavir (Crixivan®), usado no tratamento da AIDS, obtido através das sobreposições das estruturas do saquinavir e do protótipo da Merck (L-35689,502) (BARREIRO; FRAGA, 2008).

Sendo assim, essa estratégia sintética pode ser usada para obtenção de moléculas híbridas de eugenol e isoeugenol com acetamidas que apresentem propriedades biológicas semelhantes a eles, objetivando-se obter produtos com ação mais potencializada que as substâncias de partida.

3.6. Biofilmes

Vários mecanismos de resistência microbiana estão relatados e entre eles destaca-se a produção de enzimas que inativam ou modificam os agentes antimicrobianos, ou proteínas da parede celular que funcionam como bombas de efluxo e a formação de biofilmes que é a capacidade dos micro-organismos de aderirem a superfícies bióticas ou abióticas e produzirem uma matriz de

exopolissacarídeos (EPS), também é uma forma pela qual as bactérias podem não ser afetadas pelos antimicrobianos (FLUIT et al., 2001).

O biofilme é considerado uma interação entre micro-organismos que pode ser formado por estirpes de uma mesma espécie, ou na maioria das vezes, polimicrobiano. Esses micro-organismos ficam imersos em uma matriz aderida a uma superfície revestida por uma camada de EPS, que se constitui em polissacarídeo, proteínas e ácidos nucleicos (MOHAMED e HUANG, 2007).

O processo de formação de biofilme representado na figura 5 envolve processos físicos, químicos e biológicos simultaneamente que podem ser divididos em cinco etapas. Primeiramente, as células de vida livre (células planctônicas) em meio líquido, fixam-se a uma superfície sólida de maneira reversível. Em uma segunda etapa, a adesão dos micro-organismos (células sésseis) a superfície é aumentada por ligações químicas e o polímero sintetizado após resulta na atração de outras células. Na terceira fase desse processo, ocorre a secreção de exopolissacarídeo (EPS) fazendo com que haja o desenvolvimento de uma estrutura tridimensional. A seguir, à maturação é atingida, onde nesta fase está associada à resistência aos fármacos antimicrobianos. Logo, há o desprendimento destas células sésseis a este biofilme, ativamente ou passivamente, podendo acontecer por perdas individuais ou por agregados celulares (SENEVIRATNE et al., 2009).

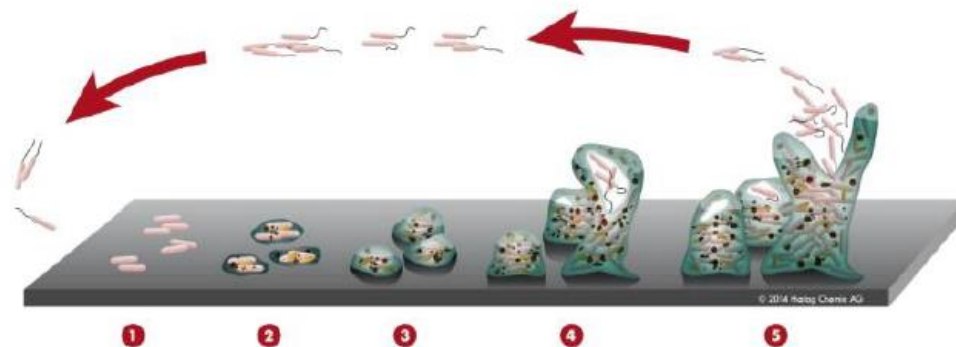


Figura 5 – Formação do biofilme bacteriano.

Fonte: <http://halagchemie.ch/biofilm>

A formação de biofilme é uma vantagem para os micro-organismos, pois propicia a proteção das células aos ataques de antimicrobianos e defesa do hospedeiro devido a suas substâncias extracelulares (WHITCHURCH et al., 2002). Com estas propriedades, leva ao agravamento da resistência microbiana devido ao fato dos antimicrobianos não conseguirem passar a matriz de EPS produzida pelos micro-organismos e ter acesso às células aderidas à superfície, tornando as células sésseis cerca de 10 a 100 vezes mais resistente em relação às células planctônicas (MOHAMED e HUANG, 2007; ADUKWU, ALLEN e PHILLIPS, 2012). Além disso, há troca de material genético no interior desta matriz, propiciando a propagação de genes de resistência a outras células (HILTUNEN, VIRTÁ e LAINE, 2016).

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste tópico será apresentada a estratégia sintética para a obtenção dos derivados de eugenol e isoeugenol desejados, sua caracterização estrutural, o estudo de QSAR, além dos resultados da atividade antimicrobiana frente a cepas de *Candida albicans* e antibiofilme.

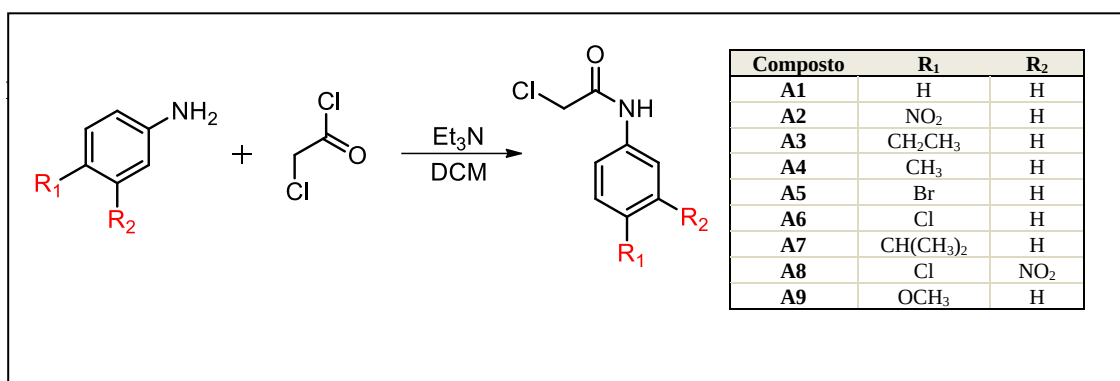
4.1 Síntese das acetamidas substituídas

As acetamidas substituídas (A1-9) intermediárias à síntese dos derivados de eugenol e do isoeugenol foram sintetizadas com rendimentos de 76 a 95%, sendo as reações completadas em aproximadamente 20 horas. A caracterização detalhada das mesmas foi descrita no trabalho de Peixoto (2016). A síntese das acetamidas pode ser

realizada utilizando diferentes metodologias, pode-se partir de cloretos de acila, ésteres, anidridos de ácidos, ácidos carboxílicos ou ainda sais carboxilados. No entanto, independente do método escolhido, a reação consiste em uma adição nucleofílica-eliminação de amônia ou de amida em um carbono acila.

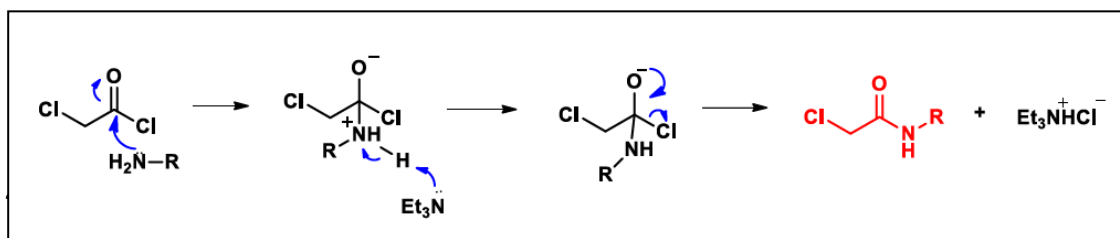
O método mais difundido em laboratório e o escolhido para a síntese das acetamidas substituídas utilizadas neste trabalho foi a partir da reação de cloreto de acila com aminas aromáticas substituídas (ESQUEMA 1), utilizando-se Et_3N para neutralizar o HCl comumente formado nesta reação de substituição nucleofílica acílica.

Esquema 1: Reação utilizada para a síntese das acetamidas substituídas A1-9.



A substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_{\text{N}}2$) é um processo que ocorre em uma única etapa: há o ataque pela parte de trás, o que significa que o nucleófilo aproxima-se do substrato com um ângulo de 180° em relação ao grupo abandonador. Esta aproximação minimiza a repulsão estérica e eletrônica entre substrato e nucleófilo. Esta estratégia de síntese é realizada para que o grupo funcional amida sirva como ponte de união entre as moléculas do eugenol e da acetamida, os passos estão representados no Esquema 2.

Esquema 2: Mecanismo proposto para a acetilação da amina primária pela reação de cloreto de ácido.



4.2 Síntese dos derivados do eugenol e do isoeugenol

Os produtos finais foram sintetizados através da hibridização de 1 equivalente de eugenol ou isoeugenol e 1 Eq da acetamida na presença de carbonato de potássio como base, iodeto de potássio como catalisador e butanona como solvente, conforme Esquema 3. Os derivados do eugenol foram codificados como EA1-9 e os derivados do isoeugenol como ISOA1-9. O rendimento das reações e o tempo estão descritos na tabela 1.

Esquema 3: Esquema geral da reação entre o eugenol/isoeugenol com as acetamidas.

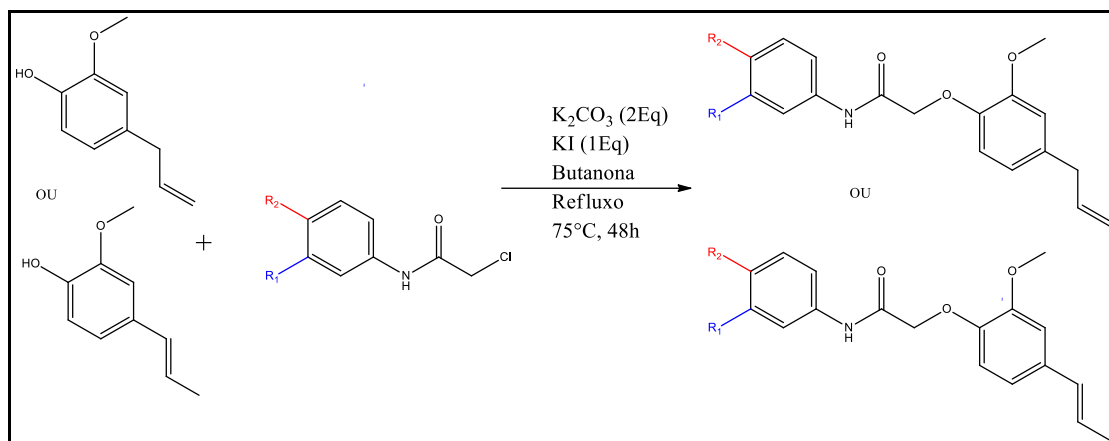
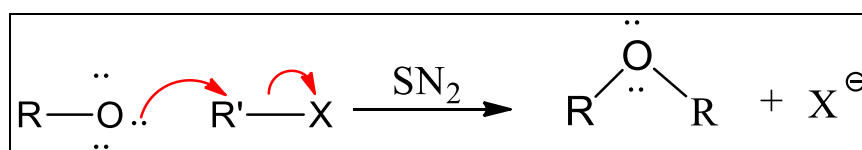


Tabela 1: Rendimentos e tempo de reação da formação dos híbridos de eugenol/isoeugenol com acetamidas.

Derivado	R1	R2	Rendimento (%)
EA1	H	H	75
EA2	NO ₂	H	80
EA3	CH ₂ CH ₃	H	90
EA4	CH ₃	H	83
EA5	Br	H	81
EA6	Cl	H	83
EA7	CH(CH ₃) ₂	H	75
EA8	Cl	NO ₂	75
EA9	OCH ₃	H	84
ISOA1	H	H	76
ISOA2	NO ₂	H	80
ISOA3	CH ₂ CH ₃	H	92
ISOA4	CH ₃	H	84
ISOA5	Br	H	72
ISOA6	Cl	H	90
ISOA7	CH(CH ₃) ₂	H	76
ISOA8	Cl	NO ₂	72
ISOA9	OCH ₃	H	80

O mecanismo proposto para a hibridização mostrada é a síntese de Williamson para obtenção de éteres por meio da reação entre haletos orgânicos e alcóxidos de sódio ($R - ONa$). A reação de Williamson ou síntese de éteres de Williamson, foi desenvolvida por Alexander Williamson em 1850. Tipicamente ela envolve a reação de um íon alcóxido com uma haleto de alquila primário (March, Advanced OC, p. 529). O mecanismo geral da reação é o mostrado no esquema 4.

Esquema 4: Mecanismo proposto para a adição nucleofílica da acetamida substituída ao eugenol/isoeugenol.



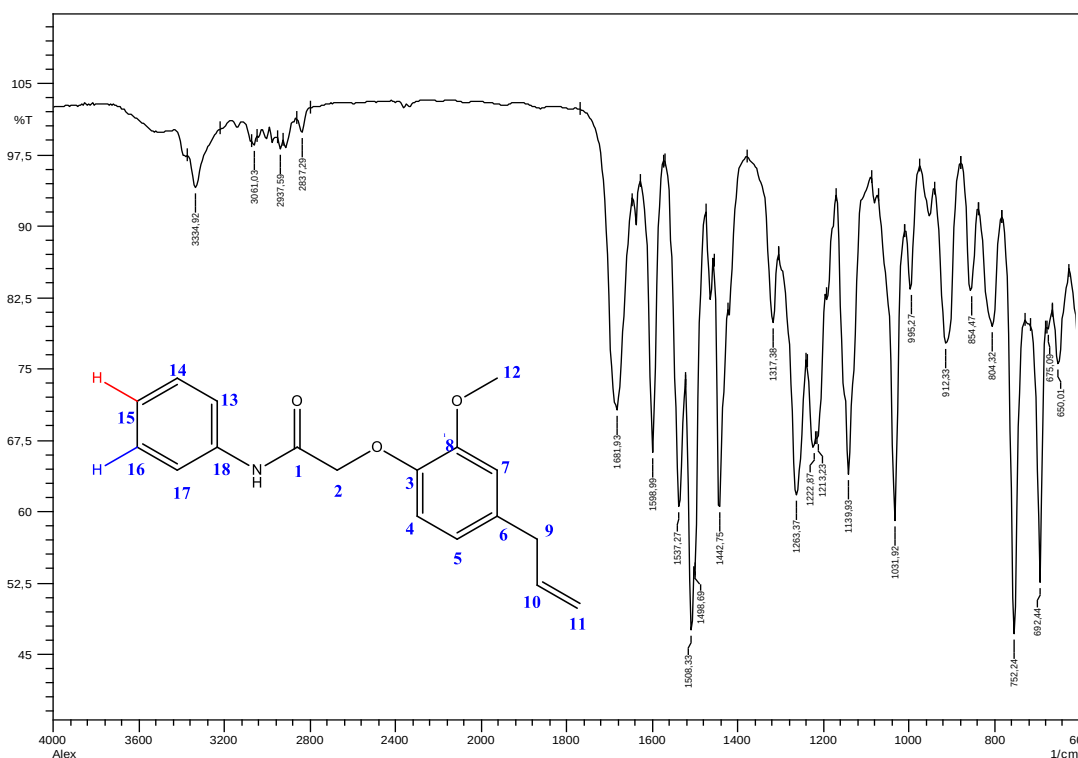
4.3 Determinação estrutural

4.3.1 Interpretação dos espectros dos derivados do eugenol

Serão interpretados os espectros do derivado EA1, visto que os outros resultados são condizentes. As estruturas das moléculas alvos (**EA1-9**) foram confirmadas pelas técnicas espectroscópicas de infravermelho, RMN ^1H e ^{13}C .

No espectro na região do infravermelho (FIGURA 6) todos os compostos apresentaram deformação axial de C=O da amida na faixa de $1705\text{--}1664\text{ cm}^{-1}$, o estiramento N-H da amida na faixa de $3379\text{--}3304\text{ cm}^{-1}$, as bandas de absorções de estiramentos de C-H sp^2 do anel aromático variaram de $3111\text{--}3008\text{ cm}^{-1}$ e as absorções de estiramentos de estiramentos de C=C de anéis aromáticos variaram entre de $1598\text{--}1508\text{ cm}^{-1}$.

Figura 6: Espectro de Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA1.



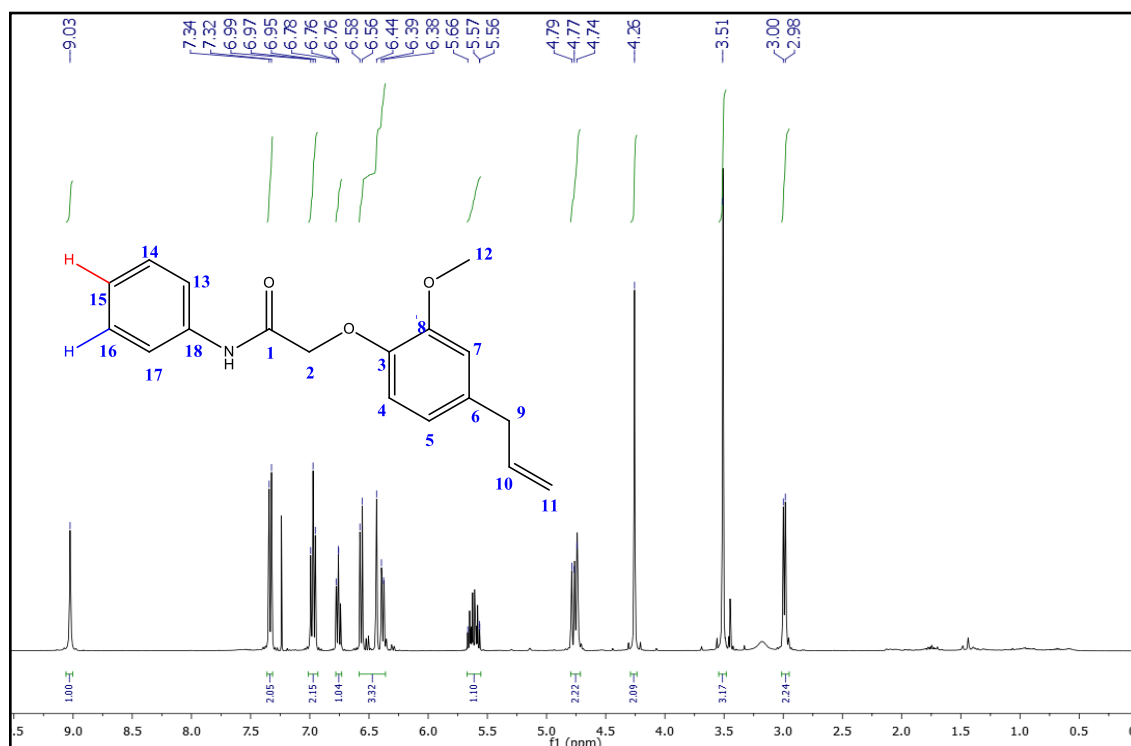
Outras bandas de absorção características de grupos presentes nos derivados sintetizados são: três bandas em torno de 1597 , 1543 e 1340 cm^{-1} característica de deformação axial do grupo NO_2 e três bandas em torno de 1141 , 871 e 850 cm^{-1} de deformações axial da ligação C – N do grupo ArNO_2 nos derivados **EA2**, **EA8**; banda em torno de 1130 cm^{-1} característica de deformação axial da ligação C – Br no

derivado **EA5**; banda em 1257 e 1232 cm^{-1} característica do grupo isopropil do derivado **EA7**; banda em torno de 1228 e 1139 cm^{-1} característica do grupo metóxi.

O espectro de RMN^1H a 400 MHz realizado em CDCl_3 e tendo o TMS como padrão de referência dos deslocamentos químicos (FIGURA 7) revelou a presença de sinais que permitiram identificar os deslocamentos químicos comuns aos derivados do eugenol, que foram: um singlete para um hidrogênio referente ao **N-H** na faixa de δ_{H} 9,34-8,83 ppm, um multipeto na faixa de δ_{H} 5,11-4,77 ppm para dois hidrogênios referentes ao **H-11**, um singlete para dois hidrogênios metilênicos referente ao **H-2** na faixa de δ_{H} 4,62-4,26 ppm, um singlete para três hidrogênios do grupo metóxi referente ao **H-12** na faixa de δ_{H} 3,93-3,51 ppm, e um dupeto para dois hidrogênios metilênicos referente ao **H-9** na faixa de δ_{H} 3,34-2,99 ppm. Os sinais dos hidrogênios do anel aromático aparecem entre δ_{H} 8,17-6,37 ppm.

No espectro do composto **EA4**, um singlete para três hidrogênios aparece em δ_{H} 3,90 ppm referente ao grupo metila. No espectro do composto **EA3**, o grupo etila foi caracterizado por um tripeto para três hidrogênios em δ_{H} 1,21 ppm e um multipeto para dois hidrogênios em δ_{H} 2,61 ppm. No espectro do composto **EA7** aparece um multipeto para seis hidrogênios em δ_{H} 1,22 ppm e um multipeto para um hidrogênio em δ_{H} 2,91-2,84 ppm referente ao grupo isopropil. No espectro do composto **EA9** observa-se um singlete para três hidrogênios em δ_{H} 3,78 ppm referente ao grupo metóxi.

Figura 7: Espectro de RMN^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol **EA1**.



A análise dos espectros de RMN ^{13}C -APT a 100 MHz (FIGURA 8) mostraram três sinais na região de alifáticos sendo: um na faixa de δ_{C} 68,00-70,80 ppm referente ao carbono metilênico (**C-2**), um na faixa de δ_{C} 56,83-54,71 ppm referente ao grupo metoxi (**C-12**) e um na faixa de δ_{C} 40,15-38,68 ppm referente ao carbono metilênico (**C-9**). Observa-se em todos os compostos um sinal para o carbono da carbonila (**C-1**) na faixa de δ_{C} 168,03-166,11 ppm. Os sinais dos carbonos aromáticos podem ser observados na faixa entre δ_{C} 156,96-111,71 ppm.

No espectro do composto **EA4**, observou-se um sinal adicional na região de alifático em δ_{C} 20,98 ppm atribuído ao carbono do grupo metila. No espectro do composto **EA3** observamos dois sinais adicionais na região de alifáticos: um em δ_{C} 28,29 ppm e outro em δ_{C} 15,61 ppm atribuídos aos carbonos do grupo etila. No espectro do composto **EA7** observa-se dois sinais adicionais: um em δ_{C} 33,59 ppm e outro em δ_{C} 23,98 ppm atribuídos aos carbonos do grupo isopropil. No espectro do composto **EA9** observa-se um sinal adicional em δ_{C} 55,90 ppm atribuído ao carbono do grupo metoxi.

Figura 8: Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA1.

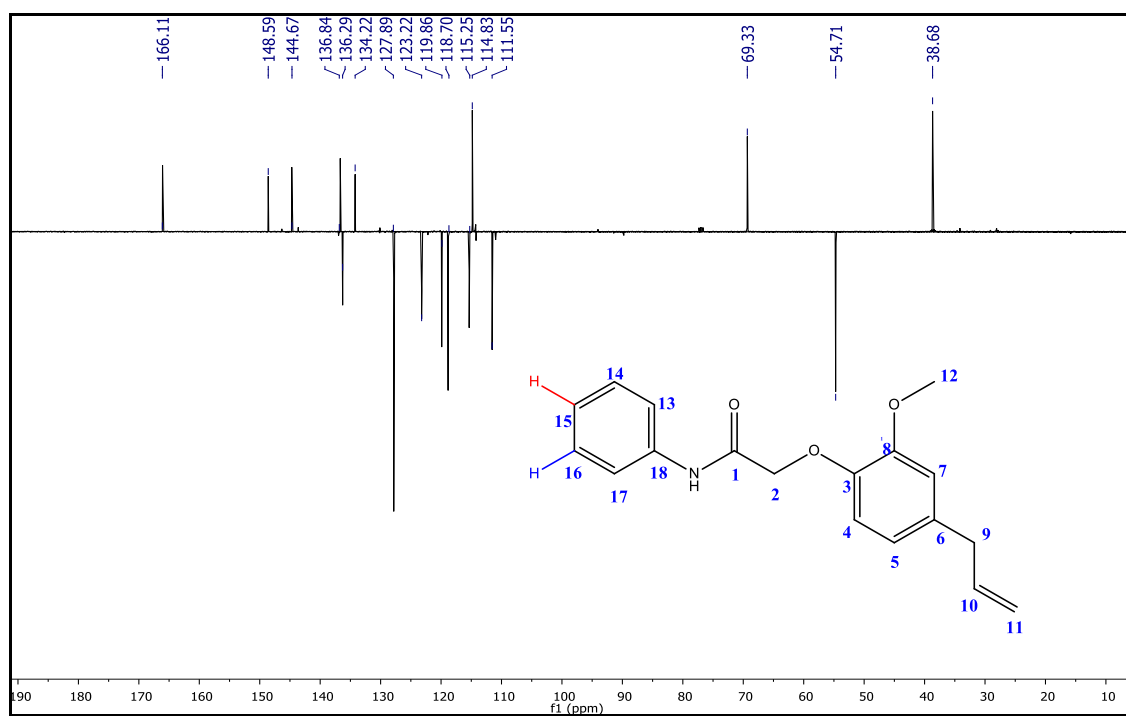


Tabela 2: Dados dos espectros de RMN ^{13}H (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do eugenol **EA1 a EA9**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz.

Composto/ Posição	EA1	EA2	EA3	EA4	EA5	EA6	EA7	EA8	EA9
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	4.26 (s, 2H)	4.57 (s, 2H)	4.61 (s, 2H)	4.61 (s, 2H)	4.60 (s, 2H)	4.60 (s, 2H)	4.61 (s, 2H)	4.62 (s, 2H)	4.60 (s, 2H)
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	6.57 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.63 – 6.51 (m, 2H)	6.90 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.90 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.90 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.89 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.90 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.78 – 6.75 (m, 2H)	6.90(d, $J = 8.0$, 1H)
5	6.44 (s, 1H)	6.63 – 6.51 (m, 2H)	6.76 – 6.73 (m, 2H)	6.74 (m, 2H)	6.76 – 6.74 (m, 2H)	6.76 – 6.74 (m, 2H)	6.78 – 6.74 (m, 2H)	6.78 – 6.75 (m, 2H)	6.76 – 6.7 (m, 2H)
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	6.37 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.84 (d, 1H, $J = 8.0$)	6.76 – 6.73 (m, 2H)	6.74 (m, 2H)	6.76 – 6.74 (m, 2H)	6.89 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.78 – 6.74 (m, 2H)	6.91 (d, $J = 8.0$, 1H)	6.76 – 6.7 (m, 2H)
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	2.99 (d, $J = 8.0$, 2H)	3.26 (d, 2H, $J = 4.0$)	3.34 (d, $J = 8.0$, 2H)	3.34 (d, $J = 6.7$, 2H)	3.34 (d, $J = 6.7$, 2H)	3.33 (d, $J = 4.0$, 2H)	3.34 (d, $J = 6.7$, 2H)	3.34 (d, $J = 8.0$, 2H)	3.33 (d, $J = 4.0$, 2H)
10	5.66 – 5.56 (m, 1H)	5.90 – 5.82 (m, 1H)	5.98 – 5.88 (m, 1H)	5.98 – 5.88 (m, 1H)	5.96 – 5.89 (m, 1H)	5.96 – 5.88 (m, 1H)	5.98 – 5.88 (m, 1H)	5.97-5.91 (m, 1H)	5.98 – 5.88 (m, 1H)
11	4.82-4.75 (m, 2H)	5.01 (d, $J = 4.0$, 2H)	5.10 – 5.06 (m, 2H)	5.10 – 5.06 (m, 2H)	5.10 – 5.06 (m, 2H)	5.10 – 5.06 (m, 2H)	5.11 – 5.05 (m, 2H)	5.10 – 5.05 (m, 2H)	5.10 – 5.05 (m, 2H)
12	3.53 (s, 3H)	3.85 (s, 3H)	3.91 (s, 3H)	3.90 (s, 3H)	3.90 (s, 3H)	3.90 (s, 3H)	3.91(s, 3H)	3.93 (s, 3H)	3.90 (s, 3H)
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	7.33 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.73 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.48 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.46 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.49 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.53 (d, $J = 12.0$, 2H)	7.49 (d, $J = 8.0$, 2H)	8.17(d, $J = 4.0$, 1H)	7.48 (d, $J = 4.0$, 2H)
15	6.97 (t, $J = 7.7$, 2H)	8.13 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.48 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.16 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.43 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.28 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.19(d, $J = 8.0$, 2H)	-	6.86 (d, $J = 4.0$, 2H)
16	6.77 (td, $J = 7.6$, 1.1, 1H)	-	-	-	-	-	-	-	-
17	6.97 (t, $J = 7.7$, 2H)	8.13 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.16 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.16 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.43 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.28 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.19 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.47 (d, $J = 12.0$, 1H)	6.86 (d, $J = 4.0$, 2H)
18	7.33 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.73 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.48 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.46 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.49 (d, $J = 8.0$, 2H)	-	7.49 (d, $J = 8.0$, 2H)	7.80 (d, $J = 8.0$, 1H)	7.48 (d, $J = 4.0$, 2H)
19	-	-	2.61 (m, 2H)	2.31 (m, 2H)	-	-	2.91-2.84 (m, 1H)	-	3.78(s,3H)
20	-	-	1.21 (t, 3H)	-	-	-	1.22 (m, 6H)	-	-
21	-	-	-	-	-	-	1.22 (m, 6H)	-	-
NH	9.03 (s, 1H)	8.88 (s, 1H)	8.89 (s, 1H)	8,92 (s, 1H)	8.92 (s, 1H)	9.00 (s, 1H)	8.89 (s, 1H)	9.34 (s, 1H)	8.83(s,1H)

Tabela 3: Dados dos espectros de RMN ^{13}C (100MHz) em CDCl_3 para os derivados do eugenol **EA1 a EA9**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm.

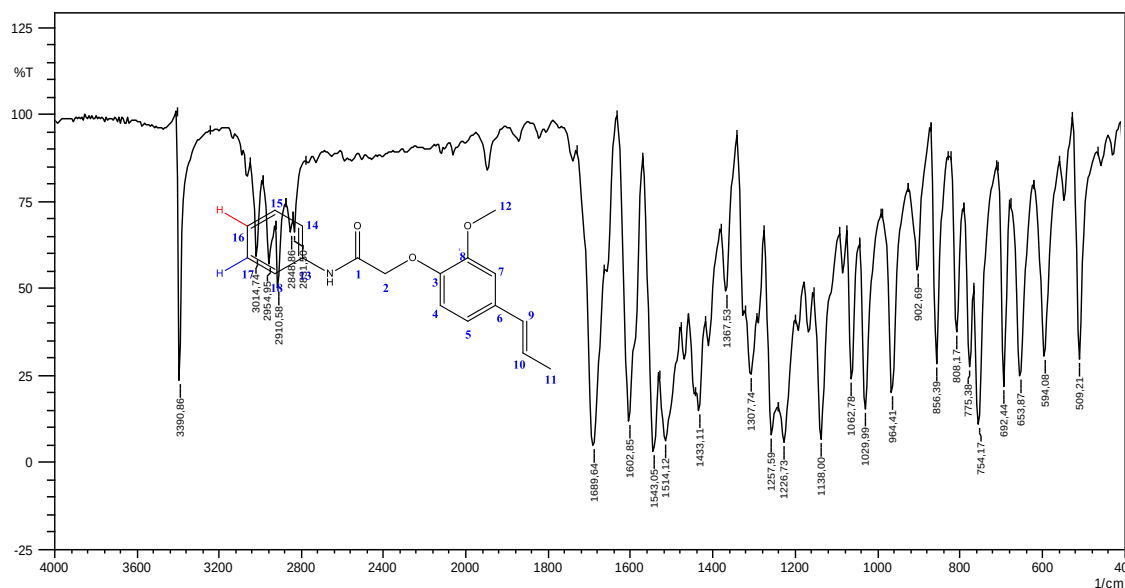
Composto/ Posição	EA1	EA2	EA3	EA4	EA5	EA6	EA7	EA8	EA9
1	166.11	167.70	166.90	167.07	167.18	167.10	166.91	168.03	166.76
2	69.33	70.65	70.78	70.88	68.00	70.80	70.79	71.38	70.70
3	144.67	143.09	145.65	145.81	148.03	145.57	145.69	145.83	145.68
4	115,25	116.82	116.69	116.82	115.21	116.88	116.69	116.62	116.62
5	119.86	121.09	121.12	121.21	121.96	121.15	121.09	121.74	121.55
6	134.22	134.77	135.62	134.81	135.72	135.87	134.92	136.71	130.40
7	111.55	112.57	112.55	112.64	114.91	112.57	112.52	113.09	112.52
8	148.59	149.42	149.67	149.83	150.62	149.67	149.72	149.97	149.70
9	38.68	39.60	39.82	39.95	39.73	39.80	39.83	40.15	39.83
10	136.29	136.83	137.12	137.26	136.92	137.04	137.13	137.28	137.13
11	114.83	115.92	115.97	116.14	114.29	116.05	116.01	116.51	116.02
12	54.71	55.84	55.87	56.00	56.83	55.89	55.87	56.39	55.87
13	136.84	135.95	140.76	135.82	136.67	135.90	135.69	137.26	135.67
14	118.70	119.13	119.96	129.62	131.97	129.41	126.89	117.70	114.16
15	127.89	126.12	128.34	120.01	120.79	120.95	119.99	124.11	121.09
16	123.22	134.03	134.84	134.28	116.48	129.41	145.24	121.74	156.53
17	127.89	126.12	128.34	120.01	131.97	120.95	119.99	148.19	121.09
18	118.70	119.13	119.96	129.62	120.79	129.41	126.89	124.11	114.16
19	-	-	28.29	20.98	-	-	33.59	-	55.90
20	-	-	15.61	-	-	-	23.98	-	-
21	-	-	-	-	-	-	23.98	-	-

—: inexistente

4.3.2 Interpretação dos espectros dos derivados do isoeugenol

Serão interpretados os espectros do derivado ISOA1, visto que os outros resultados são condizentes. No espectro de infravermelho de ISOA1 (FIGURA 9), o desaparecimento de uma banda de estiramento que se apresenta como um pico agudo na região entre 3650-3600, característica de hidroxila, indica a ausência da mesma.

Figura 9: Espectro de Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA1.

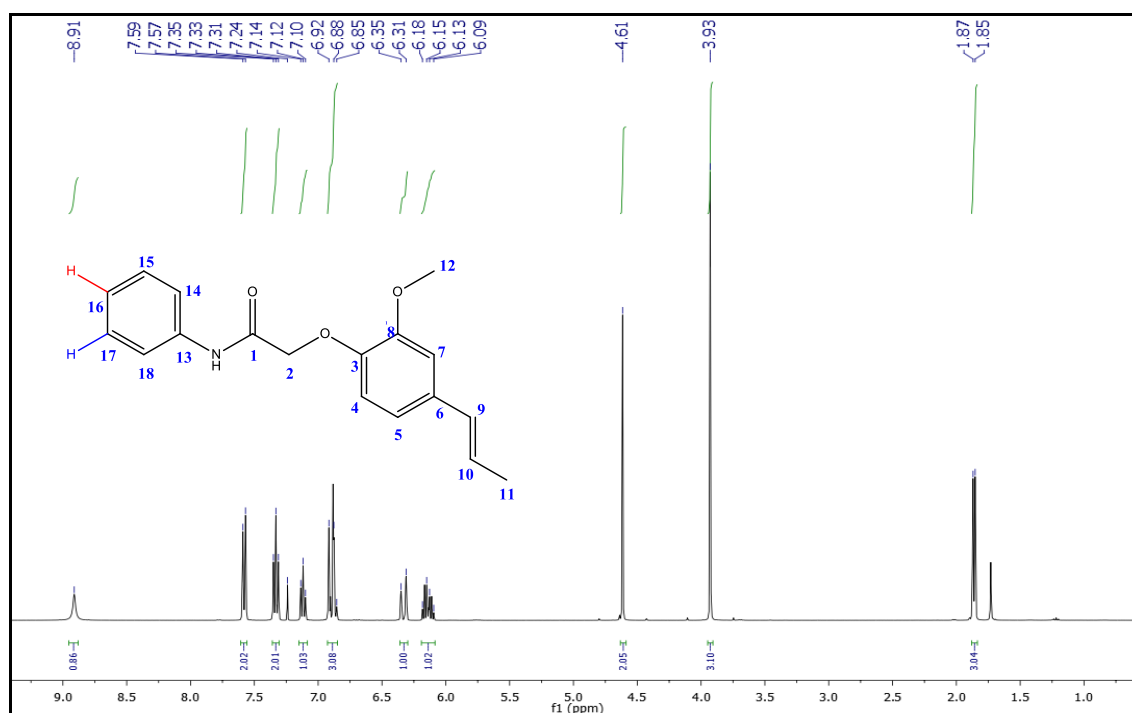


Outras bandas de absorção características de grupos presentes nos derivados sintetizados são: uma banda em torno de 3278 referente a estiramento N-H de amida, uma banda próxima a 1666 referente a carbonila de amida, três bandas em torno de 1597, 1543 e 1340 cm^{-1} característica de deformação axial do grupo NO_2 e três bandas em torno de 1141, 871 e 850 cm^{-1} de deformações axial da ligação C – N do grupo ArNO_2 nos derivados **ISOA2 e ISOA8**; banda em torno de 1130 característica de deformação axial da ligação C – Br no derivado **ISOA5**; banda em 1257 e 1232 cm^{-1} característica do grupo isopropil do derivado **ISOA7**; banda em torno de 1228 e 1139 característica do grupo metóxi proveniente dos terpenos.

O espectro de RMN^1H a 400 MHz em clorofórmio deuterado e tendo o TMS como padrão referencial do deslocamento químico (FIGURA 10) revelou a presença de sinais que permitiram identificar os deslocamentos químicos comuns aos derivados do isoeugenol, como sendo: um multipeto entre δ 6.92-6.85 ppm com integral para 3H correspondente aos hidrogênios aromáticos (H4, H5 e H7) derivados do isoeugenol, exceto o derivado ISOA9 que apresentou um multipeto entre δ 6.91-6.85

com integral para 5H para os hidrogênios H4, H5 e H7 derivados do eugenol e H15, H17 derivados da acetamida. Todos apresentaram um singlete próximo a 4.61 com integral para 2H correspondentes ao carbono metilênico do acoplamento.

Figura 10: Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1.



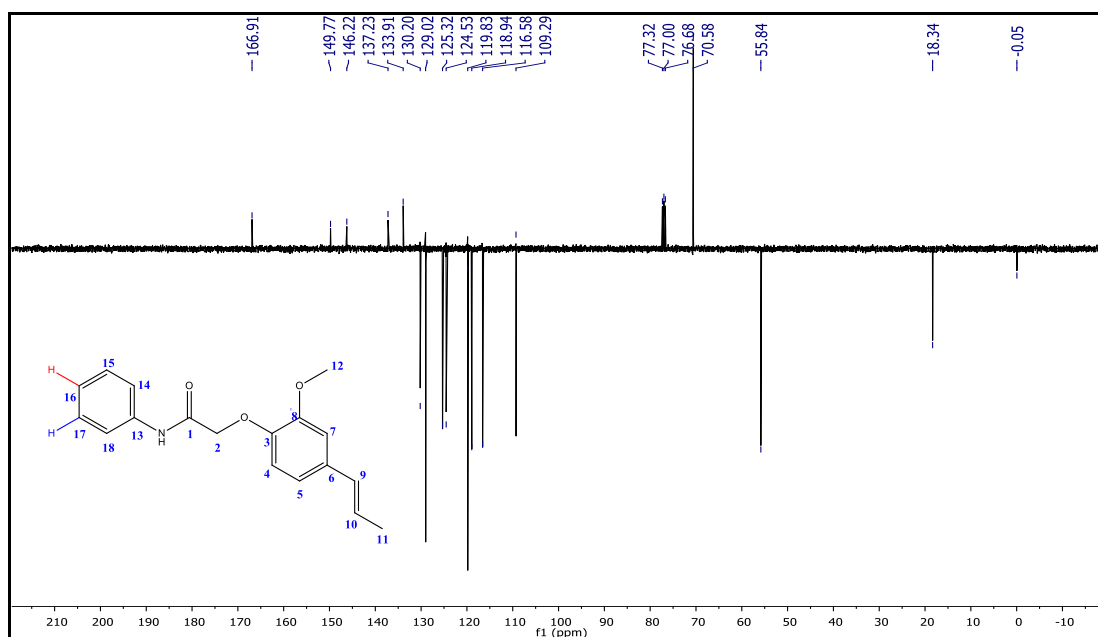
Observou-se o acoplamento dos hidrogênios (H9, H10), sendo um dubleto em torno de δ 6.33 ppm com $J_{\text{TRANS}}=16.0$ Hz com integral para 1H (H9) e um multipletto em torno de δ 6.18-6.09 ppm com integral para 1H (H10). Para todos os derivados do isoeugenol observou-se um dubleto em torno de δ 1.85 ppm com $J=8$ Hz e integral para 3H (H11), também um singlete em torno de δ 3.92 ppm com integral para 3H (H12). O espectro mostrou um dubleto em torno de δ 7.58 com $J=8\text{Hz}$ com integral para 2H correspondente aos hidrogênios (H14 e H18), para os derivados ISOA2 e ISOA8 este valor ficou em torno de δ 8.0 ppm devido à influência do grupo nitro, também verificou-se um tripleto de δ 7.12 ppm com integral para 1H foi observado para ISOA1. Todos os derivados apresentaram um singlete em torno de δ 9.0 ppm com integral para 1H característico do H do grupo NH.

Outros sinais observados foram: um quarteto entre δ 2.64-2.58 ppm com integral para 2H (H19) no espectro do derivado ISOA3, sendo o sinal para a mesma posição em ISOA4 um singlete para 3H, em ISOA7 um multipletto em δ 2.91-2.84 ppm com integral para 1H; o derivado ISOA3 apresentou um tripleto com integral para 3H referente à posição 20 em δ 1.20 ppm; ISOA7 apresentou um multipletto com

integral para 6H metílicos em δ 1.22 ppm para as posições 20 e 21. Todos os deslocamentos estão apresentados na tabela 4 **Error! Reference source not found.**.

O espectro de RMN¹³C-APT (FIGURA 11) revelou a presença de 18 sinais para ISOA1, observou-se o acoplamento da dupla olefínica (H9, H10), sendo um dubleto em torno de δ 6.33 ppm com $J_{\text{TRANS}}=16.0$ Hz com integral para 1H (H9) e um multiplete em torno de δ 6.18-6.09 ppm com integral para 1H (H10).

Figura 11: Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1.



Para todas os derivados observou-se um pico em torno de δ 70 ppm referente a um carbono sp^3 bi-hidrogenado (C2) e outro pico entre δ 166 – 168 ppm característico de $\text{C} = \text{O}$ do grupo amida (C1) e um pico em torno de δ 55 ppm correspondente a metoxila. Os picos adicionais dos derivados ISOA3, ISOA4, ISOA7, ISOA9 são referentes aos grupos etil, metil, isopropil e metóxi, respectivamente. Observou-se também deslocamentos para os carbonos aromáticos (C3-C8) provenientes dos terpenos entre δ 111-150 ppm e entre δ 116-156 ppm observou-se os sinais para os carbonos aromáticos (C13-C18) da parte da acetamida. Os carbonos da dupla olefínica apresentaram-se em torno de δ 130 ppm (C9) e δ 125 ppm (C10). Todas as absorções estão demonstradas na tabela 5.

Tabela 4: Dados dos espectros de RMN ^1H (400MHz) em CDCl_3 para os derivados do isoeugenol **ISOA1 a ISOA9**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm e as constantes de acoplamento (J) em Hertz.

Composto / Posição	ISOA1	ISOA2	ISOA3	ISOA4	ISOA5	ISOA6	ISOA7	ISOA8	ISOA9
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	4.61 (s, 2H)	4.63 (s, 2H)	4.61(s,2H)	4.60 (s, 2H)	4.59 (s,2H)	4.60 (s, 2H)	4.64(s, 2H)	4.61(s, 2H)	4.61 (s, 2H)
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	6.92 – 6.85 (m, 3H)	6.92 – 6.86 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.86 (m, 3H)	6.94 – 6.91 (m, 3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91– 6.85(m,5H)
5	6.92 – 6.85 (m, 3H)	6.92 – 6.86 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.86 (m, 3H)	6.94 – 6.91(m, 3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91– 6.85 (m,5H)
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	6.92 – 6.85 (m, 3H)	6.92 – 6.86 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91-6.87 (m,3H)	6.91 – 6.86 (m, 3H)	6.94 – 6.91 (m, 3H)	6.91 – 6.87 (m, 3H)	6.91 – 6.85 (m,5H)
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	6.33 (dd, $J = 16.0$ Hz, 1H)	6.32 (dd, $J = 16.0$ Hz, 1H)	6.33(dd, $J=16$ Hz,1H)	6.33 (dd, $J = 16.0,1.5$ Hz, 1H)	6.32(dd, $J=16,1.6$ Hz,1H)	6.32 (dd, $J = 16,1.6$ Hz, 1H)	6.36 (dd, $J = 16,1.7$ Hz, 1H)	6.32 (dd, $J = 16,1.6$ Hz, 1H)	6.32 (dd, $J = 16,1.7$ Hz, 1H)
10	6.18-6.09 (m,1H)	6.19-6.10 (m,1H)	6.18-6.09 (m,1H)	6.18-6.09 (m,1H)	6.18-6.09 (m,1H)	6.18-6.09 (m, 1H)	6.21-6.12 (m, 1H)	6.20-6.09 (m,1H)	6.18-6.11 (m, 1H)
11	1.86 (dd, $J=8.0;1.5$ Hz, 3H)	1.85 (dd, $J = 6.6, 1.5$ Hz, 3H)	1.86 (d, $J=8$ Hz,3H)	1.86 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H)	1.86 (dd, $J=8.00$ Hz,3H)	1.86 (d, $J = 16.0$ Hz, 3H)	1.89 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H)	1.85 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H)	1.86 (d, $J = 8.0$ Hz, 3H)
12	3.93 (s, 3H)	3.94 (s, 3H)	3.92 (s,3H)	3.92 (s, 3H)	3.92 (s,3H)	3.92 (s, 3H)	3.95 (s, 3H)	3.93 (s, 3H)	3.92 (s, 3H)
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	7.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.47 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.46 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.43 (d, $J=8.0$ Hz,2H)	7.53 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H)	7.51 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	8.18 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)	7.47 (dd, $J = 8,2.4$ Hz, 2H)
15	7.33 (t, 2H)	8.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.16 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.13 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.48 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.22 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.48 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H)	6.91– 6.85 (m,5H)
16	7.12 (t,1H)	-	-	-	-	-	-	-	-
17	7.33 (t, $J = 7.9$, 2H)	8.21 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.16 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.13 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.48 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.29 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.22 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.46 (d, $J = 8.0$ Hz,1H)	6.91– 6.85 (m,5H)
18	7.58 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.76 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.47 (d, $J=8$ Hz,2H)	7.46 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.43 (d, $J=8.0$ Hz,2H)	7.53 (d, $J = 12.0$ Hz, 2H)	7.51(d, $J = 8.0$ Hz, 2H)	7.79 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H)	7.47 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H)
19	-	-	2.62 (q, $J=7.6$ Hz,2H)	2.31 (s, 3H)	-	-	2.96-2.85 (m,1H)	-	3.78 (s, 3H)
20	-	-	1.20 (t, $J=7.6$, 3H)	-	-	-	1.25 (d, $J = 16.0$ Hz, 6H)	-	-
21	-	-	-	-	-	-	1.25 (d, $J = 16.0$ Hz, 6H)	-	-
NH	8.91 (s, 1H)	9.33 (s, 1H)	8.83 (s,1H)	8.84 (s, 1H)	8.95 (s,1H)	8.94 (s, 1H)	8.87 (s, 1H)	9.29 (s, 1H)	8.78 (s, 1H)

Tabela 5: Dados dos espectros de RMN ^{13}C (100MHz) em CDCl_3 para os derivados do isoeugenol **ISOA1 a ISOA9**. Os deslocamentos químicos (δ) estão em ppm.

Composto/ Posição	ISOA1	ISOA2	ISOA3	ISOA4	ISOA5	ISOA6	ISOA7	ISOA8	ISOA9
1	166.91	167.69	166.70	166.83	167.07	167.04	166.84	167.44	167.60
2	70.58	70.88	70.58	70.68	70.70	70.68	70.62	70.80	66.90
3	149.77	149.81	149.81	149.85	149.81	149.82	149.83	149.77	149.70
4	125.32	125.79	125.31	125.34	125.53	125.55	125.34	117.33	122.60
5	118.94	119.18	118.91	119.00	119.07	119.07	119.00	119.09	119.60
6	133.91	134.48	133.80	133.97	134.19	134.14	133.92	134.35	132.0
7	130.20	130.12	130.23	130.29	130.23	130.21	130.28	130.01	130.50
8	146.22	146.06	146.29	146.16	146.19	146.20	146.31	145.87	147.10
9	116.52	117.19	116.44	116.59	116.80	116.81	116.57	116.28	130.50
10	109.27	109.55	109.27	109.34	109.42	109.40	109.32	109.51	111.50
11	18.34	18.41	18.40	18.39	18.42	18.41	18.41	18.34	18.80
12	55.84	56.06	55.85	55.73	55.95	55.95	55.90	55.98	56.10
13	137.23	143.08	134.84	134.75	136.43	135.90	134.94	136.88	130.80
14	119.83	119.23	128.37	129.60	132.06	129.09	126.96	132.14	124.40
15	129.02	125.15	120.01	120.01	121.35	121.07	120.08	123.73	114.50
16	124.56	143.81	140.58	134.26	117.30	135.90	145.34	121.62	158.90
17	129.02	125.15	120.01	120.01	12.35	121.07	120.08	147.74	114.50
18	119.83	119.23	128.37	129.60	132.06	129.09	126.96	132.14	124.40
19	-	-	28.21	20.83	-	-	33.65	-	55.80
20	-	-	15.79	-	-	-	24.03	-	-
21	-	-	-	-	-	-	24.03	-	-

—: inexistente

4.4 Estudos biológicos dos novos derivados de eugenol e isoeugenol

4.4.1 Atividade antifúngica

Os resultados da avaliação da atividade antifúngica dos derivados do isoeugenol (ISOA1 a ISOA9) e do eugenol (EA1 a EA9) contra leveduras do gênero *Candida* estão registradas na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados da avaliação da Concentração Inibitória Mínima/CIM ($\mu\text{g/mL}$) dos compostos acetamidas/com isoeugenol e eugenol contra cepas de leveduras – Técnica de microdiluição.

Produto	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. tropicalis</i>
ISOEUGENOL	512	512	512	512	512
ISOA1	1024	1024	1024	1024	1024
ISOA2	+	+	+	+	+
ISOA3	+	+	+	+	+
ISOA4	+	+	+	+	+
ISOA5	+	+	+	+	+
ISOA6	1024	1024	1024	1024	1024
ISOA7	+	+	+	+	+
ISOA8	+	+	+	+	+
ISOA9	+	+	+	+	+
EUGENOL	512	512	512	512	512
EA1	+	+	+	+	+
EA2	+	+	+	+	+
EA3	+	+	+	+	+
EA4	+	+	+	+	+
EA5	+	+	+	+	+
EA6	+	+	+	+	+
EA7	+	+	+	+	+
EA8	256	256	256	256	256
EA9	1024	1024	1024	1024	1024
Meio de cultura	+	+	+	+	+
Micro-organismo	+	+	+	+	+
Antifúngico	-	-	-	-	-

(-): Não houve crescimento do micro-organismo (+): Crescimento do micro-organismo

As substâncias ISOA1, ISOA6 e EA9 (1024 µg/mL) inibiram o crescimento das espécies de *Candida*. Os resultados mostram que a CIM das substâncias ISOA1, ISOA6 e EA9 ficou estabelecida em 1024 µg/mL; a CIM da substância EA8 foi 256 µg/mL, onde inibiu 85 % das cepas do gênero *Candida*.

Os resultados do ensaio de atividade biológica podem ser considerados ótima atividade biológica para a substância EA8 e de moderada atividade para as substâncias ISOA1, ISOA6 e EA9 (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

Os derivados ISOA1 e ISOA6 não foram mais eficientes que o isoeugenol porque a CIM dos mesmos foi 1024 µg/mL, sendo o dobro da CIM do isoeugenol. Entretanto, o derivado do eugenol EA8 precisou de metade da CIM em relação ao eugenol para inibir o crescimento das cepas.

Alguns estudos tem mostrado que o eugenol possui atividade antifúngica contra *Candida albicans* (VILJOEN, 2012). Derivados do eugenol como acetileugenol, isoeugenol, e metileugenol também possuem atividade antifúngica contra os fungos *Betulina L.* e *Sulphureus L.* (SEN-SUNG et al., 2008). Pesquisas mostraram que a atividade antimicrobiana do eugenol é resultado de uma interação com a membrana celular dos microrganismos, danificando sua estrutura e alterando sua fluidez, aumentando a permeabilidade inespecífica. Isso induz a perda de íons e constituintes celulares, resultando em lise celular. (DEVI et al, 2010; DI PASQUA et al, 2006; KAMATOU; VERMAAK; VILJOEN, 2012). Ahmad e colaboradores (2010c) examinaram a capacidade de bombeamento de prótons intracelulares para o meio externo de células de *Candida* sp. na presença de eugenol e observaram que a taxa de efluxo de H⁺ foi diminuída em 50%. A ação antifúngica do eugenol ocorre através da inibição de bombas de efluxo (H⁺-ATPase) da membrana celular fúngica, levando à acidificação do meio intracelular e morte do fungo.

Carrasco e colaboradores (2012) sintetizaram alguns análogos estruturais do eugenol num esforço de elucidar a relação estrutura atividade dessas substância contra várias espécies de fungos patogênicos. Os pesquisadores concluíram que a hidroxila fenólica não tem papel relevante na ação antifúngica. Tal fato corrobora com o que foi

mostrado no presente estudo, visto que o derivado EA8 apresentou melhor atividade que o monoterpene original, o que também pode ser explicado pela presença do átomo de cloro, que promove um aumento na acidez deste composto, o que pode contribuir para potencializar sua atividade antimicrobiana (PINHEIRO, 2017). No entanto, o derivado ISOA6, mesmo possuindo cloro apresentou diminuição da potência assim como ISOA1, o que pode ser explicado devido a diferença de isomeria em relação aos derivados do eugenol (THOMAS, 2003).

Os derivados EA1 e EA6 não apresentaram atividade antimicrobiana assim como seus correspondentes ISOA1 e ISOA6, isto pode ser resultado de complicações em relação à isomeria Z/E no encaixe com o alvo (THOMAS, 2003). A presença do grupo nitro (NO₂) nas posições *para* em (ISOA2 e EA2) e *meta* em (ISOA8) em relação à hidroxila pode ter impedido a atividade da molécula. Segundo estudo de Carrasco e colaboradores (2012) quando este grupo é inserido *orto* à hidroxila fenólica, percebe-se maior atividade antifúngica que em outras posições livres substituídas.

Em relação ao substituinte metoxila, observou-se que no derivado EA9 houve decréscimo da potência em relação ao eugenol e no derivado ISOA9 houve perda da atividade antifúngica, a explicação pode ser fundamentada na dificuldade entre as interações de ligação de hidrogênio entre o ligante e o sítio de ação por impedimento estérico pois torna o átomo de oxigênio (aceptor de ligações de H) menos acessível. Os substituintes que tornaram as moléculas inativas contra os fungos estudados foram os radicais etil, metil, isopropil que conferem impedimento estérico na ligação da droga com o sítio-alvo e o halogênio bromo que dificulta a solubilidade em água (THOMAS, 2003).

4.4.2 Atividade antibacteriana

4.4.2.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

A concentração máxima dos compostos isoeugenol e eugenol testada foi de 400 µg/mL. A CIM foi identificada em oito e quatro compostos isoeugenol frente a *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente, enquanto para eugenol apenas quatro e seis compostos inibiram o crescimento de *E. coli* e *S. aureus*, respectivamente. As mais baixas CIM foram observadas no composto ISOA9 frente a *E. coli* (35 µg/mL) e ISO A2 (83,5 µg/mL) para *S. aureus* (TABELA 7).

Tabela 7 – Concentração inibitória mínima dos derivados do isoeugenol contra bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Compostos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
	CIM (µg/mL)	CIM (µg/mL)
ISOEUGENOL	< 15	< 15
ISO A1	350	> 400
ISO A2	> 400	83,5
ISO A3	400	> 400
ISO A4	350	> 400
ISO A5	350	> 400
ISO A6	350	> 400
ISO A7	100	400
ISO A8	400	350
ISO A9	35	350

Tabela 7 (Continuação) – Concentração inibitória mínima dos derivados do eugenol contra bactérias *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*.

Compostos	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
	CIM (µg/mL)	CIM (µg/mL)
EUGENOL	< 15	< 15
EA 1	250	200
EA 2	> 400	250
EA 3	> 400	400
EA 4	> 400	400
EA 5	> 400	150
EA 6	> 400	> 400
EA 7	45	400
EA 8	66,8	> 400
EA 9	400	> 400

Estudos realizados por Gill et al. (2006) relataram que o eugenol inibe a atividade de ATPases ligadas à membrana de *E. coli* e *Listeria monocytogenes*, as quais estão envolvidas na geração de ATP e na regulação do pH celular. Foi observado ainda que, apesar da inibição de ATPases causar redução na taxa de multiplicação destes micro-organismos em concentrações subletais de eugenol, prejudicando a sobrevivência das células, o mecanismo principal de ação do eugenol foi considerado pela ruptura da membrana citoplasmática. Essa ruptura foi confirmada também por outros pesquisadores como o principal mecanismo de ação antibacteriana do eugenol contra *L. monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris*, *E. coli* (OYEDEMI et al., 2009) e *Salmonella Typhi* (DEVI et al., 2010). A ação antibacteriana do eugenol foi descrita contra várias espécies patogênicas, *Salmonella enterica*, *Campylobacter jejuni*, *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus sakei* e *Helicobacter pylori* (HEMAISWARYA; DOBLE, 2009).

O menor valor de CIM dos derivados do eugenol para *S. aureus* foi encontrado no composto EA5 (150 µg/mL), sendo semelhante ao observado em estudo prévio

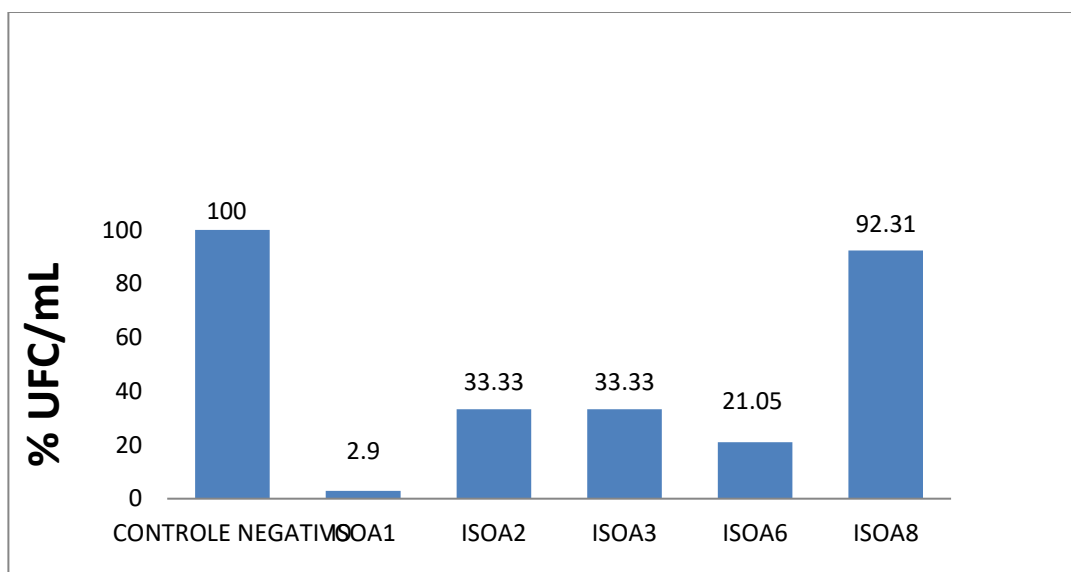
(DAS et al., 2016). Valor superior foi observado no composto EA7 contra *E. coli*, sendo semelhante aos resultados de Sanla-Ead et al. (2012).

Considerando que drogas com CIM < 100 µg/mL têm potencial antimicrobiano promissor (bom), CIM entre 100 – 500 µg/mL possui atividade inibitória moderada, CIM entre 500 – 1.000 µg/mL apresenta atividade inibitória fraca e drogas que apresentaram CIM superior a 1.000 µg/mL são inativas frente aos patógenos (SIMONETTI, 2016), observou-se que frente a *E.coli* os derivados ISOA9, EA7 e EA8 apresentaram potencial antimicrobiano bom e os derivados ISOA1-8 e EA1-6 e EA9 apresentaram atividade moderada e em relação à *S. aureus*, apenas ISOA2 apresentou boa atividade inibitória. No entanto, as modificações moleculares do eugenol e do isoeugenol não melhoraram a atividade dos derivados resultantes, visto que a CIM de ambos é de apenas 15 µg/mL para as referidas espécies bacterianas.

4.4.2.2 Teste de aderência

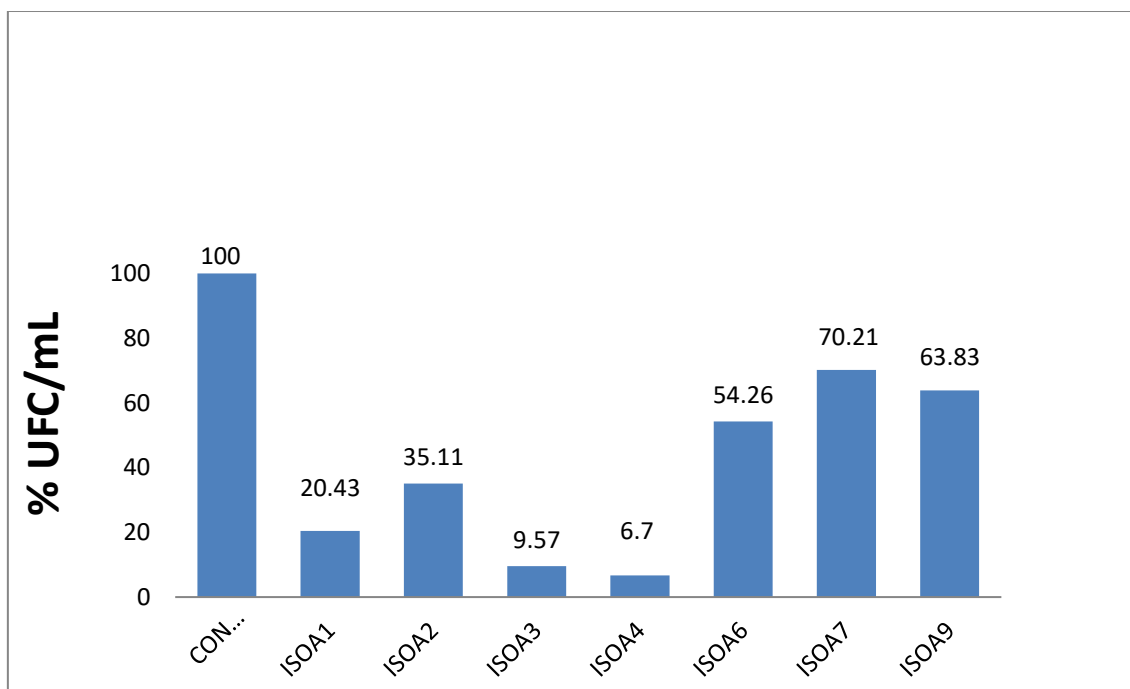
A atividade antiaderente foi observada em cinco dos nove compostos do isoeugenol frente a *E. coli*, sendo evidenciado a aderência de apenas 2,9% do composto ISOA1 (Figura 5). Valores de UFC/mL superiores a 100% (controle negativo) foram observados no teste de aderência para o isoeugenol ISOA4 (400%), ISOA5 (475%), ISOA7 (150%) e ISOA9 (683,33%) contra *E. coli*. (FIGURA 12)

Figura 12- Unidade Formadora de Colônias/mL de *E. coli* frente aos compostos de Isoeugenol.



Em relação a *S. aureus*, os compostos isoeugenol ISOA3 e ISOA4 apresentaram atividade antiaderente inferiores a 10% (FIGURA 13). Entretanto, valores de UFC/ mL superiores a 100% foram identificados nos compostos Isoeugenol ISOA5 (134,04%) e ISOA8(245,74%) contra *S. aureus*.

Figura 13 - Unidade Formadora de Colônias/ mL de *S. aureus* frente aos compostos de Isoeugenol.



Todos os compostos eugenol apresentaram atividade antibiofilme inferior a 10% contra *E. coli* (FIGURA 13), e para *S. aureus* foi identificado ação antiaderente com crescimento de 3,72% a 90,43% (Figura 14). O *S. aureus* não foi sensível apenas ao composto EA4 da classe eugenol, para o qual houve aderência bacteriana (139,36%) frente a *S. aureus*.

Figura 14- Unidade Formadora de Colônias/ mL de *E. coli* frente aos compostos de eugenol.

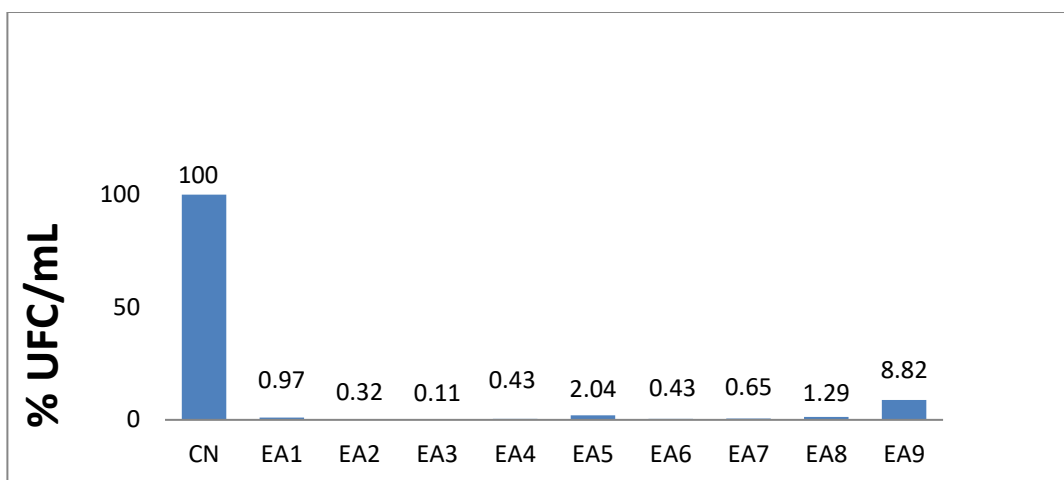
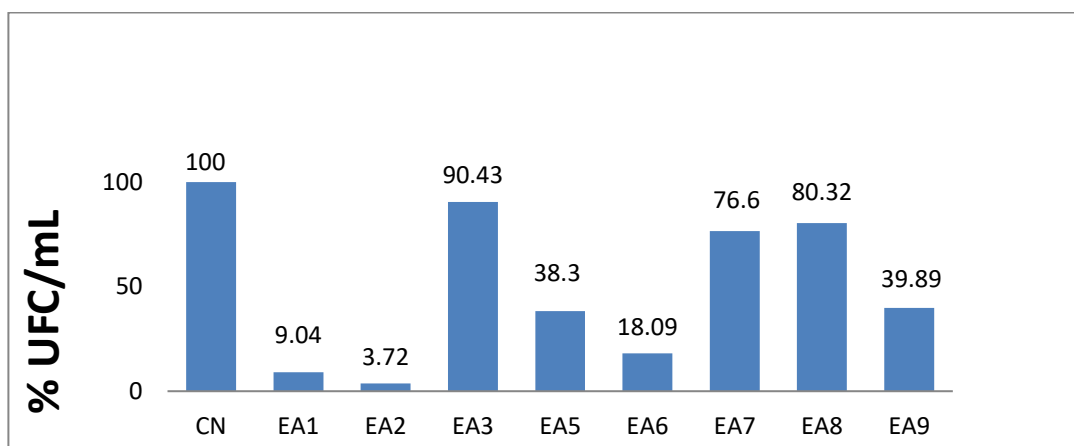


Figura 15 - Unidade Formadora de Colônias/ mL de *S. aureus* frente aos compostos de eugenol.



O eugenol apresentou significativa atividade antiaderente frente a *E. coli* e *S. aureus*, entretanto o mesmo não foi observado pelo teste de microdiluição. A propriedade hidrofóbica do eugenol (ARFA et al., 2006) dificultou verificar sua atividade em teste de meio aquoso, tendo efetividade comprovada diante de sistema de biofilme.

O mecanismo de ação da inibição do crescimento em biofilme pode ser relacionado ao aumento da permeabilidade celular pelo contato do eugenol com a

membrana citoplasmática e penetração do eugenol na célula bacteriana com atividade bactericida com produção de espécies reativas de oxigênio (DAS et al., 2015; DAS et al., 2016).

No estudo de Kim e col. (2016) foram investigadas três estirpes de *E. coli* de laboratório: BW25113, MG1655 e TG1 quanto à formação de biofilme e verificou-se que tanto o eugenol quanto o isoeugenol ambos a 0,005% apresentaram atividade antibiofilme. Especificamente, o eugenol a 0,005% diminuiu a formação de biofilme de *Escherichia coli* O157:H7 (EHEC) em 87% e o isoeugenol acima de 50%. Segundo este estudo, a atividade antibiofilme contra EHEC parece está intimamente relacionada com a presença e tamanho de um C-4 alceno, e a presença de um grupo hidroxila e um grupo metoxi nas posições C-1 e C-2 do anel de benzeno, porque tanto o eugenol quanto o isoeugenol e outros monoterpenos estudados possuem um C-4 alceno ou cadeia alquílica e grupos hidroxila C-1 e metoxila C-2. No entanto, o metileugenol, que tem uma cadeia alquílica e uma unidade metoxi em C-1 e C-2 não tinham atividade inibitória, indicando que no esqueleto do eugenol os grupos hidroxila C-1 e metoxila C-2 são necessários para a atividade antibiofilme, especificamente o eugenol inibe o desenvolvimento de *E. coli*. Os teste de aderência com o eugenol e o isoeugenol estão em andamento para comparação dos resultados com as cepas específicas utilizadas neste trabalho.

Em estudo realizado, o eugenol diminuiu significativamente (em mais de 50%) o crescimento do biofilme de *S. aureus* resistentes a metilicina e sensíveis a metilicina. A análise mostrou que em amostras não tratadas com eugenol, o biofilme era muito organizado em estrutura, com conexões célula-célula intactas, mas na presença do eugenol os biofilmes tratados perderam conexões célula-a-célula, as células bacterianas perderam a sua morfologia normal e apresentavam-se mortas com restos celulares identificáveis pelos poros da membrana celular. Estes resultados indicam que o potencial de erradicação do biofilme do eugenol pode ser devido a ruptura das conexões célula-a-célula e lise celular (YADAV, 2015).

O isoeugenol é um composto pequeno (164,201 g/mol) ao qual a matriz do biofilme não parece oferecer resistência e apresentou atividade antibiofilme contra *S. aureus* sendo uma via interessante para o desenvolvimento de estratégias para lidar com

biofilmes na indústria de alimentos. Embora os óleos essenciais com propriedades antimicrobianas sejam geralmente mais eficazes contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*) este estudo mostrou que o isoeugenol é mais eficaz contra Bactérias Gram-negativas (*E. coli*) e funciona desestabilizando as membranas através de mecanismo semelhante aos detergentes que aumentam a fluidez da membrana. As bactérias gram-negativas podem ser mais suscetíveis porque as membranas externa e interna representam o alvo local para o isoeugenol, e a membrana citoplasmática é facilmente acessível uma vez que a membrana externa é interrompida. Por outro lado, bactérias gram-positivas são protegidas por uma espessa camada de peptidoglicano. As bactérias Gram-negativas e bactérias Gram-positivas também diferem na composição fosfolipídica da membrana citoplasmática. Nas bactérias Gram-negativas, as membranas consistem em fosfolipídeos catiônicos, enquanto fosfolipídios aniônicos predominam a membrana das Gram-positivas (NIELSEN, 2017).

Estes resultados de atividade antibiofilme são promissores porque além do problema clínico com a formação de biofilme, as indústrias farmacêuticas e alimentares apresentam perdas em produtos devido a este processo. Na indústria alimentícia, a aderência de micro-organismos a superfícies de equipamentos que são utilizados em processos de geração de alimentos ocasiona uma contaminação constante nos alimentos produzidos no local levando a uma perda total do produto e diminuição do tempo para consumo (JACOBSON, 2008).

4.5 Estudos de relações estrutura-atividade quantitativas (QSAR)

Para a série isoeugenol foram gerados $Q_{cv}^2 = 0,774$ e coeficiente de correlação de regressão, $r^2 = 0,958$ e para a série eugenol foram gerados $Q_{cv}^2 = 0,593$ e coeficiente de correlação de regressão, $r^2 = 0,879$ (FIGURAS 16 e 17).

Figura 16. Plotagem de r^2 e q^2 versus o número de variáveis latentes (LV) considerando os modelos PLS da série isoeugenol.

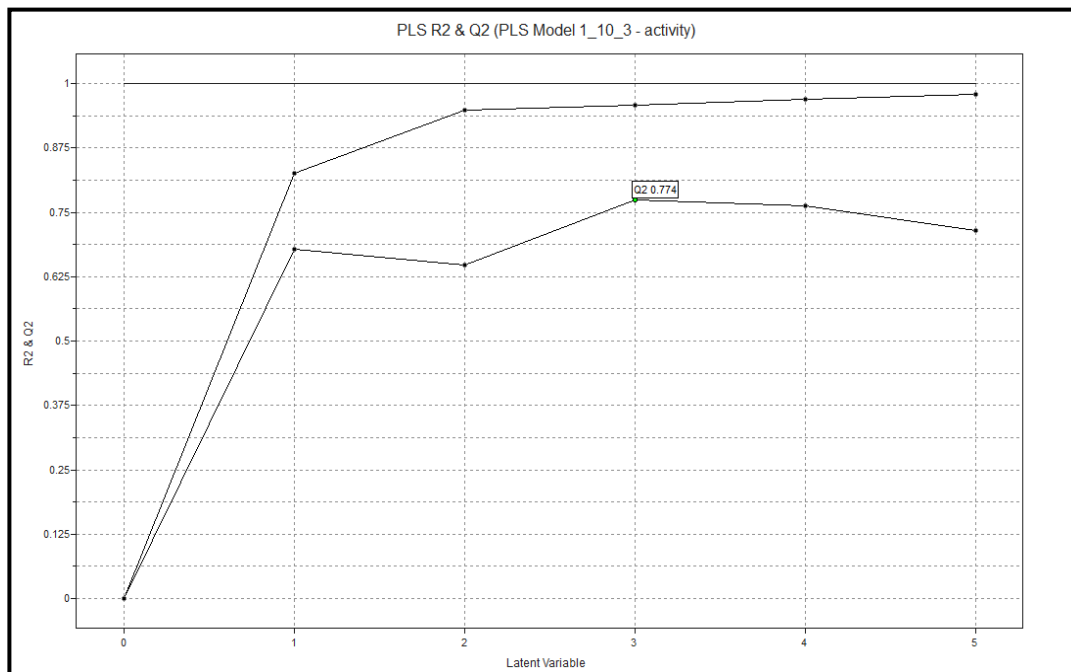
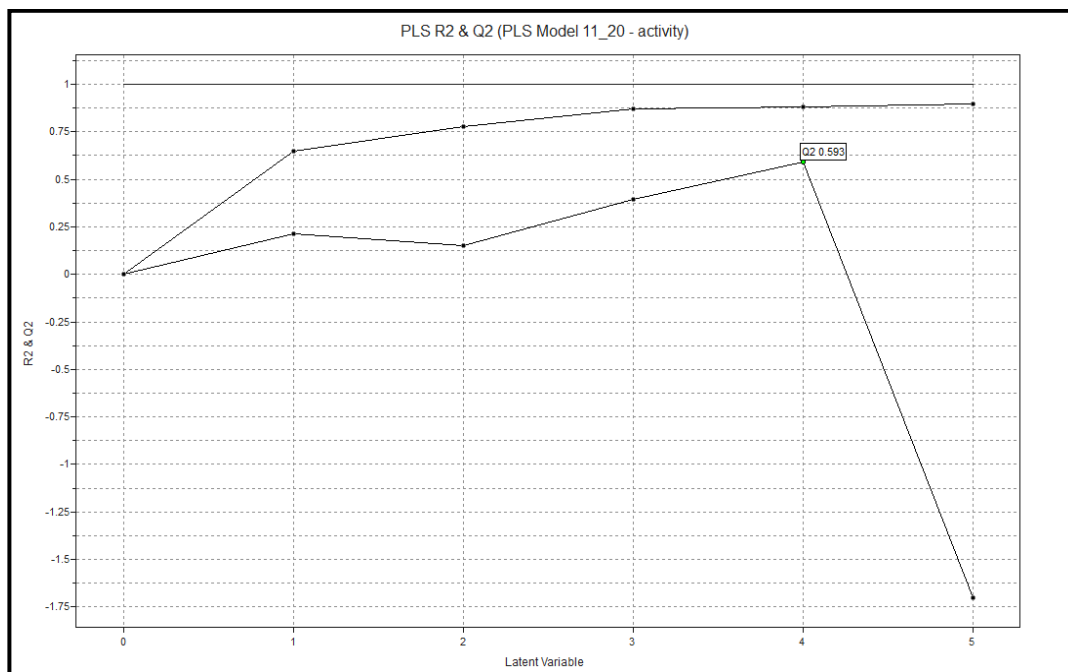


Figura 17. Plotagem de r^2 e q^2 versus o número de variáveis latentes (LV) considerando os modelos PLS da série eugenol.



As Figuras 16 e 17 mostram que os modelos da série do isoeugenol contendo quatro LVs apresentaram um incremento no valor r^2 , mas o valor q^2 começou a diminuir do terceiro LV. O modelo gerado do isoeugenol com três LVs explicou 84,579% da variância total a partir dos dados originais. Já modelo gerado com quatro LV da série do eugenol explicou 99,77% da variância total. Esses dados estão expostos na Tabela 8.

Tabela 8. Variância dos modelos PLS.

Série isoeugenol		Série eugenol
LV	% da variância explicada a partir dos dados originais	
1	43,743	38,885
2	0,019	19,580
3	26,828	0,000
4	13,989	41,309

O escore de pontuação PLS t1-t2 do modelo resultante é mostrado nas Figuras 17 e 18. Em relação à figura, o modelo selecionado fornece uma boa discriminação entre os descritores com relação à atividade inibitória. Os coeficientes PLS encontrados para os descritores VolSurf calculados considerando o modelo global (conjuntos de treinamento e teste combinados) são apresentados nas figuras 18 e 19. O gráfico de coeficientes indica que as variáveis que apresentam um perfil ligado à atividade antimicrobiana da série isoeugenol, como DIFF e CP, têm maior influência na inibição dos fungos do gênero *Candida*, enquanto que a variável V é que tem maior influência na série dos derivados do eugenol.

Figura 18. Gráfico de escores discriminantes t1-t2 do PLS para série eugenol.

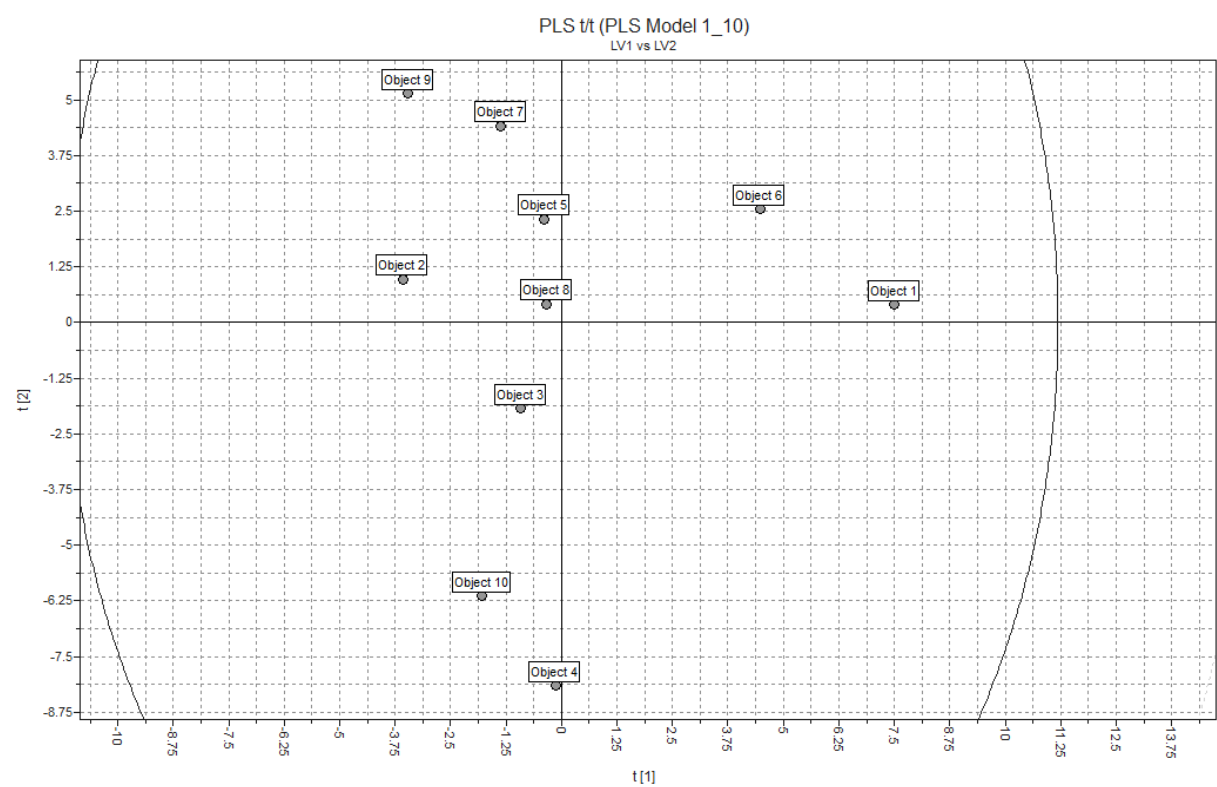
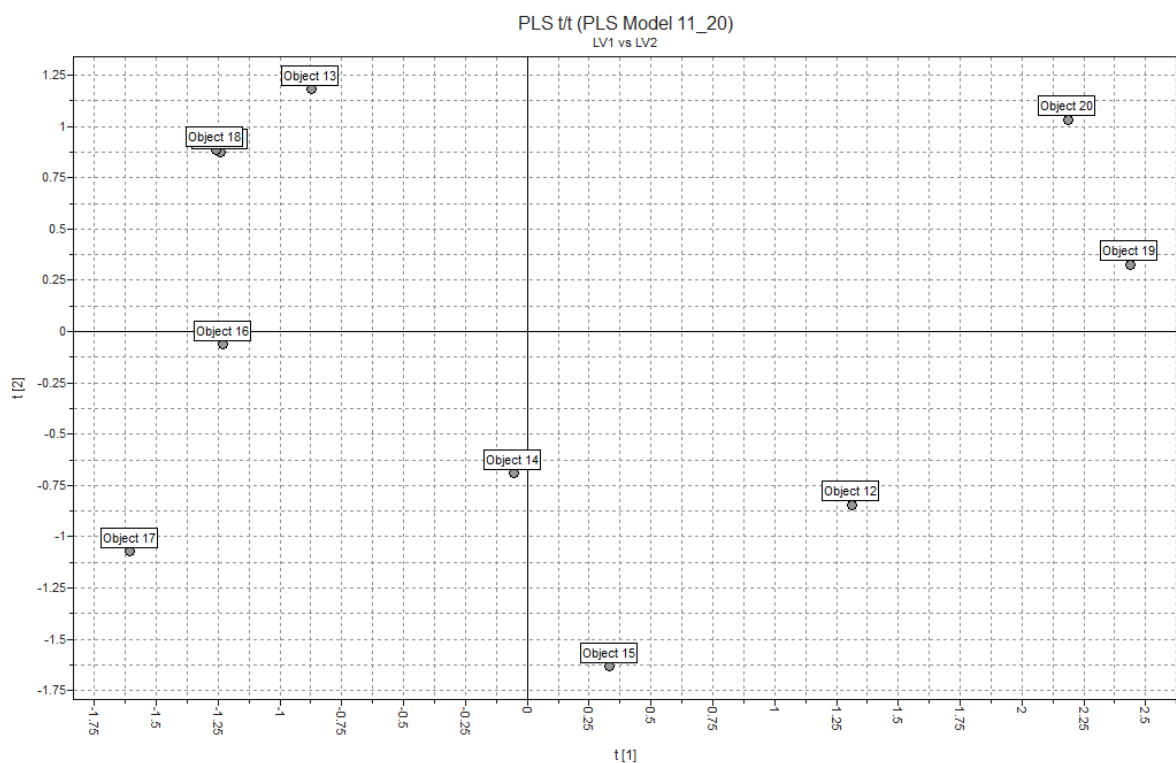


Figura 19. Gráfico de escores discriminantes t1-t2 do PLS para série isoeugenol.



A disposição dos descritores podem ser também observadas em gráficos do tipo LV1xLV2, os quais dispõem esses descritores e a atividade em uma visão 2D, uma forma mais ampla e discriminatória com relação atividade biológica como mostrados nas figuras 18 e 19.

Figura 20. Gráfico de pesos LV1xLV2 do PLS para série isoeugenol.

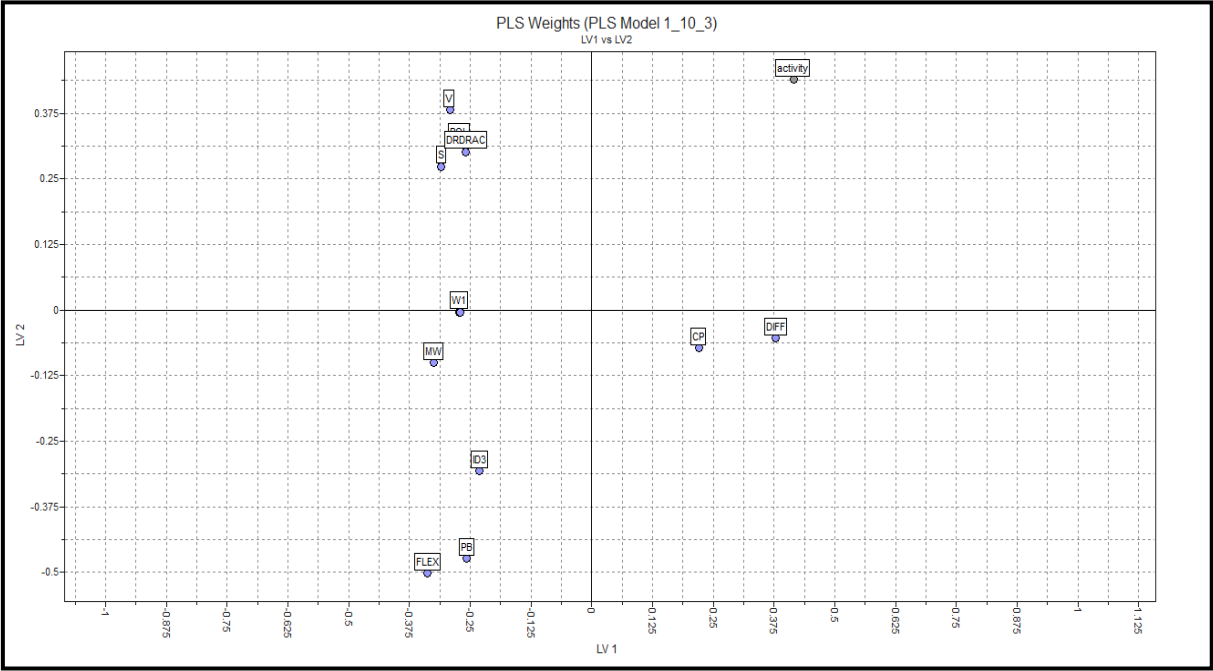
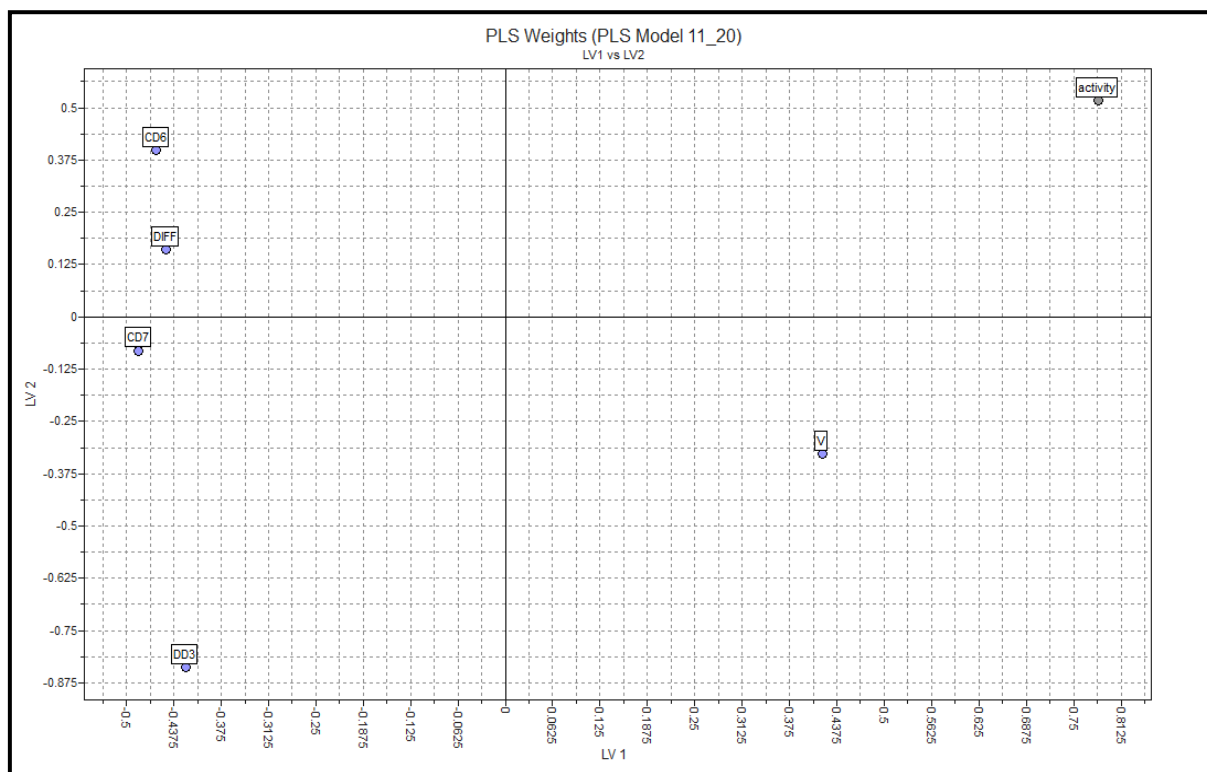


Figura 21. Gráfico de pesos LV1xLV2 do PLS para série eugenol.



A regressão PLS foi aplicada para construir modelos considerando dois conjuntos de treino de nove compostos cada. Os compostos do ensaio foram escolhidos aleatoriamente, mas a racionalidade foi utilizada para ter certeza de que o conjunto era representativo em relação à atividade global e à diversidade estrutural (TABELA 8). O melhor modelo fornecido pela regressão PLS apresentou três LVs para a série isoeugenol ($r^2 = 0,958$ e $q^2 = 0,774$) e quatro LVs para a série eugenol ($r^2 = 0,879$ e $q^2 = 0,593$) reforçando a qualidade dos descritores físico-químicos VolSurf gerados e dados biológicos utilizados neste estudo. Após esse valores, embora o valor de r^2 fosse aumentado, o valor de q^2 começou a diminuir (FIGURAS 16 e 17). O modelo selecionado indicou uma boa discriminação entre os compostos ativos e inativos (FIGURAS 21 e 22).

O gráfico de pontuação PLS demonstra uma discriminação bastante clara entre compostos altamente e fracamente ativos de acordo com a qualidade estatística significativa do modelo derivado do PLS. Os descritores de VolSurf com um impacto relevante na inibição das leveduras do gênero *Candida* estão evidenciados no gráfico de

coeficientes PLS (FIGURAS 22 e 23). De acordo com os gráficos de cargas, os descritores que contribuíram significativa e positivamente para a série do isoeugenol são os DIFF e CP, enquanto, para a série do eugenol, apenas o descritor V.

Figura 22. Gráfico dos coeficientes do PLS da série isoeugenol.

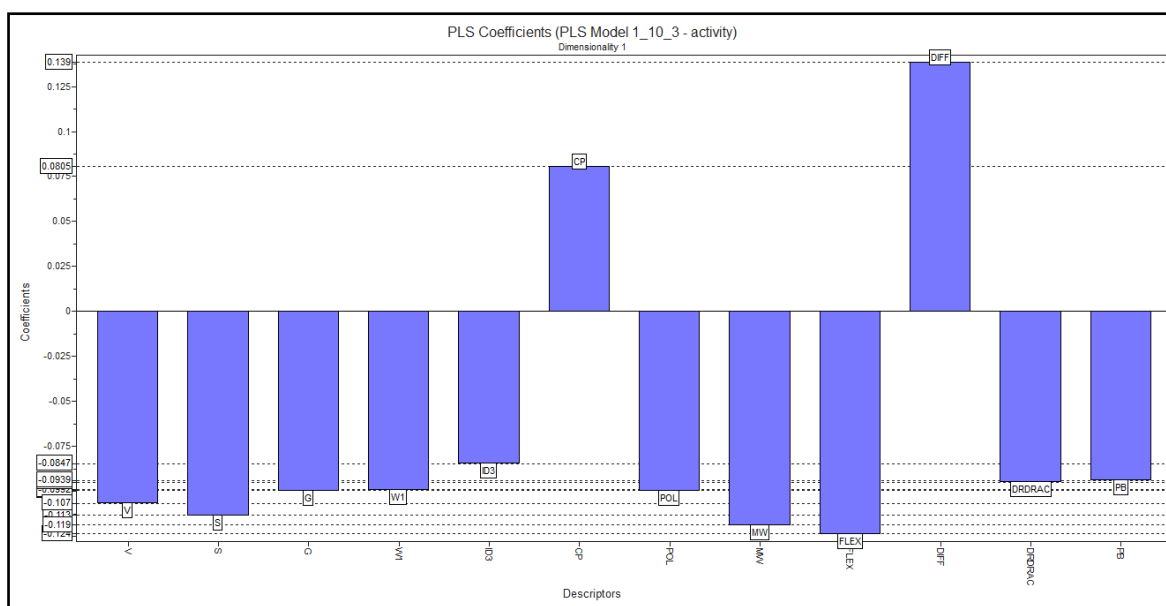
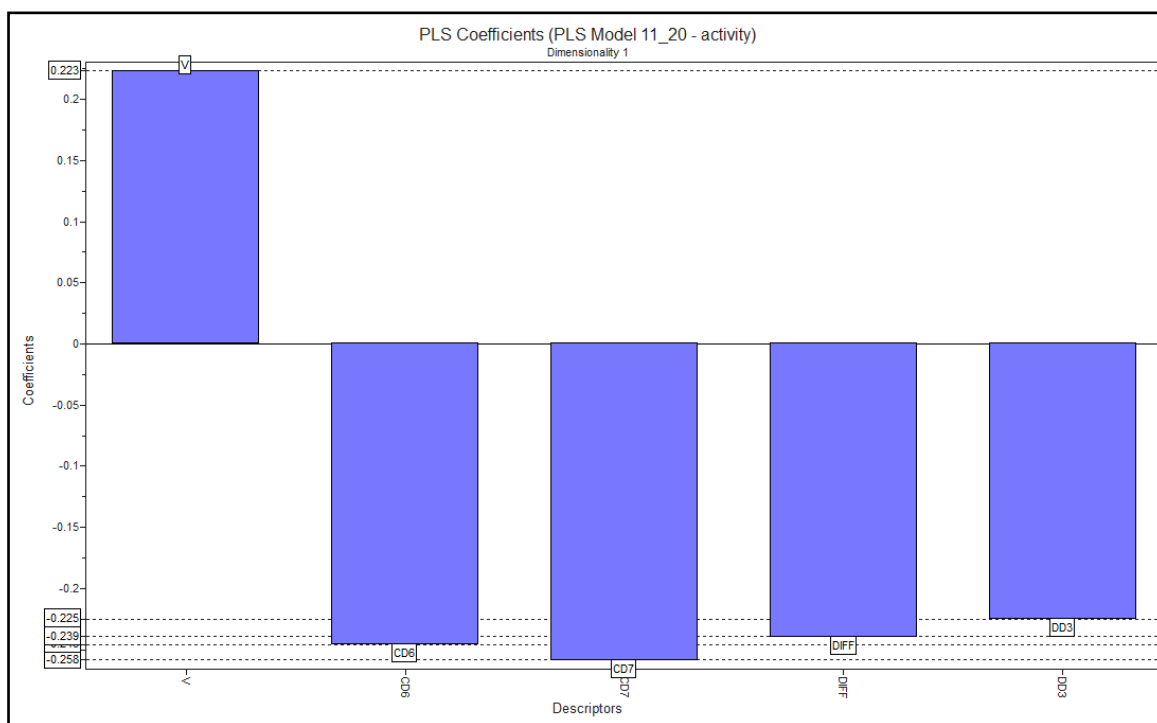


Figura 23. Gráfico dos coeficientes do PLS da série eugenol.



O descritor DIFF é a abreviação difusividade – propriedade físico-química da substância que é calculada usando uma equação de Stokes-Einstein, referindo-se ao controle da dispersão química em água a 25 ° C.

O descritor CP é a abreviação do termo em inglês “Critical packing” (Parâmetro de empacotamento crítico). Esse descritor define uma relação entre a parte hidrofílica e lipofílica de uma molécula. Em contraste com o equilíbrio hidrofílico-lipofílico, a embalagem crítica refere-se apenas à forma molecular. É definido como: volume (parte lipofílica) / [(superfície (parte hidrofílica) * (comprimento da parte lipofílica)].

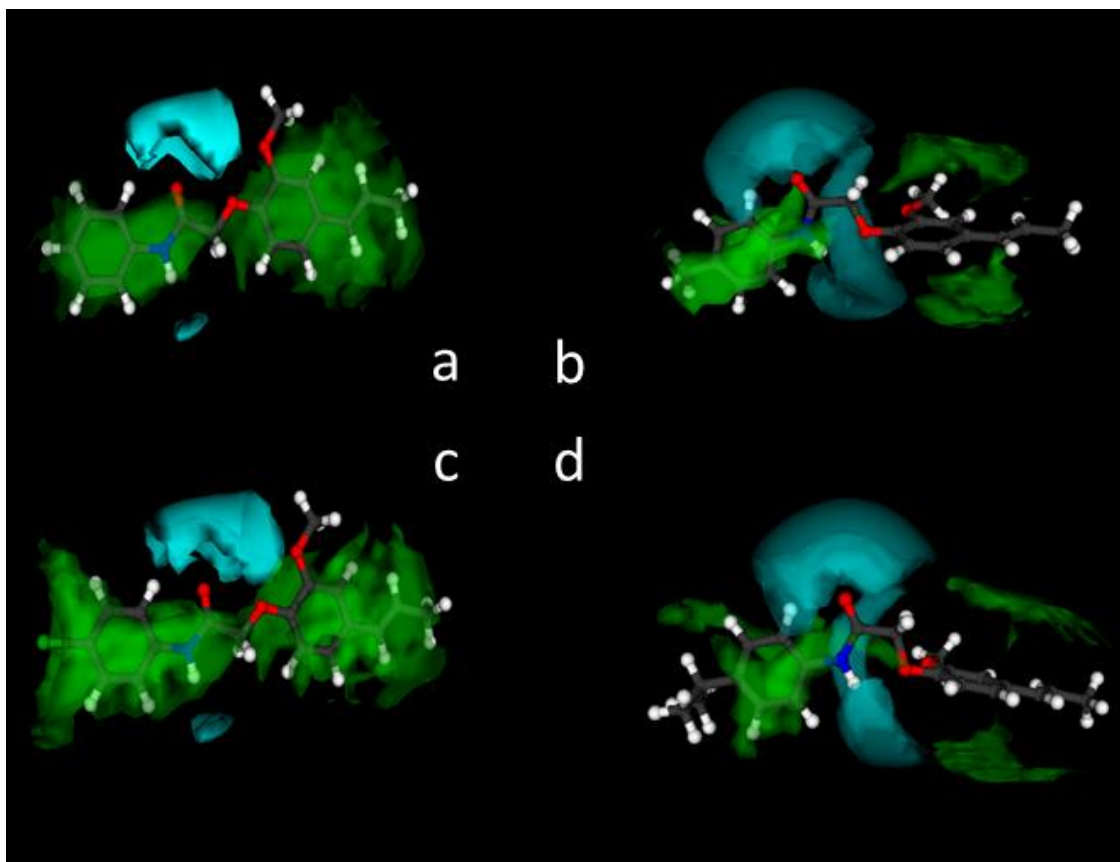
De acordo com os descritores, as substâncias da série do isoeugenol são mais ativas caso elas tenham boa dispersão em água e se elas tiverem um volume hidrofóbico maior e uma pequena superfície hidrofílica. Essas propriedades permitem que as moléculas sejam arrastadas com mais facilidade para dentro do microrganismo e tenham uma passagem facilitada por meio da membrana plasmática e outras organelas vitais para o fungo.

Os descritores que tiveram influência negativa na atividade na série do isoeugenol foram FLEX, MW e o PB, ou seja, quanto maior o valor desse descritor, menor é a previsão de atividade microbiana. O primeiro representa a máxima flexibilidade de uma molécula. Para cada molécula são produzidas 50 conformações (aleatórios). O MW é o descritor relacionado ao peso molecular e o PB diz respeito à capacidade molecular percentual de ligação à proteína. Logo moléculas com mais flexibilidade do esqueleto de sua estrutura, de grandes pesos moleculares, e de maior índice de ligação às proteínas tem suas atividades diminuídas.

O símbolo V representa o volume molecular que é o volume hidrofóbico (em Å³), isto é, o volume encerrado pela superfície acessível à água calculada a um valor repulsivo de +0.2 kcal/mol. Esse parâmetro age de forma crescente, ou seja, as moléculas da série eugenol que formam um maior volume em uma solução aquosa e que também sejam mais repulsivas à água, formando um volume molecular maior têm uma atividade antifúngica considerável. Porém são os descritores das séries CD (CD3,CD7), DIFF e DD3, que causam uma maior influência na série eugenol, porém de forma negativa. Fatores de capacidade como são denominados os descritores CD1 - CD8, representam a proporção do volume hidrofóbico sobre a superfície molecular total. Logo CD é o volume hidrofóbico por unidade de superfície. Os fatores de capacidade são calculados em oito níveis de energia diferentes, os mesmos níveis utilizados para calcular os volumes hidrofóbicos. No caso desse estudo foram o terceiro e o sétimo níveis. O descritor DD3 está relacionado a diferença entre os volumes máximos hidrofóbicos (obtidos mediante variação da conformação do ligante) e os volumes hidrofóbicos (D3) da estrutura 3D importado calculada ao terceiro nível de energia.

Diferentemente da série do isoeugenol, os compostos da série eugenol tem uma menor atividade antimicrobiana, quanto maior for o volume hidrofóbico. Todas as observações de afinidade hidrofóbica e hidrofílica estão ilustradas na figura 24 .

Figura 24. Campos de interações dos compostos EA1 (a), EA4 (b), ISOA6 (c) e EA7 (d), com sondas DRY (sonda hidrofóbica) de H₂O (sonda hidrofílica) no programa Volsuf.



5 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

5.1 Conclusões

Foram sintetizadas nove acetamidas substituídas e, a partir destas, nove derivados do eugenol e nove derivados do isoeugenol inéditos na literatura.

O protocolo de síntese dos compostos intermediários (acetamidas) mostraram-se muito eficientes, bem como a metodologia para a síntese dos derivados de ambos os monoterpenos com rendimentos de (74 a 92%).

Os intermediários de reação e os produtos finais tiveram suas estruturas químicas elucidadas e comprovadas por meio de técnicas espectroscópicas de infravermelho e RMN ^1H e ^{13}C unidimensional.

Os estudos antifúngicos indicaram que os derivados ISOA1, ISOA6 e EA9 inibiram moderadamente o crescimento das espécies de *Candida* e a substância EA8 apresentou uma forte atividade inibitória de 85 % das cepas do gênero *Candida*. A CIM dos derivados do isoeugenol foi o dobro em comparação a CIM do isoeugenol. Porém o derivado EA8 tem metade da CIM em relação ao monoterpeno original.

Os estudos antibacterianos mostraram que a mais baixa CIM foi observada no composto ISOA9 frente a *E. coli* (35 $\mu\text{g/mL}$) e por EA8 (66,8 $\mu\text{g/mL}$) para *S. aureus*. No entanto, para ambos os óleos a CIM é de apenas (15 $\mu\text{g/mL}$) mostrando que a síntese não otimizou a atividade das moléculas.

A atividade antiaderente foi observada em seis dos dez derivados do isoeugenol frente a *E. coli*, sendo evidenciado a aderência de apenas 2,9% do composto ISOA1. Em relação a *S. aureus*, os compostos isoeugenol ISOA3 e ISOA4 apresentaram atividade antiaderente inferiores a 10%. Todos os derivados do eugenol apresentaram atividade antibiofilme inferior a 10% contra *E. coli*, e para *S. aureus* foi identificada a ação antiaderente com crescimento de 3,72% a 90,43%, sendo que esta espécie não foi sensível apenas ao composto EA4 derivado do eugenol.

Os estudos de QSAR indicaram que os descritores que contribuíram significativa e positivamente para a série do isoeugenol são os DIFF (difusividade, controle da dispersão química em água a 25°C) e CP (Parâmetro de embalagem crítica), enquanto, para a série do eugenol, apenas o descritor V (volume molecular) o qual influencia de

forma crescente, ou seja, um maior volume em uma solução aquosa e maior repulsão à água resulta em atividade antifúngica considerável.

5.2 Perspectivas

Serão realizados estudos termoanalíticos desses derivados do eugenol e do isoeugenol através dos processos de decomposição térmica a partir de curvas termogravimétricas, assim como a determinação da ordem de estabilidade através da temperatura inicial de decomposição, também serão feitos os espectros de massas de alta resolução. Além disso, outros testes biológicos serão realizados para investigar as atividades frente a câncer, inflamação e atividade antioxidante.

Pretende-se também desenvolver um material asséptico a partir do uso dos derivados que tiveram ótima atividade antiaderente (menor que 10%) contra bactérias para fabricação de cateteres e sondas hospitalares com o objetivo de reduzir o risco de infecções, também estudar a aplicabilidade destes compostos em materiais e equipamentos da indústria alimentícia e farmacêutica no intuito de reduzir os riscos de contaminação nos processos industriais.

6. ESTUDOS EXPERIMENTAIS

6.1 Materiais

Os materiais de partida das rotas sintéticas e todos os reagentes utilizados no decorrer do trabalho foram obtidos comercialmente através de diversas empresas fornecedoras Merck, Vetec, Aldrich, Fluka. Todos os reagentes e solventes utilizados foram adquiridos de fontes comerciais com grau P.A. Os que não apresentavam a qualidade adequada, quando necessário, foram purificados.

O acompanhamento reacional foi realizado através de cromatografia analítica em camada delgada (CCDA), em cromatofolhas com sílica gel 60 F254 suportada em placa de alumínio MERCK (com revelador para UV e espessura de 0,2 mm).

6.2 Equipamentos

As reações foram realizadas sob agitação magnética através de barras magnéticas recobertas com teflon, placas agitadoras magnéticas com aquecimento e sob refluxo utilizando manta aquecedora e coluna de condensação refrigerada a ar.

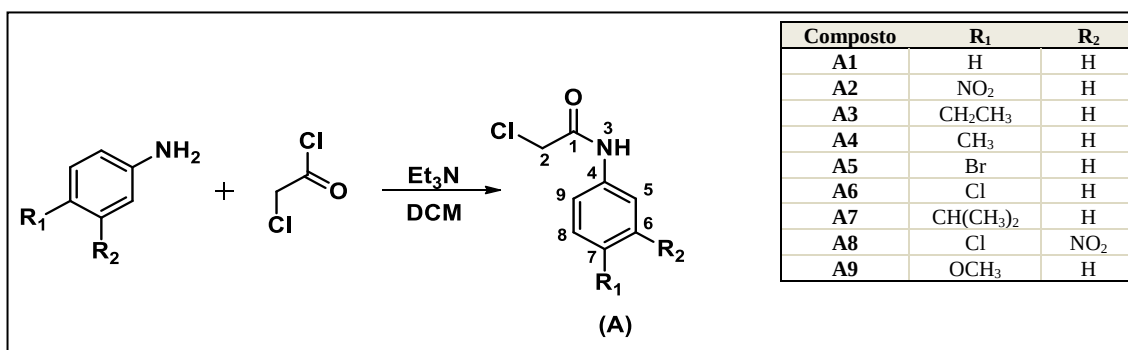
Os solventes foram removidos em rotaevaporadores sob pressão reduzida e o solvente residual, em dessecador contendo sílica gel acoplado à bomba de vácuo.

A visualização dos compostos ocorreu através da exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta com dois comprimentos de onda (254 e 366 nm) por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58.

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN de ^{13}C) unidimensionais foram obtidos em espectrômetro VARIAN- NMR-SYSTEM (LMCA/UFPB) operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C) e Oxford NMR200 da marca Varian (200 MHz para ^1H e 50 MHz para ^{13}C). Os espectros na região de Infravermelho (IV) foram obtidos no espectrômetro FTIR modelo IRPrestige-21, do fabricante Shimadzu, utilizando-se pastilhas de KBr. A purificação dos compostos foi realizada pela técnica de recristalização em etanol ou etanol/água e confirmadas a partir da determinação da faixa de fusão obtidos em placa de aquecimento da marca MQAPF-3.

6.3 Síntese e caracterização de 2-cloro-N-acetamidas

Esquema 5 – Formação das acetamidas substituídas.



Procedimento geral

A 2-cloro-*N*-arilacetamida foi solubilizada, juntamente com a trietilamina, em diclorometano a 0 °C. Em seguida adicionou-se lentamente cloreto de 2-cloroacetila e a mistura reacional foi deixada em agitação vigorosa por vinte horas a temperatura ambiente. Após este tempo concentrou-se a mistura a pressão reduzida e o resíduo foi lavado com água destilada gelada. O precipitado formado foi filtrado e em seguida recristalizado com metanol. O rendimento destas reações varia de 70 a 92%.

2-cloro-*N*-acetamida (A1):

Rendimento: 93 %, p.f. 133 – 135 °C, RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 4,16 (s, 2H, CH₂), 7,15 (t, 1H, CHAr, *J* 7,3 Hz), 7,33 (t, 2H, *J* 7,8, CHAr,) 7,52 (d, 2H, *J* 8,0, CHAr) 8,28 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃): δ 164,01, 136,77, 129,22, 125,35, 120,27, 43,00, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3267, 3205, 3143 (NH), 3098, 3049 (CHAr.), 2947, 2862 (CHAlif.), 1672 (C = O), 1604, 1496 (C = CAr.), 1290, 1250 (C – Cl), 1078, 858 (CHAr.), 750 (NH), 557, 499 (C – CAr.).

2-cloro-*N*-(*p*-nitrofenil)acetamida (A2):

Rendimento: 80 %, p.f. 188 – 190 °C. RMN ¹H (200 MHz, DMSO): δ 4,36 (d, 2H, *J* 2,3, CH₂), 7,85 (dt, 2H, *J* 10,2, 2,7, CHAr.), 8,26 (dt, 2H, CHAr.), 10,93 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50MHz, DMSO): δ 165,62, 144,61, 142,62, 125,07, 119,10, 43,62, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3277, 3227, 3163 (NH), 3109, 3070 (CHAr.), 2939, 2825 (CHAlif.), 1688 (C = O), 1624, 1506 (C = CAr.), 1597, 1570, 1338 (NO₂), 1294, 1255 (C – Cl), 1172, 869, 850 (C – N de ArNO₂), 1111, 829 (CHAr.), 748 (NH), 526 (C – CAr.),

2-cloro-*N*-(*p*-etilfenil)acetamida (A3):

Rendimento: 95 %, p.f. 140 – 142 °C, RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 1,22 (t, 3H, CH₃), 2,63 (m, 2H, CH₂), 4,17 (s, 2H, CH₂), 7,18 (d, 2H, CHAr.), 7,44 (d, 2H, CHAr.), 8,23 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163,89, 141,53, 134,37, 128,56, 120,45, 43,00, 28,45, 15,72, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3308, 3273, 3201 (NH), 3088, 2965 (CHAr.), 2964, 2868 (CHAlif.), 1668 (C = O), 1614, 1512 (C = CAr.), 1292, 1254 (C – Cl), 1118, 864 (CHAr.), 740 (NH), 540, 487 (C – CAr.),

2-cloro-*N*-(*p*-metilfenil)acetamida (A4):

Rendimento: 95 %, p.f, 182 – 184 °C, RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃): δ 2,33 (s, 3H, CH₃), 4,17 (s, 2H, CH₂), 7,15 (d, 2H, CHAr.), 7,42 (d, 2H, CHAr.), 8,21 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163,86, 135,11, 134,21, 129,73, 120,35, 42,66, 21,02, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3307, 3273, 3203 (NH), 3134, 3089 (CHAr.), 2953 (CHAlif.), 1674 (C = O), 1616, 1552 (C = CAr.), 1292, 1252 (C – Cl), 114, 864 (CHAr.), 748 (NH), 505 (C – CAr.),

2-cloro-N-(p-bromofenil)acetamida (A5):

Rendimento: 84 %, p.f, 184 – 186 °C, RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4,27 (s, 2H, CH₂), 7,55 (m, 4H, CHAr.), 10,45 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 164,83, 137,85, 131,71, 121,28, 115,51, 43,56, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3263, 3194 (NH), 3124, 3076 (CHAr.), 2999, 2953 (CHAlif.), 1670 (C = O), 1610, 1550 (C = CAr.), 1281, 1246 (C – Cl), 1188 (C – Br), 1072, 860 (CHAr.), 736 (NH), 497 (C – CAr.),

2-cloro-N-(p-clorofenil)acetamida (A6):

Rendimento: 76 %, p.f, 170 – 172 °C, RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4,27 (s, 2H, CH₂), 7,40 (d, 2H, CHAr.), 7,63 (dd, 2H, CHAr.), 10,45 (1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 164,81, 137,44, 128,81, 127,45, 120,92, 43,54, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3264, 3198 (NH), 3128, 3080 (CHAr.), 3003, 2951 (CHAlif.), 1668 (C = O), 1612, 1551 (C = C Ar.), 1281, 1246 (C – Cl), 1095 (C – Cl of ArCl), 1010, 862 (CHAr.), 737 (NH), 567, 501 (C – CAr.),

2-cloro-N-(p-isopropilfenil)acetamida (A7):

Rendimento: 78 %, p.f, 141 – 143 °C, RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 1,24 (d, 3H, CH₃), 2,90 (dt, 1H, CH₂), 4,17 (s, 2H, CH₂), 7,23 (t, 2H, CHAr.), 7,45 (d, 2H, CHAr.), 8,21 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163,87, 146,19, 134,42, 127,16, 120,47, 43,01, 33,76, 24,12, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3271, 3199 (NH), 3130 (CHAr.), 2960, 2870 (CHAlif.), 1674 (C = O), 1612, 1548 (C = CAr.), 1282, 1250 (C – Cl), 1300, 1282 (iCHAlif), 1016, 837 (CHAr.), 779 (NH), 534 (C – CAr.),

2-cloro-N-(m-nitro-p-clorofenil)acetamida (A8):

Rendimento: 78 %, p.f, 120 – 122 °C, RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 4,32 (s, 2H, CH₂), 7,74 (d, 1H, CHAr.), 7,81 (dd, 1H, CHAr.), 8,40 (d, 1H, CHAr.), 10,87 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 165,54, 147,28, 138,33, 132,20, 124,27, 119,16, 115,76, 43,42, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3313, 3269 (NH), 3122, 3094 (CHAr.), 2945,

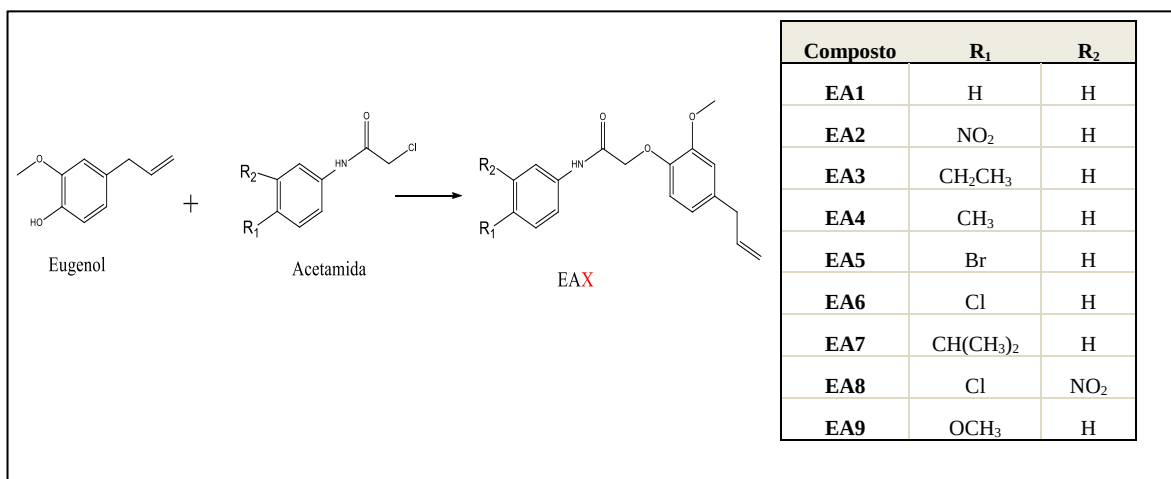
2881 (CHAlif.), 1691 (C = O), 1605, 1544 (C = CAr.), 1483, 1404, 1344 (NO₂), 1300, 1265 (C – Cl), 1045, 831 (CHAR.), 895 (C – N de ArNO₂), 785 (NH), 559 (C – CAr.),

2-cloro-*N*-(*p*-metoxifenil)acetamida (A9):

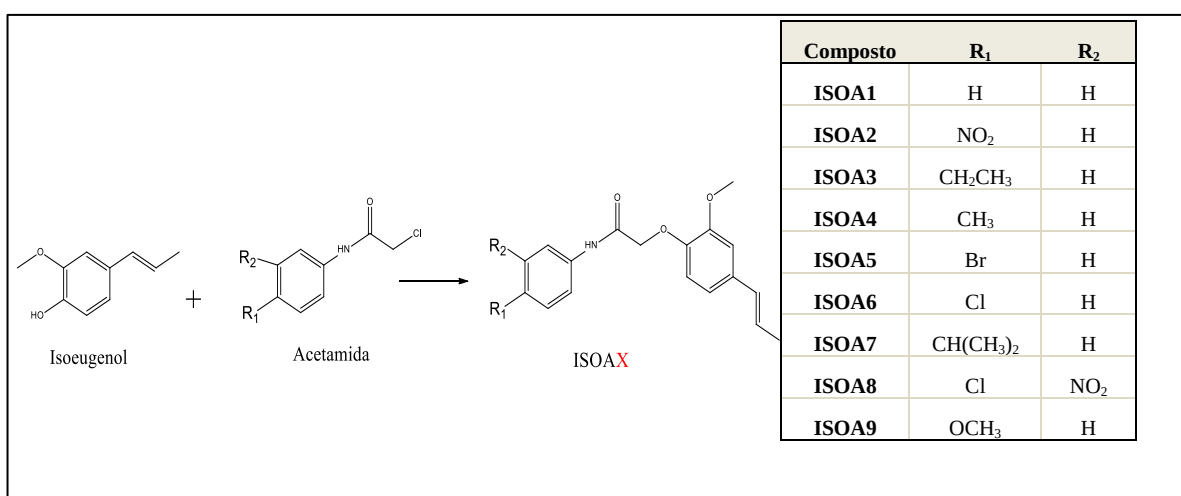
Rendimento: 80 %, p.f, 119 – 120 °C, RMN ¹H (200 MHz - DMSO-d₆): δ 3,79 (s, 3H, CH₃), 4,17 (s, 2H, CH₂), 6,88 (d, 2H, CHAR.), 7,43 (d, 2H, CHAR.), 8,20 (s, 1H, NH), RMN ¹³C (50 MHz - DMSO-d₆): δ 163,89, 157,16, 129,79, 122,22, 114,34, 55,61, 42,97, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3296, 3199 (NH), 3136, 3072 (CHAR.), 2956, 2835 (CHAlif.), 1666 (C = O), 1605, 1548 (C = CAr.), 1346, 1301 (C – Cl), 1248, 1113 (C – O – C), 1029, 831 (CHAR.), 788 (NH), 582, 532 (C – CAr.),

6.4 Síntese e caracterização dos compostos finais

Esquema 6 – Síntese dos derivados do eugenol,



Esquema 7 – Síntese dos derivados do isoeugenol,



Procedimento geral

Em um balão de 50 mL colocou-se 1 Eq do eugenol/isoeugenol, 2 Eq de carbonato de potássio e 20 mL de butanona. Deixou-se em agitação em temperatura ambiente por 10 minutos, em seguida adicionou-se 1 Eq da acetamida e 0,1 Eq do iodeto de potássio. A mistura reacional foi submetida a agitação em refluxo por 48 horas a 75°C, a reação era acompanhada através de cromatografia em camada delgada analítica com revelação em ultravioleta. Uma vez consumidos os reagentes procedeu-se a extração líquido-líquido da mistura reacional utilizando funil de separação, acetato de etila e água destilada. Após a separação das fases, colocou-se sulfato de sódio para retirar a água da fase orgânica, sendo esta evaporada e o resíduo (produto) recristalizado com etanol absoluto. As estruturas estão mostradas no quadro 3.

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-fenilacetamida (EA1):

Rendimento: 75 %, líquido, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9,03, 7,34, 7,32, 6,99, 6,97, 6,95, 6,78, 6,76, 6,76, 6,58, 6,56, 6,44, 6,39, 6,38, 5,66, 5,57, 5,56, 4,79, 4,77, 4,74, 4,26, 3,51, 3,00, 2,98, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): 166,11, 148,59, 144,67, 136,84, 136,29, 134,22, 127,89, 123,22, 119,86, 118,70, 115,25, 114,83, 111,55, 69,33, 54,71, 38,68, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3334 (NH), 3061 (CHAr), 2937, 2837 (CHAlif), 1681 ($\text{C}=\text{O}$), 1598, 1498 ($\text{C}=\text{CAr}$), 1263 ($\text{C}-\text{Cl}$), 1031, 854 (CHAr), 752 (NH),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-fenilacetamida (EA2):

Rendimento: 80 %, p.f. 130 – 132 °C, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9,48, 8,14, 8,12, 7,74, 7,72, 6,85, 6,83, 6,63, 6,51, 5,90, 5,86, 5,82, 5,02, 5,00, 4,57, 3,85, 3,27, 3,26, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167,60, 149,70, 144,90, 136,80, 136,50, 135,50, 133,20, 129,20, 122,30, 121,50, 115,90, 114,10, 112,30, 66,90, 56,10, 39,80, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3367 (NH), 3076 (CHAr), 2908, 2829 (CHAlif), 1705 ($\text{C}=\text{O}$), 1612, 1510 ($\text{C}=\text{CAr}$), 1597, 1543, 1340 (NO_2), 1263, 1228 ($\text{C}-\text{Cl}$), 1141, 871, 850 ($\text{C}-\text{N}$ de ArNO_2), 1111 (CHAr), 750(NH), 596 ($\text{C}-\text{CAr}$),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(4-etilfenil)acetamida (EA3):

Rendimento: 90 %, p.f. 60 – 62 °C, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,89, 7,49, 7,47, 7,25, 7,17, 7,15, 6,91, 6,89, 6,76, 6,73, 5,98, 5,97, 5,94, 5,92, 5,90, 5,88, 5,10, 5,08, 5,06, 4,61, 3,91, 3,35, 3,33, 2,64, 2,62, 2,60, 2,58, 1,23, 1,21, 1,19, RMN ^{13}C (100

MHz, CDCl₃): δ 166,90, 149,67, 145,65, 140,76, 137,12, 135,62, 134,84, 128,34, 121,12, 119,96, 116,69, 115,97, 112,55, 77,32, 77,00, 76,68, 70,78, 55,87, 39,82, 28,29, 15,61, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3304(NH), 2962 (CHAr,), 2929 (CHAlif,), 1666 (C = O), 1593 (C = CAr,), 1257 (C – Cl), 1192, 850 (CHAr,), 750 (NH),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(p-tolil)acetamida (EA4):

Rendimento: 83 %, p.f. 42 – 45 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,90, 7,47, 7,45, 7,24, 7,14, 7,12, 6,91, 6,89, 6,76, 6,73, 5,98, 5,97, 5,94, 5,93, 5,90, 5,88, 5,10, 5,08, 5,06, 4,61, 3,90, 3,35, 3,33, 2,31, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): 167,07, 149,83, 145,81, 137,26, 135,82, 134,81, 134,28, 129,62, 121,21, 120,01, 116,82, 116,14, 112,64, 77,48, 77,16, 76,84, 70,88, 56,00, 39,95, 20,98, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3387 (NH), 3076 (CHAr,), 2912 (CHAlif,), 1678 (C = O), 1533 (C = CAr,), 1263, 1128 (C – Cl), 867 (CHAr,), 746 (NH),

2-(4-alil-2-c)-N-(4-bromofenil)acetamida (EA5):

Rendimento: 81 %, p.f. 82 – 85 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,99, 7,50, 7,48, 7,44, 7,42, 7,24, 6,91, 6,89, 6,76, 6,74, 5,96, 5,94, 5,92, 5,89, 5,10, 5,08, 5,06, 4,60, 3,90, 3,35, 3,33, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,13, 149,70, 145,59, 137,05, 136,38, 135,95, 131,97, 121,29, 121,18, 117,06, 116,95, 116,08, 112,59, 77,32, 77,00, 76,68, 70,87, 55,92, 39,82, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3344 (NH), 1691 (C = O), 1587 (C = CAr,), 1284, 1249 (C – Cl), 1130 (C – Br), 1031, 813 (CHAr,), 707 (NH),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(4-clorofenil)acetamida (EA6):

Rendimento: 83 %, p.f. 70 – 72 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,00, 7,55, 7,52, 7,29, 7,27, 7,24, 6,90, 6,88, 6,76, 6,74, 5,96, 5,95, 5,94, 5,94, 5,92, 5,90, 5,89, 5,88, 5,10, 5,08, 5,06, 4,60, 3,90, 3,34, 3,33, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,10, 149,67, 145,57, 137,04, 135,90, 135,87, 129,41, 128,99, 121,15, 120,95, 116,88, 116,05, 112,57, 77,32, 77,00, 76,68, 70,80, 55,89, 39,80, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3379 (NH), 3072 (CHAr,), 2972 (CHAlif,), 1693 (C = O), 1537 (C = C Ar,), 1265, 1234 (C – Cl), 1089 (C – Cl of ArCl), 1037, 867 (CHAr,), 748 (NH), 547, 497 (C – CAr,),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(4-isopropilfenil)acetamida (EA7):

Rendimento: 75 %, p.f. 61 – 63 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,89, 7,50, 7,48, 7,24, 7,20, 7,18, 6,91, 6,89, 6,76, 6,76, 6,76, 6,75, 6,75, 6,73, 6,73, 6,73, 5,98, 5,97, 5,94, 5,93, 5,90, 5,88, 5,11, 5,10, 5,10, 5,08, 5,06, 5,06, 5,05, 4,61, 3,91, 3,35, 3,33,

2,91, 2,89, 2,87, 2,86, 2,84, 1,23, 1,21, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 169,18, 150,62, 148,03, 142,46, 136,92, 136,40, 135,72, 127,27, 121,96, 120,40, 115,21, 114,91, 114,29, 68,00, 56,83, 39,73, 33,96, 23,38, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3307 (NH), 3039 (CHAr,), 2958 (CHAlif,), 1664 (C = O), 1593 (C = CAr,), 1257 (C – Cl), 1257 (iCHAlif), 1029, (CHAr,), 752 (NH),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(4-cloro-3-nitrofenil)acetamida (EA8):

Rendimento: 75 %, p.f. 92 – 94 °C, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 9,34, 8,18, 8,17, 7,82, 7,80, 7,49, 7,46, 7,24, 6,92, 6,90, 6,78, 6,77, 6,77, 6,75, 6,75, 5,97, 5,96, 5,93, 5,91, 5,89, 5,87, 5,10, 5,10, 5,08, 5,08, 5,06, 5,05, 4,62, 3,93, 3,35, 3,33, 1,74, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 168,03, 149,97, 148,19, 145,83, 137,28, 137,26, 136,71, 132,55, 124,11, 121,94, 121,74, 117,70, 116,62, 116,51, 113,09, 77,64, 77,33, 77,01, 71,38, 56,39, 40,15, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3313 (NH), 3111, 3080 (CHAr,), 2976, 2893 (CHAlif,), 1689 (C = O), 1537 (C = CAr,), 1475, 1417, 1342 (NO_2), 1315, 1267 (C – Cl), 1039, 831 (CHAr,), 873 (C – N de ArNO_2), 752 (NH), 540 (C – CAr,),

2-(4-alil-2-metóxfenóxi)-N-(4-metóxfenil)acetamida (EA9):

Rendimento: 84 %, p.f. 74 – 76 °C, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,83, 7,49, 7,47, 7,24, 6,91, 6,89, 6,88, 6,85, 6,76, 6,75, 6,73, 6,73, 5,98, 5,97, 5,94, 5,92, 5,90, 5,88, 5,10, 5,08, 5,05, 4,60, 3,90, 3,78, 3,34, 3,33, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 166,76, 156,53, 149,70, 145,68, 137,13, 135,67, 130,40, 121,55, 121,09, 116,62, 116,02, 114,16, 112,52, 77,32, 77,00, 76,68, 70,70, 55,87, 55,43, 39,83, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3278 (NH), 3008 (CHAr,), 2947, 2833 (CHAlif,), 1668 (C = O), 1512 (C = CAr,), 1263 (C – O – C), 1058, 821 (CHAr,), 744 (NH),

(E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-fenilacetamida (ISOA1):

Rendimento: 76 %, p.f. 80 – 82 °C, RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,91, 7,59, 7,57, 7,35, 7,33, 7,31, 7,24, 7,14, 7,12, 7,10, 6,92, 6,88, 6,85, 6,35, 6,31, 6,18, 6,15, 6,13, 6,09, 4,61, 3,93, 1,87, 1,85, RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 166,91, 149,77, 146,22, 137,23, 133,91, 130,20, 129,02, 125,32, 124,53, 119,83, 118,94, 116,58, 109,29, 77,32, 77,00, 76,68, 70,58, 55,84, 18,34, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3390, 3120 (NH), 3014 (CHAr,), 2964, 2848 (CHAlif,), 1689 (C = O), 1602, 1433 (C = CAr,), 1307, 1257 (C – Cl), 1062, 856 (CHAr,), 754 (NH), 594, 509 (C – CAr,),

(E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-nitrofenil)acetamida (ISOA2):

Rendimento: 80 %, p.f. 120 – 122 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,33, 8,22, 8,20, 7,77, 7,75, 7,24, 7,24, 6,92, 6,89, 6,86, 6,34, 6,30, 6,19, 6,17, 6,16, 6,13, 6,10, 4,63, 3,94, 1,86, 1,85, 1,71, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,69, 149,81, 146,06, 143,81, 143,08, 134,48, 130,12, 125,79, 125,13, 119,23, 119,18, 117,19, 109,55, 77,37, 77,05, 76,74, 70,88, 56,06, 18,41, 0,00, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3363 (NH), 3118 (CHAr,), 2953, 2845 (CHAlif,), 1703 (C = O), 1508 (C = CAr,), 1597, 1541, 1346 (NO₂), 1305, 1265 (C – Cl), 1161, 871, 852 (C – N de ArNO₂), 1114, 815 (CHAr,), 750 (NH), 495 (C – CAr,),

(E)-N-(4-etilfenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida (ISOA3):

Rendimento: 92 %, p.f. 83 – 85 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,83, 7,48, 7,46, 7,24, 7,17, 7,15, 6,91, 6,90, 6,88, 6,87, 6,35, 6,31, 6,18, 6,16, 6,15, 6,12, 6,11, 6,09, 4,61, 3,92, 2,64, 2,62, 2,60, 2,58, 1,87, 1,85, 1,65, 1,22, 1,20, 1,18, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 166,70, 149,81, 146,29, 140,58, 134,84, 133,80, 130,23, 128,37, 125,31, 120,01, 118,91, 116,44, 109,27, 77,32, 77,00, 76,68, 70,58, 55,85, 28,21, 18,40, 15,79, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3282 (NH), 2964 (CHAr,), 2850 (CHAlif,), 1672 (C = O), 1591, 1529 (C = CAr,), 1266, 1265 (C – Cl), 1161, 877 (CHAr,), 779 (NH), 540, 486 (C – CAr,),

(E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(p-tolil)acetamida (ISOA4):

Rendimento: 84 %, p.f. 81 – 83 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,84, 7,47, 7,45, 7,24, 7,14, 7,12, 6,91, 6,87, 6,35, 6,31, 6,18, 6,13, 6,09, 4,60, 3,92, 2,31, 1,87, 1,85, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 166,83, 149,85, 146,16, 134,75, 134,26, 133,97, 130,29, 129,60, 125,34, 120,01, 119,00, 116,59, 109,34, 70,68, 55,73, 20,83, 18,39, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3298 (NH), 3018 (CHAr,), 2964 (CHAlif,), 1688 (C = O), 1591, 1514 (C = CAr,), 1265, 1232 (C – Cl), 866 (CHAr,), 777 (NH), 505 (C – CAr,),

(E)-N-(4-bromofenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida (ISOA5):

Rendimento: 72 %, p.f. 103 – 105 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,95, 7,49, 7,47, 7,44, 7,42, 7,24, 6,91, 6,87, 6,34, 6,30, 6,18, 6,15, 6,09, 4,59, 3,92, 1,87, 1,86, 1,85, 1,85, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,07, 149,81, 146,19, 136,43, 134,19, 132,06, 130,23, 125,51, 121,35, 119,07, 117,30, 116,80, 109,42, 77,38, 77,06, 76,75, 70,70, 55,95, 18,42, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3325 (NH), 3014 (CHAr,), 2935, 2839 (CHAlif,), 1680

(C = O), 1602, 1537 (C = CAr₁), 1300, 1256 (C – Cl), 1130 (C – Br), 1074, 860 (CHAr₁), 790 (NH), 501 (C – CAr₁),

(E)-N-(4-clorofenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida (ISOA6):

Rendimento: 90 %, p.f. 92 – 94°C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,94, 7,54, 7,52, 7,30, 7,28, 7,24, 6,91, 6,88, 6,86, 6,34, 6,30, 6,18, 6,17, 6,11, 6,09, 4,60, 3,92, 1,87, 1,86, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,04, 149,82, 146,20, 135,90, 134,14, 130,21, 129,55, 129,09, 125,53, 121,07, 121,05, 121,04, 121,02, 119,07, 116,81, 109,40, 77,36, 77,04, 76,73, 70,68, 55,95, 18,41, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3377 (NH), 3070 (CHAr₁), 2956 (CHAlif₁), 1693 (C = O), 1537 (C = C Ar₁), 1305, 1265 (C – Cl), 1089 (C – Cl de ArCl), 1035, 866 (CHAr₁), 719 (NH), 584, 497 (C – CAr₁),

(E)-N-(4-isopropilfenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida (ISOA7):

Rendimento: 76 %, p.f. 98 – 100 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,87, 7,52, 7,50, 7,27, 7,23, 7,21, 6,94, 6,91, 6,38, 6,34, 6,21, 6,14, 6,12, 4,64, 3,95, 2,96, 2,94, 2,85, 1,90, 1,88, 1,26, 1,24, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 166,84, 149,83, 146,31, 145,34, 134,94, 133,92, 130,28, 126,96, 125,34, 120,08, 119,00, 116,57, 109,32, 77,38, 77,06, 76,75, 70,62, 55,90, 33,65, 24,03, 18,41, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3315 (NH), 3041 (CHAr₁), 2956, 2868 (CHAlif₁), 1666 (C = O), 1533 (C = CAr₁), 1284, 1263 (C – Cl), 1311, 1284 (iCHAlif₁), 1029, 819 (CHAr₁), 783 (NH), 545 (C – CAr₁),

(E)-N-(4-cloro-3-nitrofenil)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)acetamida (ISOA8):

Rendimento: 72 %, p.f. 118 – 120 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 9,29, 8,18, 8,18, 7,80, 7,78, 7,47, 7,45, 7,24, 6,91, 6,87, 6,34, 6,30, 6,20, 6,13, 6,09, 4,61, 3,93, 1,86, 1,84, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 167,44, 149,77, 147,74, 145,87, 136,88, 134,35, 132,14, 130,01, 125,76, 123,73, 121,62, 119,09, 117,17, 116,28, 109,51, 77,00, 70,80, 55,98, 18,34, IV (KBr): ν/cm⁻¹ 3321 (NH), 3109, 3020 (CHAr₁), 2927, 2848 (CHAlif₁), 1691 (C = O), 1591, 1537 (C = CAr₁), 1469, 1408, 1344 (NO₂), 1300, 1253 (C – Cl), 1037, 831 (CHAr₁), 873 (C – N de ArNO₂), 786 (NH), 538 (C – CAr₁),

(E)-2-(2-metóxi-4-(prop-1-en-1-il)fenóxi)-N-(4-metóxiifenil)acetamida (ISOA9):

Rendimento: 80 %, p.f. 90 – 100 °C, RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 8,78, 7,48, 7,46, 7,24, 6,91, 6,87, 6,85, 6,34, 6,30, 6,18, 6,14, 6,11, 4,61, 3,92, 3,78, 1,87, 1,85, RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ 166,69, 156,61, 149,81, 146,30, 133,89, 130,41, 130,27,

125,35, 121,64, 119,00, 116,50, 114,17, 109,25, 77,37, 77,05, 76,73, 70,54, 55,90, 55,43, 18,40, IV (KBr): ν/cm^{-1} 3273 (NH), 3020 (CHAr,), 2945, 2833 (CHAlif,), 1668 (C = O), 1533 (C = CAr,), 1375 (C – Cl), 1266, 1138 (C – O – C), 1029, 821 (CHAr,), 779 (NH), 520 (C – CAr.),

6.5 Estudos Biológicos

6.5.1. Atividade antifúngica

Os compostos abaixo descritos foram submetidos aos ensaios biológicos para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de leveduras. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção de até 10 % e tween 80 a 0,02%. Em seguida, foi completado com água destilada esterilizada (q.s.p. 3mL) para obter uma emulsão na concentração inicial de 1024 $\mu\text{g/mL}$ (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

- Compostos derivados do isoeugenol: ISOA1, ISOA 2, ISOA3, ISOA4, ISOA5, ISOA6, ISOA7, ISOA8, ISOA9;
- Compostos derivados do eugenol: EA1, EA2, EA3, EA4, EA5, EA6, EA7, EA8, EA9.

Para o controle dos resultados dos ensaios biológicos, foi usada como padrão a droga licenciada: nistatina 100 UI/leveduras. Os meios de cultura utilizados nos ensaios para avaliação da atividade biológica foram Caldo Brain Heart Infusion (CBHI) (DIFCO Laboratories/USA/France) e RPMI/sem bicarbonato (SIGMA-ALDRICH® /USA/France), os quais foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas:

-Leveduras: *Candida albicans* ATCC-76485, *C. albicans* ATCC- 76645, *C. albicans* LM-111, *C. albicans* LM 122, *Candida tropicalis* ATCC -13803.

Os micro-organismos pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS)

da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em (DIFCO Laboratories/USA/France) e Agar Sabouraud Dextrose (ASD)/leveduras, os quais foram preparados segundo as descrições dos fabricantes. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24-48 horas em ASD/BHI, incubados a 35 ± 2 °C.

Para preparação do inóculo, as colônias obtidas de culturas das cepas de leveduras mantidas em BHI/ASD/, foram suspensas em solução de NaCl 0,85% estéril e ajustadas de acordo com o padrão 0,5 de McFarland para obtenção de $1-5 \times 10^6$ UFC/mL (NCCLS 2000; HADACECK; GREEGER, 2000; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ANTUNES et al., 2006; FREIRE et al., 2014).

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland; Squires (1991) e NCCLS/CLSI (2002). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas fúngicas foram realizadas através da técnica da microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços. Inicialmente, foram distribuídos 100 µL de RPMI/BHI duplamente concentrado nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão dos produtos preparados duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 1024 µg/mL até 16 µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas de leveduras nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma cepa. Paralelamente, foram realizados os controles: micro-organismos (RPMI+leveduras), meio de cultura (RPMI/CBHI) e droga padrão (RPMI + inóculo fúngico + nistatina 100 UI). As placas preparadas e assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de 35 ± 2 °C por 24 - 48 horas

O ensaio foi realizado em duplicata e incubado a 35 ± 2 °C durante 24-48 h, após o tempo de incubação foram adicionados 20 µL de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) a 1% (Sigma-Aldrich®), um indicador colorimétrico de óxido-redução para leveduras (GRABE, 1976; DESWAL; CHAND, 1997; DUARTE et al., 2005). As placas foram novamente incubadas a 35 ± 2 °C durante 24-48 h. A leitura dos ensaios foi procedida por meio da visualização da mudança de coloração nas cavidades de incolor para rosa nos ensaios com leveduras, indicando crescimento do micro-organismo. A CIM para cada produto foi definida como a menor concentração capaz

de inibir visualmente o crescimento fúngico e/ou verificado pela permanência da coloração do corante indicador de crescimento.

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al., 2007).

6.5.2. Atividade antibacteriana

6.5.2.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

Os compostos abaixo descritos foram submetidos aos ensaios biológicos de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e teste de aderência para avaliação da atividade antimicrobiana sobre cepas de bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) padronizadas na escala de 0,5 de McFarland com solução salina a 0,9%.

- Compostos derivados do isoeugenol: ISOA1, ISOA2, ISOA3, ISOA4, ISOA5, ISOA6, ISOA7, ISOA8, ISOA9;
- Compostos derivados do eugenol: EA1, EA2, EA3, EA4, EA5, EA6, EA7, EA8 e EA9.

O meio de cultura utilizado nos ensaios para avaliação da atividade biológica foi Caldo Brain Heart Infusion (BHI) (DIFCO Laboratories/USA/France), os quais foram preparados conforme as descrições dos fabricantes.

Para os ensaios de atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 15656) e *Escherichia coli* (ATCC 25922).

Os micro-organismos pertencem ao Laboratório de Biologia Bucal, Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em Brain Heart Infusion (BHI) e glicerol. As cepas foram mantidas em BHI

à temperatura de 4 °C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24 h (*S. aureus*) e 48 h (*E. coli*), incubados a 37°C.

A concentração inibitória mínima (CIM) dos compostos analisados foi determinada pelo método de microdiluição em placa de 96 poços de acordo com *Committee for Clinical laboratory Standard* (CLSI, 2015). Duas filas de poços foram preparadas em concentrações decrescentes.

Os compostos foram solubilizados em cremophor a 3%, que foi preparado com DMSO em concentração inicial de 5%, obtendo-se concentração dos compostos de 1 mg/ mL (Solução - mãe zero). A solução-mãe 1, 2 e 3 seguiram a proporção 1:1, 1:4,5 e 1:9, respectivamente.

Cada poço da placa de 96 poços (FIGURA 19) apresentava BHI caldo, composto teste e inóculo bacteriano (20%). A placa (FIGURA 20) foi incubada em estufa microbiológica por 24 h e 48 h a 37 °C. Após esse período, 35 µL do indicador de oxidação-redução de resazurina foram acrescentados em cada poço. Os poços que mudaram de cor de azul para róseo, após 40 minutos de contato com corante, apresentaram crescimento microbiano. O poço com maior concentração do composto que permaneceu azul, representou o valor da CIM. Os testes foram realizados em triplicata em três dias distintos.

6.5.2.2 Teste de aderência

O teste de aderência foi conduzido em fita de poliéster com cola instantânea de cianoacrilato (Super Bonder®, Loctite, Henkel Ltda., São Paulo, Brasil).

Corpos de prova de formato retangular com dimensões de 10 x 5 x 0,5 mm foram dispensados em placas para cultura de células de 24 poços contendo 1,6 mL de BHI caldo e 0,4 mL do inóculo bacteriano *S. aureus* (ATCC 15656) e *E. coli* (ATCC 25922) padronizados a 0,5 da escala de *McFarland*.

As placas foram incubadas em estufa microbiológica a 37°C por 24-48 horas. Após o período de incubação das placas e formação de biofilme, as fitas de poliéster com compostos foram mergulhados em 1 mL de solução salina a 0,9% para remoção

das bactérias não aderidas ao biofilme. Em seguida, as fitas foram dispensadas em outro poço contendo 2 mL de solução salina a 0,9% e conduzido ao agitador com vórtex. Após o período de 5 minutos, diluições seriadas 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram conduzidas com o plaqueamento de 30 μ L de cada diluição em placa de Petri contendo meio de cultura BHI ágar. As placas foram incubadas em estufa microbiológica por 24 h a 37°C. Após esse período, a determinação de Unidade Formadora de Colônias por mililitro foi realizada por contagem das colônias. As análises foram realizadas em triplicata em três dias distintos.

6.6 Estudos de relações estrutura-atividade quantitativas (QSAR)

As estruturas das moléculas em três dimensões (3D) foram usadas como dados de entrada no programa Volsurf+ v. 1.0.7 (CRUCIANI et al., 2000) e foram submetidas a campos de interação molecular (MIF) para gerar descritores nos quais puderam ser observados sondas de interação molecular: N1 (sonda doadora da ligação de hidrogênio–nitrogênio de amida), O (sonda aceptora de ligação hidrogênio–oxigênio de carbonila), H₂O (sonda de água) e DRY (sonda hidrofóbica). Foram gerados um total de 128 descritores (CRUCIANI et al., 2000). A metodologia PLS foi aplicada ao conjunto investigado utilizando o software Volsurf+ e sua validação foi realizada pelo método leave-one-out, utilizando Q^2 como critério de previsibilidade. Além disso, foram gerados descritores que não são inseridos no mapa de interação [CRUCIANI, 2002; CIANCHETTA, 2004]. O estudo computacional foi realizado com duas séries de compostos, uma com a série do eugenol e outra com a série do isoeugenol. O conjunto de formação do treino e o conjunto em teste de cada grupo é formado por nove compostos, racionalmente selecionados como previamente relatado em GOLBRAIKH et al (2003). O pré-processo de autoscaling também foi aplicado à análise discriminante de PLS. A análise PLS utilizou os descritores do VolSurf como os dados do bloco X e os valores de inibição das leveduras fúngicas como variáveis dependentes ou blocoY, gerando medidas estatísticas significativas (coeficiente de correlação de validação cruzada "leave-one-out").

As estruturas químicas utilizadas foram provenientes da preparação de duas séries: a série derivados do eugenol e isoeugenol, contendo 9 compostos cada série.

Os dados biológicos inseridos no estudo foram fornecidos de ensaios antimicrobianos das duas séries com 5 espécies do gênero *Candida*. A análise parcial de mínimos quadrados (PLS) foi realizada para extrair informações de um grande número de descritores moleculares gerados pelas forças de interação para comparar as informações estruturais relevantes com a atividade biológica.

REFERÊNCIAS

ADUKWU, E.C.; ALLEN, S.C.H.; PHILLIPS, C.A. The anti-biofilm activity of lemongrass (*Cymbopogon flexuosus*) and grapefruit (*Citrus paradisi*) essential oils against five strains of *Staphylococcus aureus*. **Journal of Applied Microbiology**, v.113, p.1217-1227, 2012.

AHMAD, A. et al. Proton translocating ATPase mediated fungicidal activity of eugenol and thymol. **Fitoterapia**, v. 81, n. 8, p. 1157-1162, 2010.

ALBUQUERQUE, A. A. C. 1982. **Efeitos farmacológicos do óleo essencial do Croton zehntneri Pax et. Hoffm.** Tese (Mestrado em Farmacologia) Departamento de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal do Ceará.

ALVIANO, D.S. et al. Conventional therapy and promising plant-derived compounds against trypanosomatid parasites. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, p.283, 2012.

ANTUNES, R. M. P. et al. Atividade antimicrobiana “in vitro” e determinação da concentração inibitória mínima (CIM) de fitoconstituintes e produtos sintéticos sobre bactérias e fungos leveduriformes. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 517-524, 2006.

ARAÚJO, C. R. M. et al. Desenvolvimento de fármacos por hibridação molecular: uma aula prática de química medicinal usando comprimidos de paracetamol e sulfadiazina e a ferramenta virtual SciFinder®. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 868-873, 2015.

ARFA, A; BEN et al. Antimicrobial activity of carvacrol related to its chemical structure. **Letters In Applied Microbiology**, [s.l.], v. 43, n. 2, p.149-154, ago. 2006.

BADGER, D. A. et al. Disposition and metabolism of isoeugenol in the male Fischer 344 rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, p. 1757-1765, 2002.

BANSODE, Tanaji N. Green Synthesis and Antimicrobial Activity of Some Eugenol Derivatives. **Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research**, Thane, v. 4, n. 4, p.145-147, 2017.

BARBOSA, L.C.A.; FILOMENO, C.A.; TEIXEIRA, R.R. Chemical Variability and Biological Activities of *Eucalyptus* spp. **Essential Oils**. v.21, p.1-33, 2016.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química Medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. 2 ed. Ed.: Artmed, Porto Alegre, 2008.

BASKARANA, Y.; PERIYASAM, V. Investigation of antioxidant, antiinflammatory and DNA-protective properties of eugenol in thioacetamide-induced liver injury in rats. **Toxicology**, v.268, p.204–212, 2010.

BASSOLÉ, I.H.N.; JULIANI, H.R. Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties. **Molecules**, v.17, p.3989-4006, 2012.

BEZERRA, M. A. C. 1994. *Alpinia speciosa* Schum: estudo de frações fixas e óleo essencial. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

BHATIA, Rimple et al. Proton pumping ATPase mediated fungicidal activity of two essential oil components. **Journal Of Basic Microbiology**, [s.l.], v. 52, n. 5, p.504-512, 5 dez. 2011.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 229-239, 2010.

CARRASCO, H. et al. Antifungal Activity of Eugenol Analogues. Influence of Different Substituents and Studies on Mechanism of Action. **Molecules**. v. 17, p. 1002-1024, 2012.

CERVENY, L. et al. Isomerization of eugenol of isoeugenol. **Reaction kinetics and catalysis letters**, v. 33, n. 2, p. 471-476, 1987.

CIANCHETTA, G. et al. Chemometric Studies on the Bactericidal Activity of Quinolones via an Extended VolSurf Approach. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, p.3193-3201, 2004.

CLELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials “*in vitro*” and in experimental animal infections. In: LORIAN, V. M. D. **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Willians & Wilkins, p. 739-788, 1991.

COWING, D.; POWELL, A.; JOHNSON, M. Evaluation of different concentration doses of eugenol on the behaviour of *Nephrops norvegicus*. **Aquaculture**, v.442, p.78–85, 2015.

CRAVEIRO, A. A., ALENCAR, J. W., MATOS, F. J. A. 1980. Projeto integrado de Química e Farmacologia. Relatório de Atividades. 227p.

CRUCIANI, G.; PASTOR, M.; MANNHOLD, R. Suitability of Molecular Descriptors for Database Mining. A Comparative Analysis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p.2685-2694, 2002.

DAS et al. Eugenol Provokes ROS-Mediated Membrane Damage- Associated Antibacterial Activity Against Clinically Isolated Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **Infectious Diseases: Research and Treatment**, v.9, p.11–19, 2016.

DESWAL, D. P.; CHAND, U. Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (*Vigna umbellata* (Thumb) Ohwi & Ohashi) seeds. **Seed Science and Technology**, v.25, p.409-417, 1997.

DEVI, K. P. et al. Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agente against *Salmonella typhi* by disrupting the cellular membrane. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 130, n. 1, p. 107–115, 2010.

DI PASQUA, R. et al. Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addiction of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2745–2749, 2006.

DIDRY, Nicole; DUBREUIL, Luc; PINKAS, Madeleine. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 69, n. 1, p.25-28, 1994.

D’OCA, Caroline Da Ros Montes. Síntese de novas benzilamidas graxas: Estudo da influência da variação estrutural na atividade antituberculose.2010.171f. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) – Universidade de Rio Grande, Rio Grande, 2010.

DUARTE, M. C. T. et al. Anti-*Candida* activity of Brazilian medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 97, p. 305-311, 2005.

FINDIK, Esra; CEYLAN, Mustafa; ELMASTAŞ, Mahfuz. Isoeugenol-based novel potent antioxidants: Synthesis and reactivity. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 46, n. 9, p.4618-4624, set. 2011.

FLUIT, A.D.C.; Visser, M.R.; Schmitz F. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 14, p. 836–871, 2001.

FREIRE, I.C.M. et al. Atividade antibacteriana de Óleos Essenciais sobre *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16 n.2, 2014.

FREISE, F. W. Essential oils from brasilian Euphorbiaceae. **Journal of Essential Oil** , v. 26, p. 219-220, 1935.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. **International Journal of Food Microbiology**, n. 111, p. 170–174, 2006.

GILLES, M, et al. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. **Food Chemistry**.v.119, n.2, p.731-737, 2010.

GOLBRAIKH, A. et al. Rational selection of training and test sets for the development of validated QSAR models. **Journal of Computer-Aided Molecular Design**, v.17, p.241–253, 2003.

GRABE, D. F. **Manual de Teste de Tetrazólio**. Brasília: AGIPLAN, 1976.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparatibility of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, p. 137-147, 2000.

HAMMER,K.A.;CARSON,C.F.;RILEY,T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. **Journal of Applied Microbiology**, v.86, p.985–990, 1999.

HEMAISWARYA, S.; DOBLE, M. Synergistic interaction of eugenol with antibiotics against Gram negative bacteria. **Phytochemistry**, v. 16, p. 997-1005, 2009.

HILTUNEN, T.; VIRTÄ, M.; LAINE, A. 2016. Antibiotic resistance in the wild: an ecoevolutionary perspective. **The Royal Society**, v.372, p.1-7.

HOLETZ, F.B.; HOMES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J. et.al. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Etnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

HYLDGAARD, Morten et al. Binary combination of epsilon-poly-L-lysine and isoeugenol affect progression of spoilage microbiota in fresh turkey meat, and delay onset of spoilage in *Pseudomonas putida* challenged meat. **International Journal Of Food Microbiology**, [s.l.], v. 215, p.131-142, dez. 2015a.

HYLDGAARD, Morten et al. Isoeugenol has a non-disruptive detergent-like mechanism of action. **Frontiers In Microbiology**, [s.l.], v. 6, p.1-14, 28 jul. 2015b.

ITO, M.; MURAKAMI, K.; YOSHINO, M. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. **Food and Chemical Toxicology**, v.43, p.461– 466,2005.

ITOKAWA, H. MORITA, M. MIHASHI, S. Two new diarylheptanoids from *Alpinia officinarum* Hance. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin** , v.29, p. 2383-2385, 1981.

JACOBSON, L.. Listeriosis. **Pediatrics In Review**. v. 29, p.410–411, 2008.

JEONG, K. J. et al. Effects of eugenol on hepatic glucose production and AMPK signaling pathway in hepatocytes and C57BL/6J mice. **Fitoterapia**, v.93, p.150–162, 2014.

JÚNIOR, P. L. S. et al. Apoptotic effect of eugenol involves G2/M phase abrogation accompanied by mitochondrial damage and clastogenic effect on cancer cell *in vitro*. **Phytomedicine**, v. 23, p. 725–735, 2016.

KAMATOU, G. P.; VERMAAK, I.; VILJOEN, A. M. Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. **Molecules**. v. 17, p. 6953-6981, 2012.

KAUFMAN, T. S. The multiple faces of eugenol. A versatile starting material and building block for organic and bio-organic synthesis and a convenient precursor toward bio-based fine chemicals. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v 26, n. 6, 1055-1085,2015.

KIM, Yong-guy et al. Essential Oils and Eugenols Inhibit Biofilm Formation and the Virulence of *Escherichia coli* O157: H7. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p.1-11, 2016.

KIUCHI, F., IWAKAMI, S., SHIBUYA, M. Inhibition of prostaglandin and leukotriene biosynthesis by gingerols and diarylheptanoids. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 40, pp. 387-391, 1992.

KLAYMAN, D. L. Qinghaosu (artemisinin) an antimalarial drug from China. **Science**, v. 228, p. 1049-1055, 1985.

KONG, X. et al. Advances in Pharmacological Research of Eugenol. **Curr Opin Complement Alternat Med**, v.1, p.8-11,2014.

KONG, X., LIU, X., LI, J., YANG, Y. Advances in Pharmacological Research of Eugenol. **Curr Opin Complement Alternat Med**, v.1, p.2-11, 2014.

LAVABRE, M. 1993. Aromaterapia: a cura pelos óleos essenciais. 2.ed. Rio de Janeiro, Record.

LAZAR, C. et al. Drug evolution concept in drug design: 1. Hybridization Method. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 47, n. 27, p. 6973-6982, 2004.

LUZ, A. I. R., ZOGHBI, M. G. B., RAMOS, L. S. Essential oils of some Amazonian zingiberaceae, 3 genera alpinia and rengalmia. **Journal of Natural Products**, v.47, p. 907-908, 1984.

MA, N. et al. Preventive Effect of Aspirin Eugenol Ester on Thrombosis in κ -Carrageenan-Induced Rat Tail Thrombosis Model. **PLOS ONE**, jul. 1-14. 2015.

MACEDO, I.T.F. et al. Anthelmintic effect of *Eucalyptus staigeriana* essential oil against goat gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v.173, p.93-98, 2010.

MACHADO, M. et al. Anti-Giardia activity of *Syzygium aromaticum* essential oil and eugenol: Effects on growth, viability, adherence and ultrastructure. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 4, p. 732–739, 2011.

MACIEL M.V. et al. Chemical composition of *Eucalyptus* spp. essential oils and their insecticidal effects on *Lutzomyia longipalpis*. **Veterinary Parasitology**. v.167, p.1–7, 2010.

MAGALHÃES, P. J. C. 1997. Ações do óleo essencial do marmeleiro sabiá (*Croton nepetaefolius*) na musculatura intestinal de cobaia. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil

MENDONÇA, V. L. M. 1989 Estudo farmacológico e toxicológico de *Alpinia speciosa* Schum. Dissertação (Mestrado em Farmacologia), Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

MENDONÇA, V. L. M. et al. Pharmacological and toxicological evaluation of *Alpinia speciosa*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 86, p. 93-97, 1991.

MODJINO, T. et al. Antibacterial and antioxidant bio-based networks derived from eugenol using photo-activated thiol-ene reaction. **Reactive and Functional Polymers**, v.101, p.47–53, 2016.

MOHAMED, A.; HUANG, D.B. Biofilm formation by enterococci Jamal. **Journal of Medical Microbiology**. v.56, p.1581-1588, 2007.

MONTES, Ricardo Carneiro. Amidas halogenadas: reações de acoplamento e investigação in silico da atividade antimicrobiana. 2016. 276f. Tese (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

NAM, H.; KIM, M.-M. Eugenol with antioxidant activity inhibits MMP-9 related to metastasis in human fibrosarcoma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v.55, p.106–112, 2013.

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.

National Committee for Clinical Laboratory Standards, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twelfth informational supplement M100-512, vol. 22, nº 01., 2002. – NCCLS.

National committee for clinical laboratory standards-nccls. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7 ed. Villanova. PA: NCCLS, 2000.

NESMEYANOV, A.N.; NESMEYANOV, N.A. Fundamentals of organic chemistry. 2. ed. Moscow: 1974b. v.3. 439 p

NIELSEN, C.k. et al. Antibacterial isoeugenol coating on stainless steel and polyethylene surfaces prevents biofilm growth. **Journal Of Applied Microbiology**, [s.l.], v. 124, n. 1, p.179-187, 2017.

NIELSEN, Christina Krogsgård et al. Antimicrobial effect of emulsion-encapsulated isoeugenol against biofilms of food pathogens and spoilage bacteria. **International Journal Of Food Microbiology**, v. 242, p.7-12, 2017.

OYEDEMI, S. O. et al. The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, α -terpineol and γ -terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 7, p. 1280–1286, 2009.

PEIXOTO TC, NOGUEIRA VA, CALDAS SA, FRANÇA TN, ANJOS BL, ARAGÃO AP, et al. Efeito protetor da acetamida em bovinos indica monofluoroacetato como princípio tóxico de *Palicourea marcgravii* (Rubiaceae). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 4, pp. 319-28, 2012.

PEIXOTO, Isabelle Nogueira. Estudos químicos de derivados mesoiônicos do sistema 1,3- Tiazólio-5-tiolato com acetamidas substituídas e suas Potencialidades antifúngicas contra cepas de *Candida Albicans*. 2016. 177 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2016.

PEREIRA, F. O., 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. 1–7, 2014.

PEREIRA, J. A. et al. Geraniol: In Silico Pharmacological and Toxicological Profiles and In Vitro Antifungal Activity Studies. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 9, n. 2, p.111-116, 2017.

PINHEIRO, P. F. et al. Semisynthetic Phenol Derivatives Obtained from Natural Phenols: Antimicrobial Activity and Molecular Properties. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p.323-330, 2017.

PIZZOLITTO, Romina P. et al. Inhibitory Effect of Natural Phenolic Compounds on *Aspergillus parasiticus* Growth. **Journal Of Chemistry**, [s.l.], v. 2015, p.1-7, 2015.

PRASAD, S. N.; BHARATH, M. M. S.; MURALIDHARA. Neurorestorative effects of REVERCHON, E. "Mathematical Modeling of Supercritical Extraction of Sage Oil". **AIChE Journal**, v.42, n.6, p.1765-1771, 1996.

RUDYANTO, M.; WIDIANDANI, T.; SYAHRANI, A. Some benzoxazine and aminomethyl derivatives of eugenol: cytotoxicity on mcf-7 cell line. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.7, p.229-232, 2015.

SANLA-EAD, Nutch et al. Antimicrobial Activity of Cinnamaldehyde and Eugenol and Their Activity after Incorporation into Cellulose-based Packaging Films. **Packaging Technology And Science**, v. 25, n. 1, p.7-17, 2011.

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

SENEVIRATNE, C.J. et al. Architectural analysis, viability assessment and growth kinetics of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms. **Archives of Oral Biology**. v.54, p.2260-2269, 2009.

SIMONETTI, E. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de *Eugenia anomala* e *Psidium salutare* (Myrtaceae) frente à *Escherichia coli* e *Listeria monocytogenes*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.18, n.1, p.9-18, 2016.

SMITH, MICHAEL B., MARCH, JERRY. March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Sexta Edição. ISBN 13: 978-0-471 72091-1.

SUN, W.-J. et al. Eugenol confers resistance to Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) by regulating the expression of SlPer1 in tomato plants. **New Biotechnology**, v.33, n.3, p.345- 354, 2016.

THOMAS, G. Descoberta de fármacos por modelagem. In: **Química Medicinal: uma introdução**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p.23-72.

TYAGI, A.K. et al. *Eucalyptus* Essential Oil as a Natural Food Preservative: In Vivo and In Vitro Antiyeast Potential. **BioMed Research International**. v.7, p.1-9, 2014.

VENKADESWARAN, K.; THOMAS, P. A.; GERALDINE, P. An experimental evaluation of the anti-atherogenic potential of the plant, Piper betle, and its active constituent, eugenol, in rats fed an atherogenic diet. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v 80, 276–288. 2016.

VITTI, A.M.S.; Brito, J.O. Óleo essencial de Eucalipto. IPEF, Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais Documentos Florestais. v.17, p.1–26, 2003.

VUONGA, Q.V et al. Botanical, Phytochemical, and Anticancer Properties of the Eucalyptus Species. **Chemistry & Biodiversity** v.12, p.907-924, 2015.

WATERBEEMD, H. V. D.; GIFFORD, E. ADMET in silico modeling: towards prediction Paradise. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 3, p. 192-204, 2003.

WHITCHURCH, C.B. et al. Extracellular DNA required for bacterial biofilm formation. **Science**. v.295, 2002.

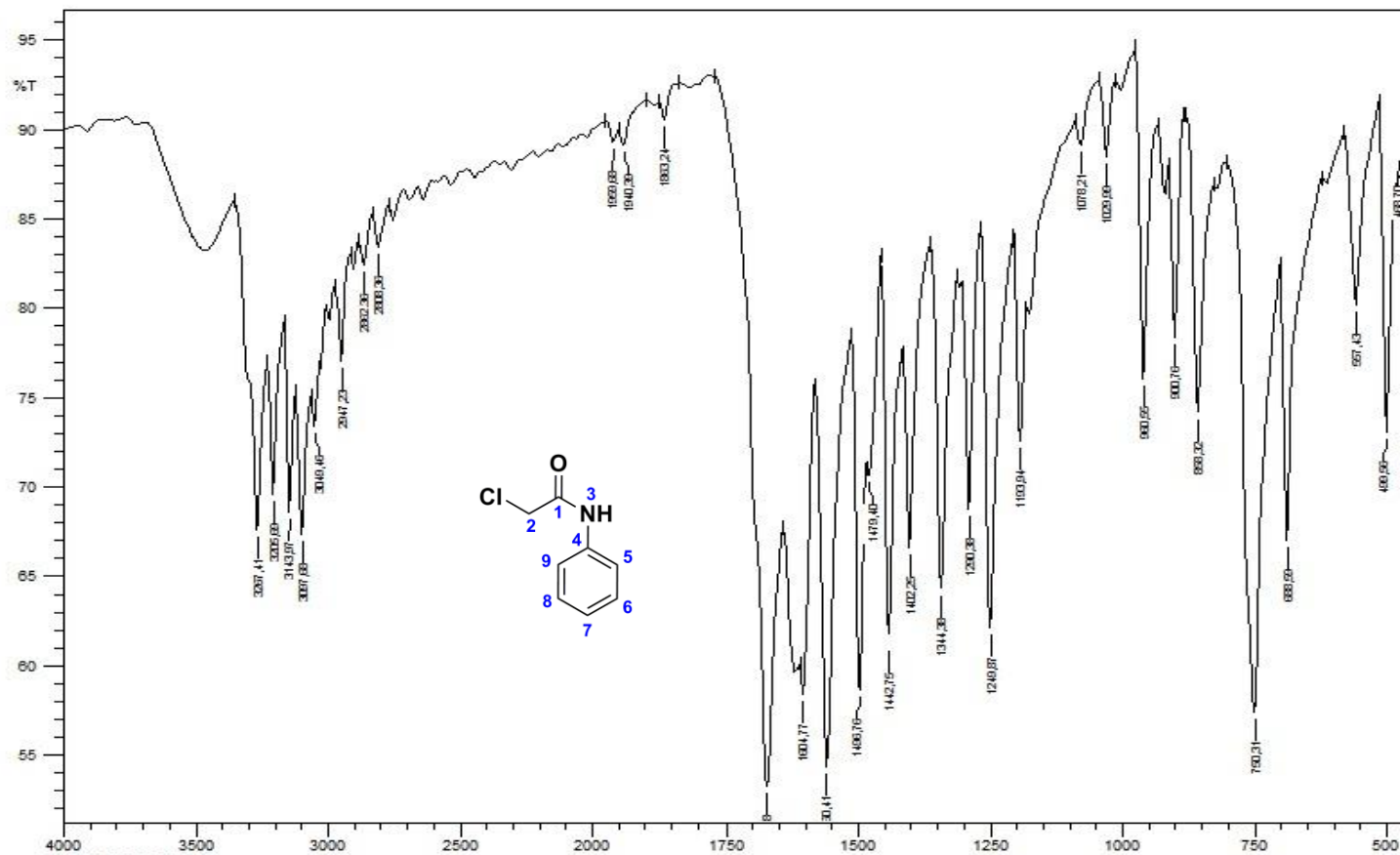
YADAV, Mukesh Kumar et al. Eugenol: A Phyto-Compound Effective against Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Staphylococcus aureus Clinical Strain Biofilms. **Plos One**, v. 10, n. 3, p.1-21, 17, 2015.

YEMPALA, T. et al. Molecular hybridization of bioactives: Synthesis and antitubercular evaluation of novel dibenzofuran embodied homoisoflavonoids via Baylis–Hillman reaction. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 7426–7430, 2012.

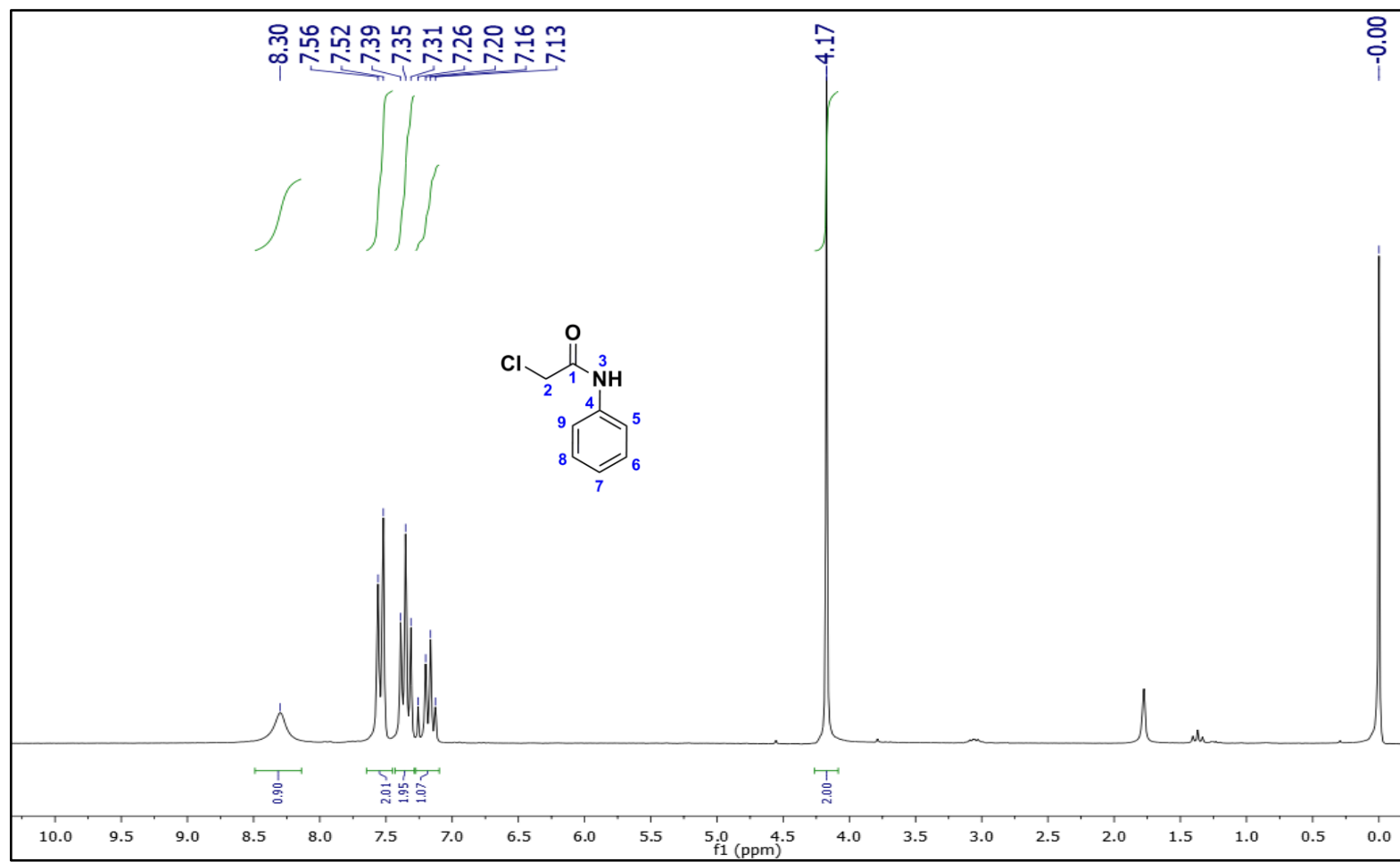
YORK,T.;VANVUUREN,S.F.;DEWET,H. An antimicrobial evaluation of plants used for the treatment of respiratory infections in rural Maputaland, KwaZulu-Natal, South Africa. **Journal of Ethnopharmacology** , v.144, p.118–127, 2012.

Espectros

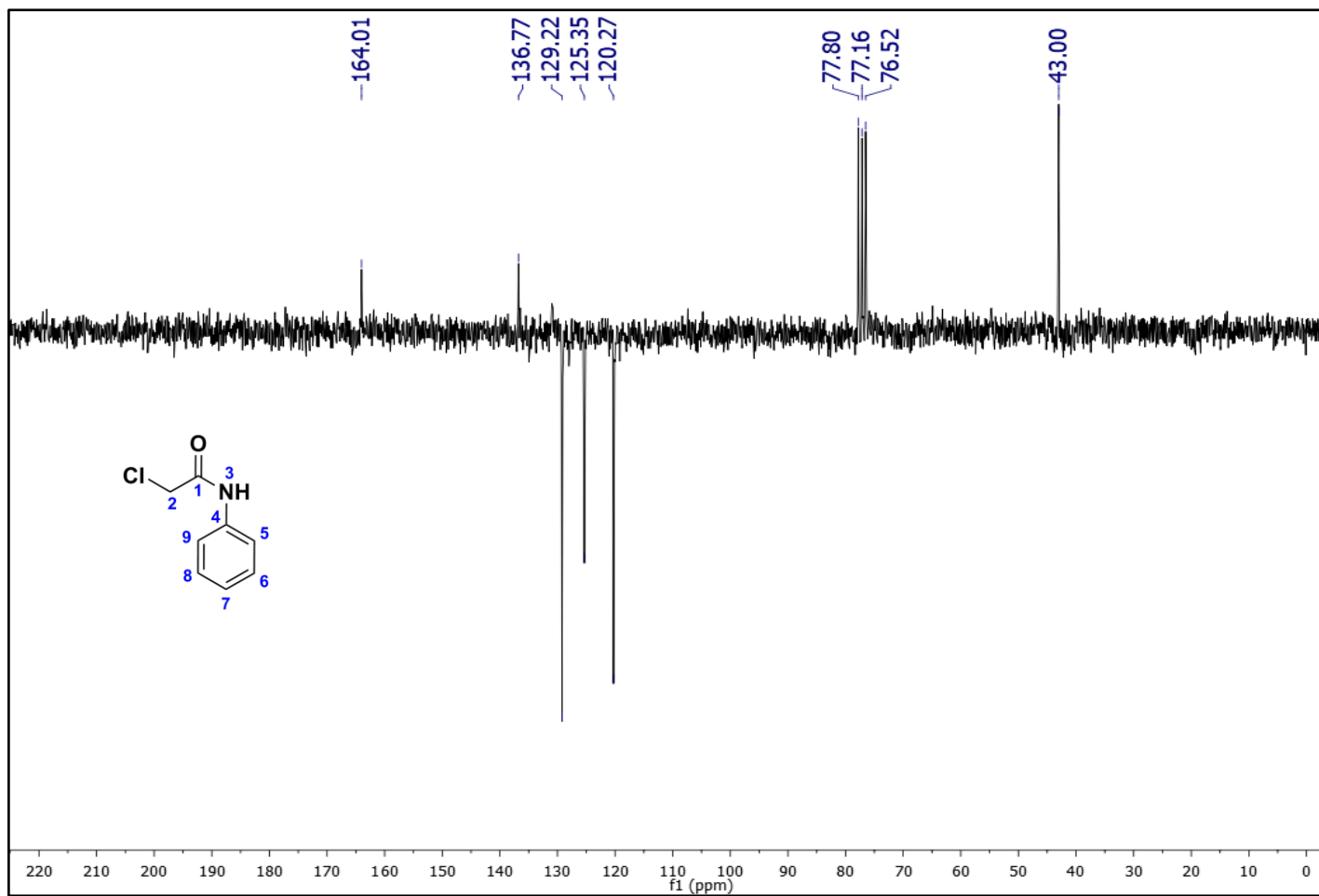
Acetamidas A1



Espectro 1 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A1.

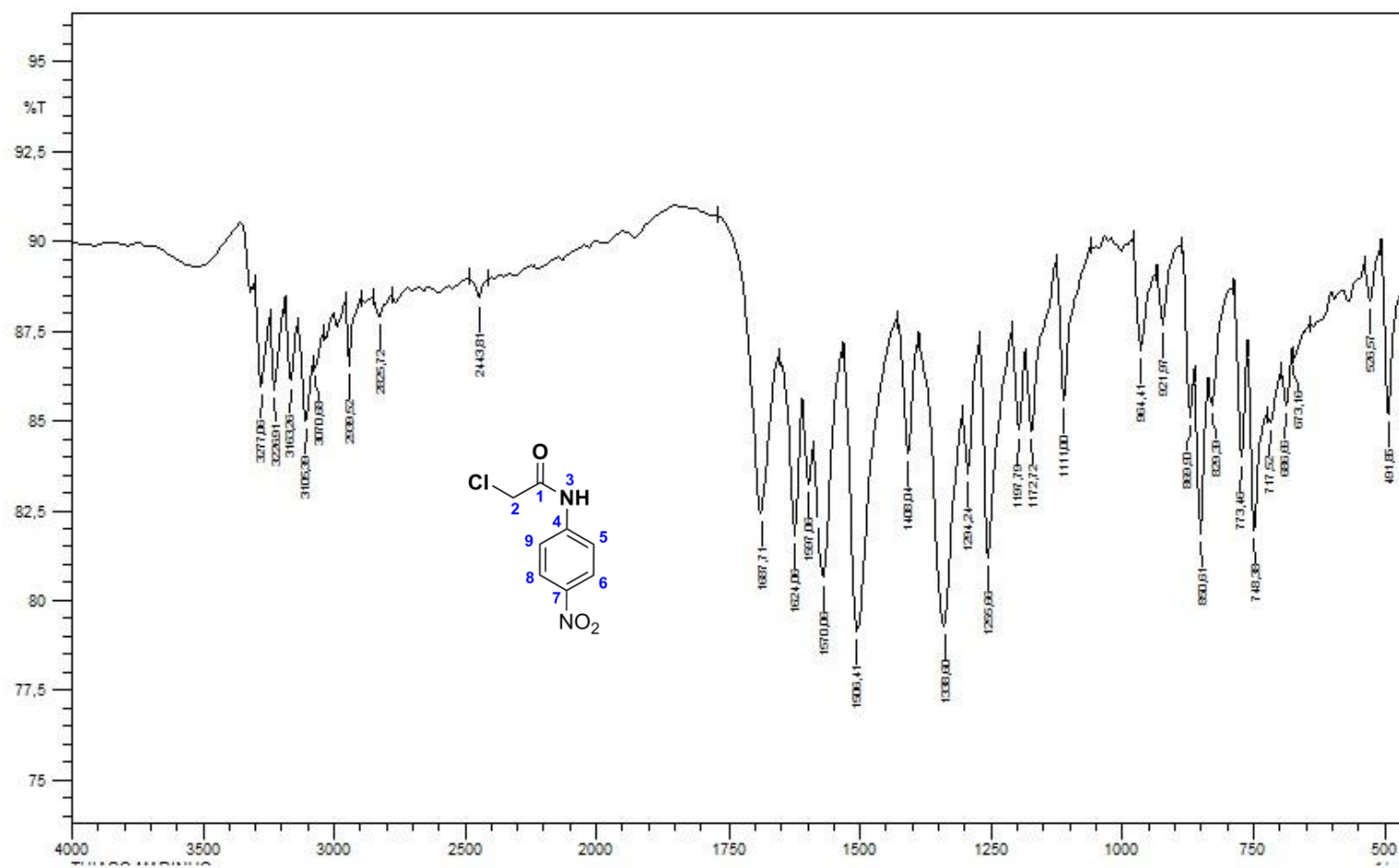


Espectro 2 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) da acetamida A1.

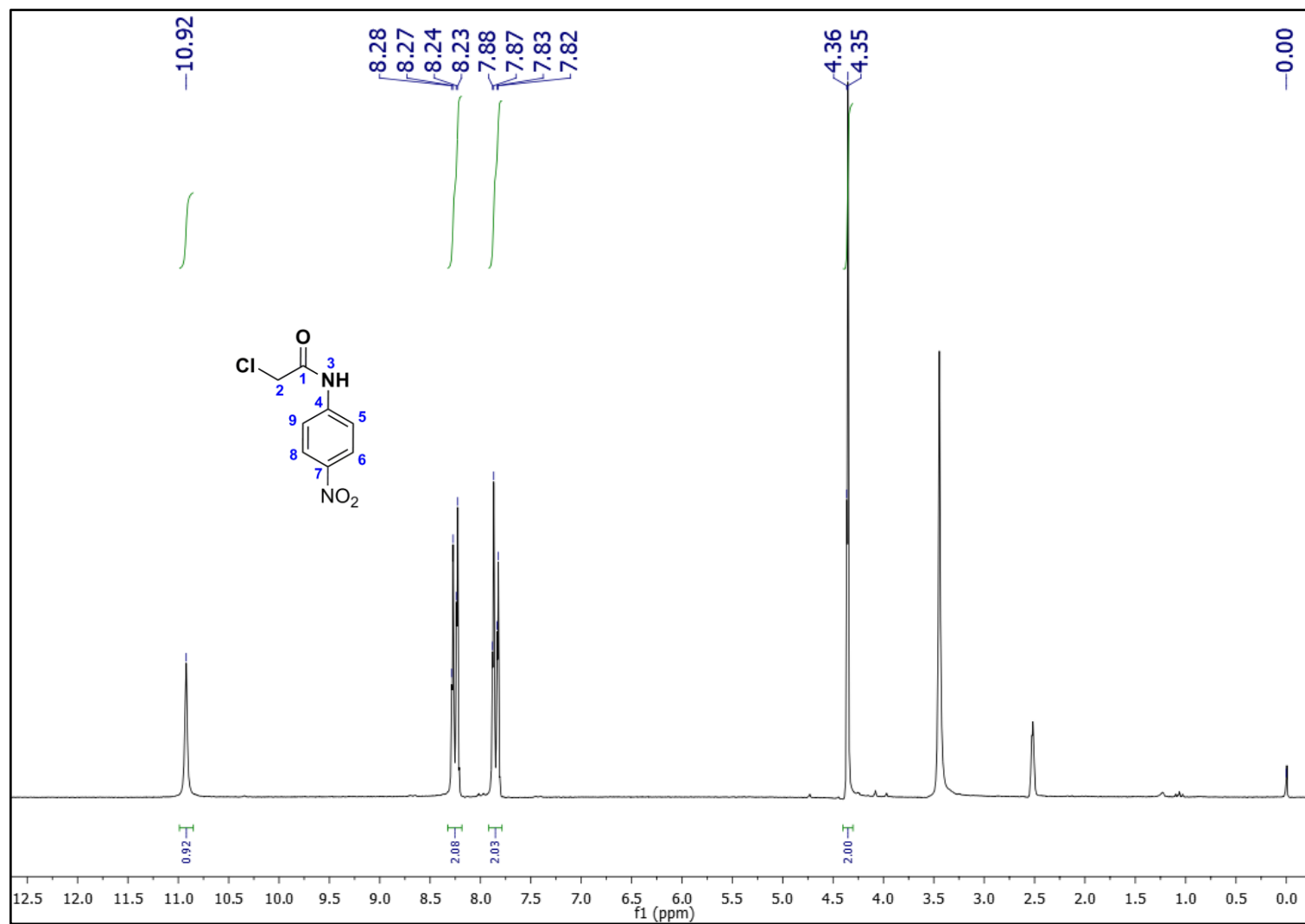


Espectro 3 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) da acetamida A1.

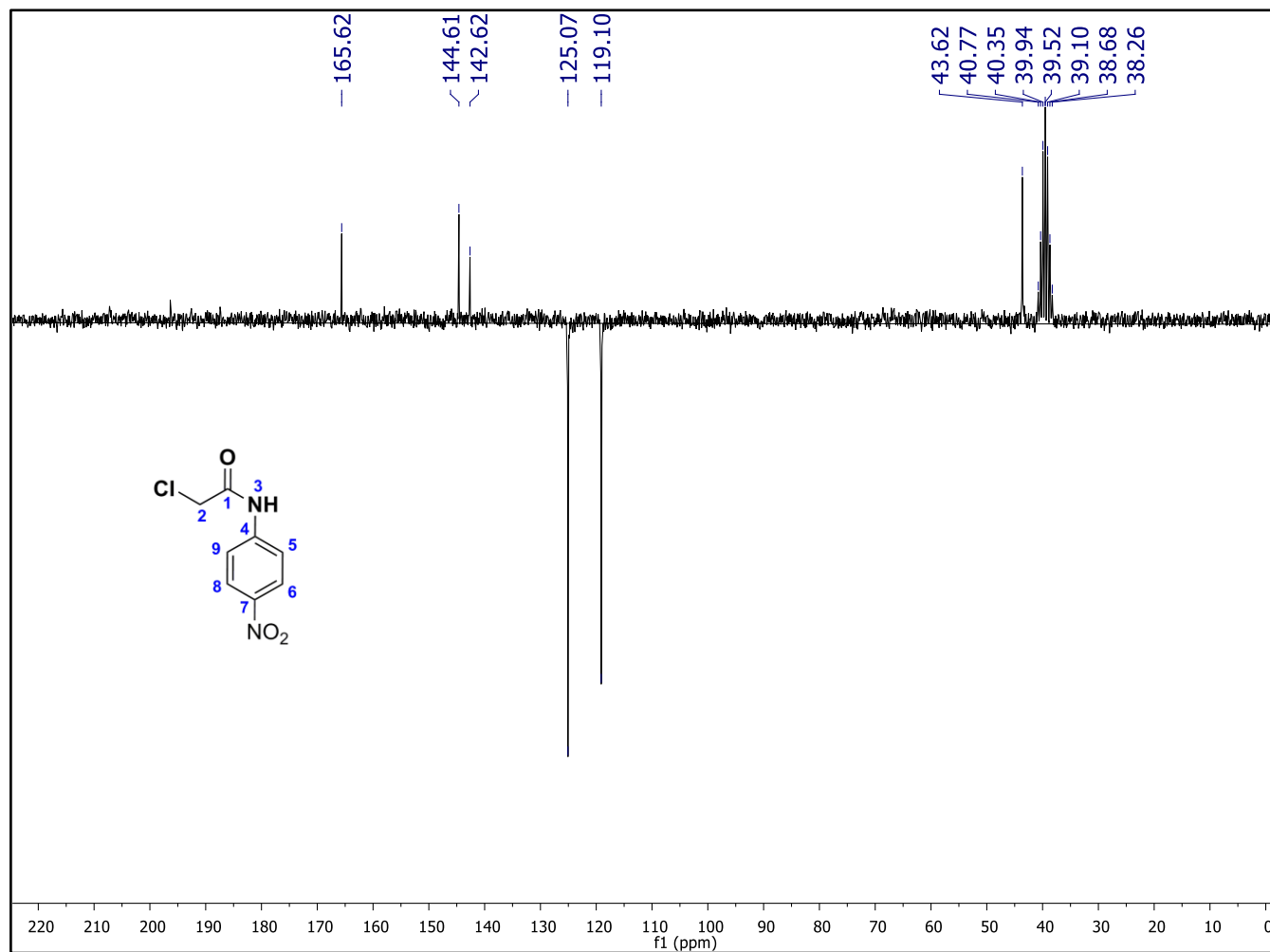
A2



Espectro 4 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A2.

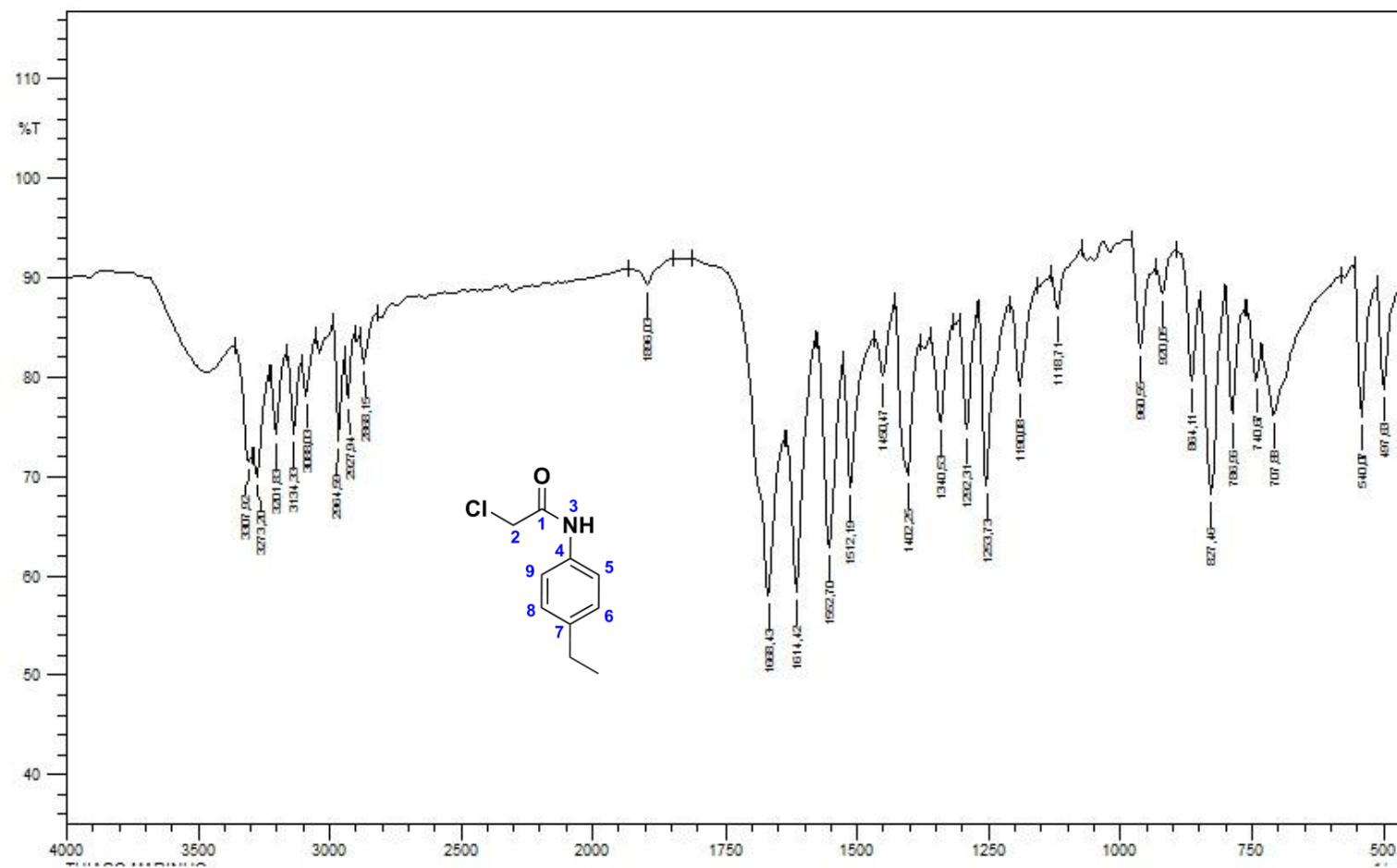


Espectro 5 – Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) da acetamida A2.

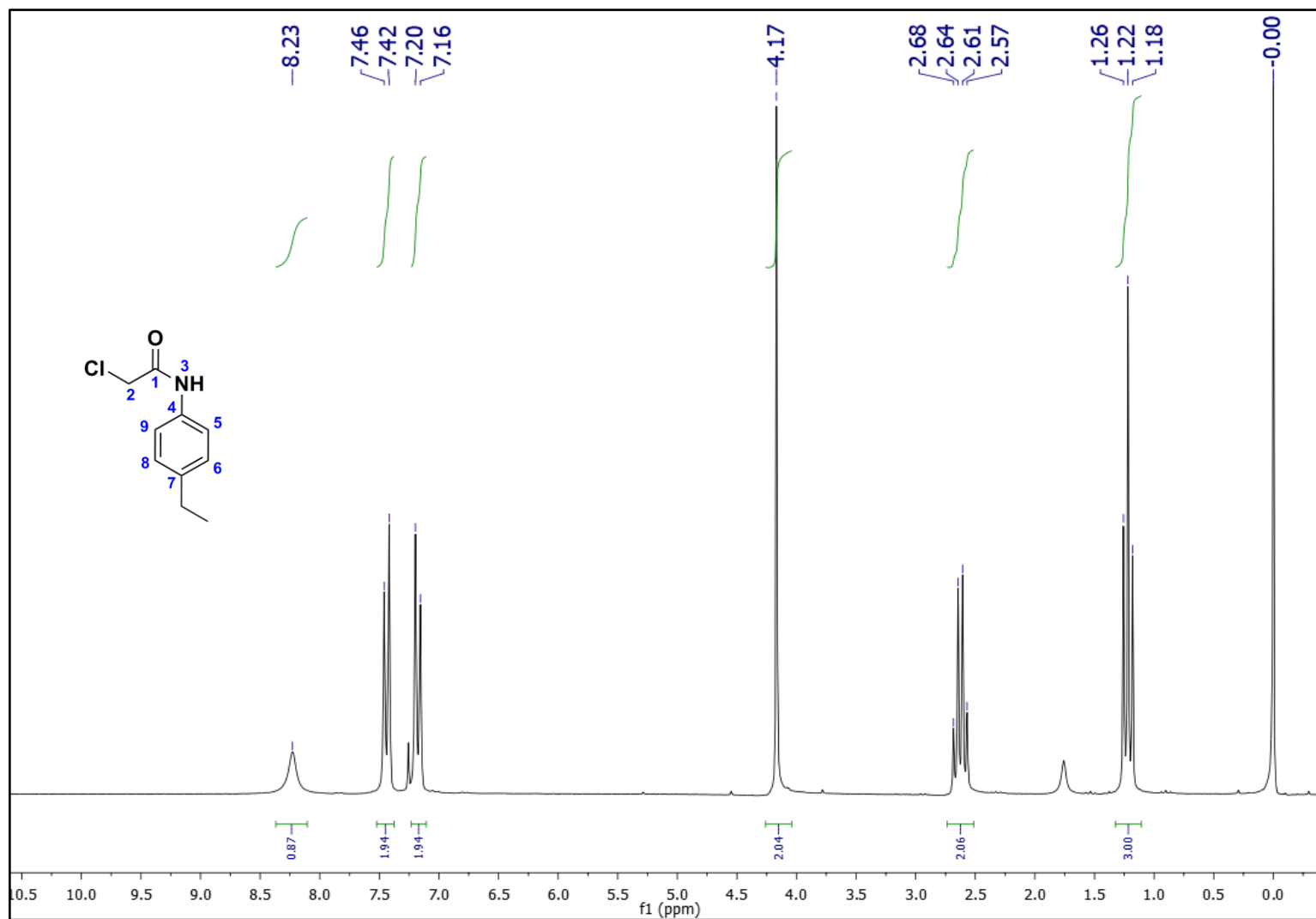


Espectro 6 – Espectro de RMN ¹³C – APT (DMSO-d₆, 50 MHz) da acetamida A2.

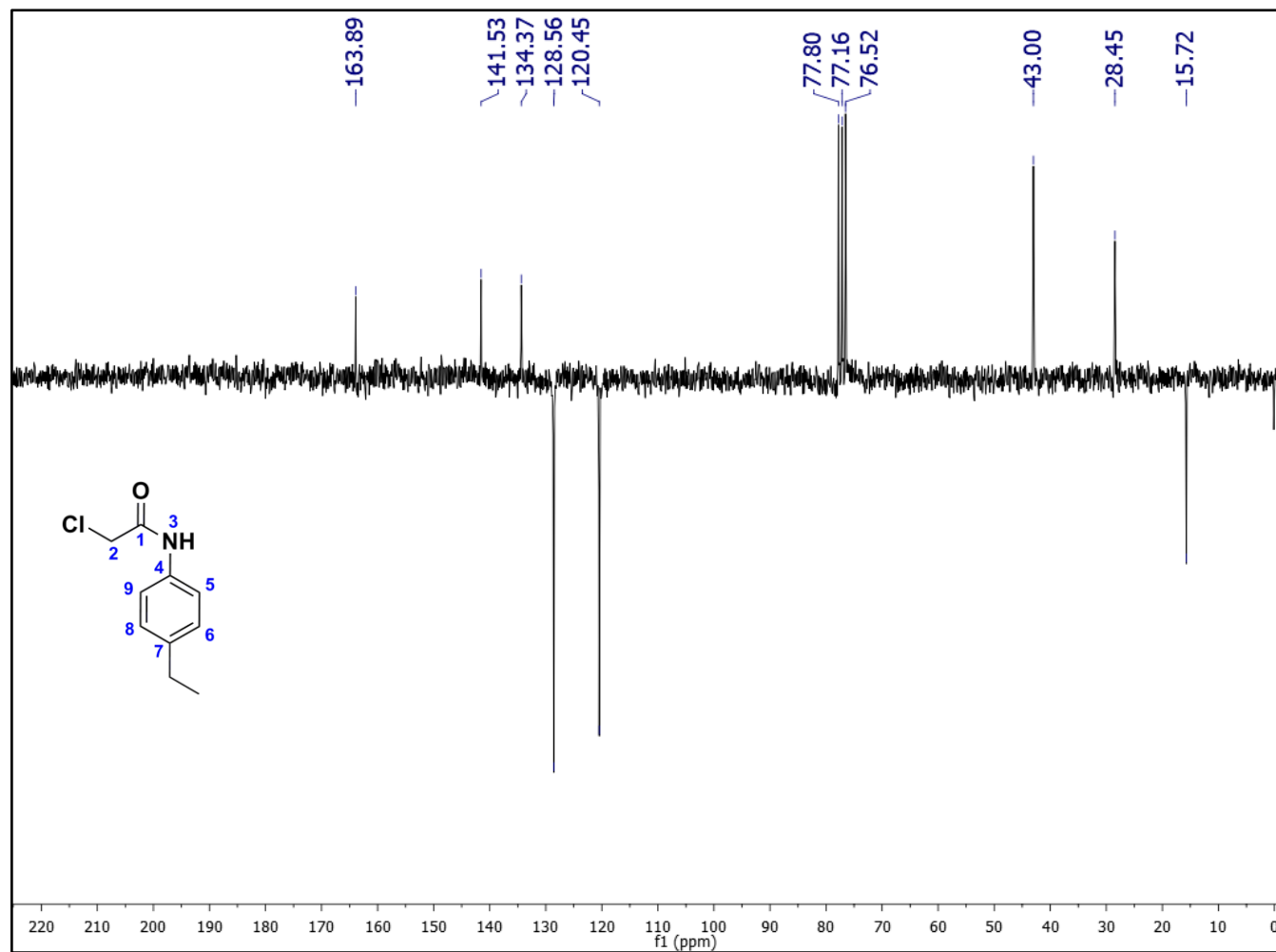
A3



Espectro 7 - Espectro de IV (KBr) da acetamida A3.

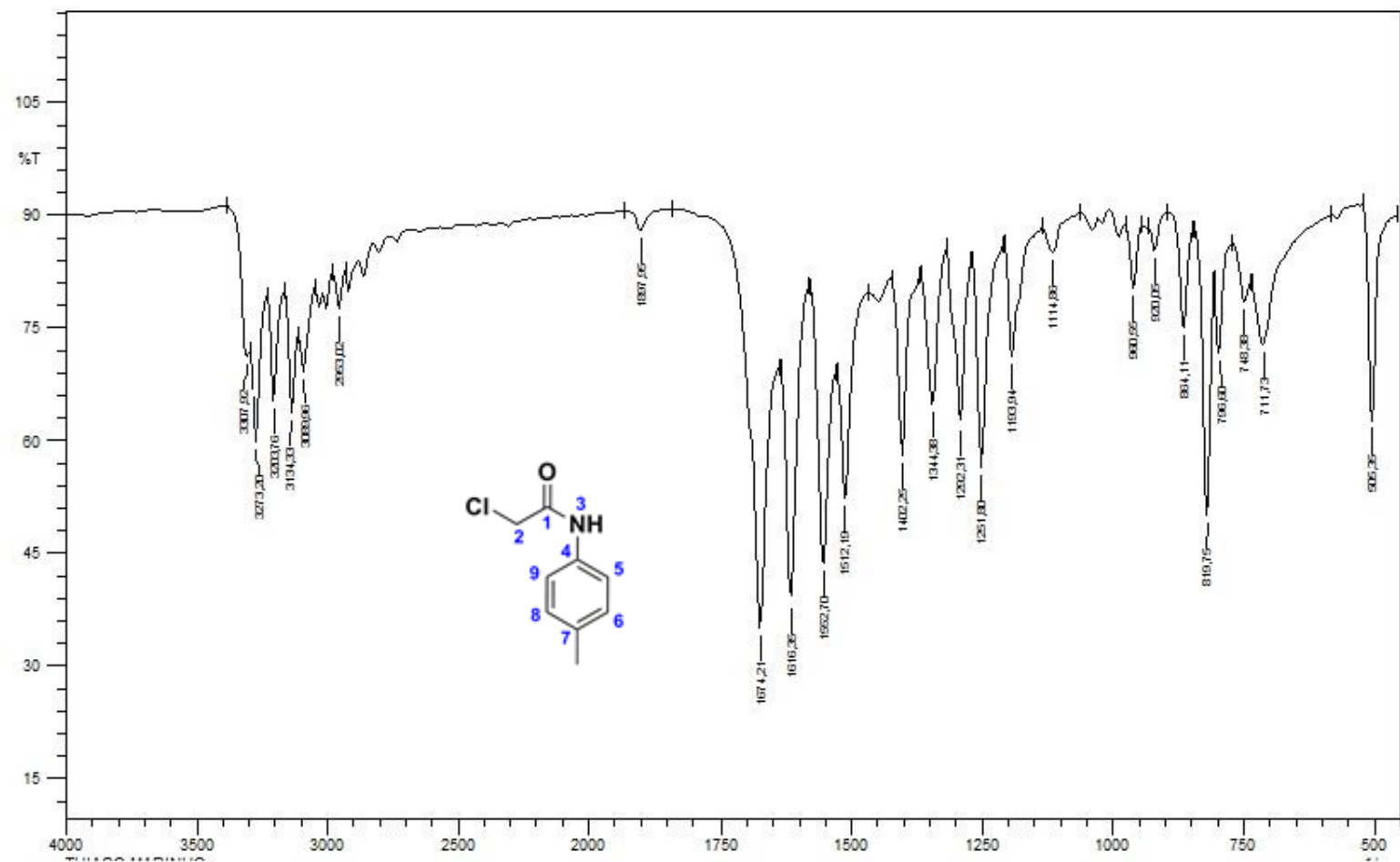


Espectro 8 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) da acetamida A3.

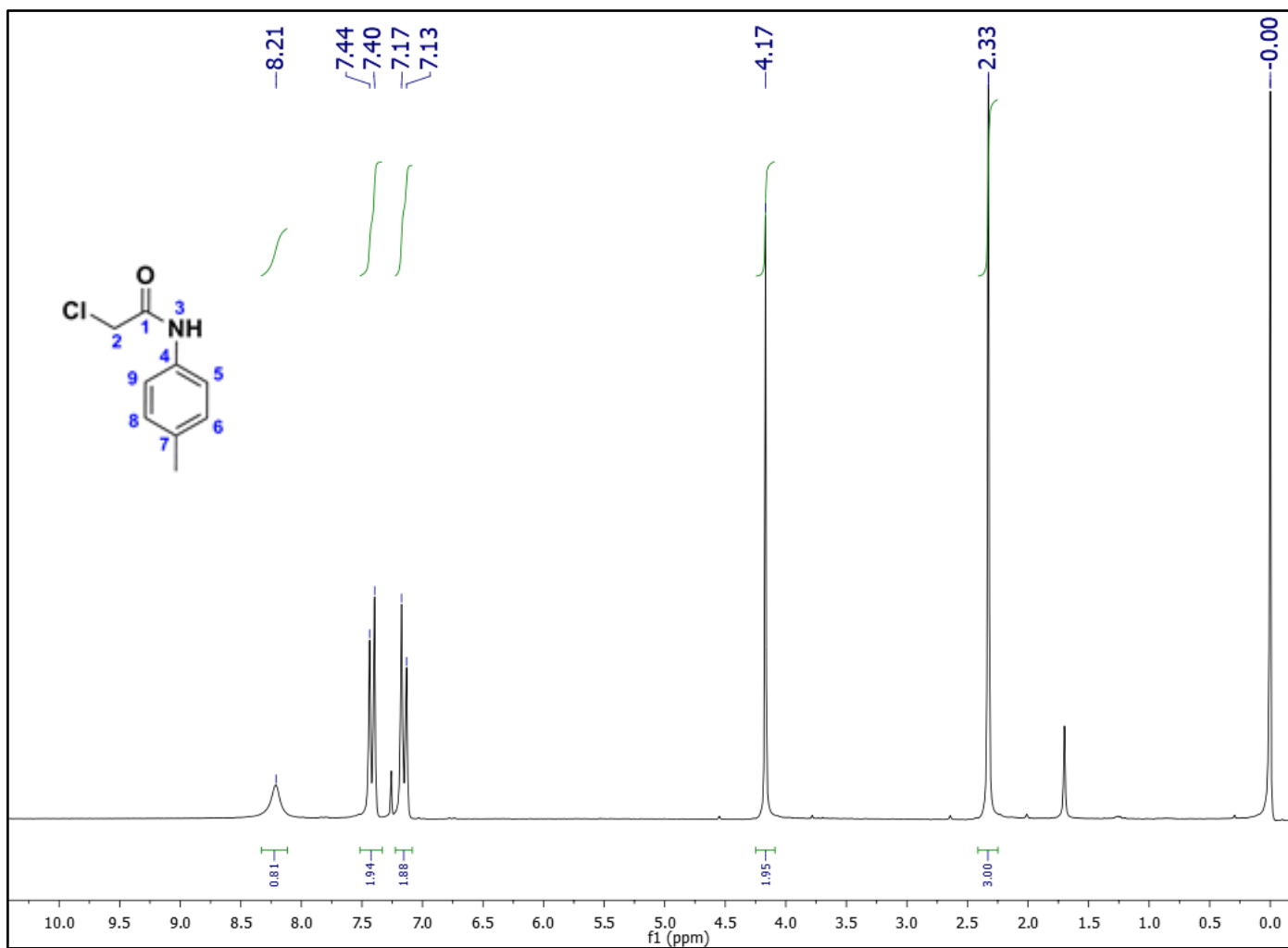


Espectro 9 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) da acetamida A3.

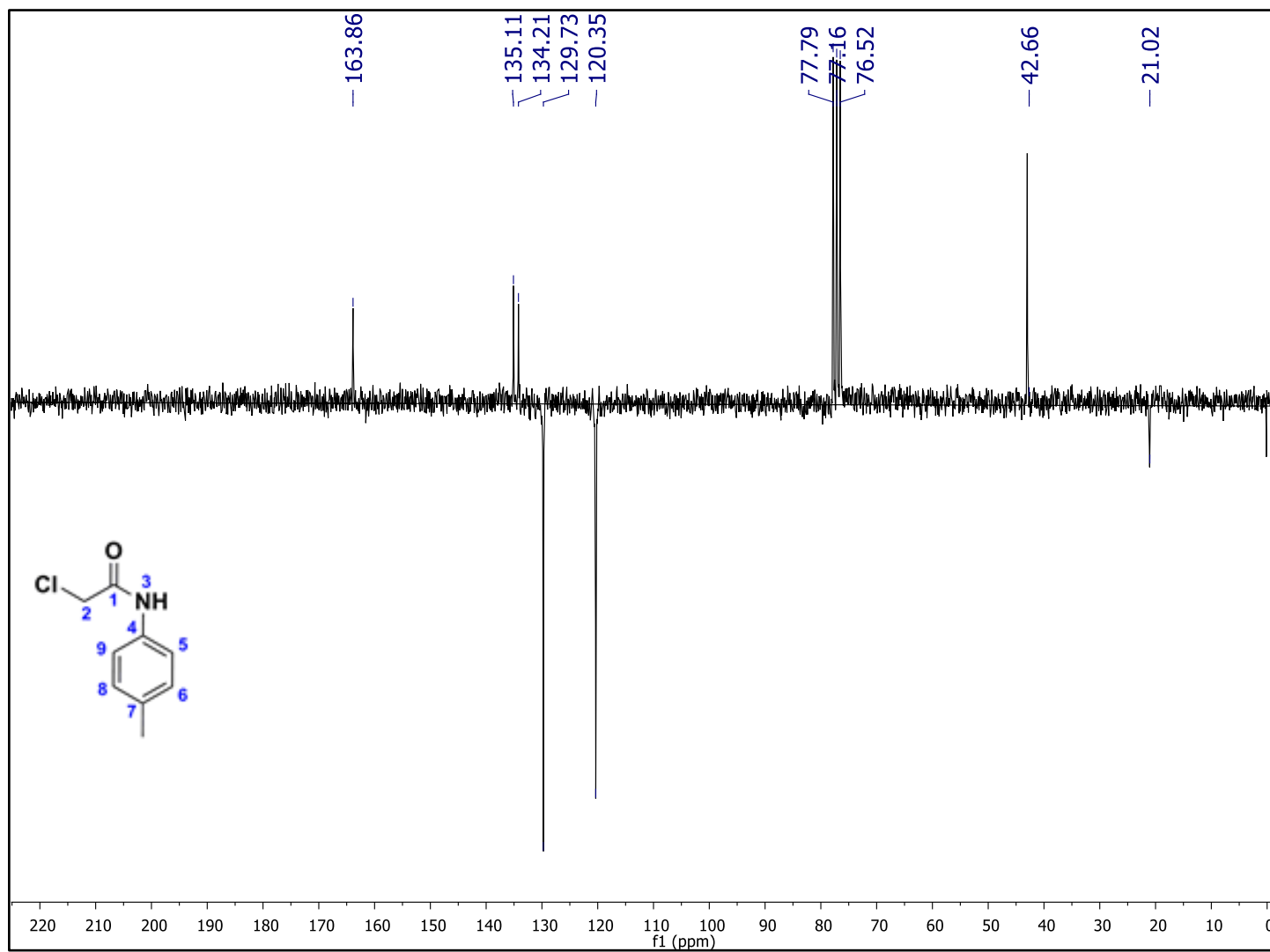
A4



Espectro 10 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A4.

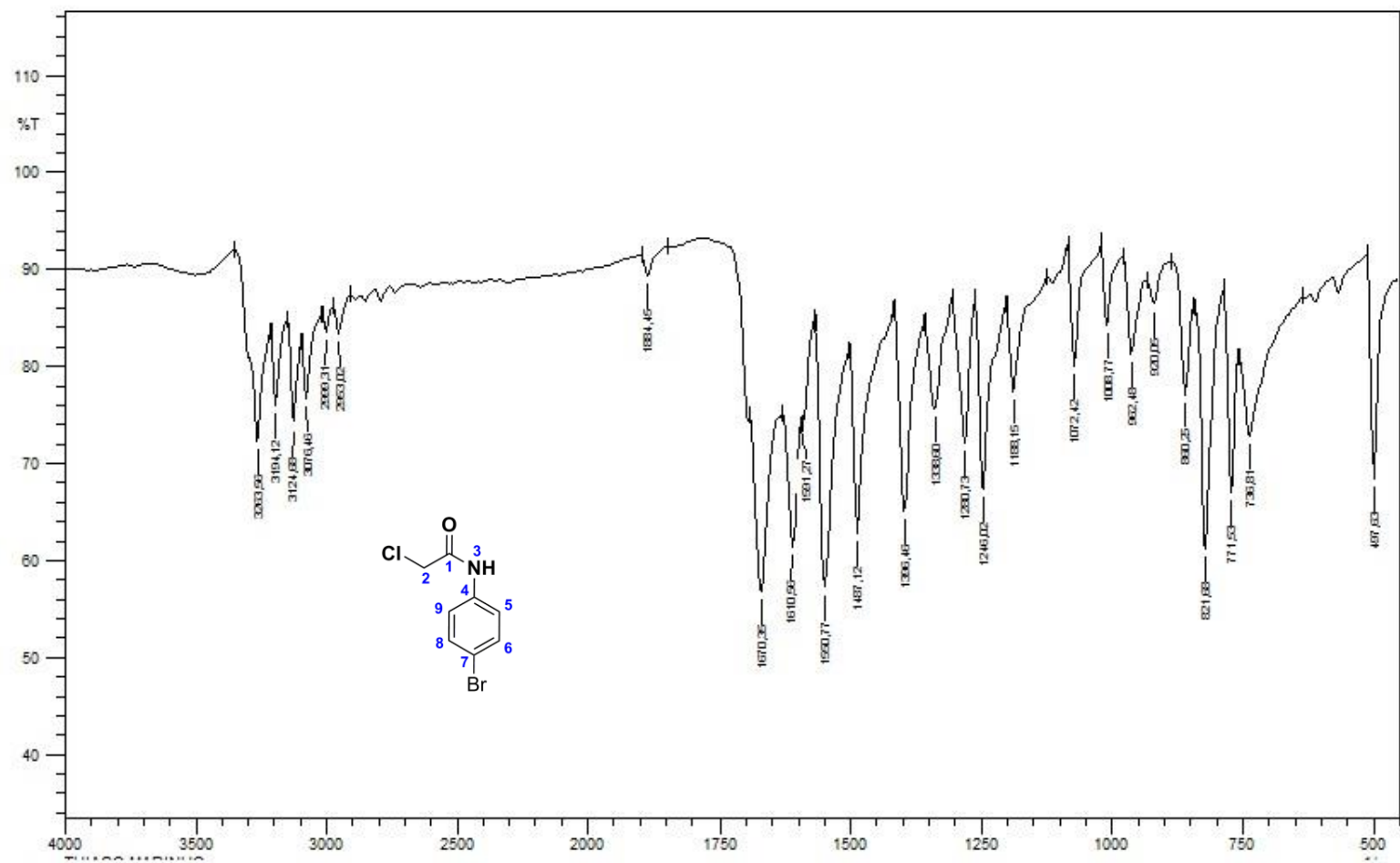


Espectro 11 - Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) da acetamida A4.

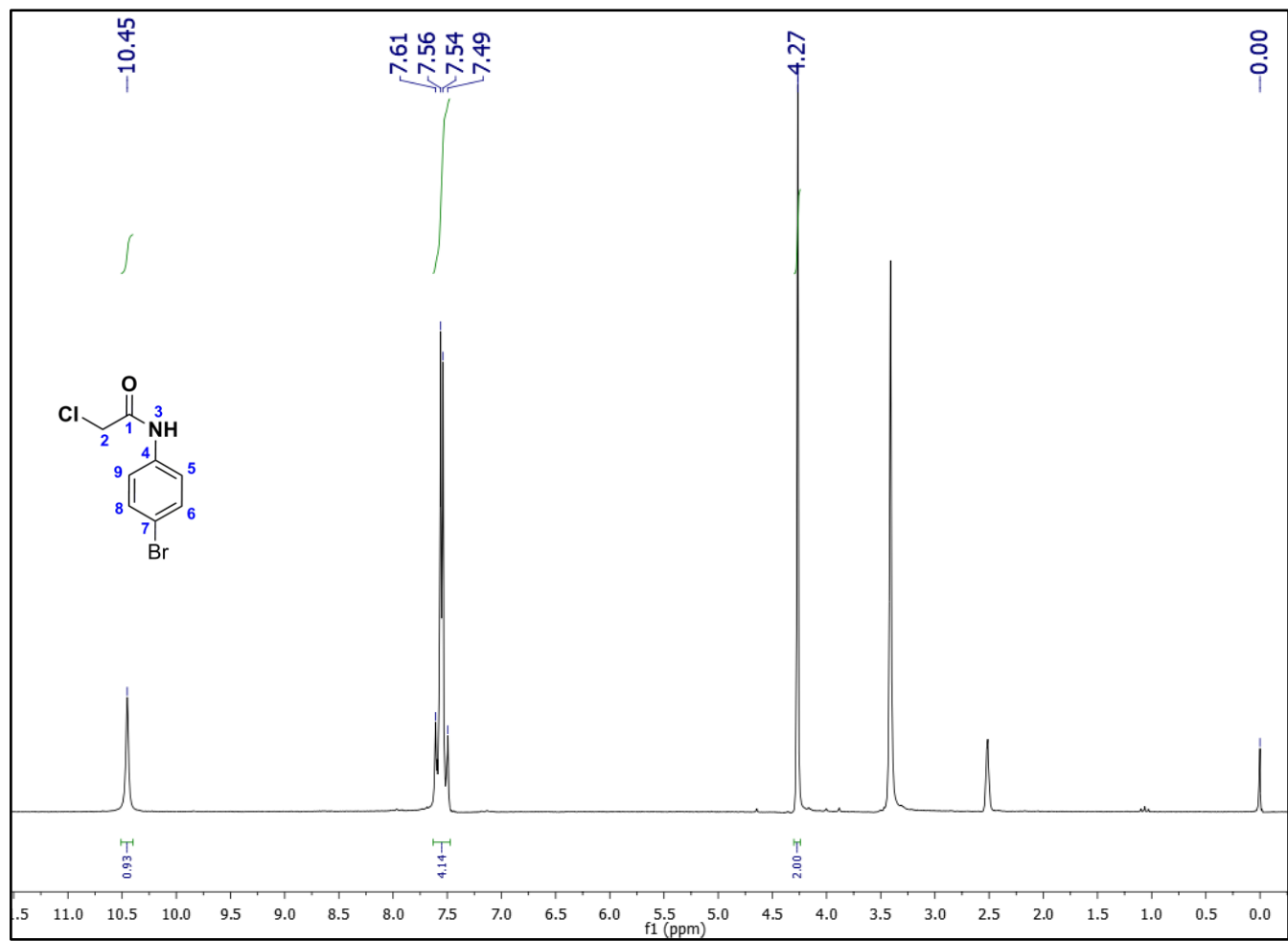


Espectro 12 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) da acetamida A4.

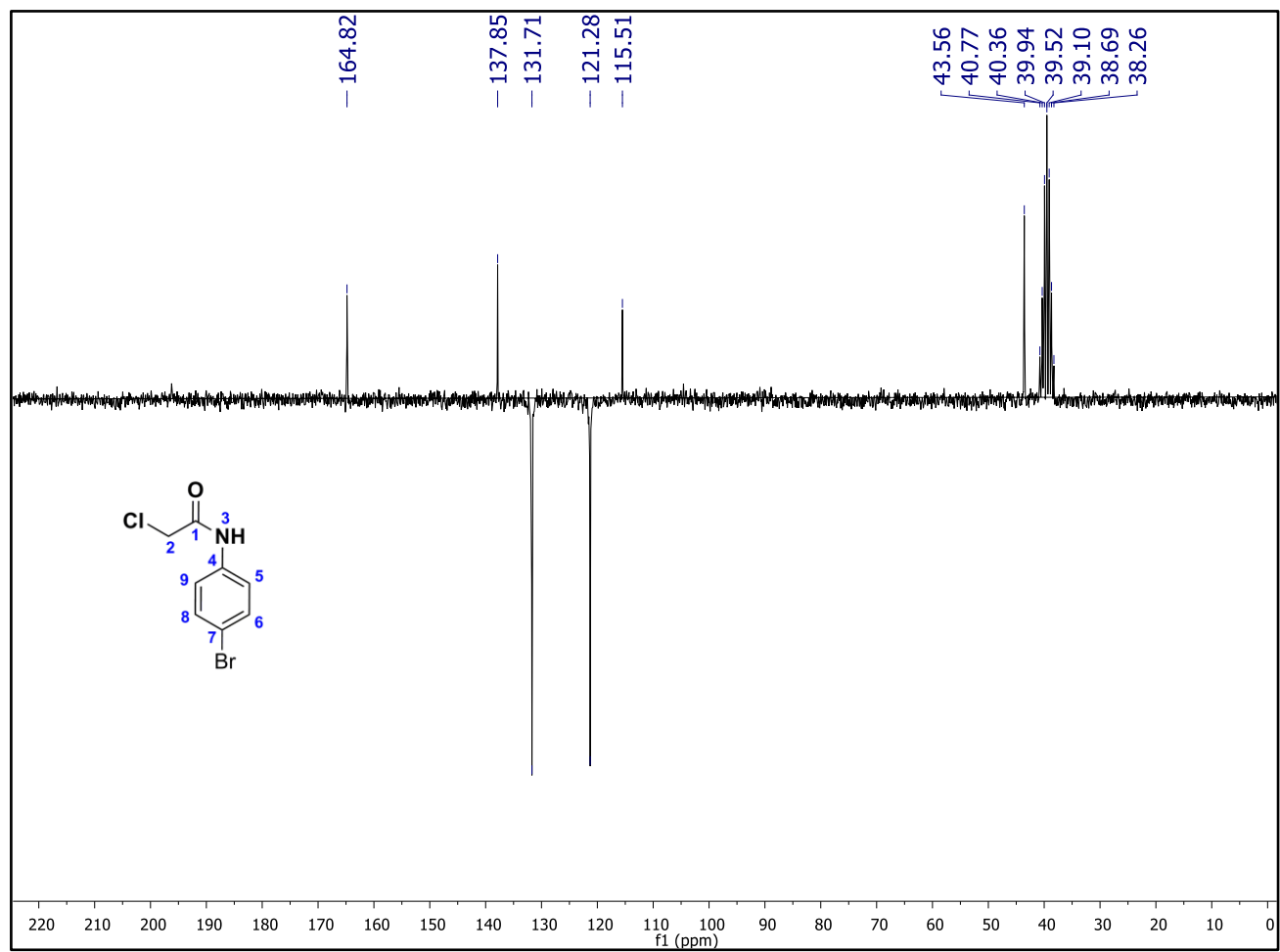
A5



Espectro 13 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A5.

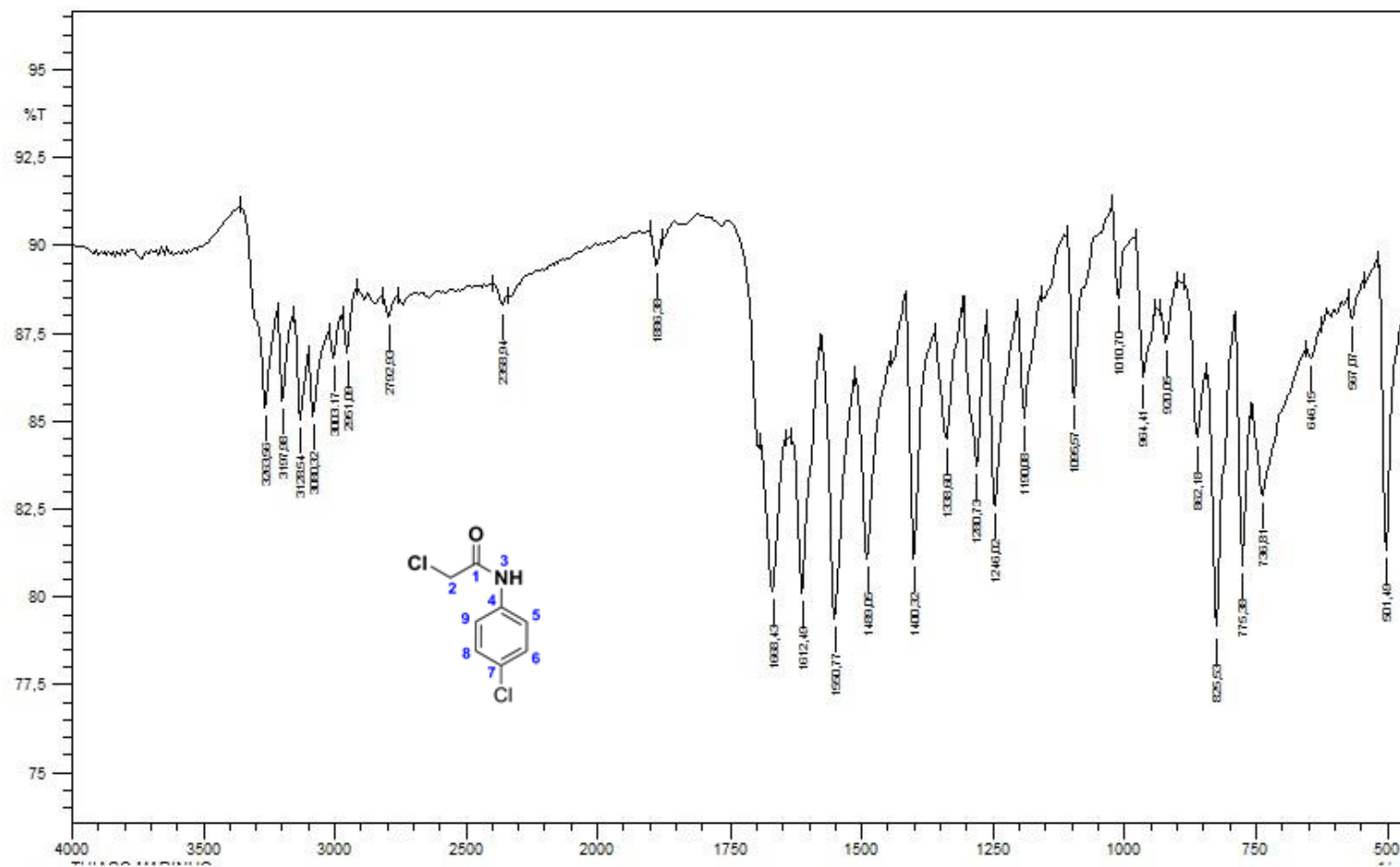


Espectro 14 – Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz) da acetamida A5.

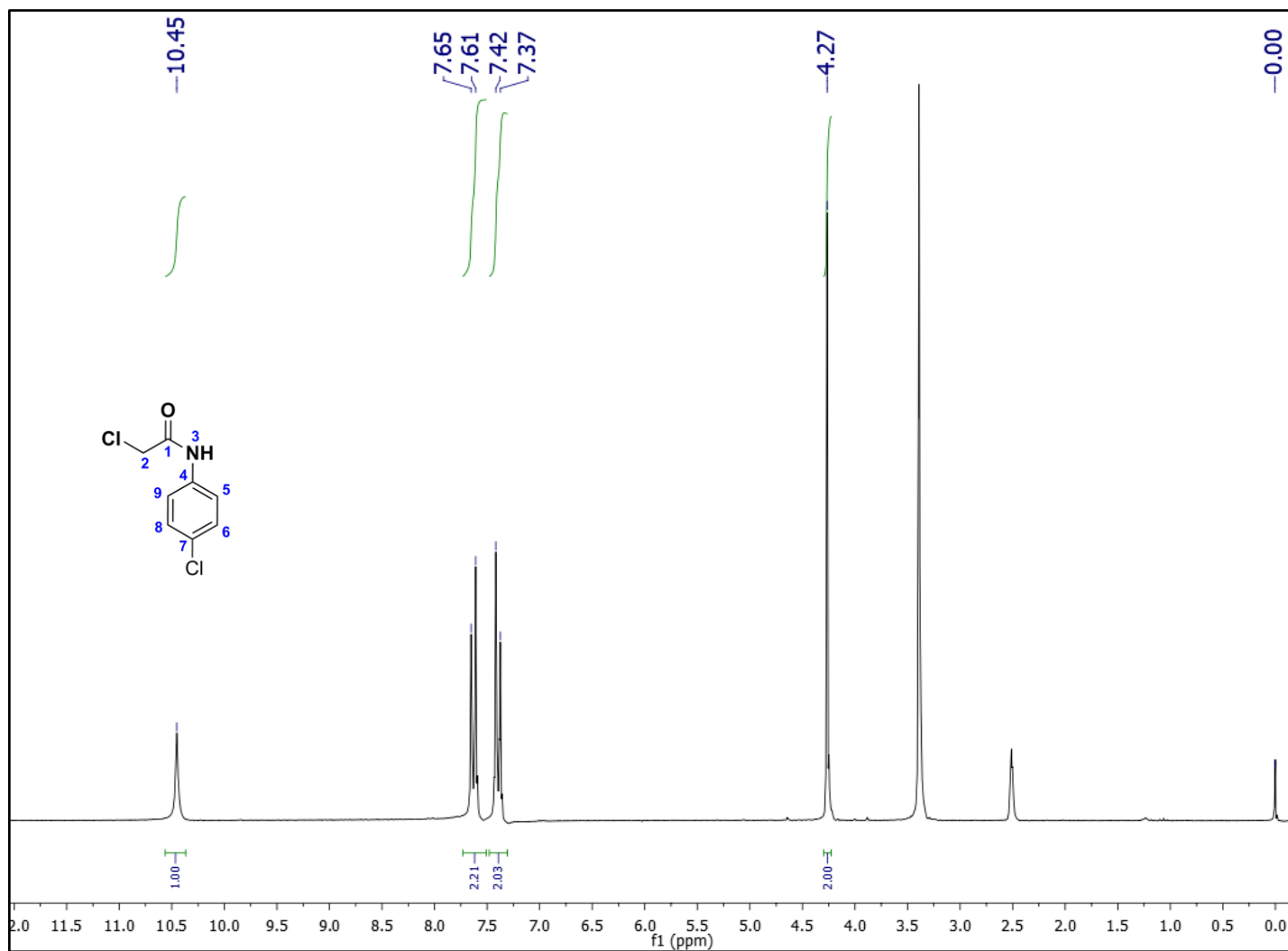


Espectro 15 – Espectro de RMN ^{13}C – APT ($\text{DMSO}-d_6$, 50 MHz) da acetamida A5.

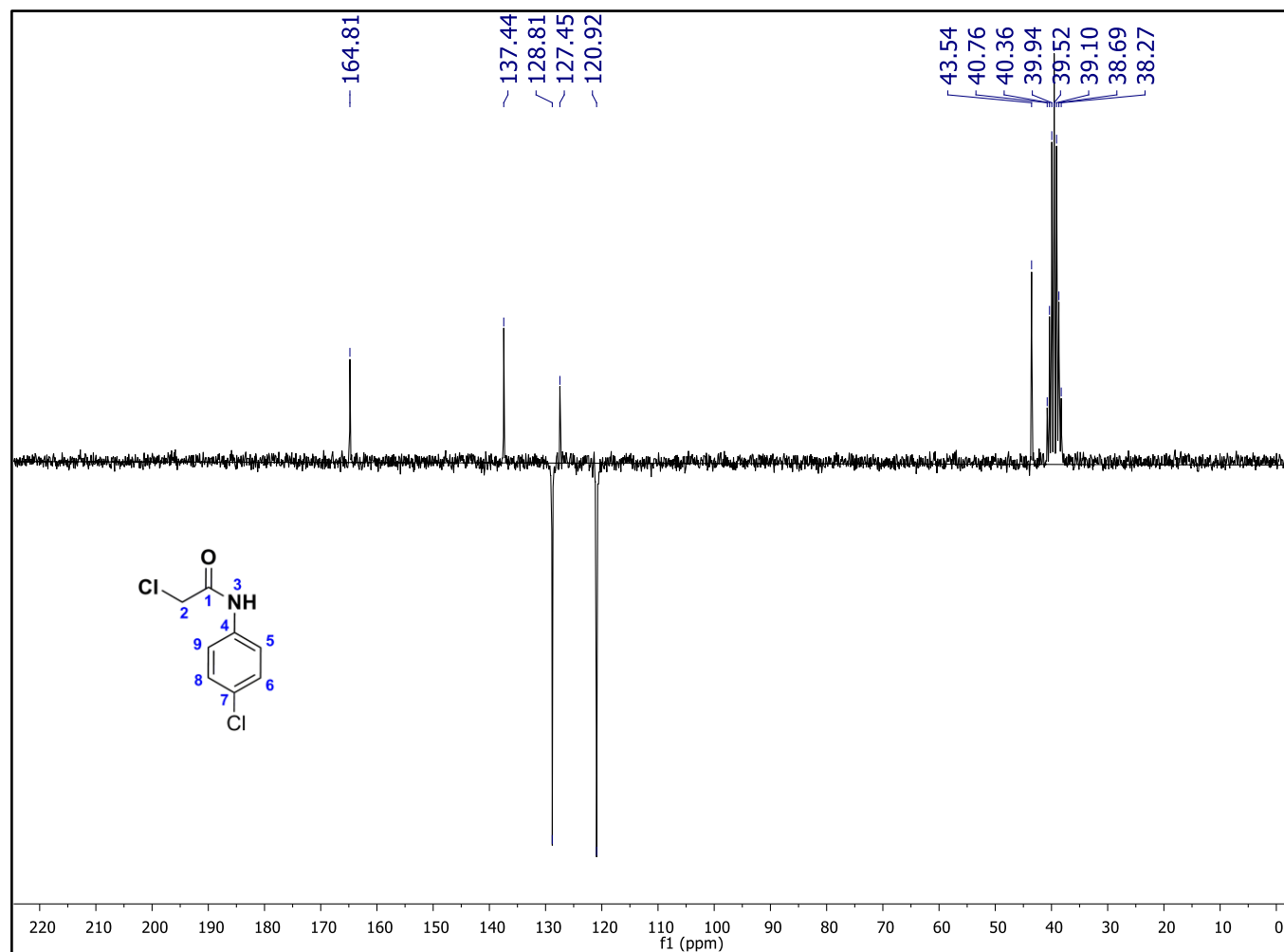
A6



Espectro 16 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A6.

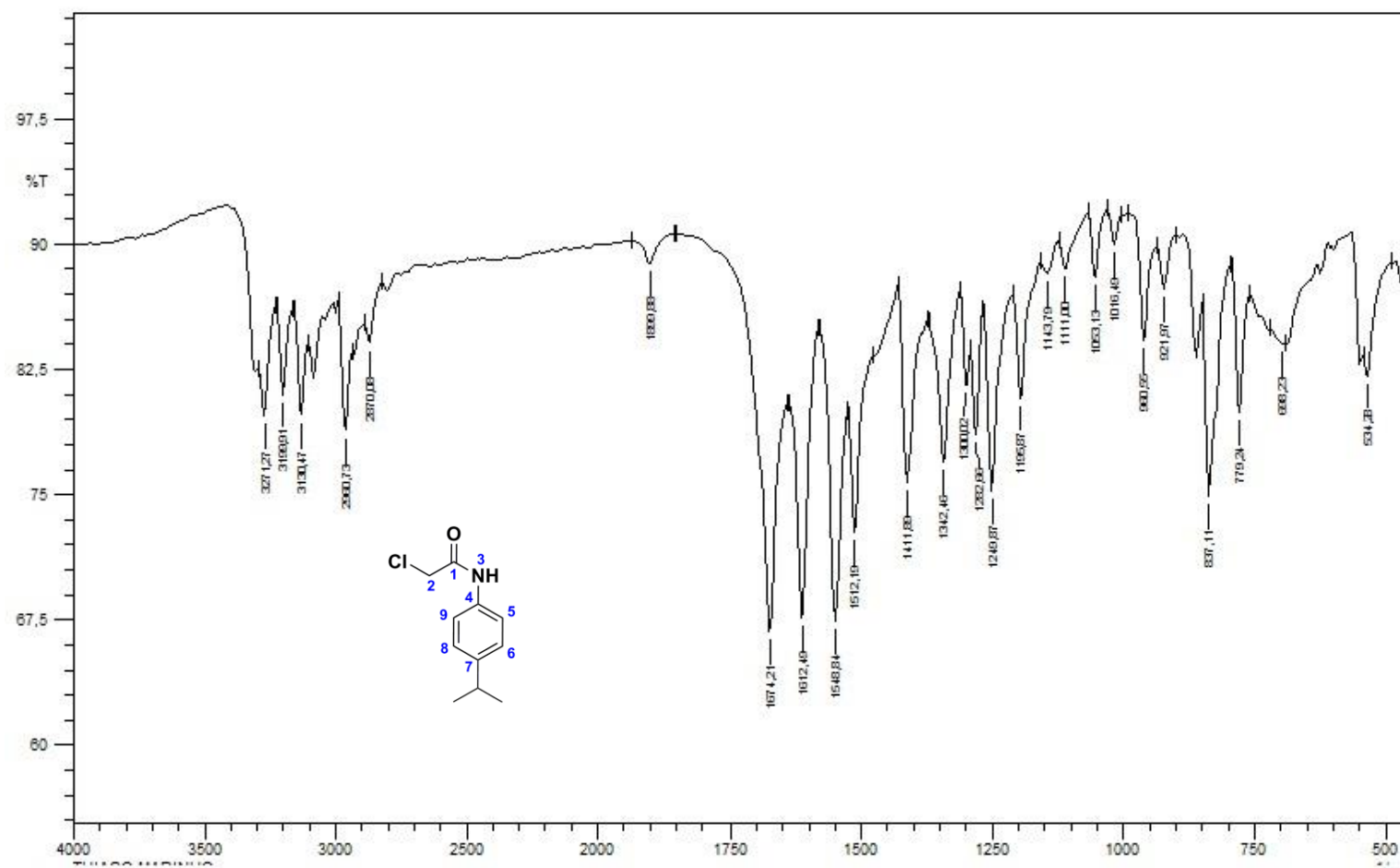


Espectro 17 – Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO}-d_6$, 200 MHz) da acetamida A6.

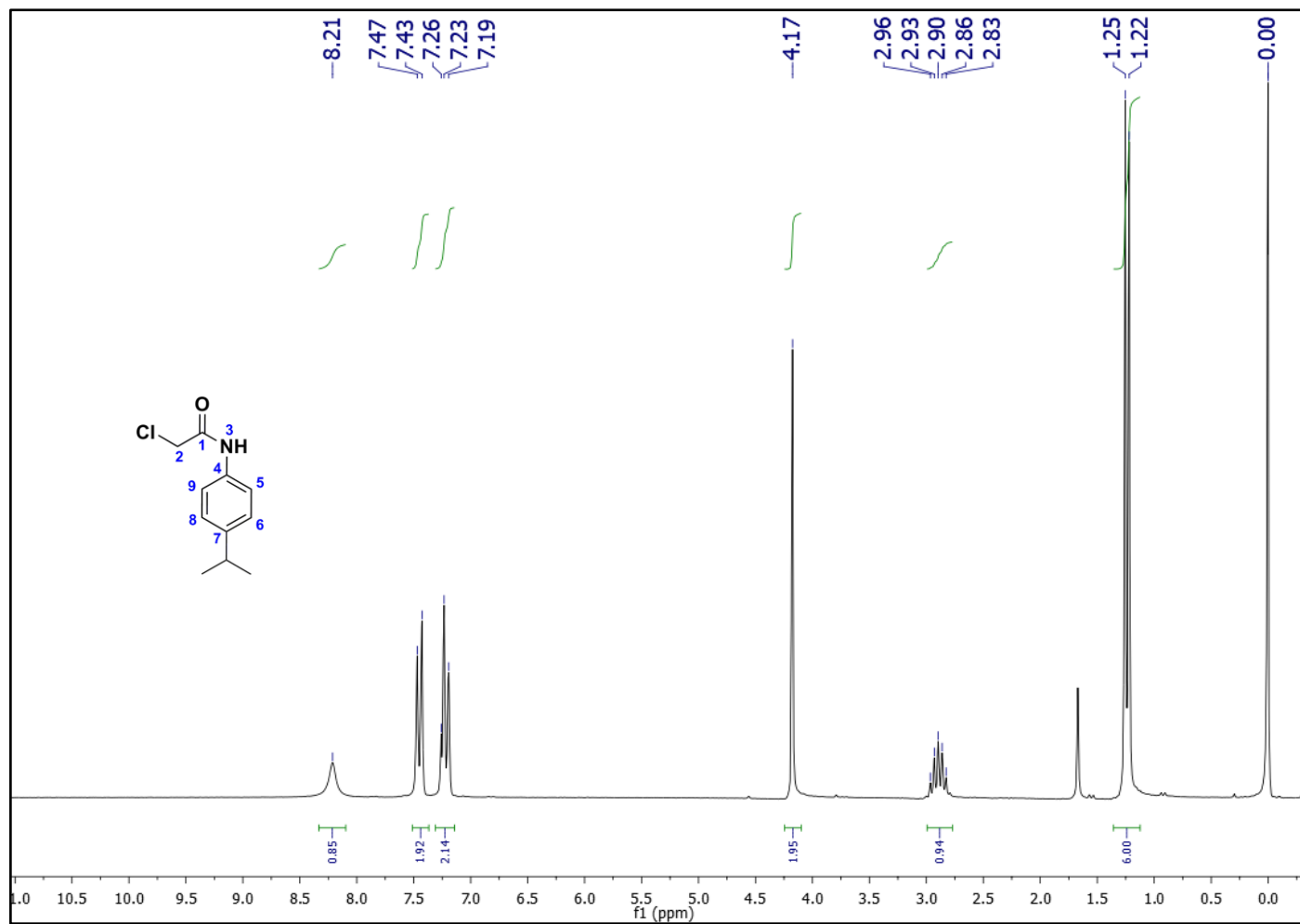


Espectro 18 - Espectro de RMN ¹³C – APT (DMSO-*d*₆, 50 MHz) da acetamida A6.

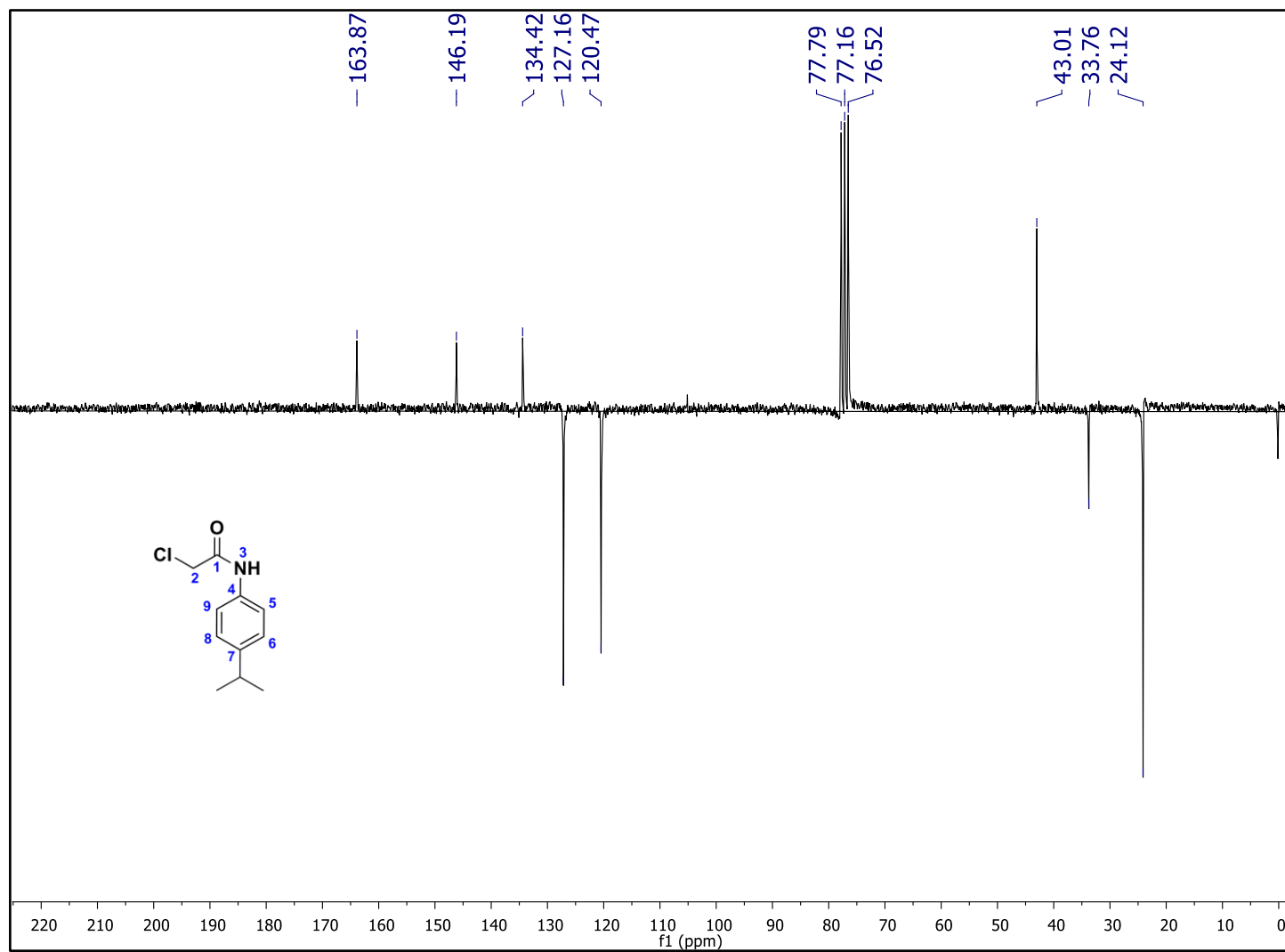
A7



Espectro 19 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A7.

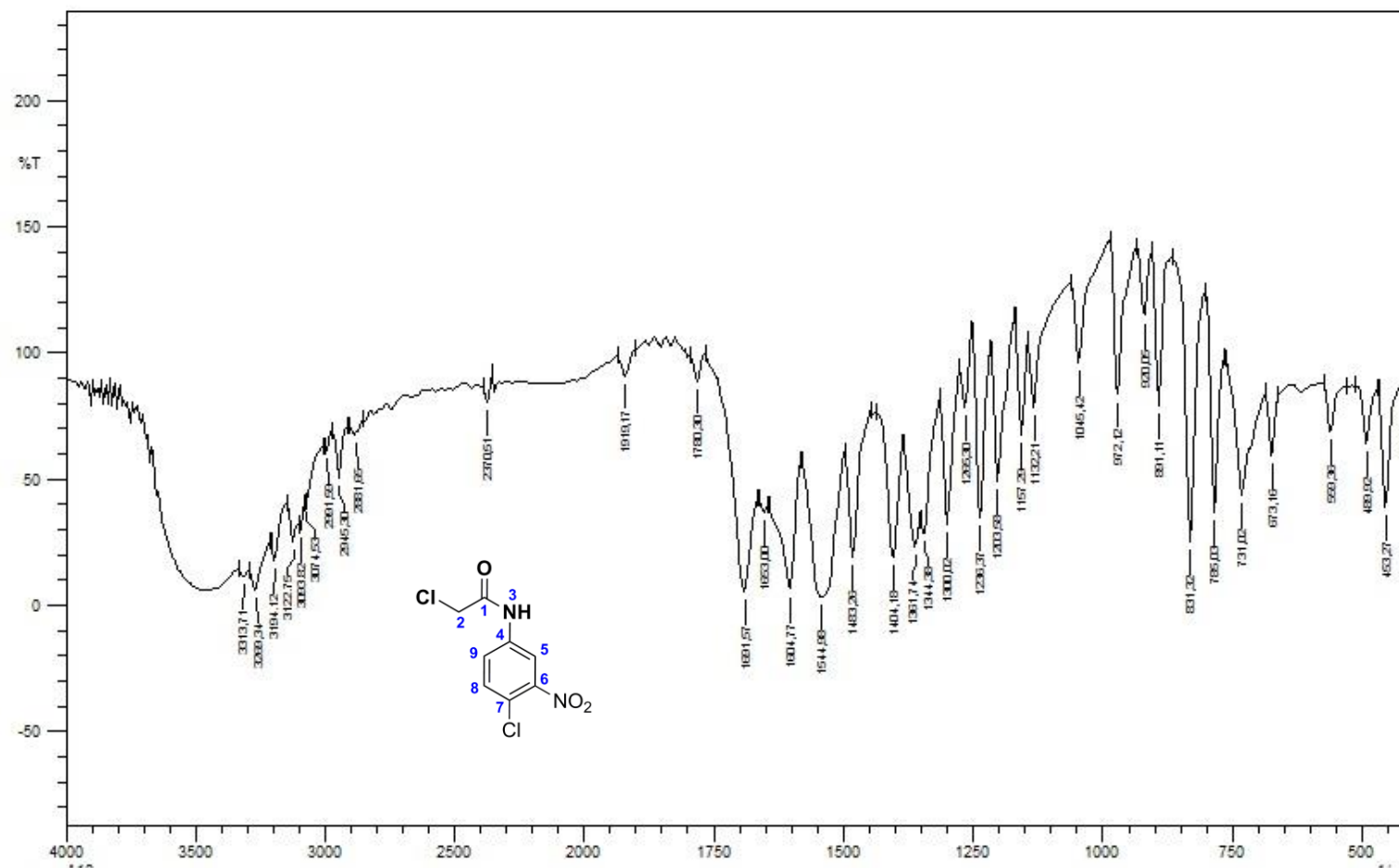


Espectro 20 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 200 MHz) da acetamida A7.

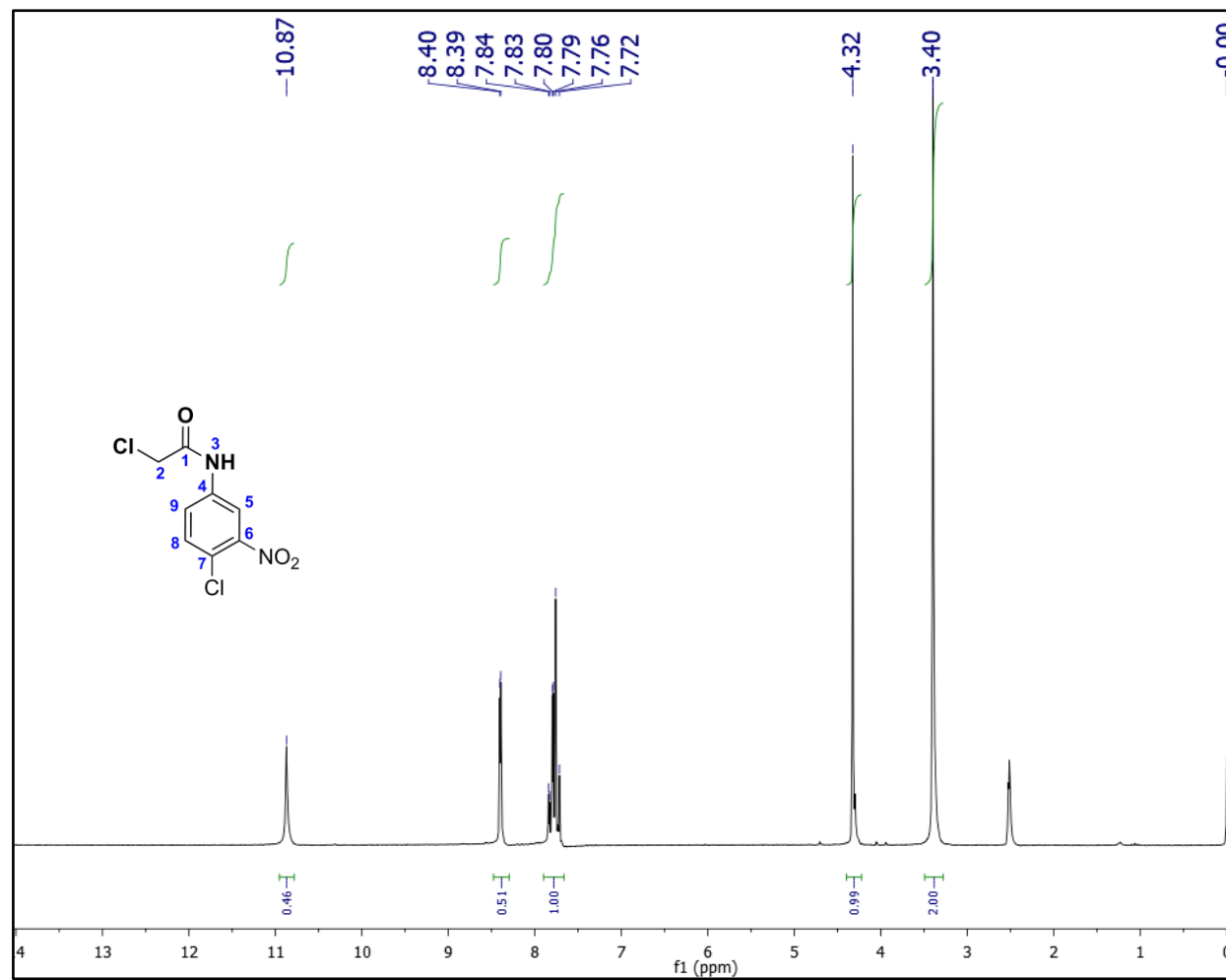


Espectro 21 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 50 MHz) da acetamida A7.

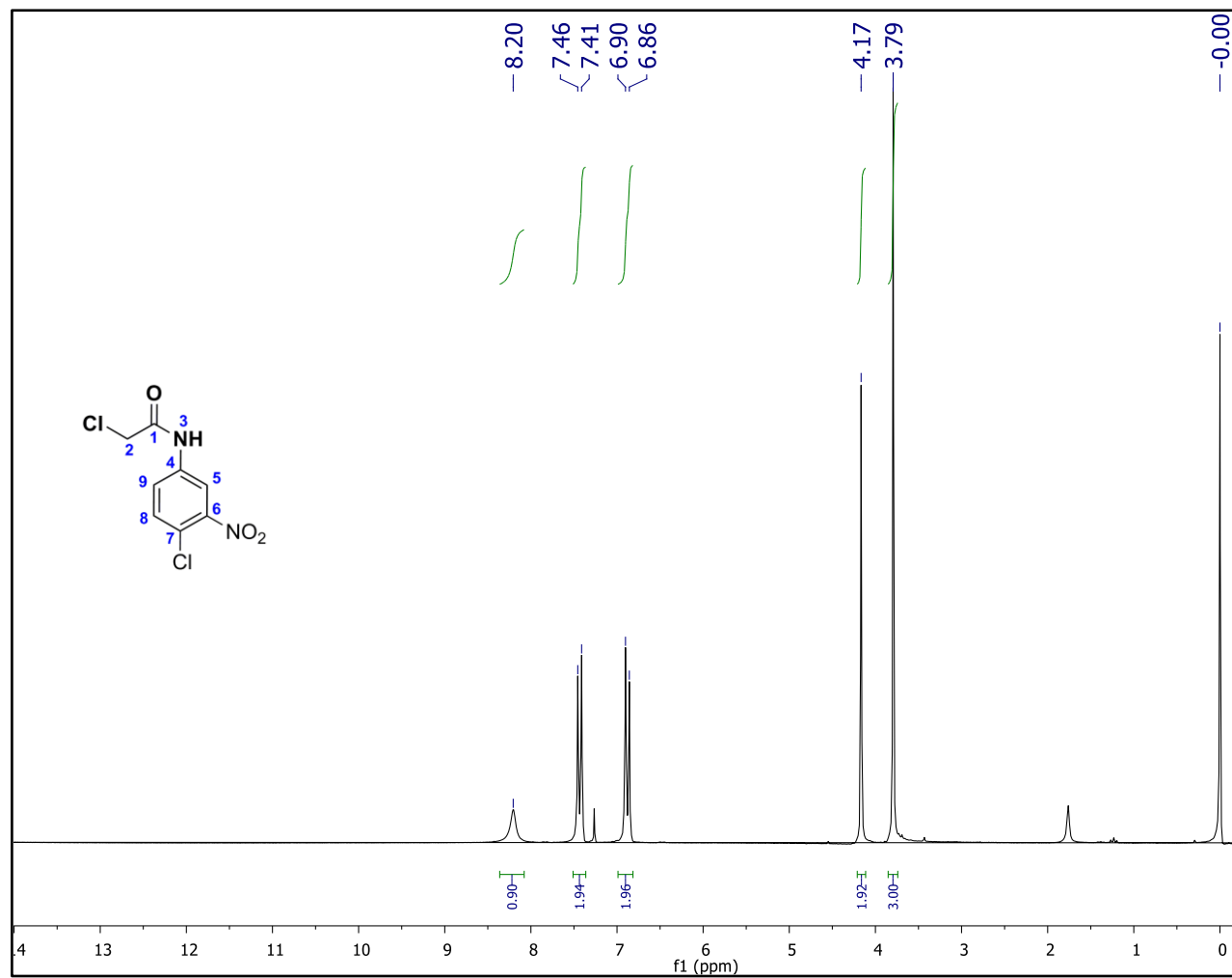
A8



Espectro 22 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A8.

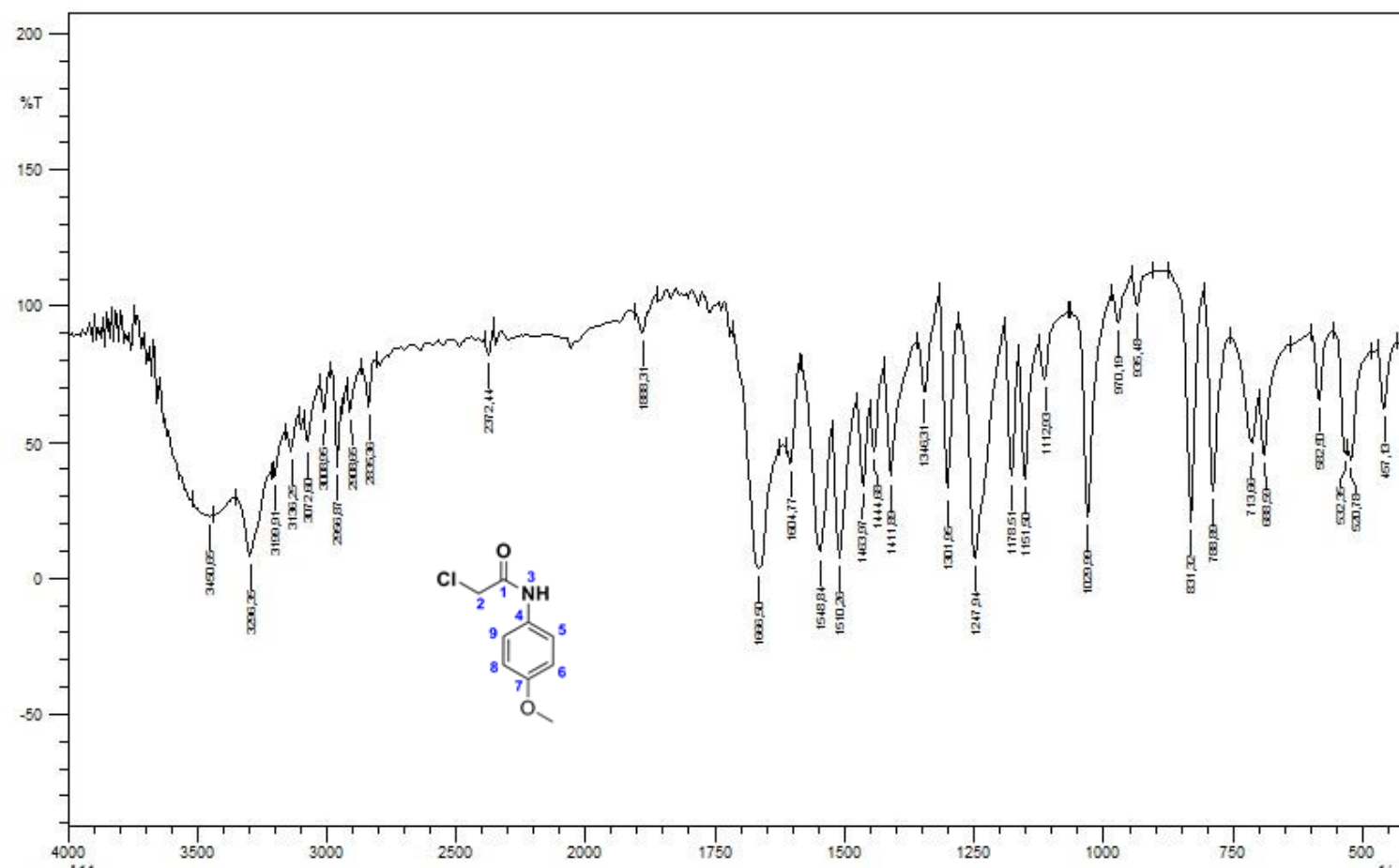


Espectro 22 – Espectro de RMN ^1H ($\text{DMSO-}d_6$, 200 MHz) da acetamida A8.

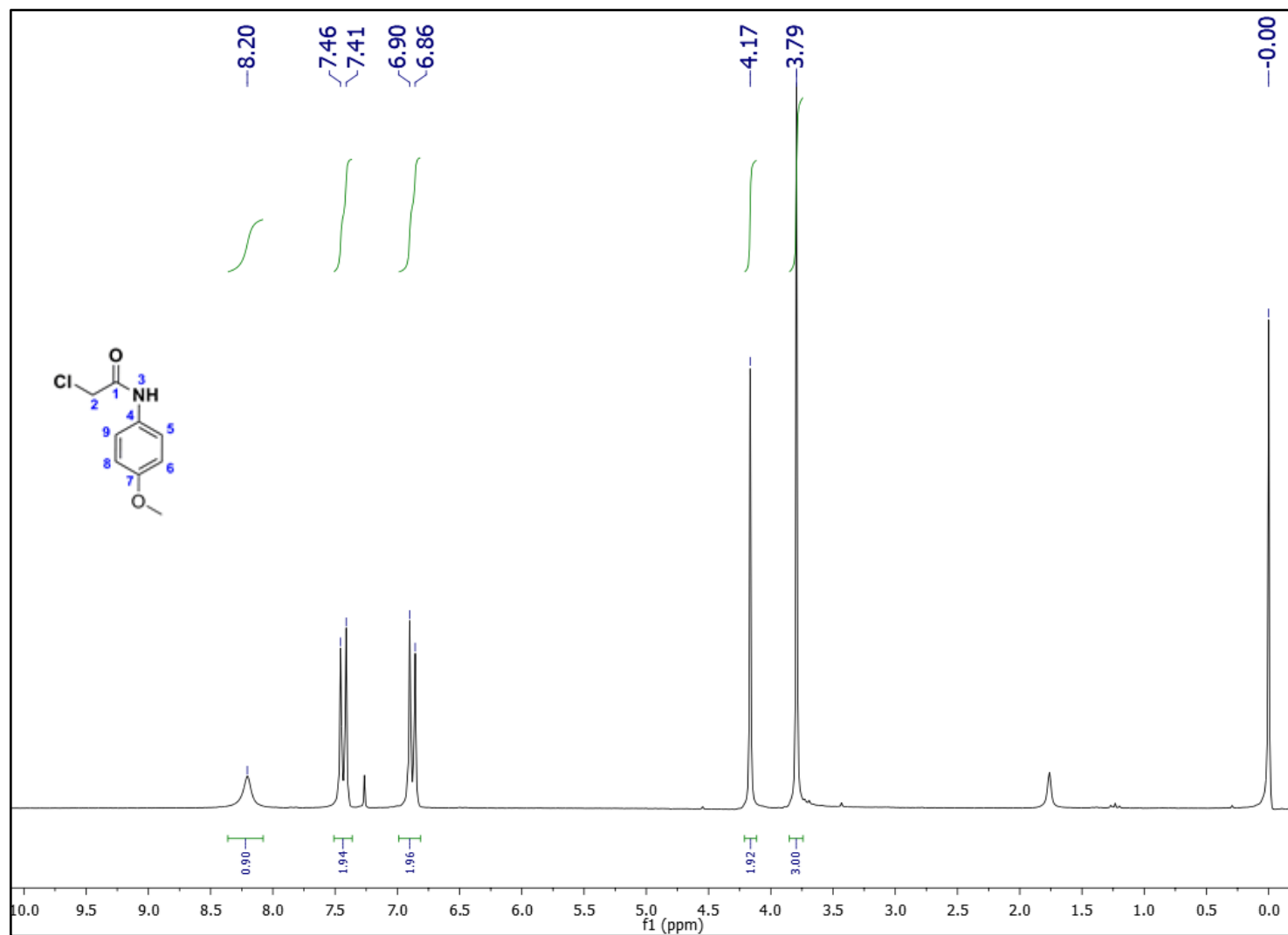


Espectro 24 – Espectro de RMN ¹³C – APT (DMSO-d₆, 50 MHz) da acetamida A8.

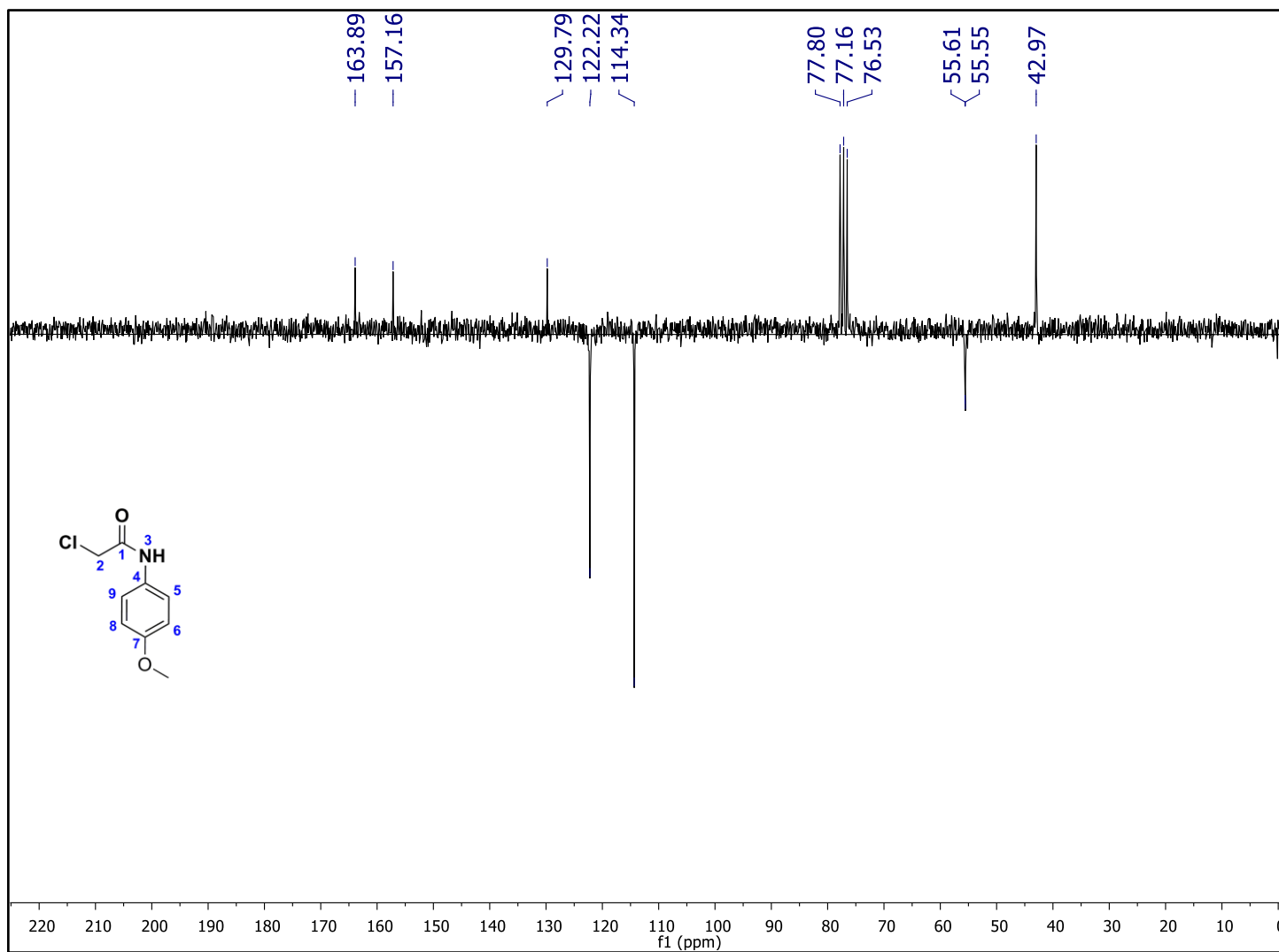
A9



Espectro 25 – Espectro de IV (KBr) da acetamida A9.

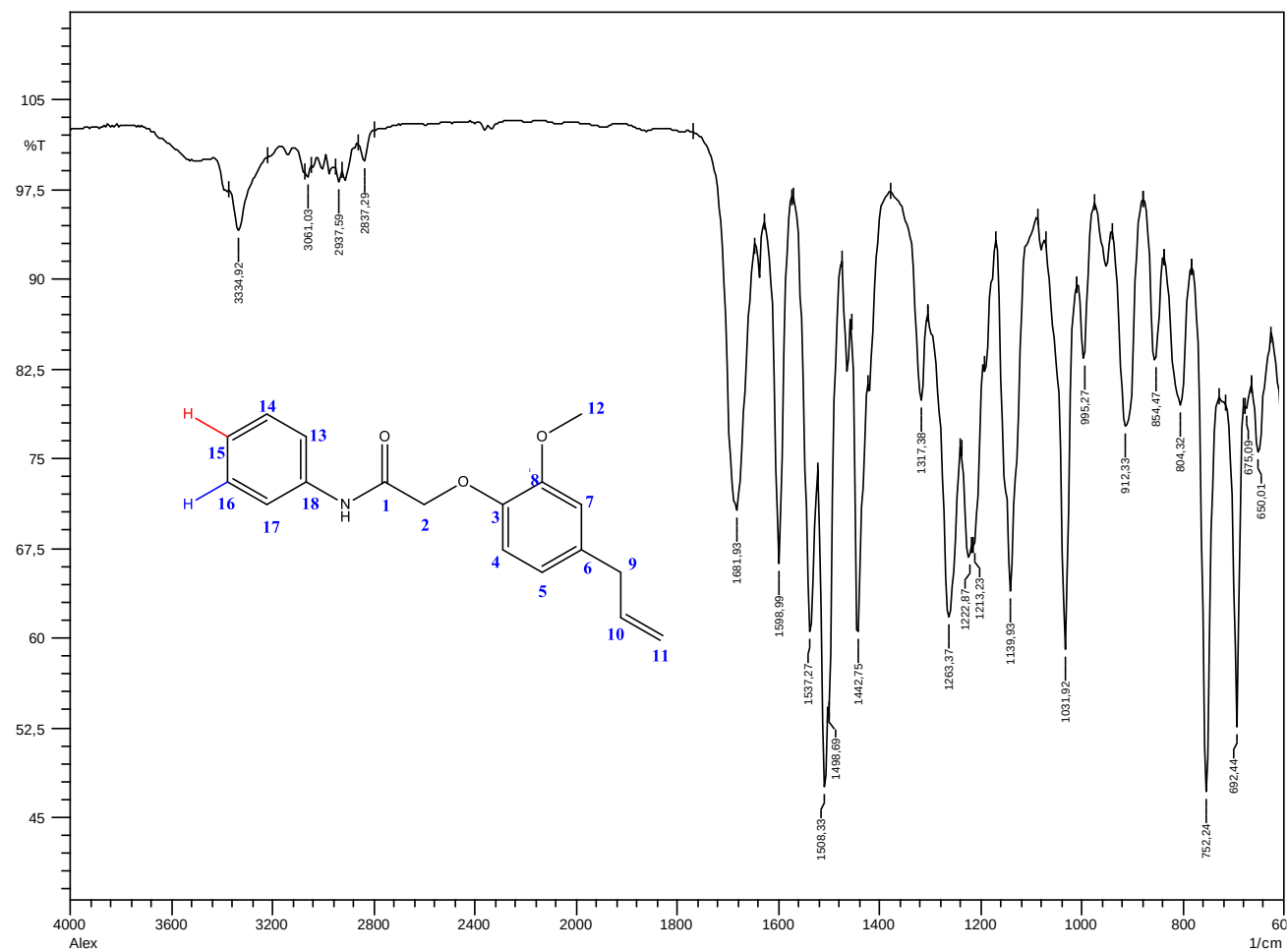


Espectro 26 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 200 MHz) da acetamida A9.

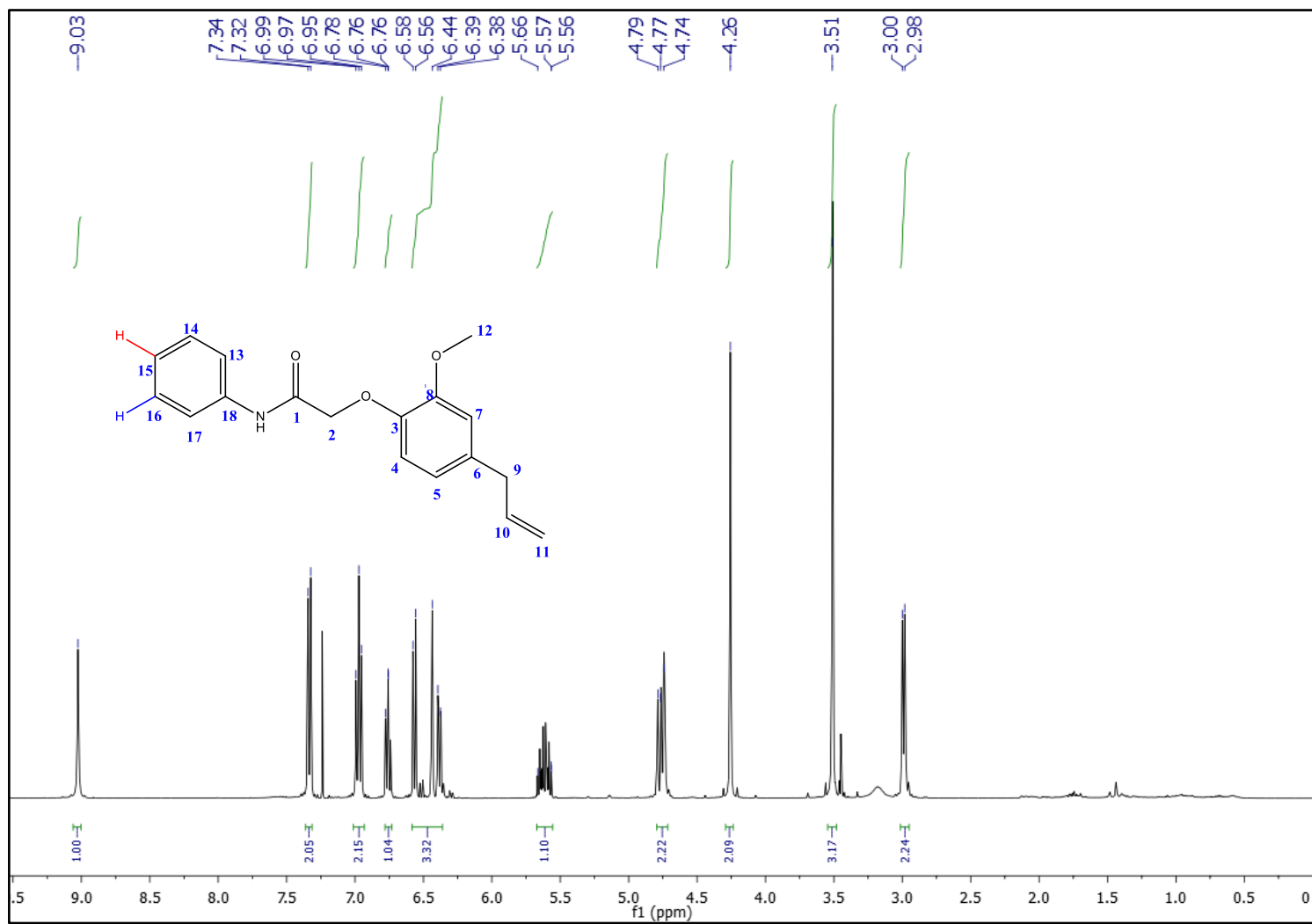


Espectro 27 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 50 MHz) da acetamida A9.

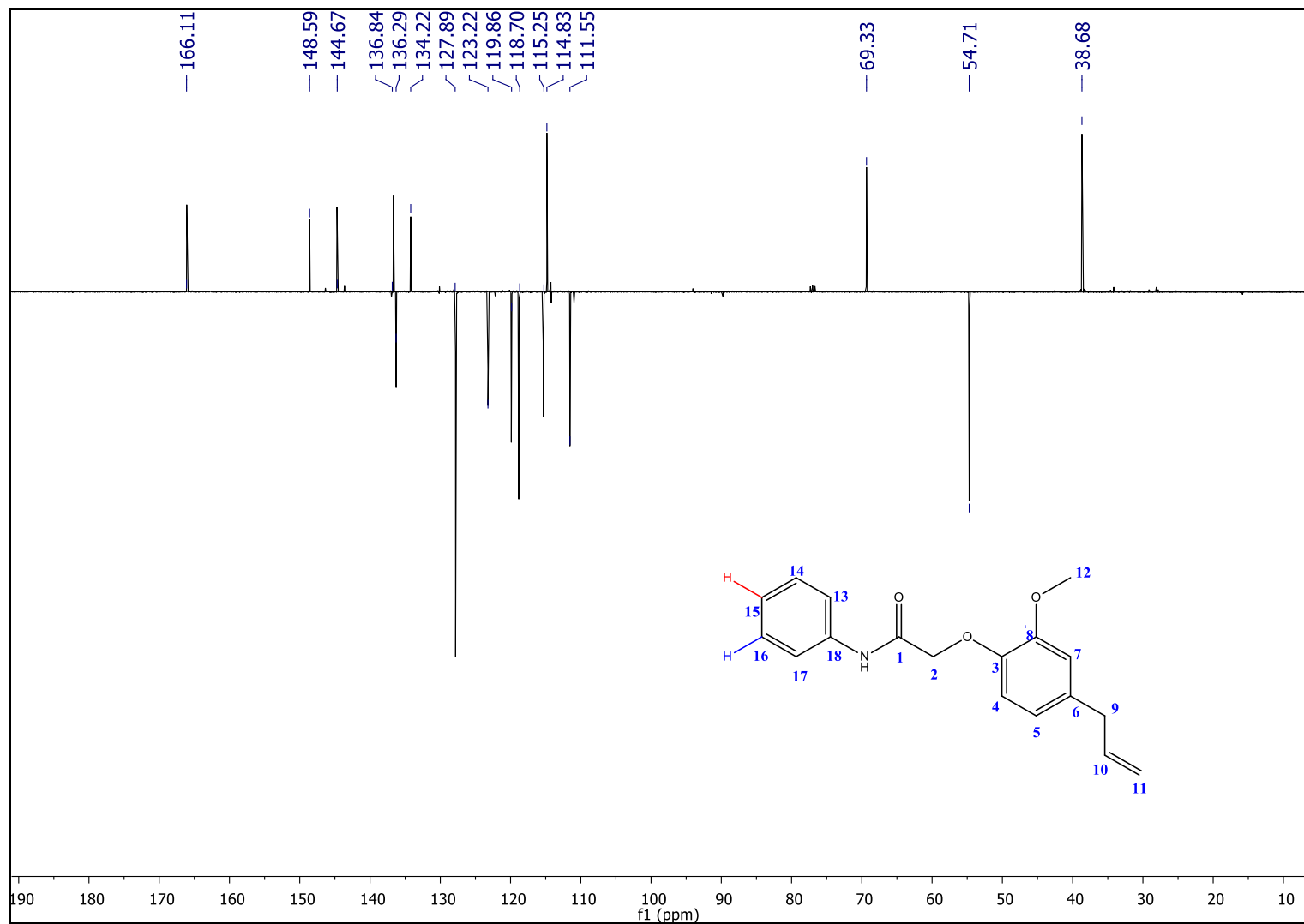
Derivados do Eugenol EA1



Espectro 28 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA1.

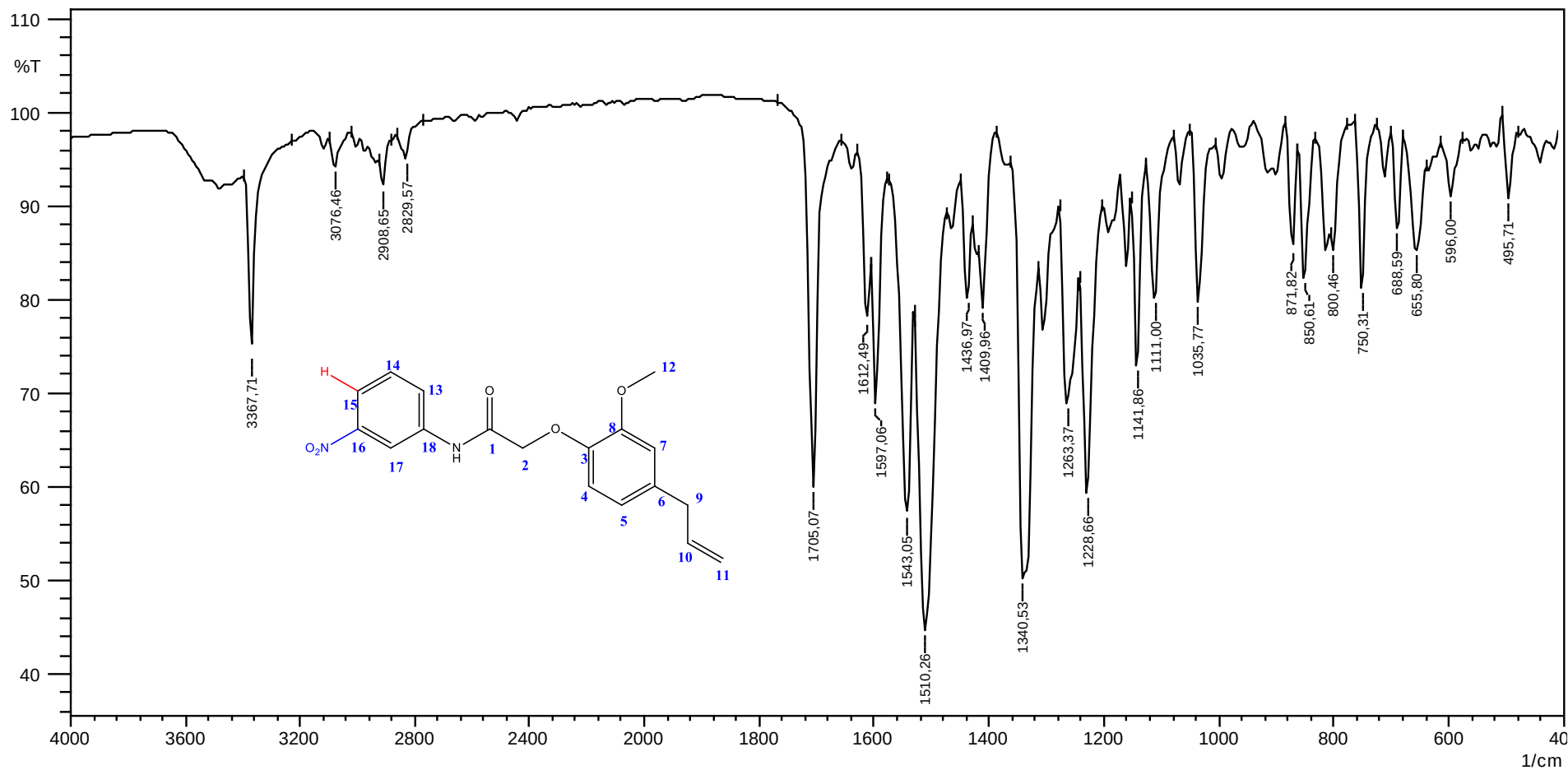


Espectro 29 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA1.

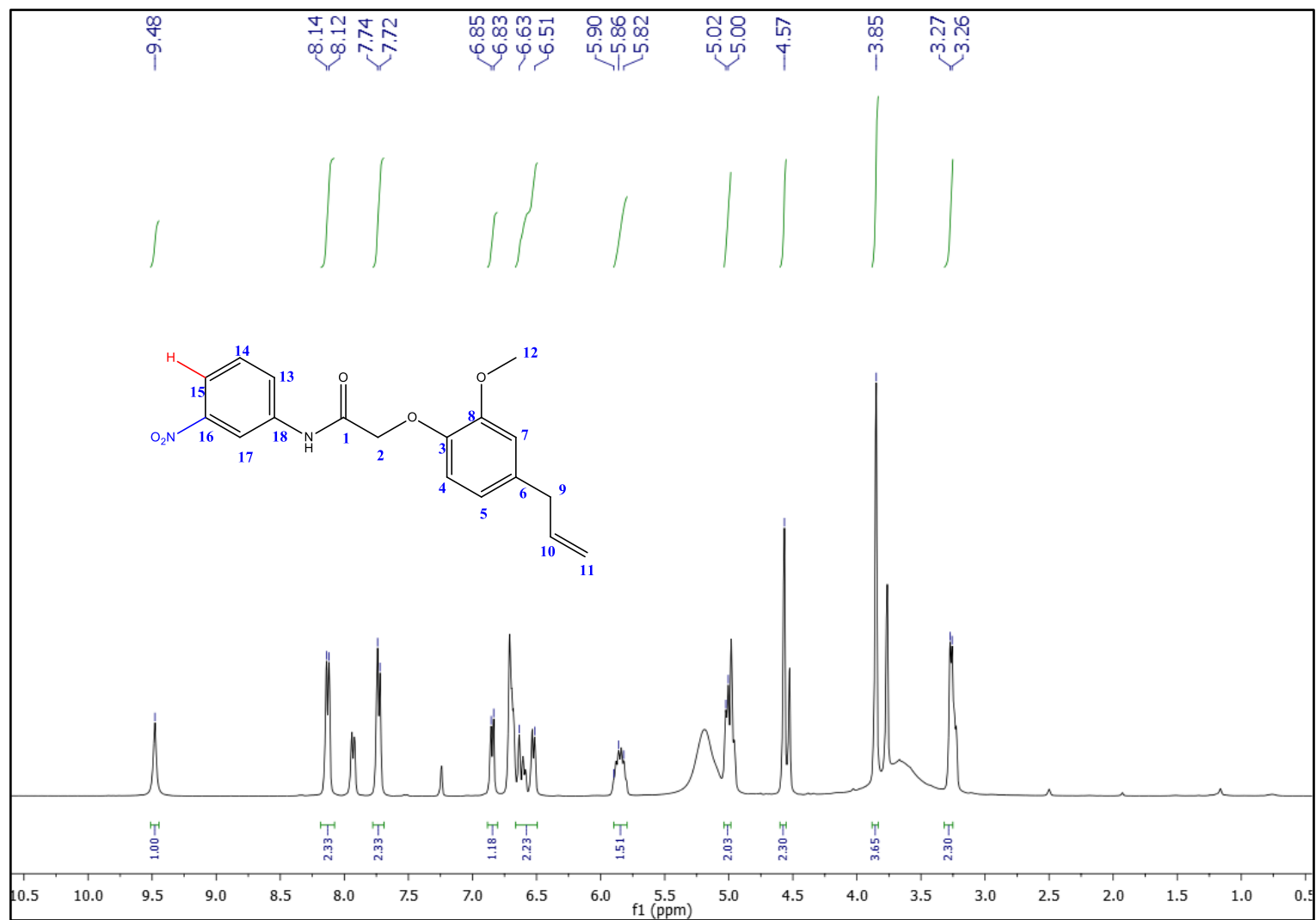


Espectro 30 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA1.

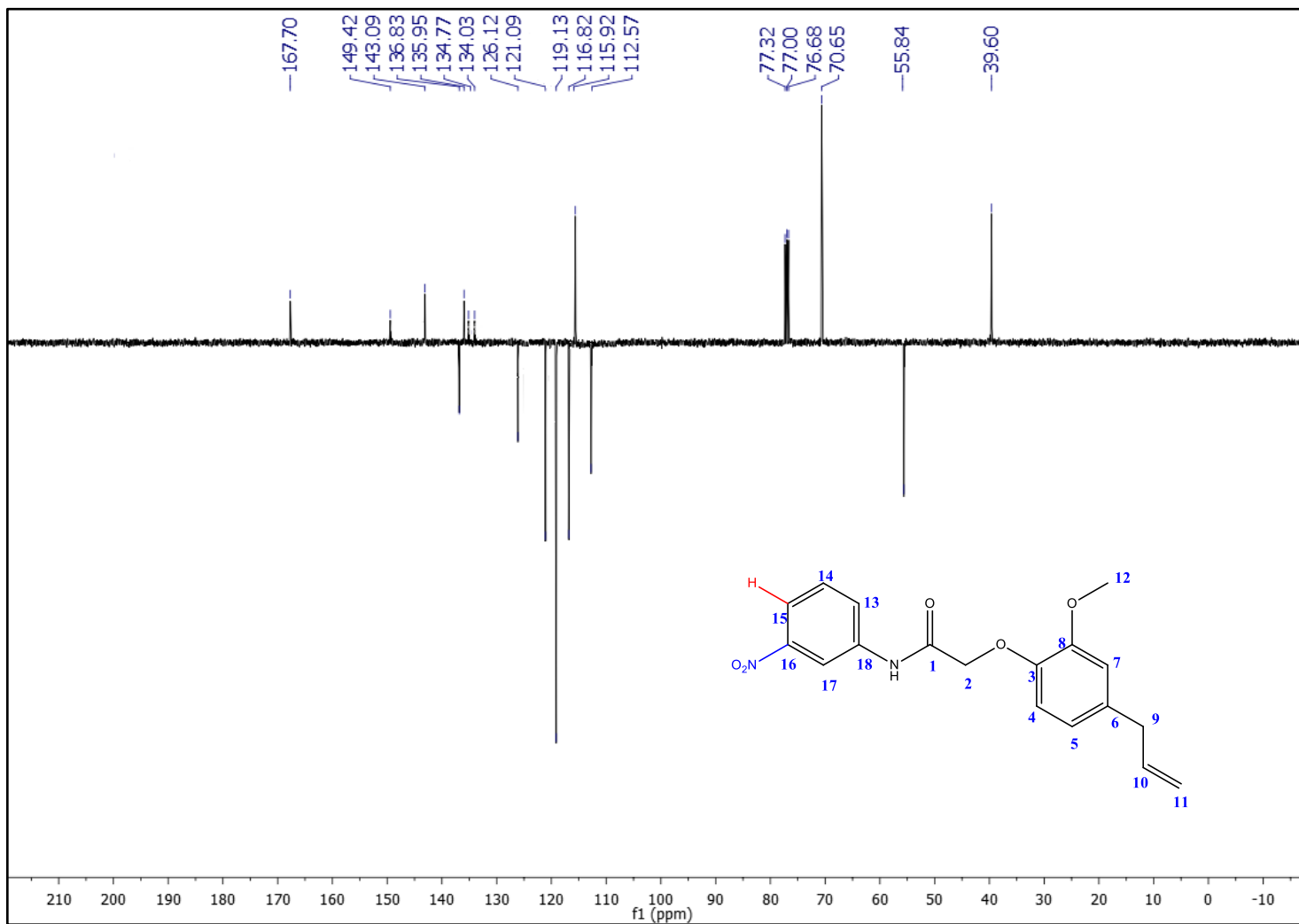
EA2



Espectro 31 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA2.

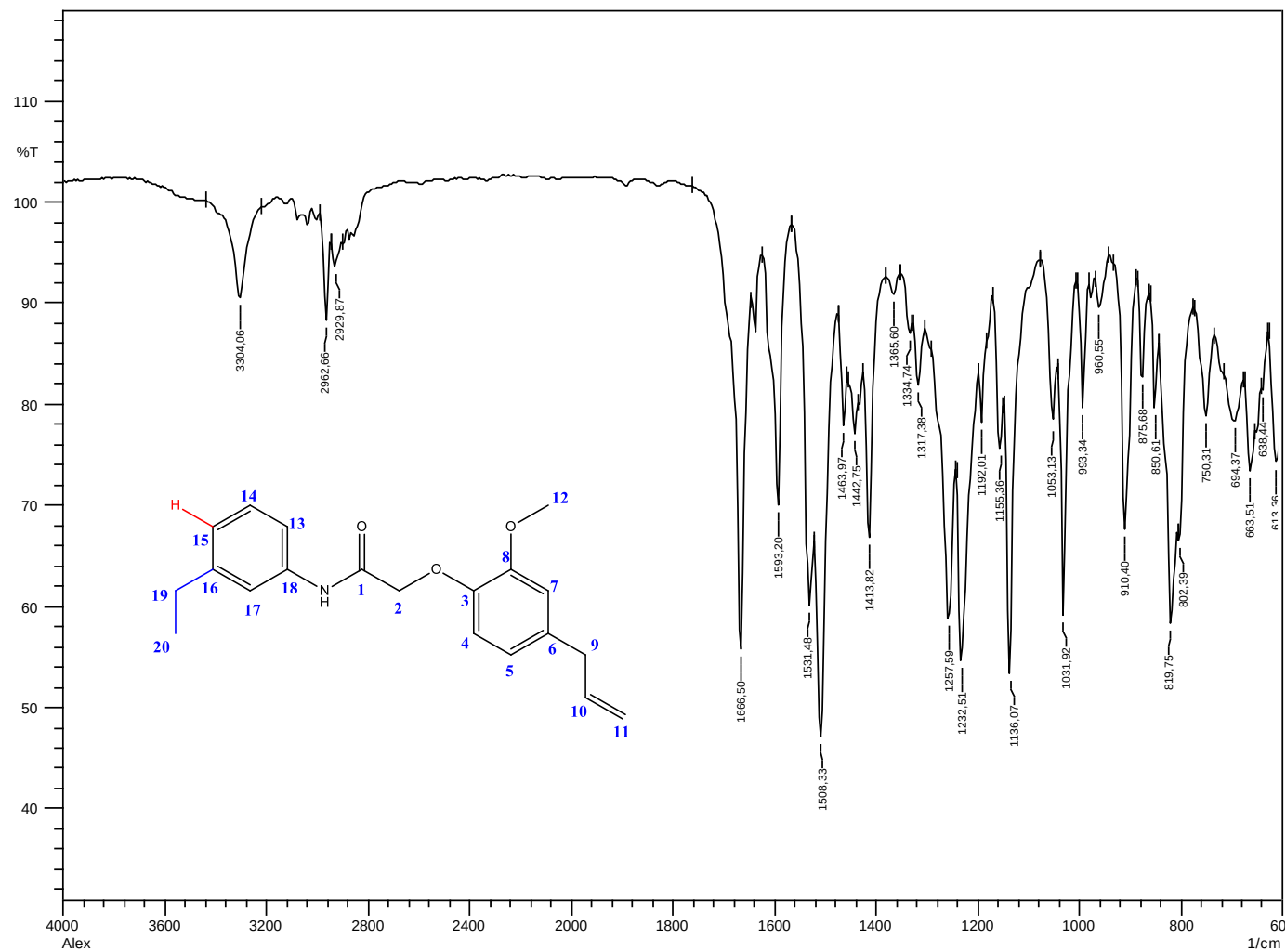


Espectro 32 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA2.

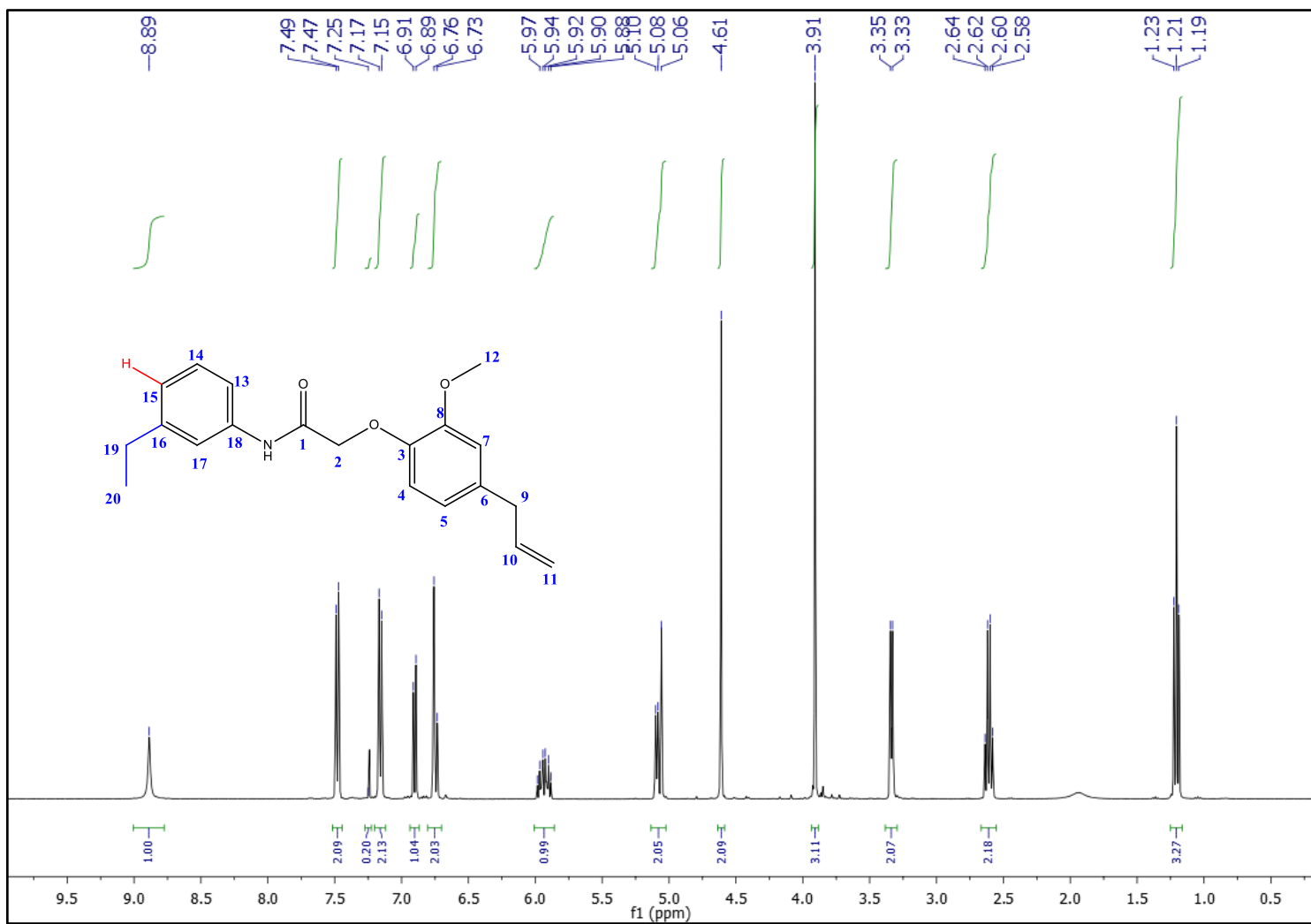


Espectro 33 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA2.

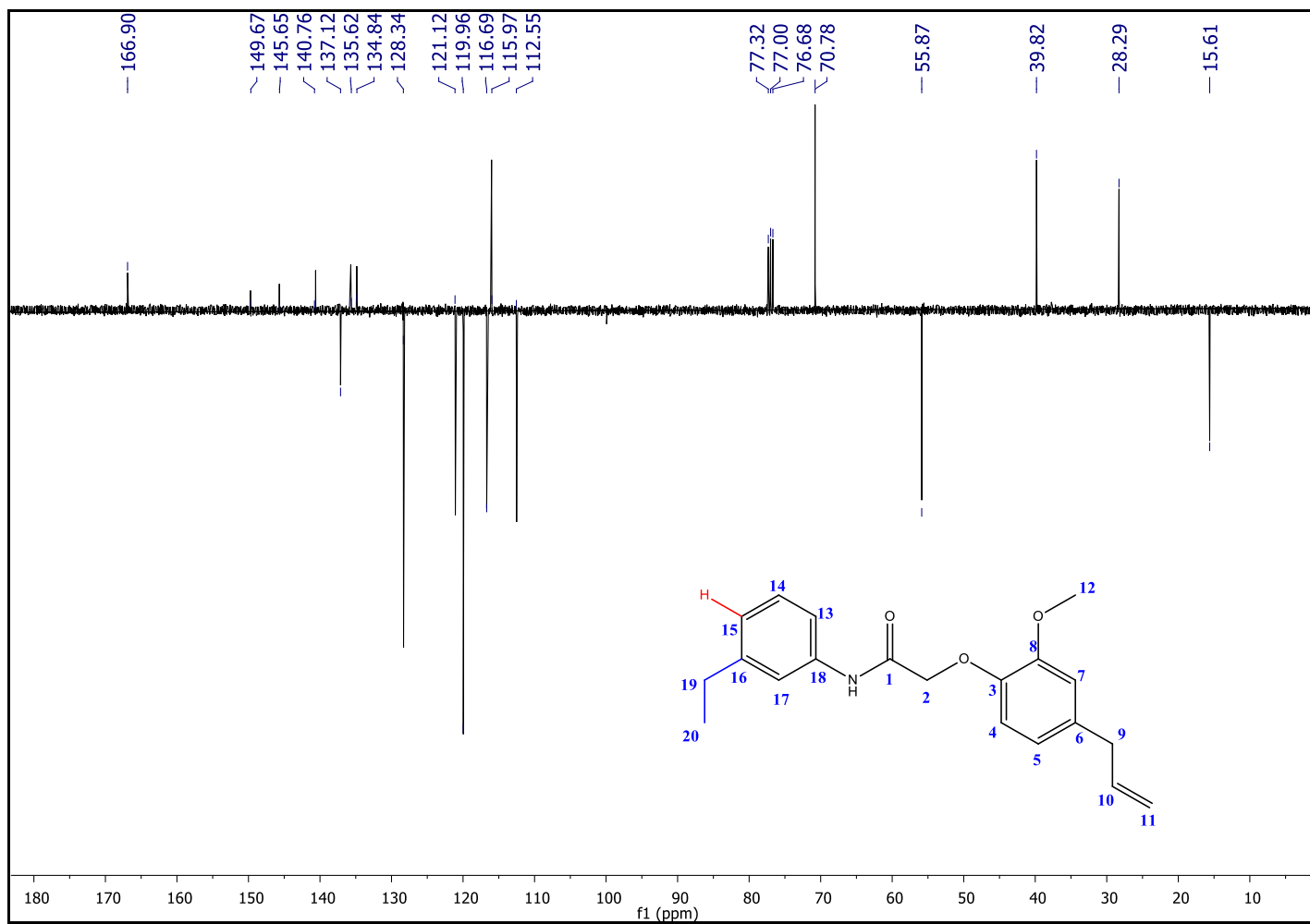
EA3



Espectro 34 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA3.

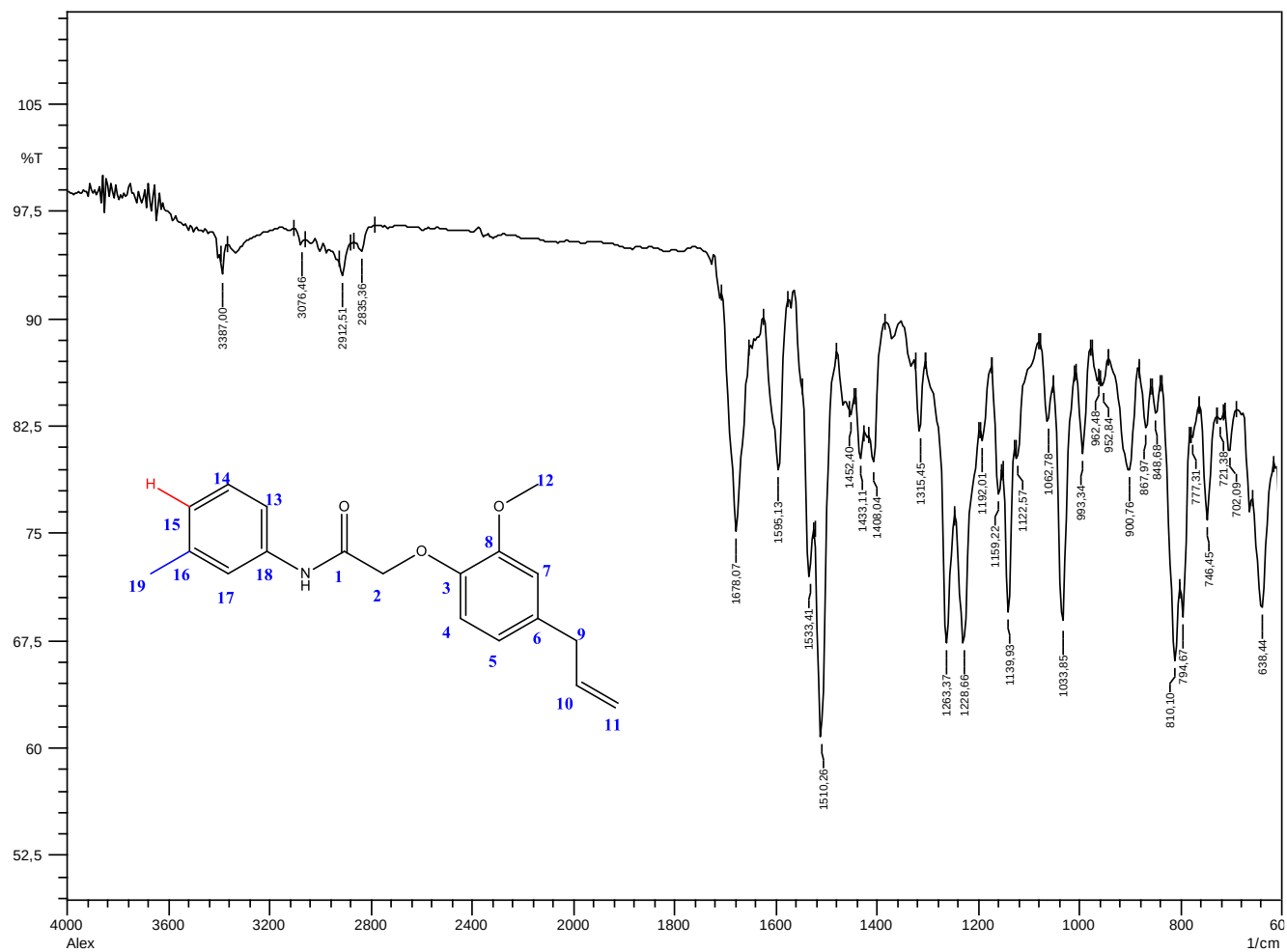


Espectro 35 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA3.

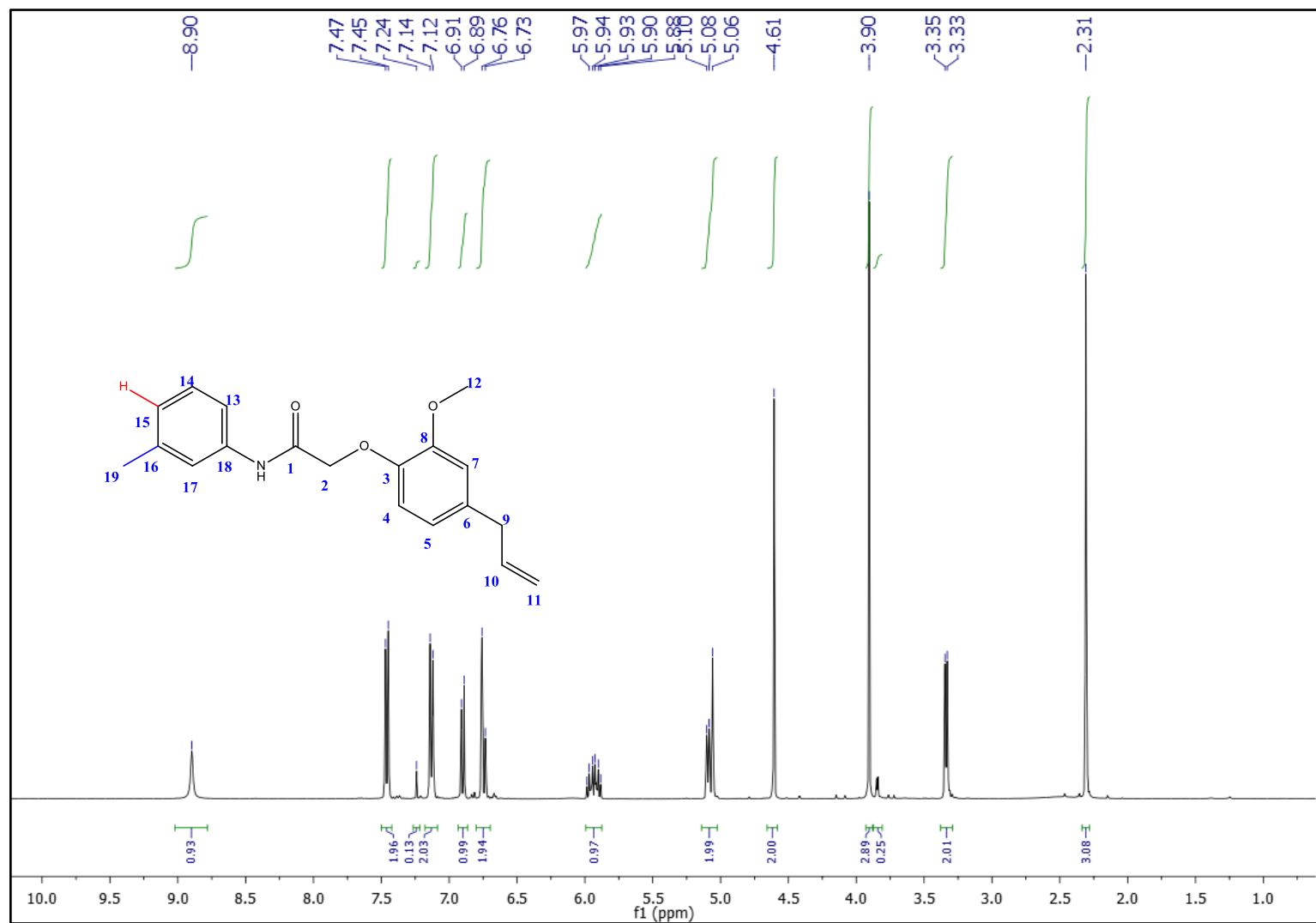


Espectro 36 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA3.

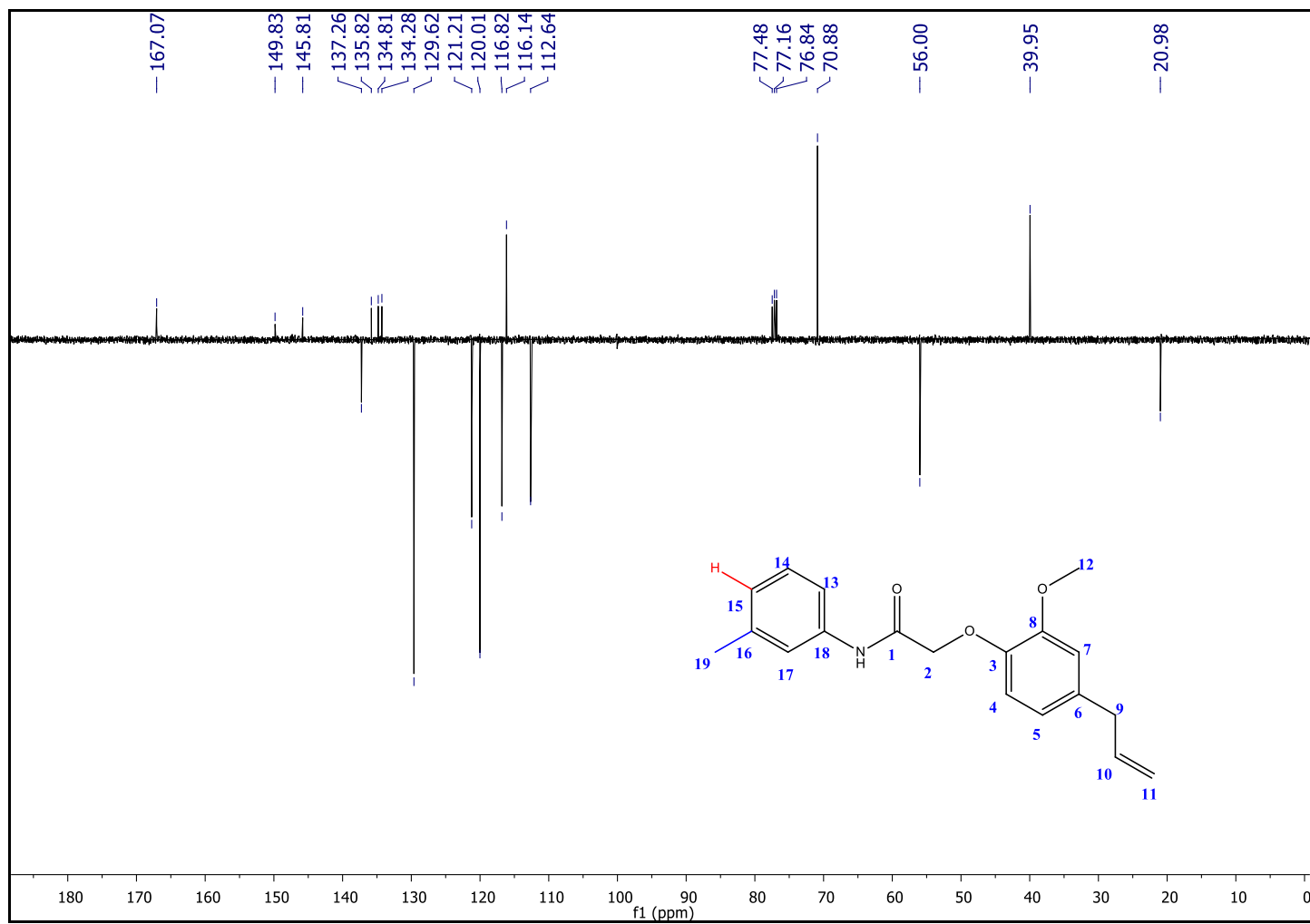
EA4



Espectro 37 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA4.

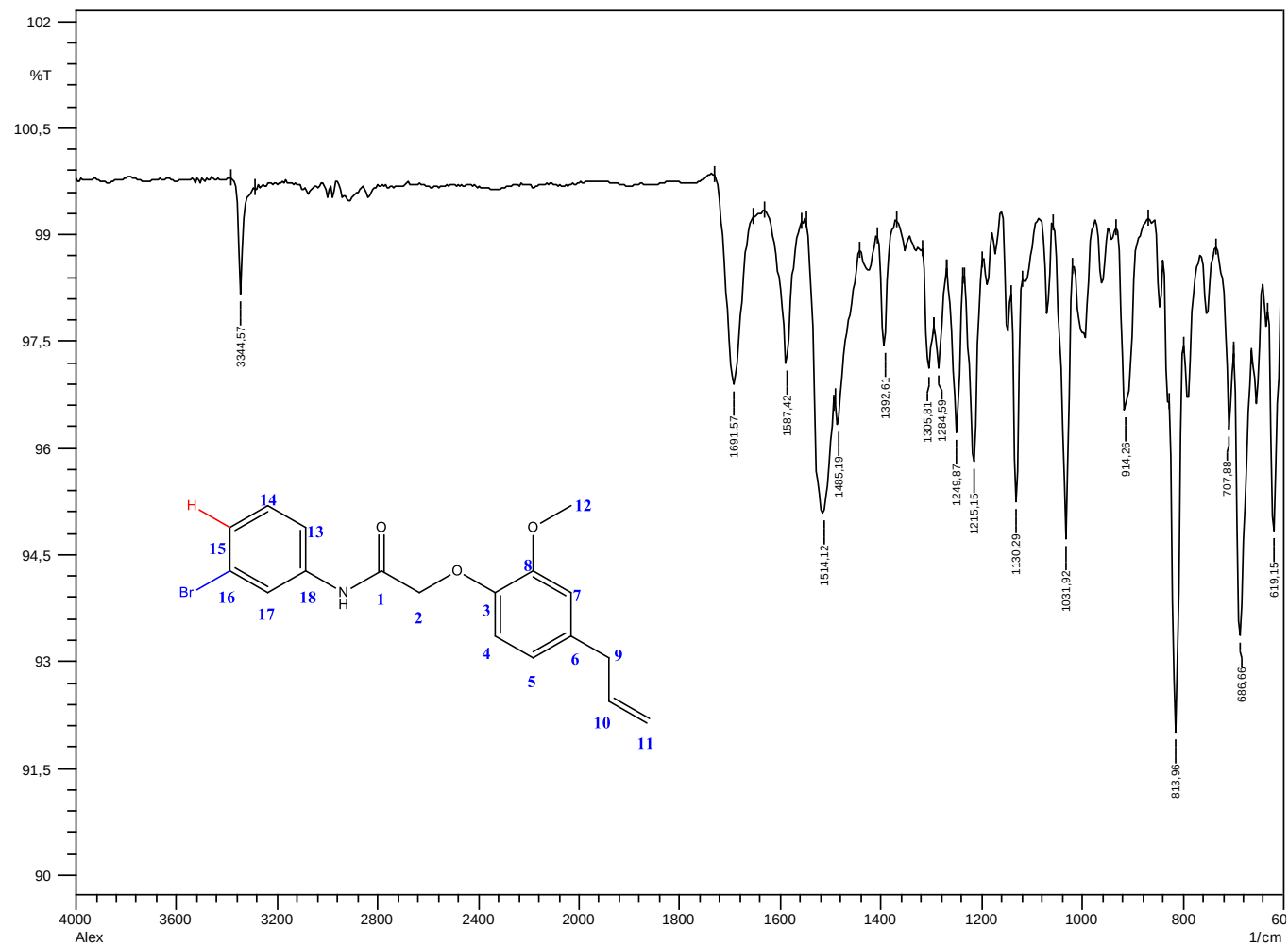


Espectro 38 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA4.

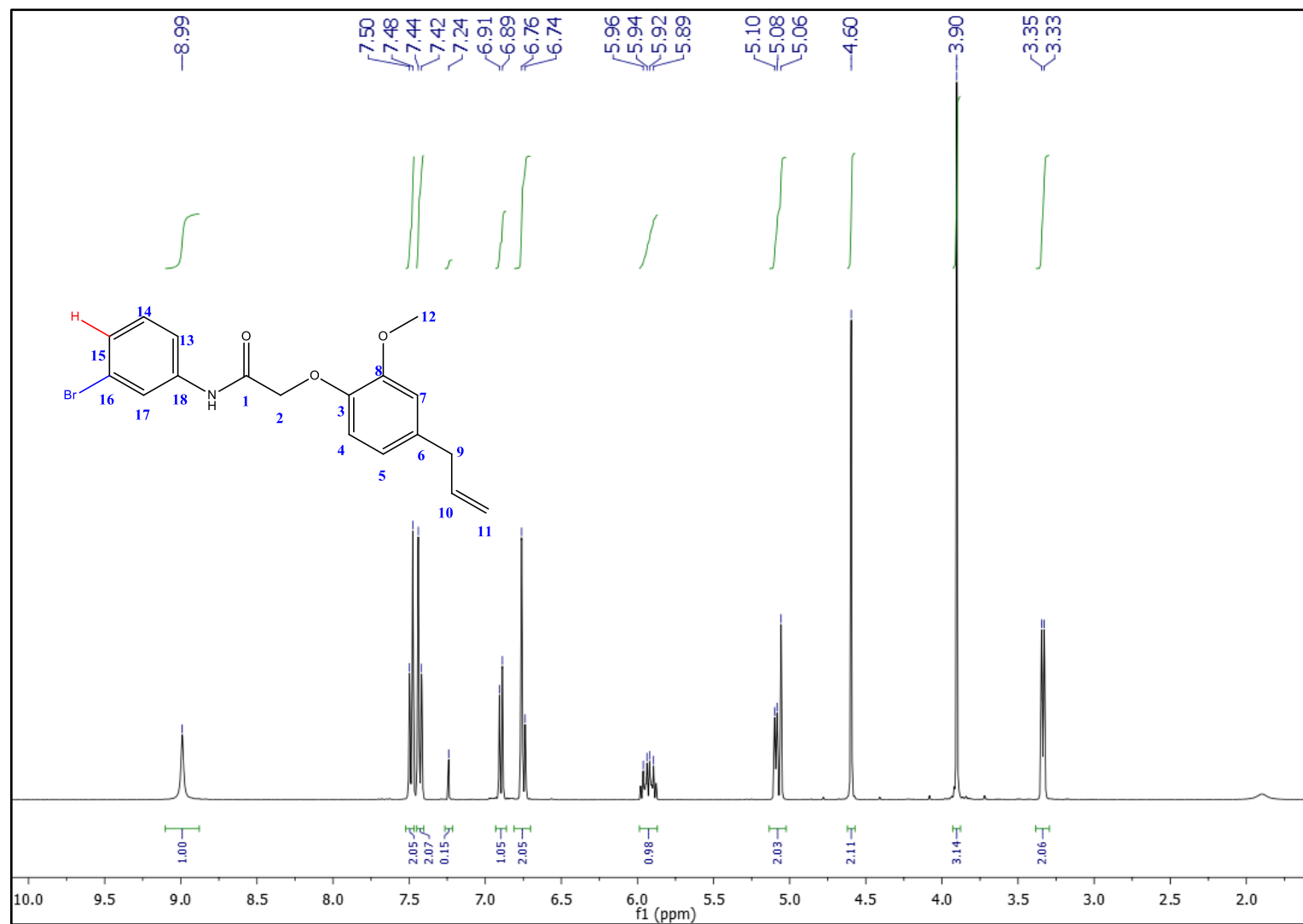


Espectro 39 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA4.

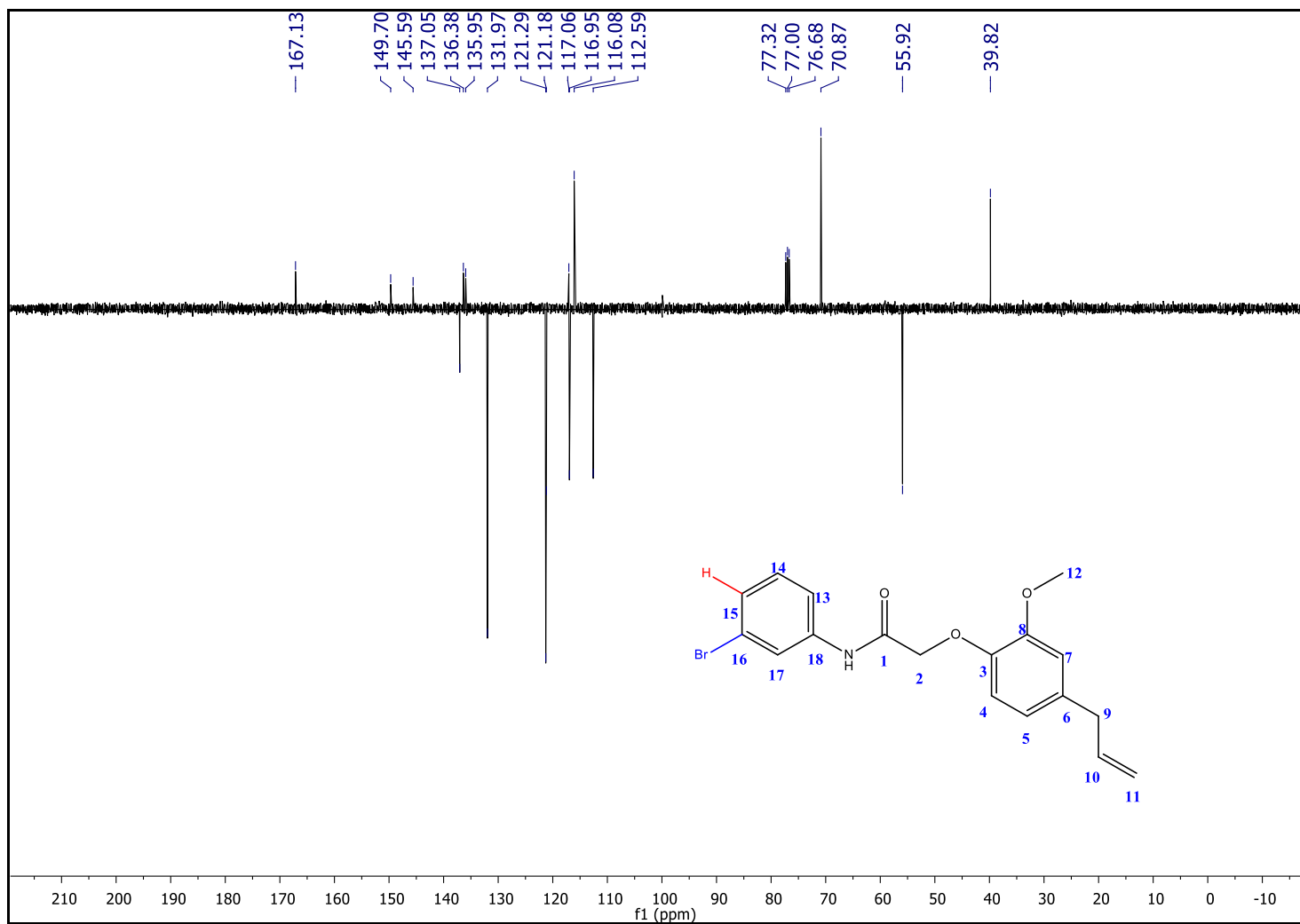
EA5



Espectro 40 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA5.

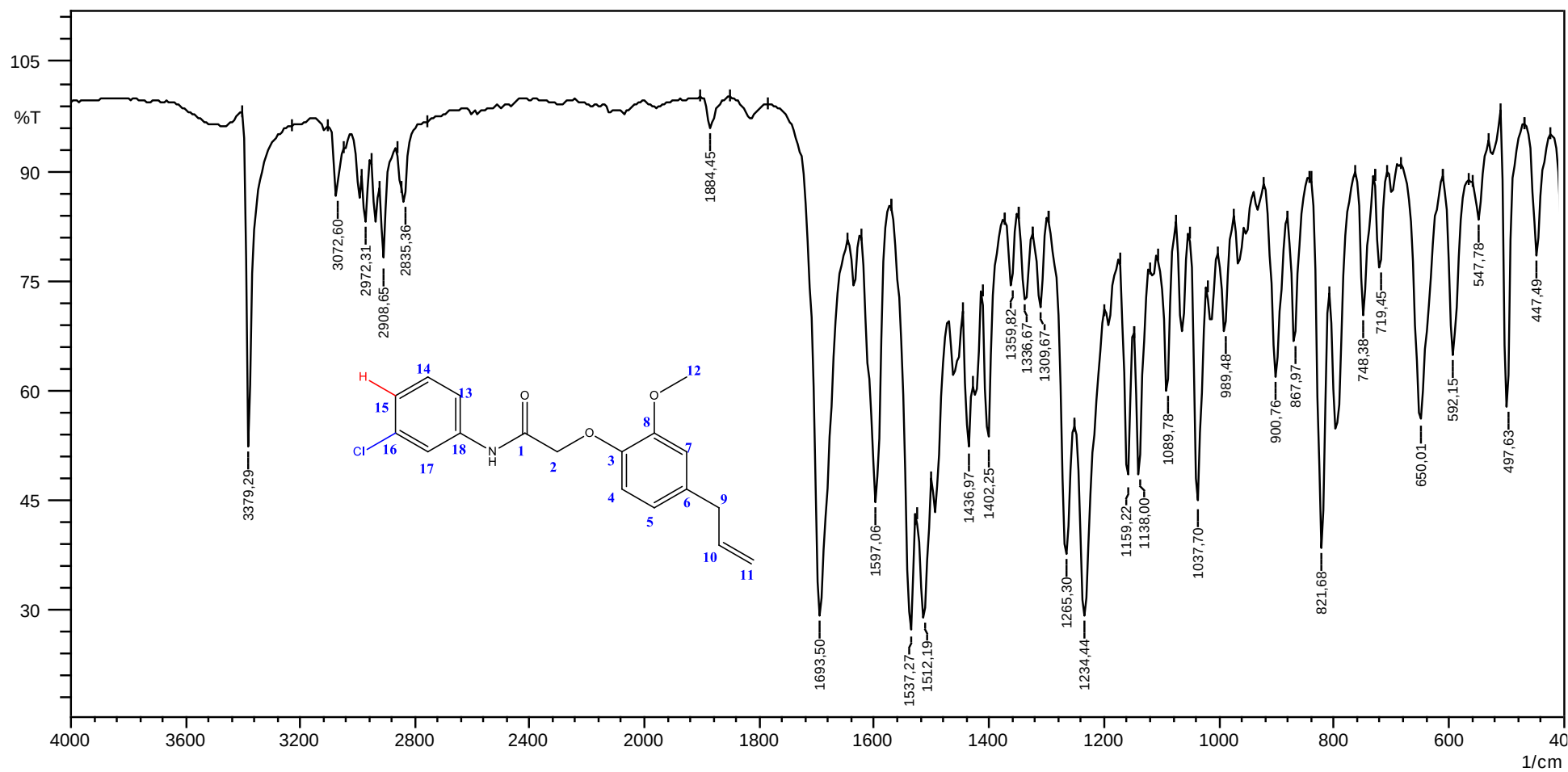


Espectro 41 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA5.

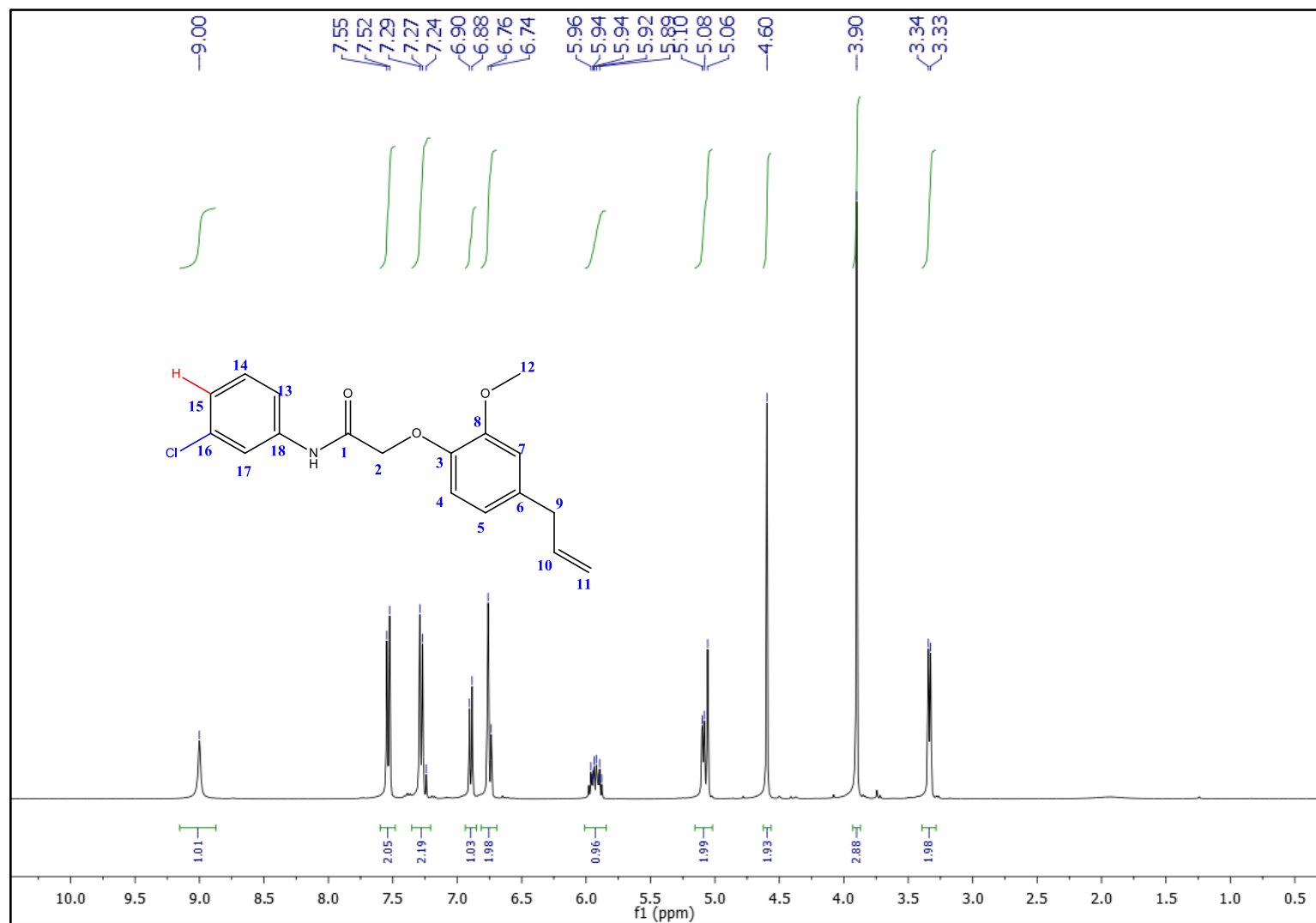


Espectro 42 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA5.

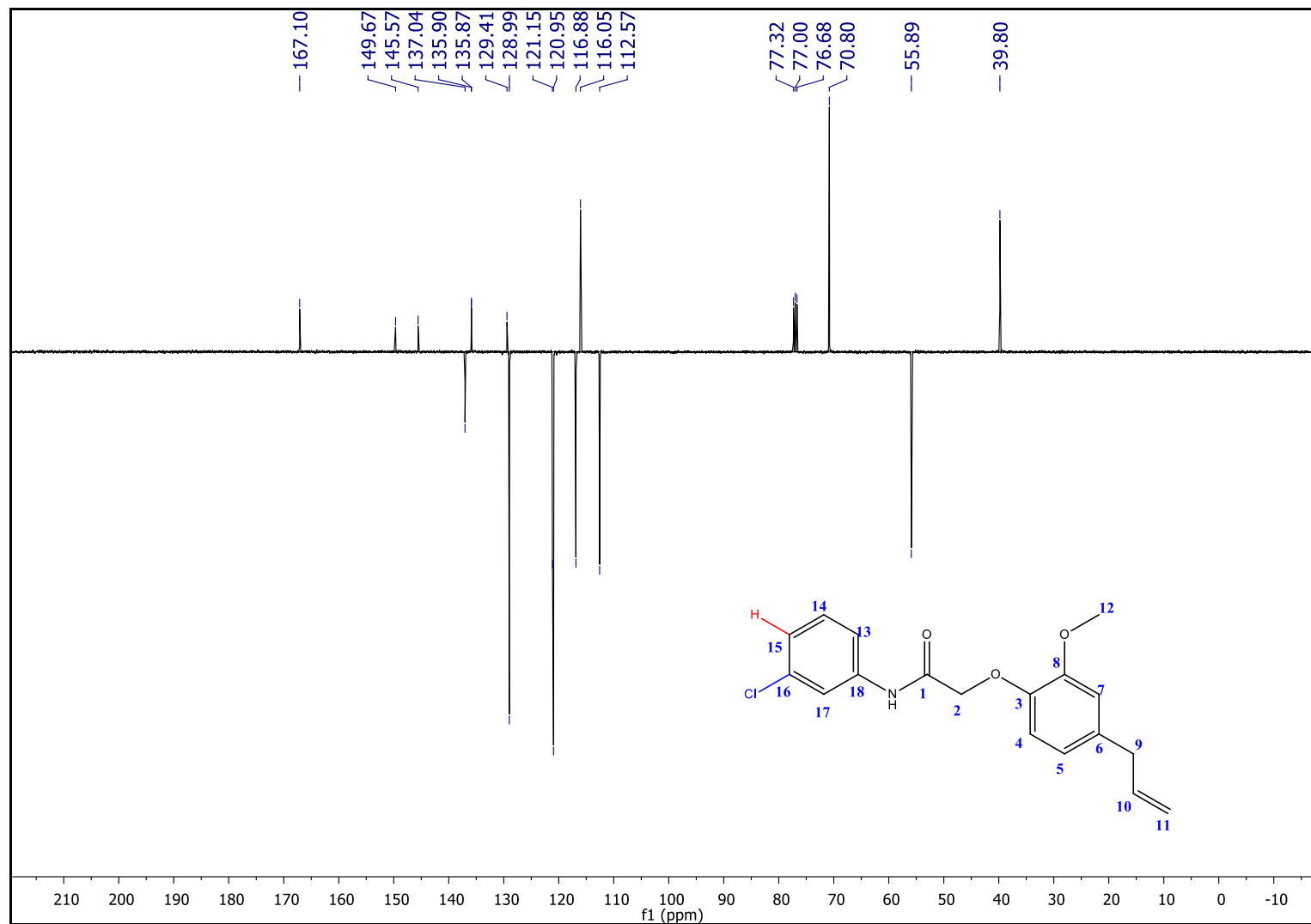
EA6



Espectro 43 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA6.

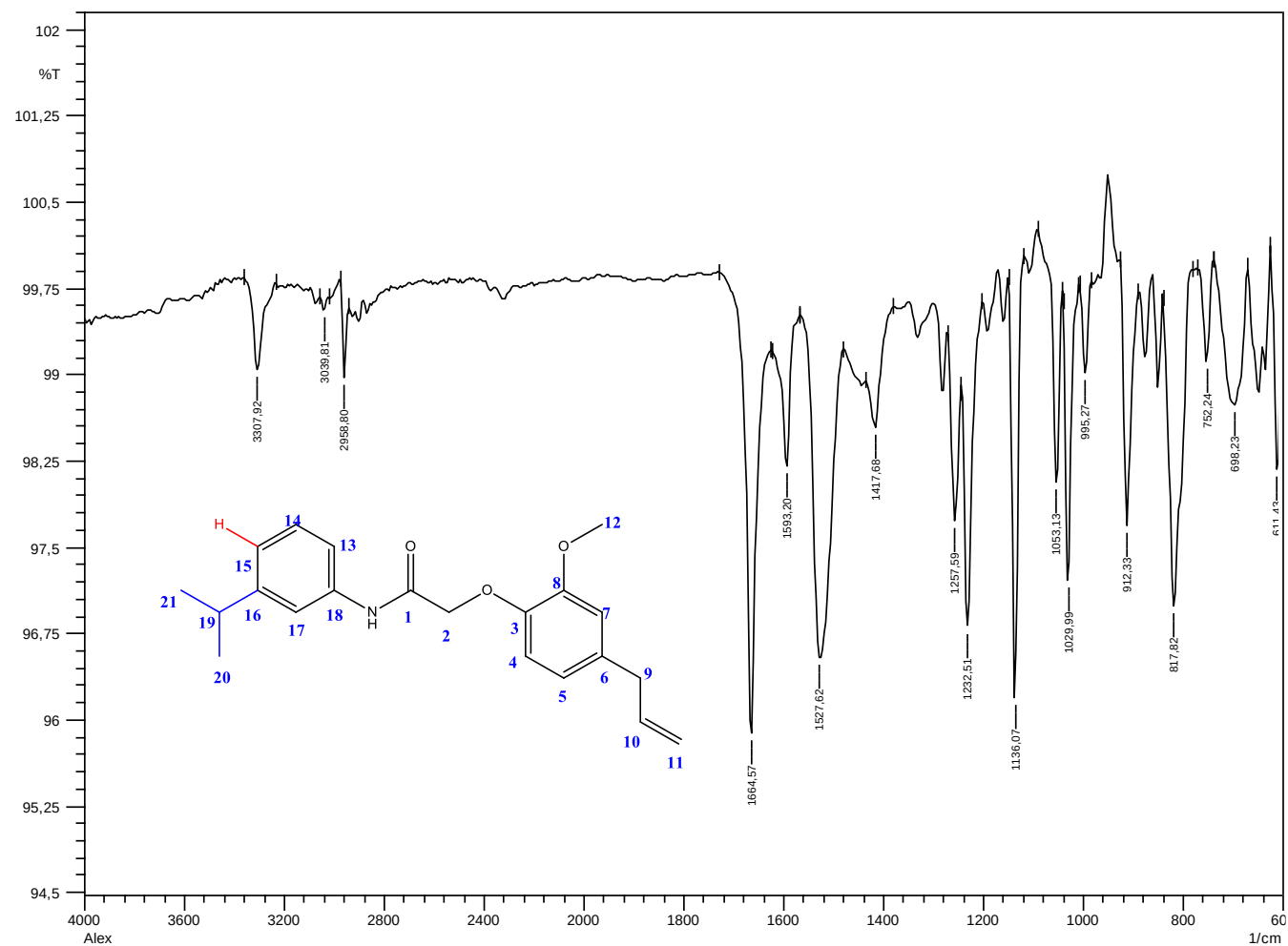


Espectro 44 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA6.

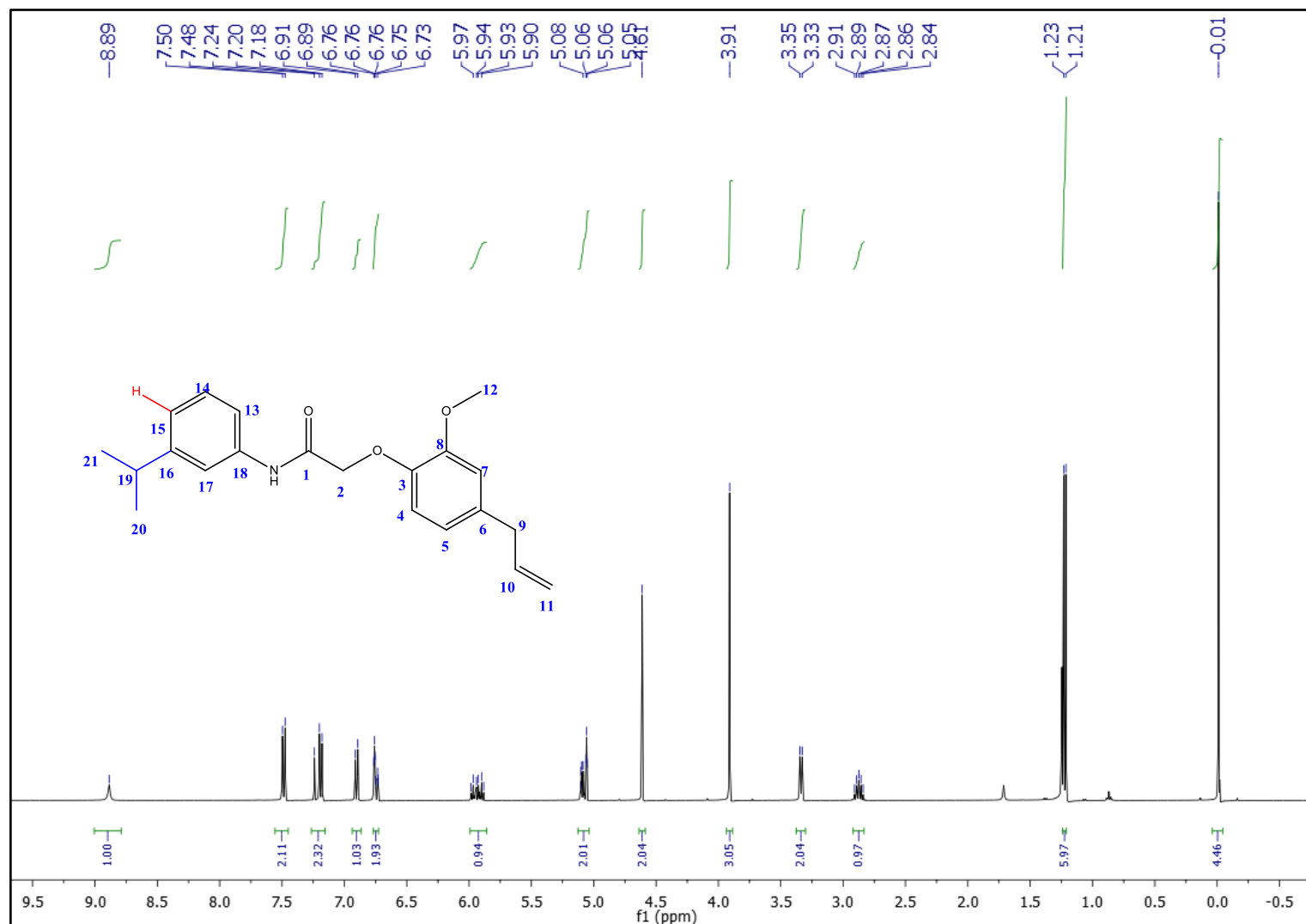


Espectro 45 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 100 MHz) do derivado do eugenol EA6.

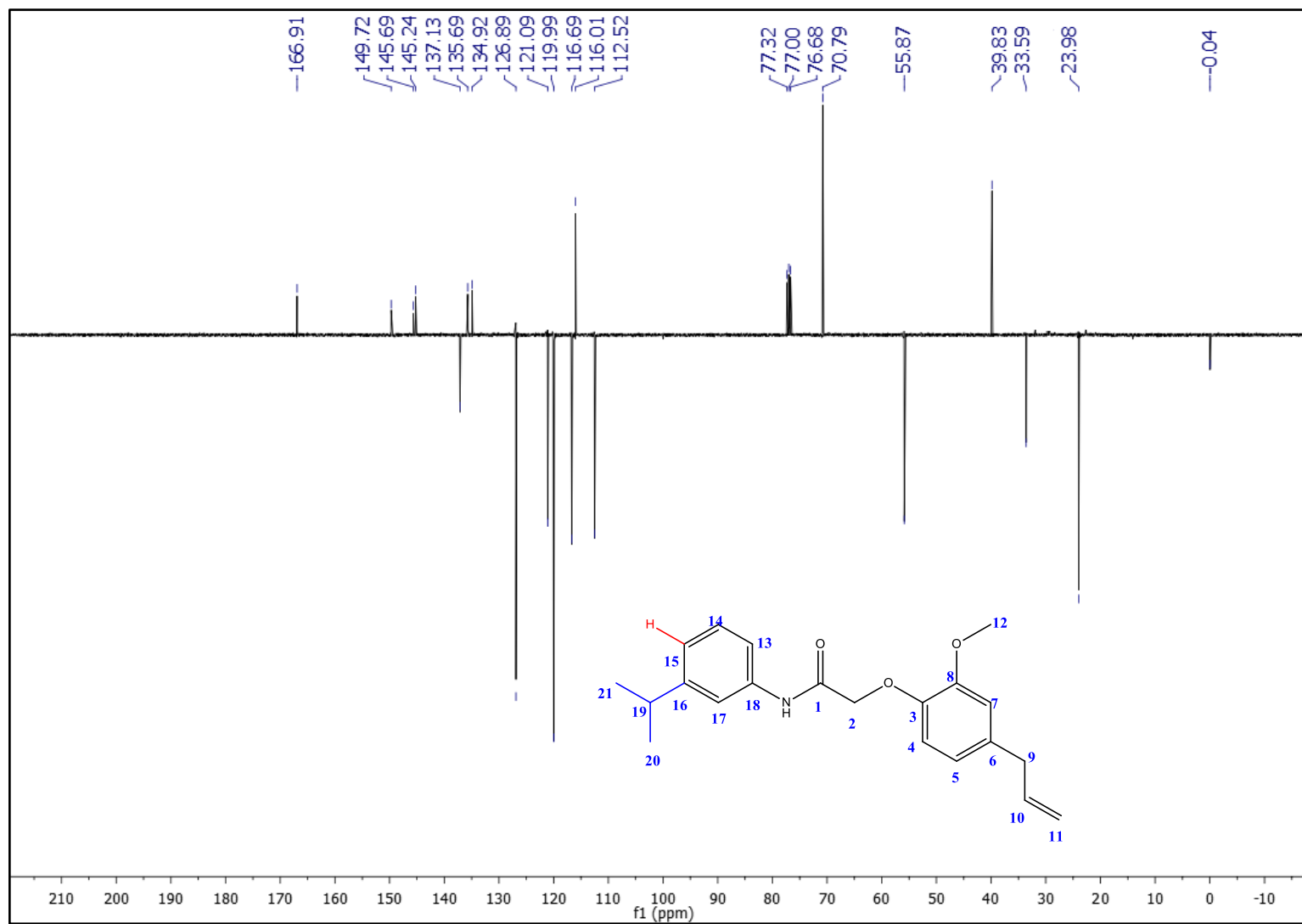
EA7



Espectro 46 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA7.

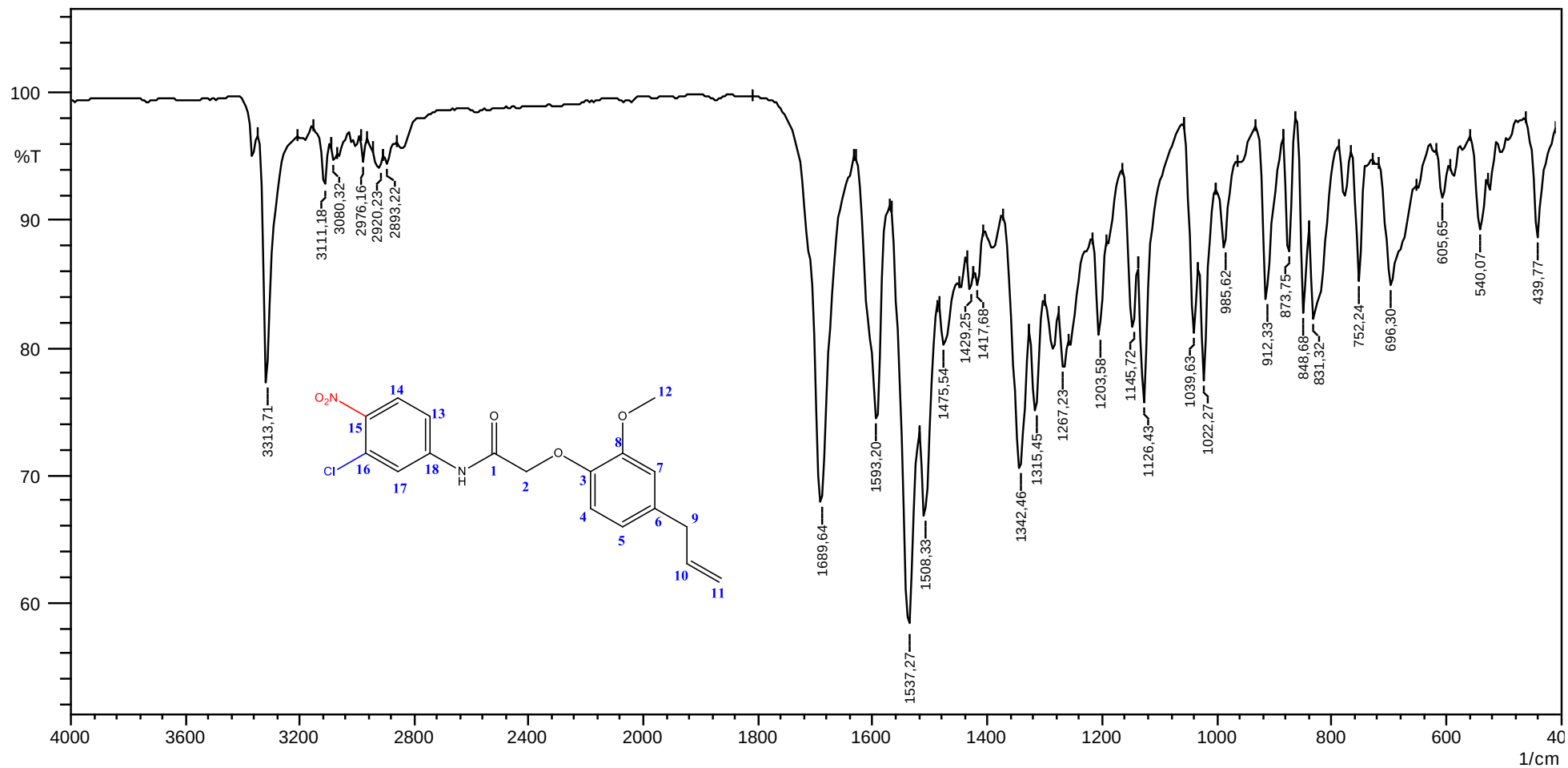


Espectro 47 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA7.

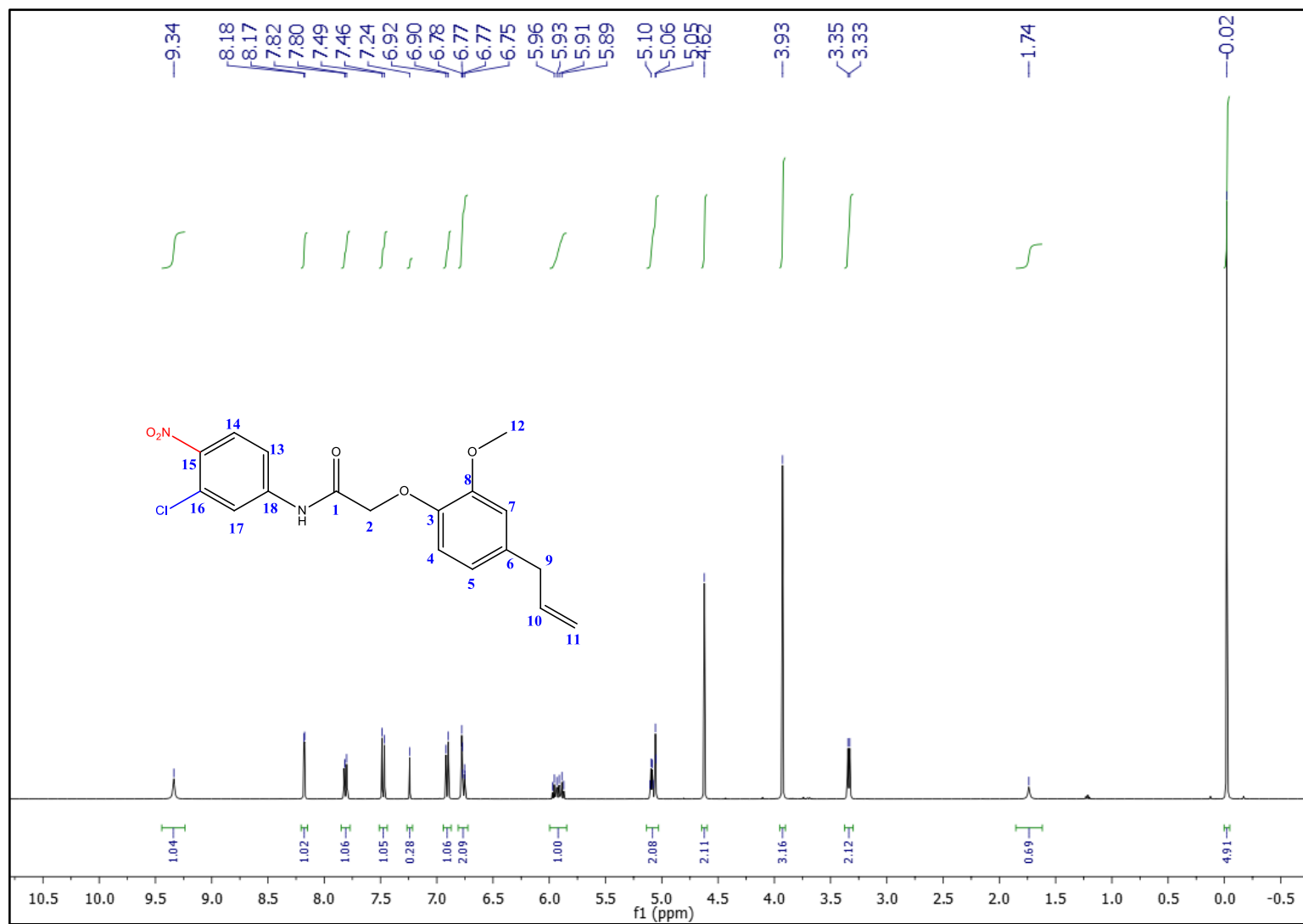


Espectro 48 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA7.

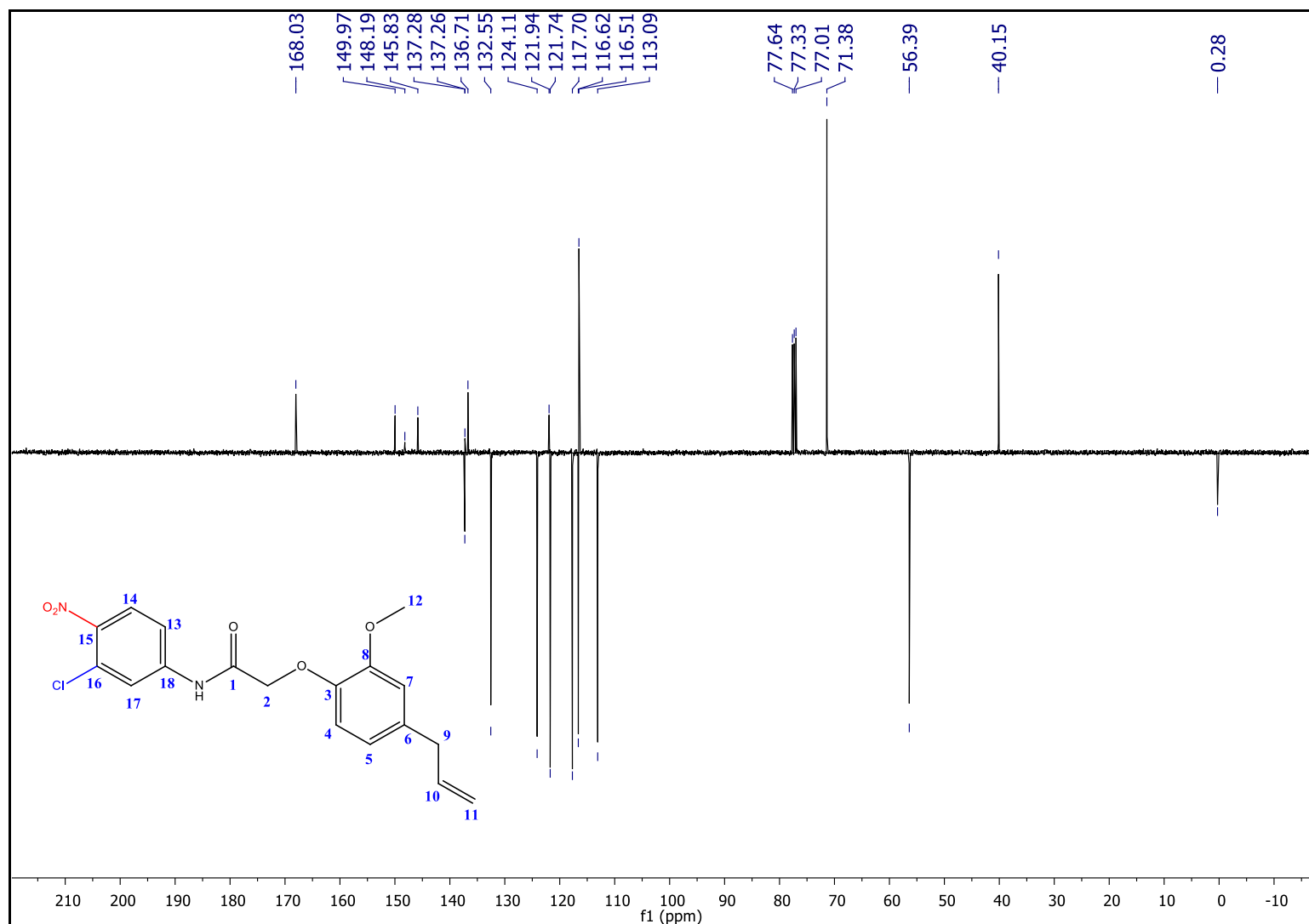
EA8



Espectro 49 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA8.

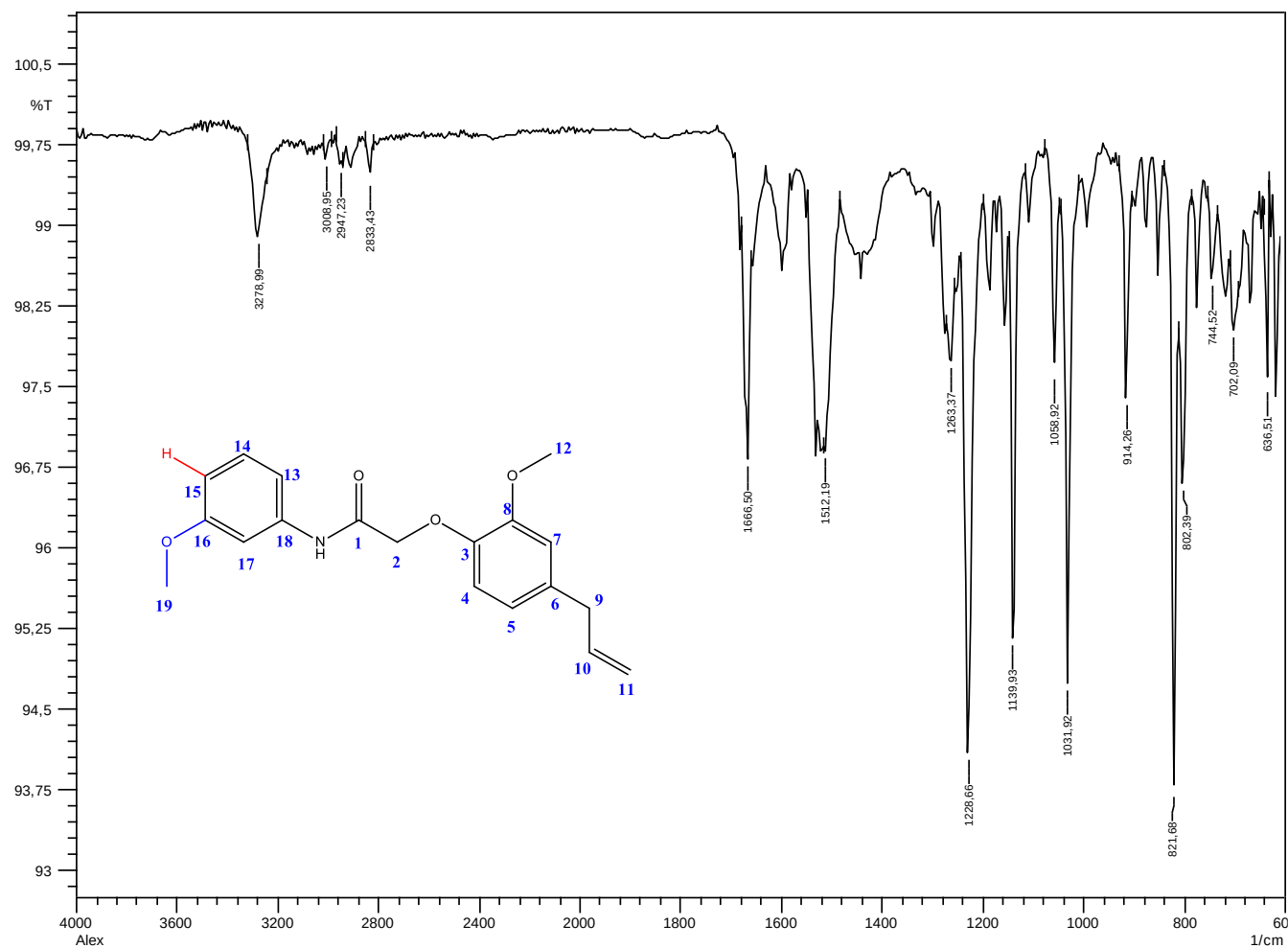


Espectro 50 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do eugenol EA8.

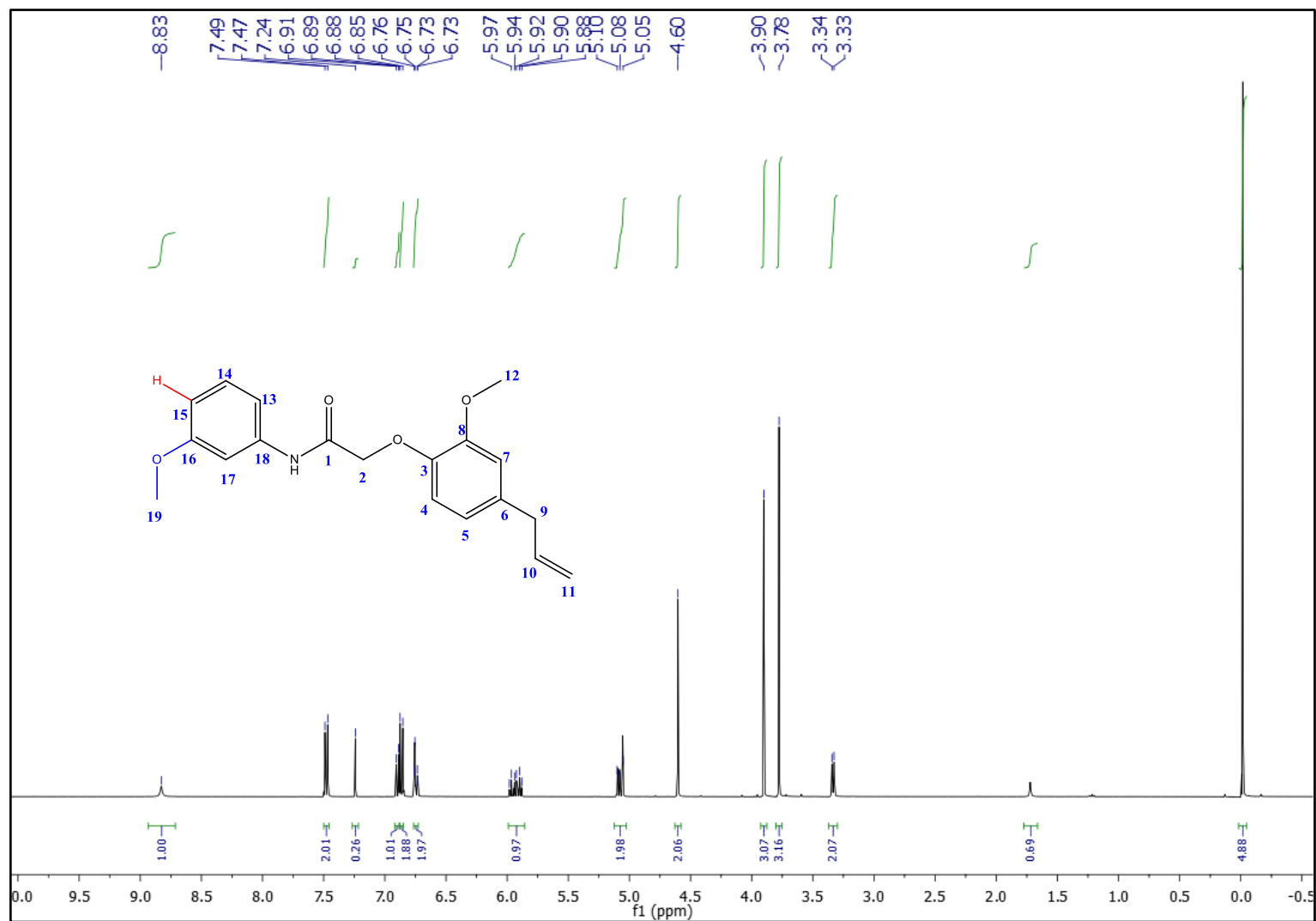


Espectro 51 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 100 MHz) do derivado do eugenol EA8.

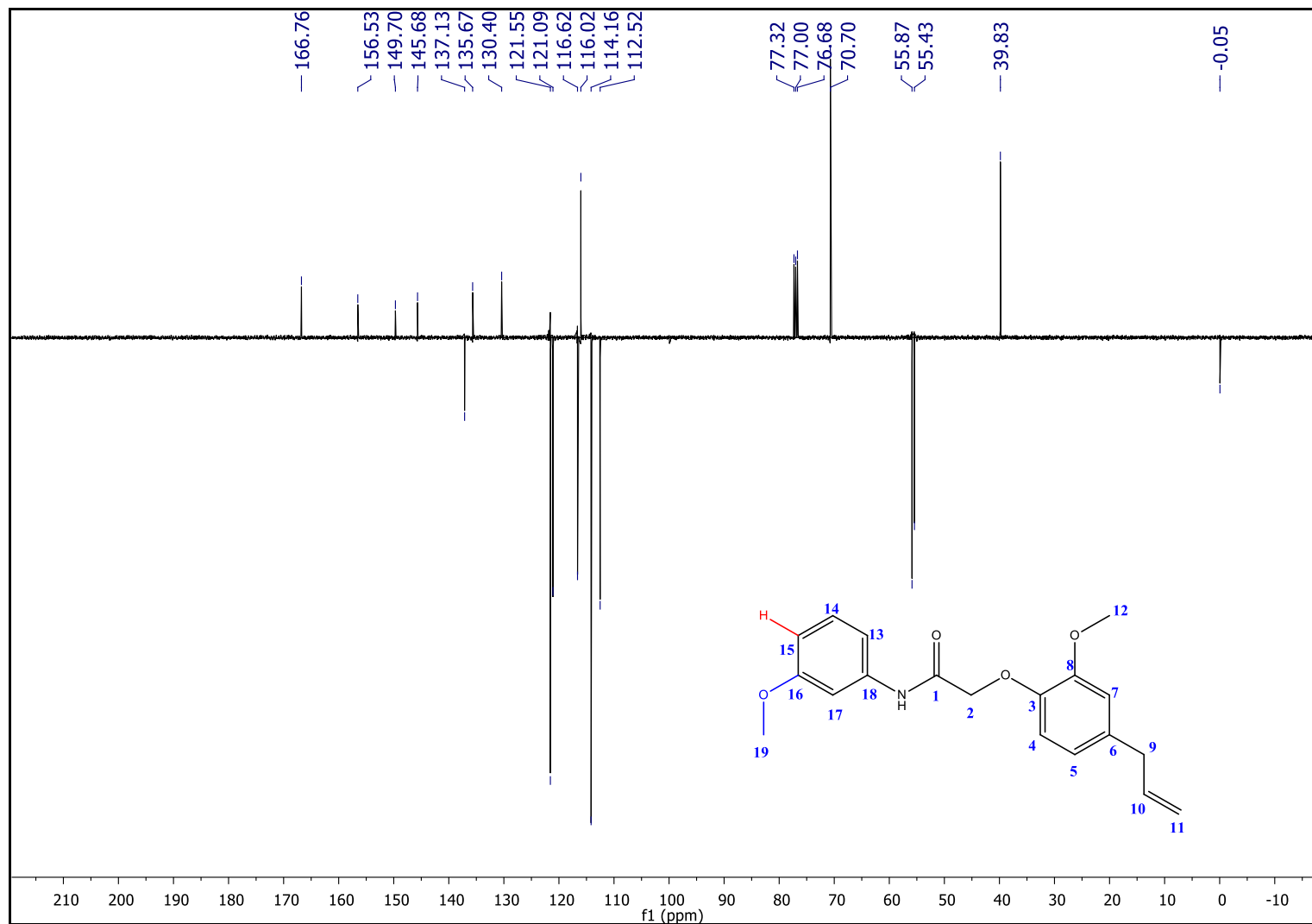
EA9



Espectro 52 – Espectro de IV (KBr) do derivado do eugenol EA9.

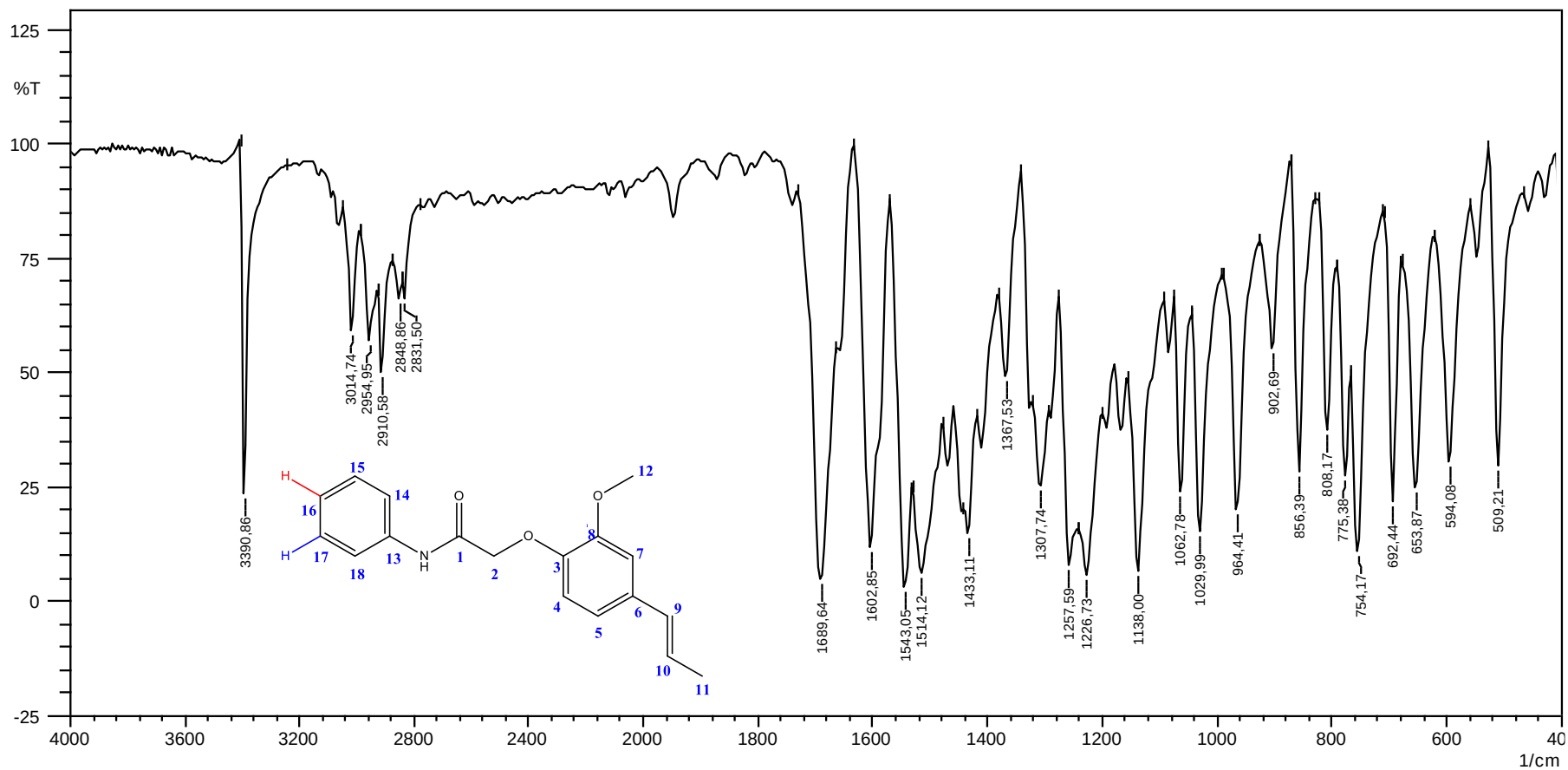


Espectro 53 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do eugenol EA9.

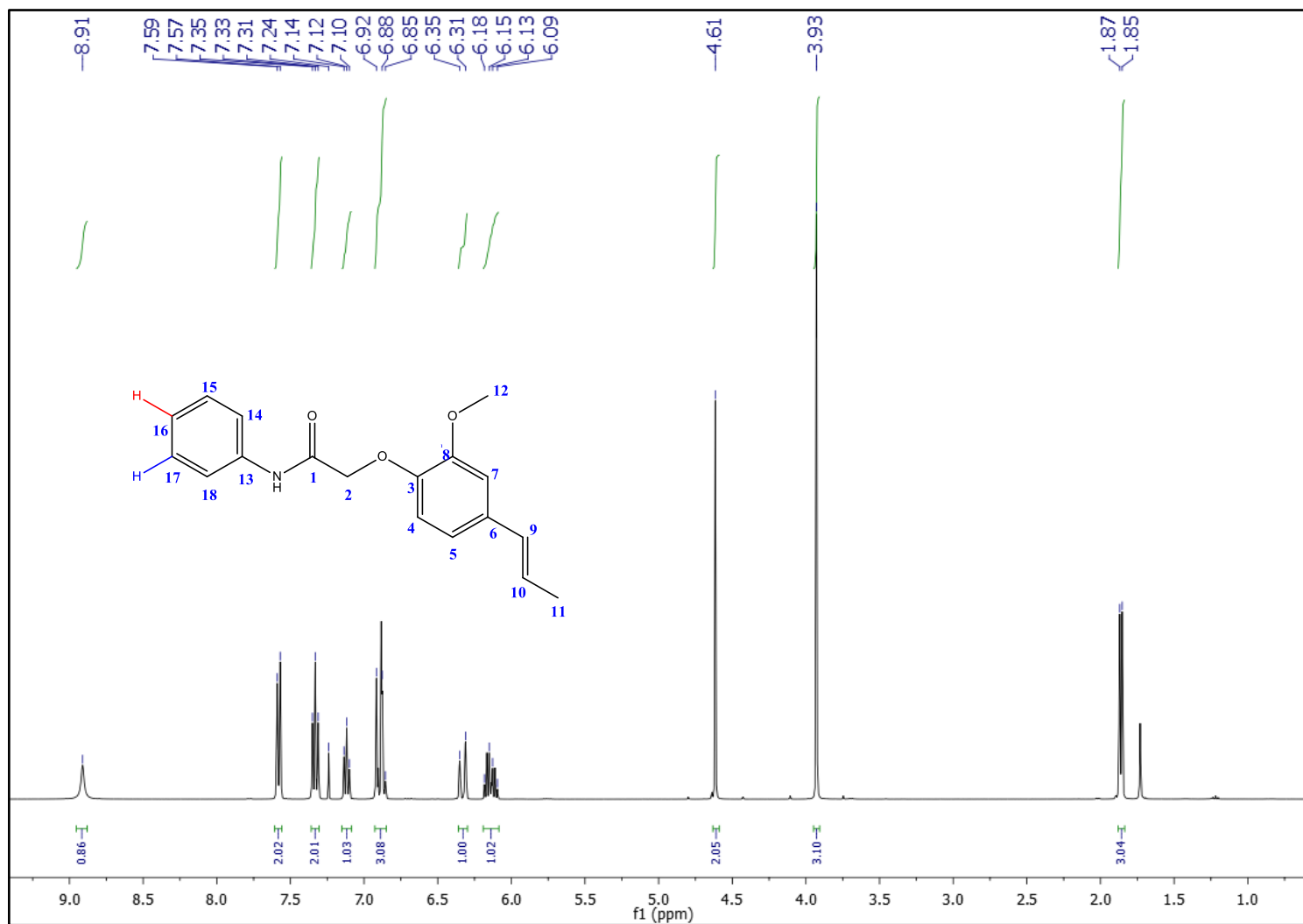


Espectro 54 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol EA9.

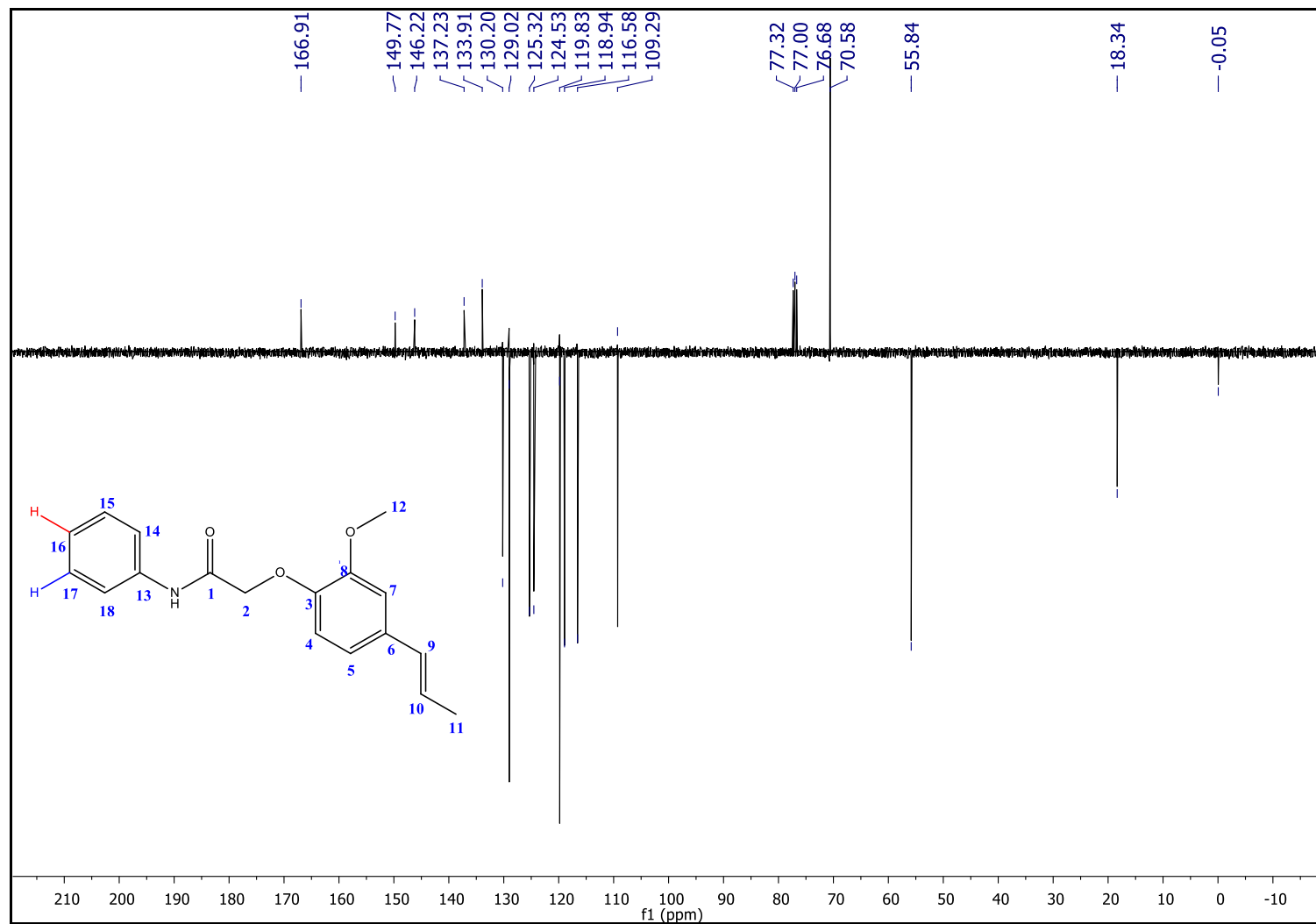
**Derivados do Isoeugenol
ISOA1**



Espectro 55 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA1.

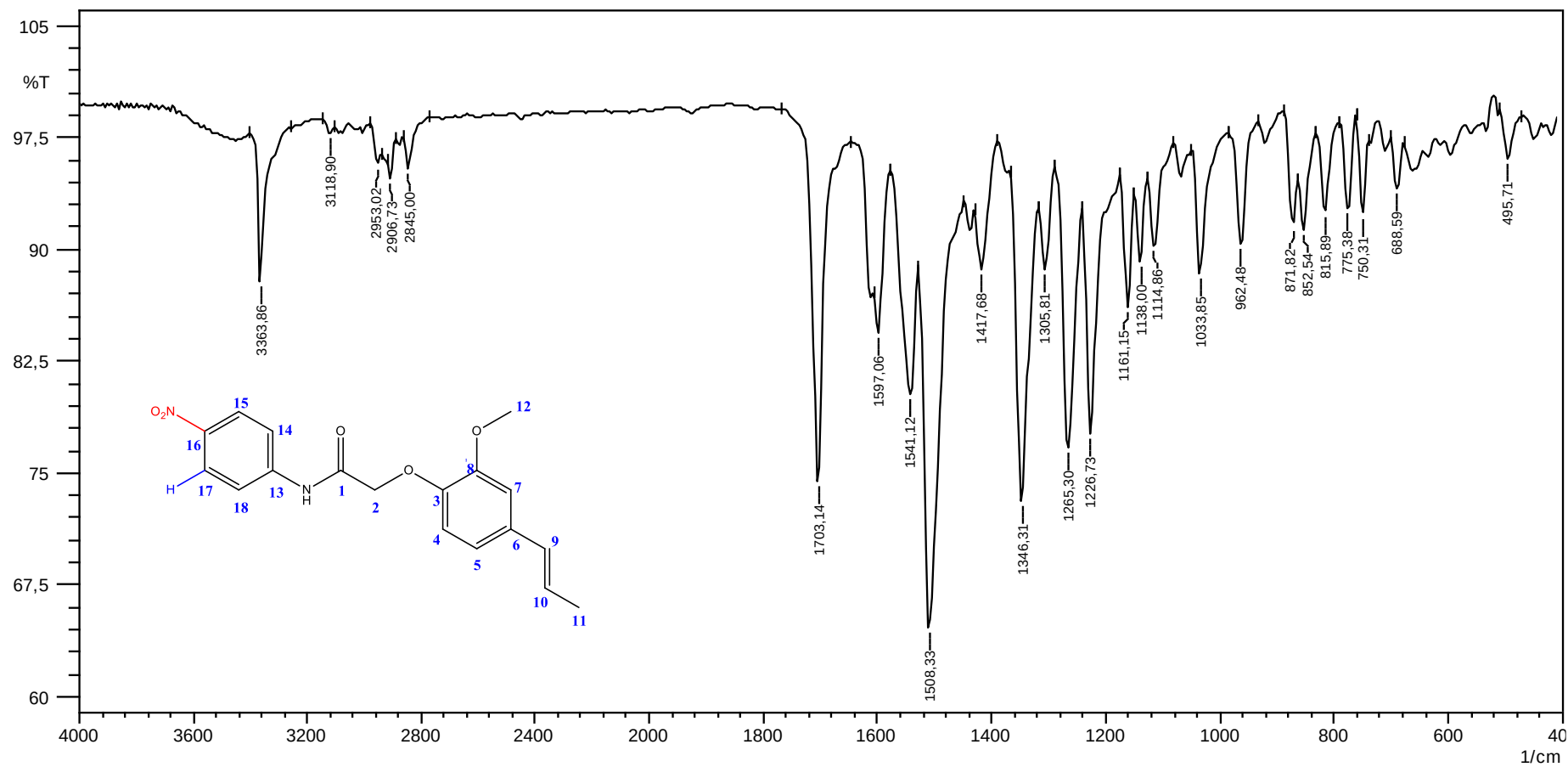


Espectro 56 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1.

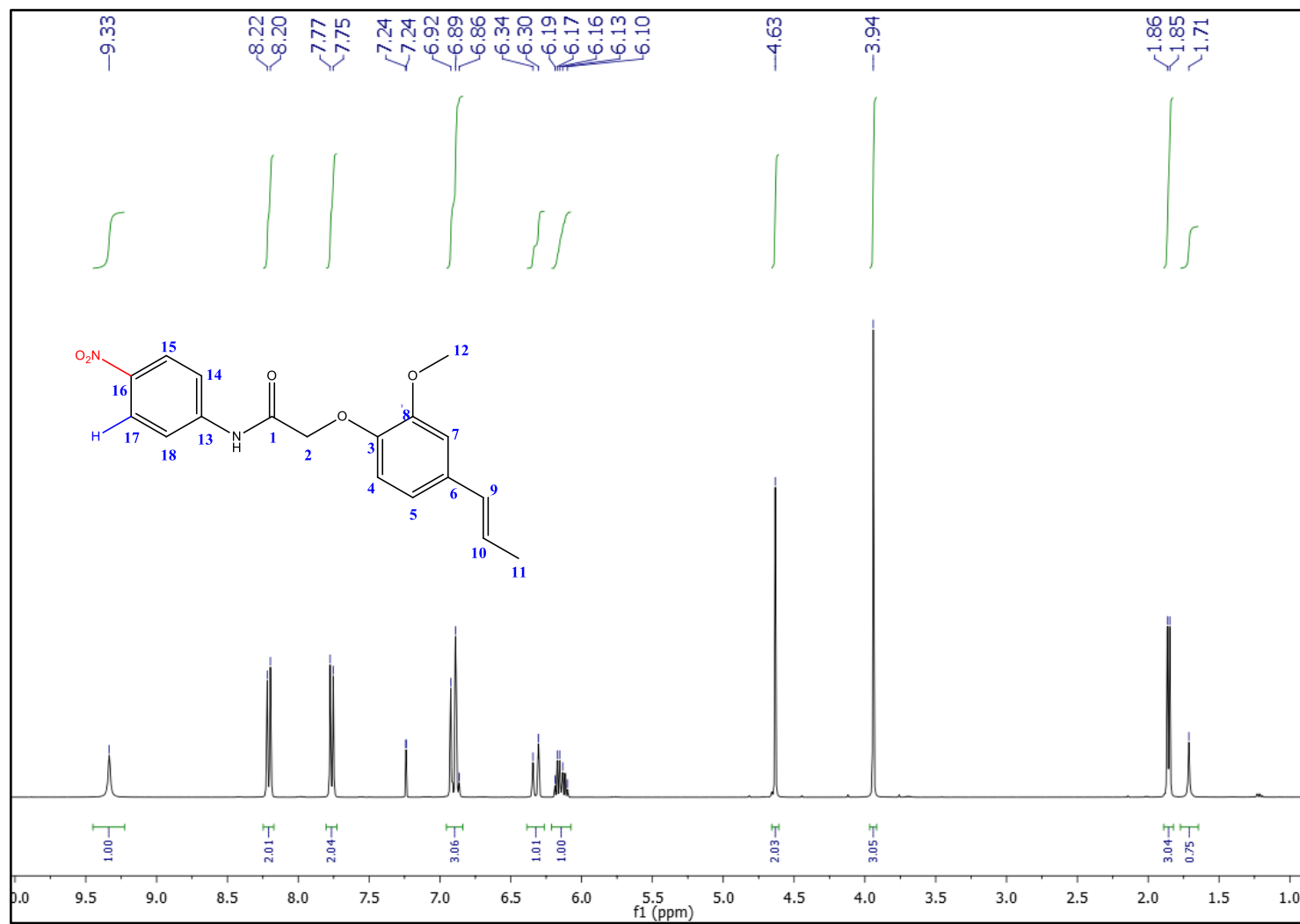


Espectro 57 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA1.

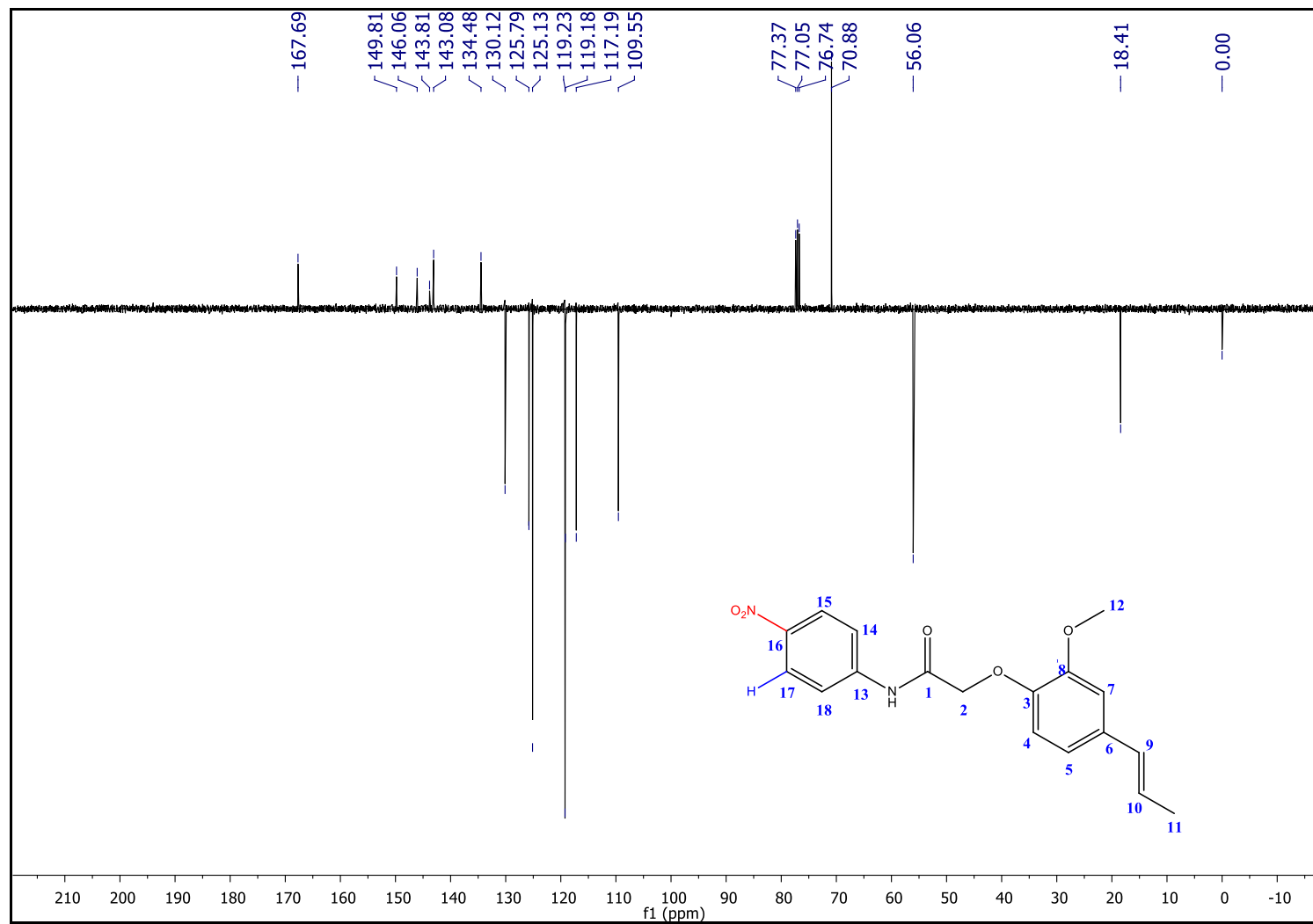
ISOA2



Espectro 58 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA2.

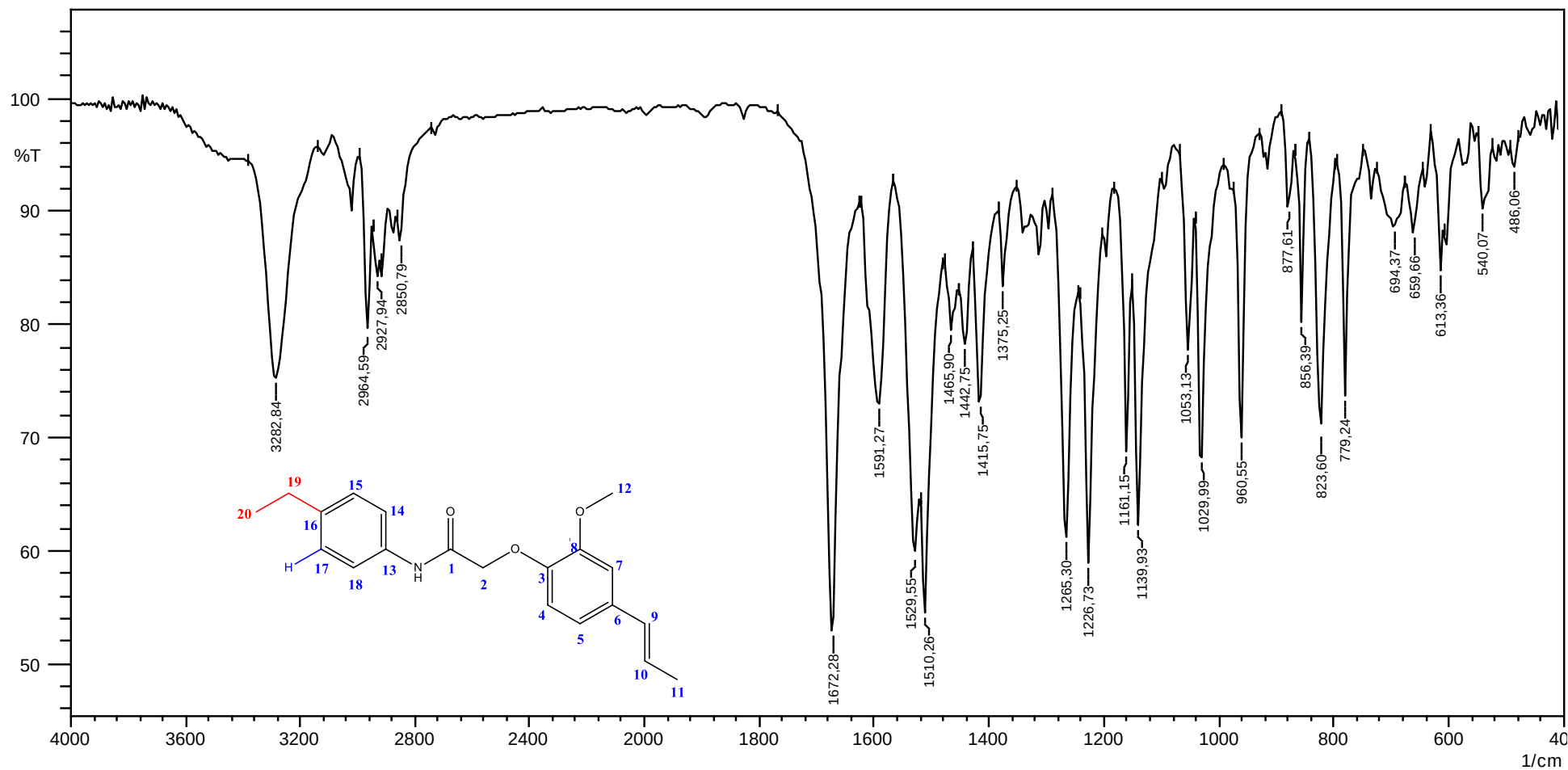


Espectro 59 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA2.

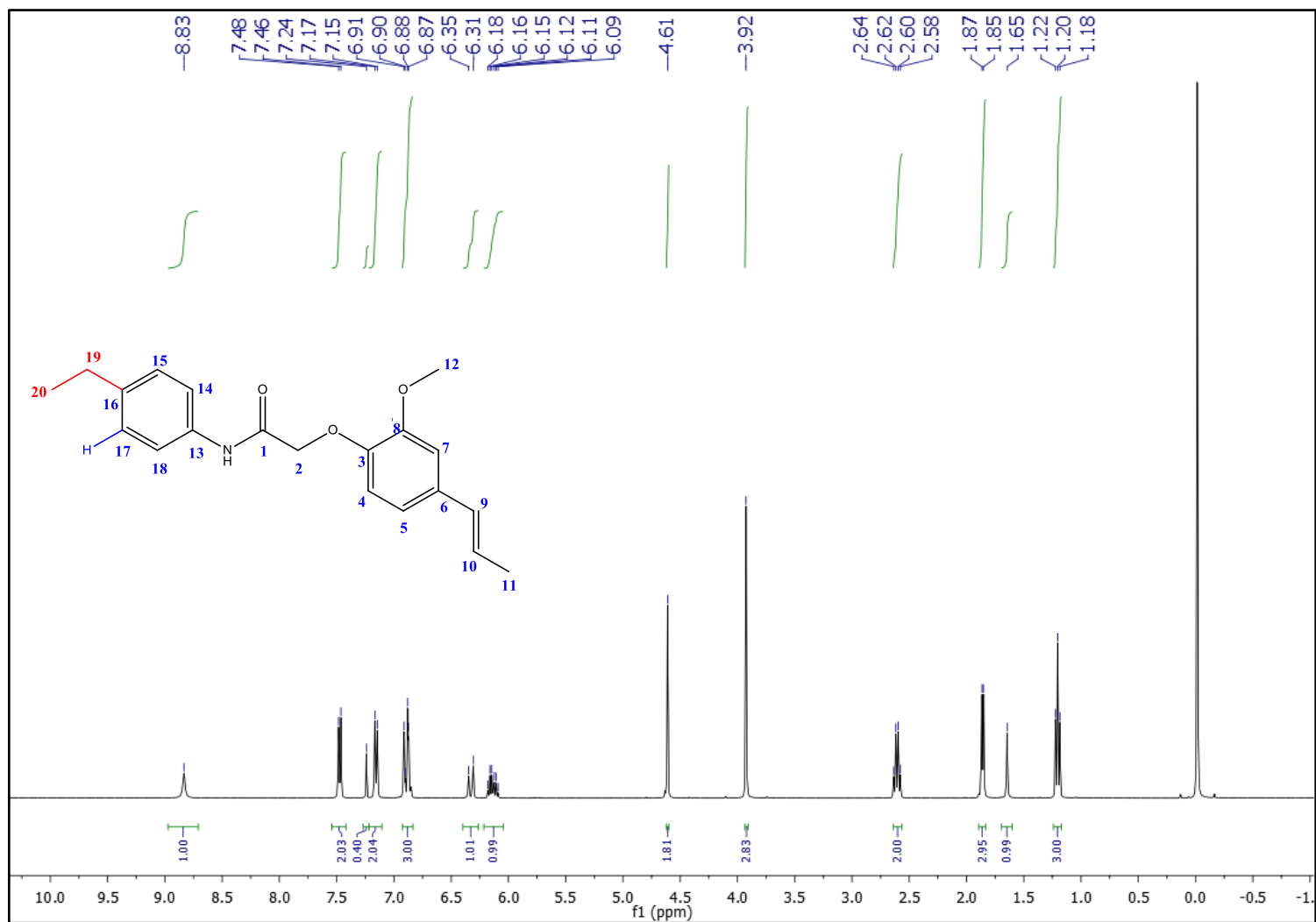


Espectro 60 – Espectro de RMN ¹³C – APT (CDCl₃, 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA2.

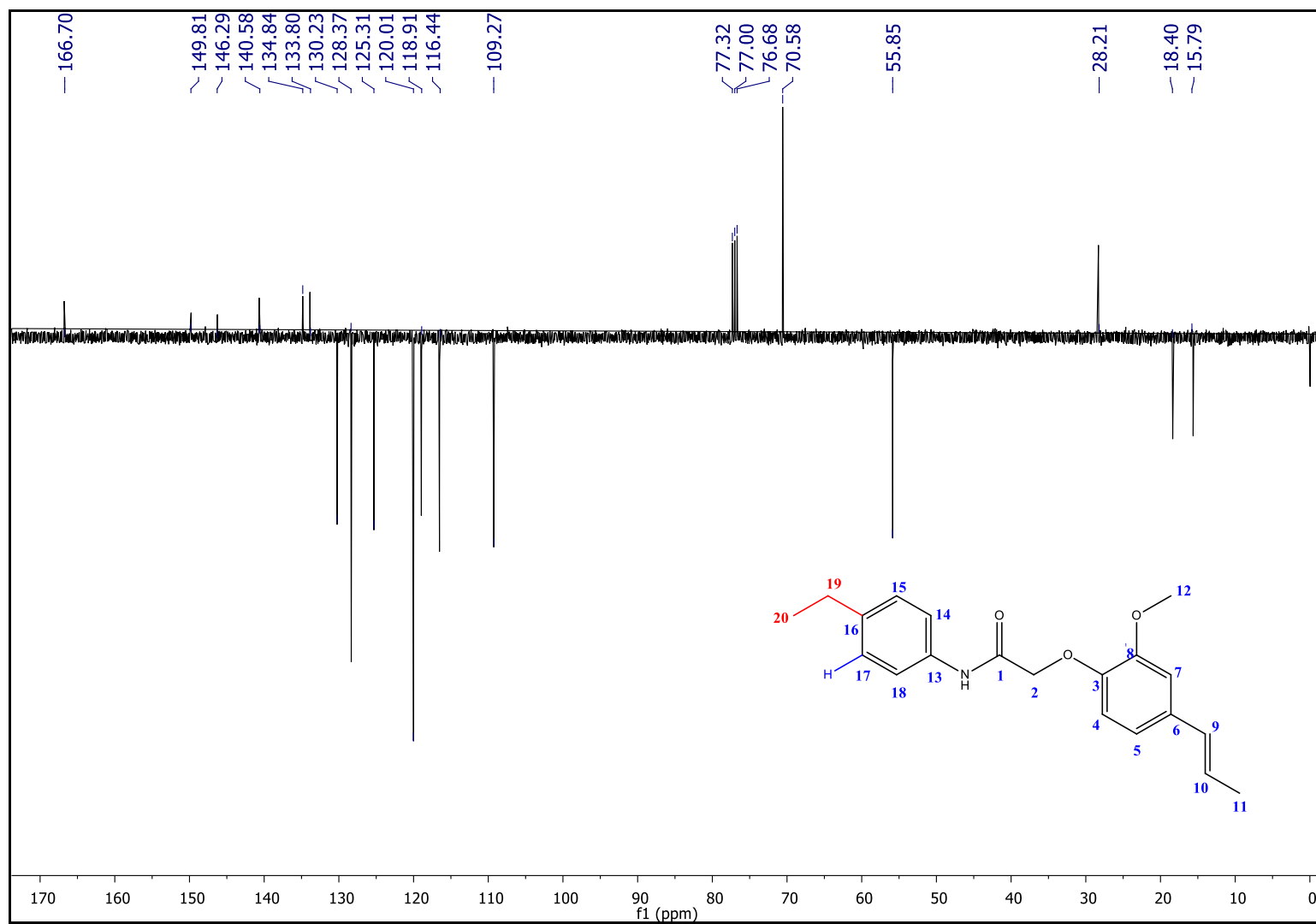
ISOA3



Espectro 61 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA3.

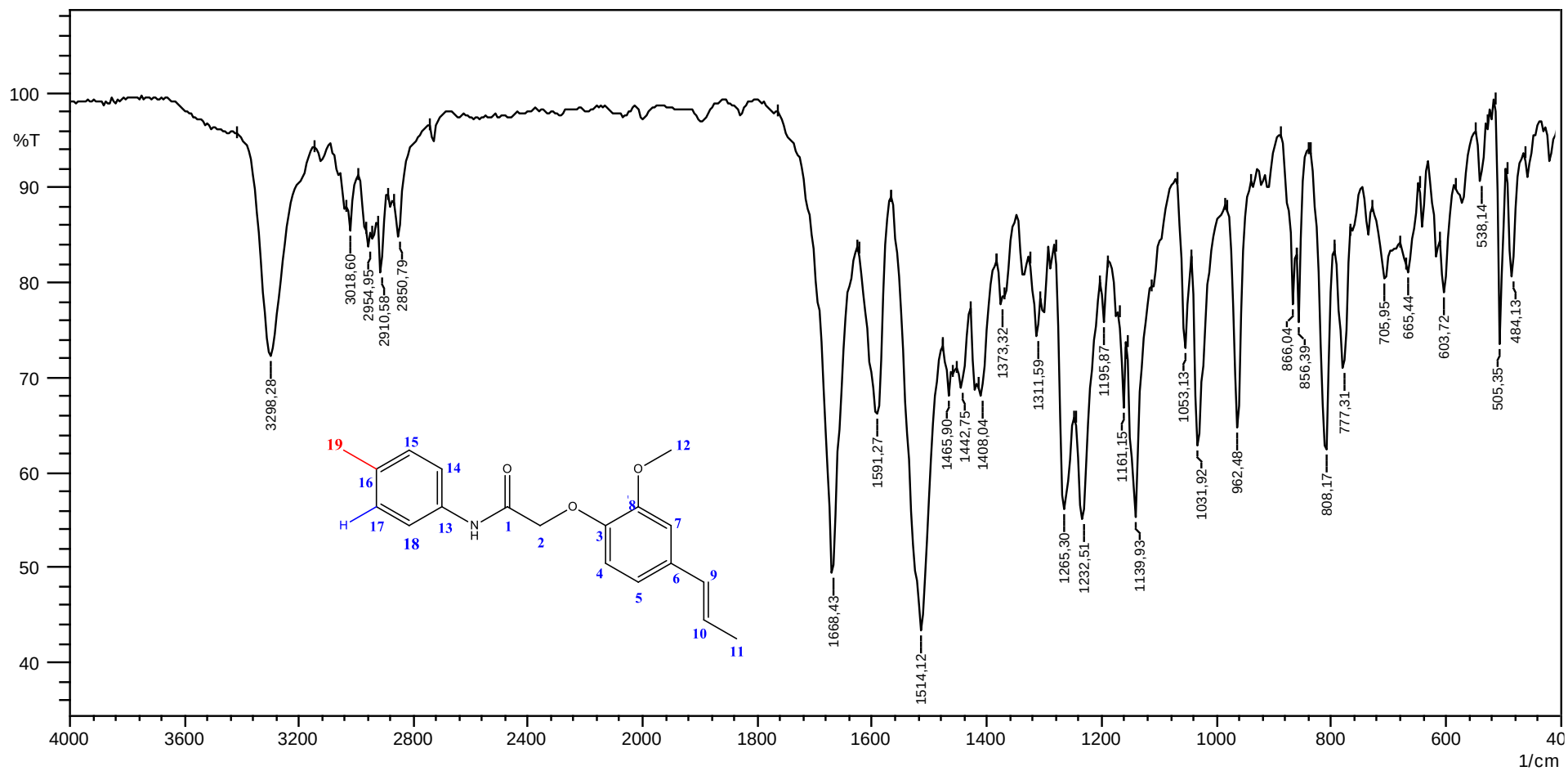


Espectro 62 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA3.

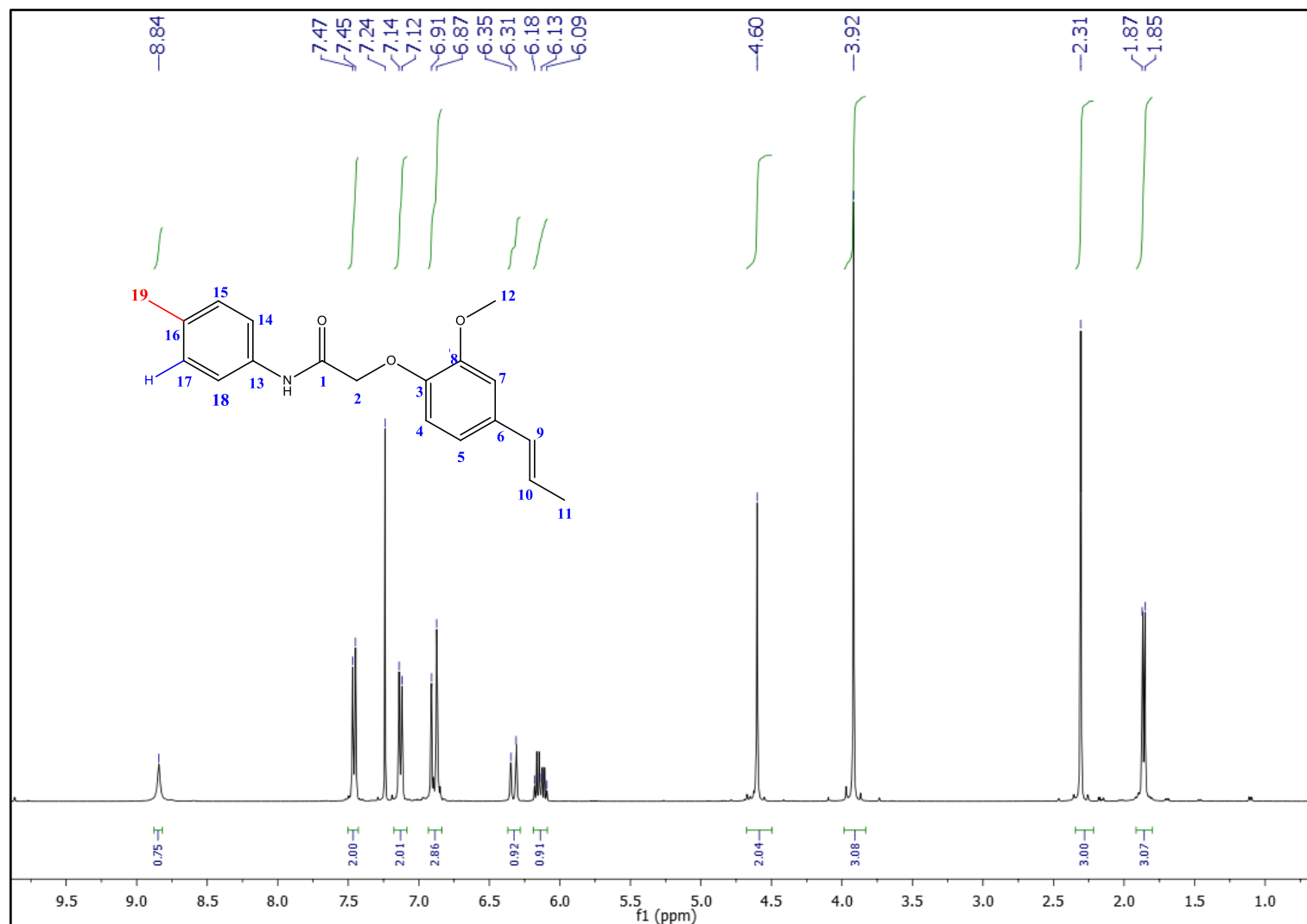


Espectro 63 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA3.

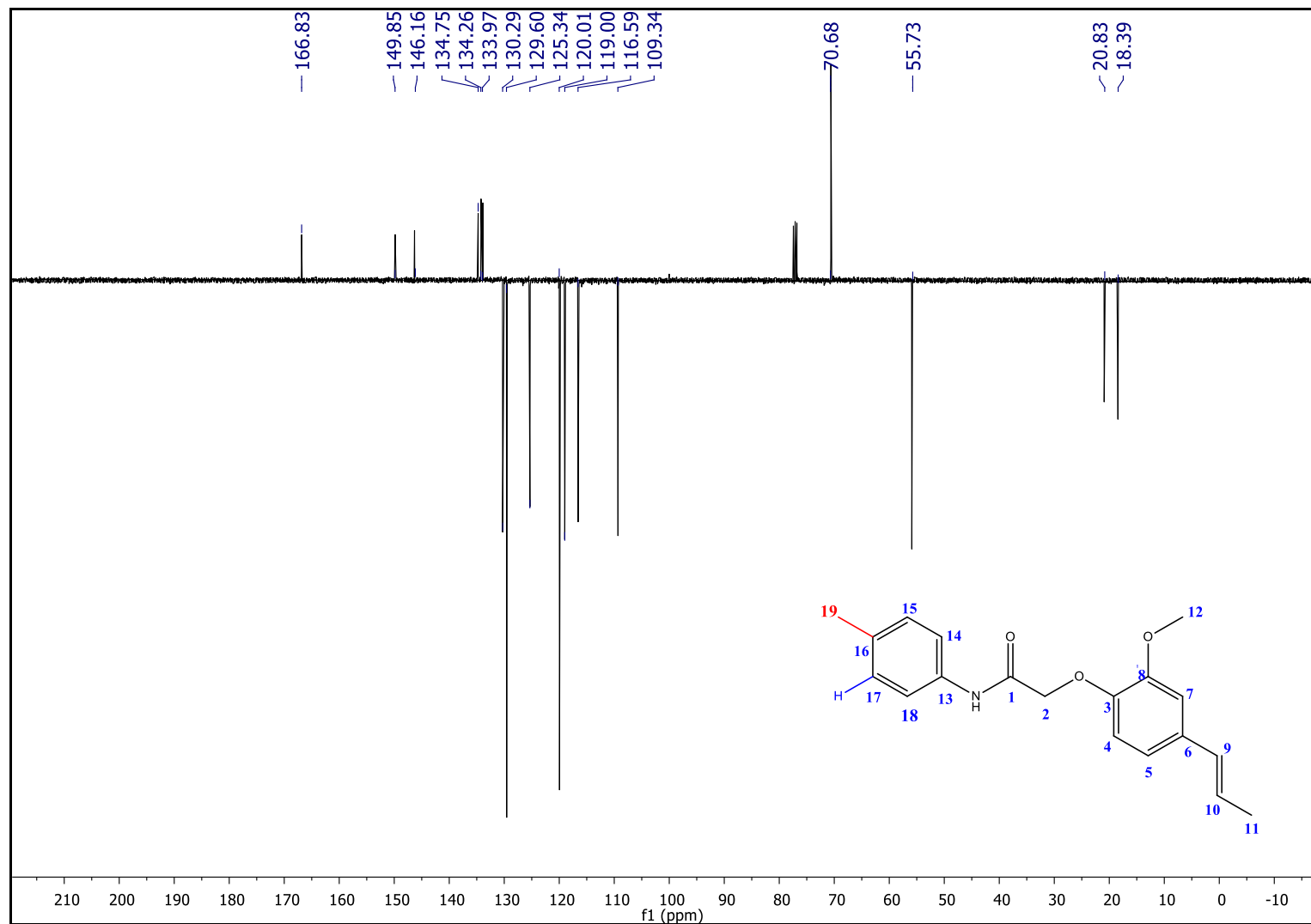
ISOA4



Espectro 64 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA4.

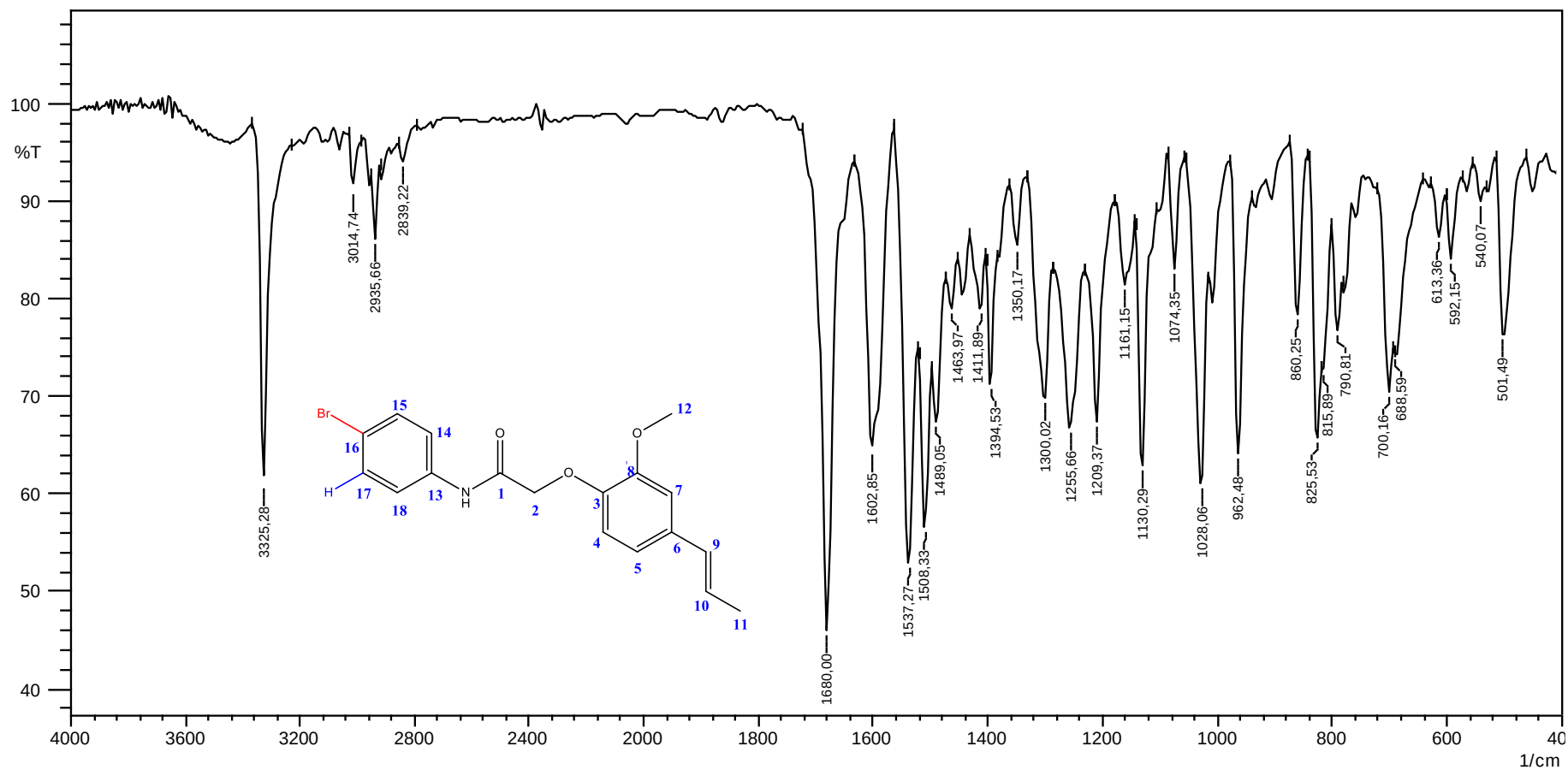


Espectro 65 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA4.

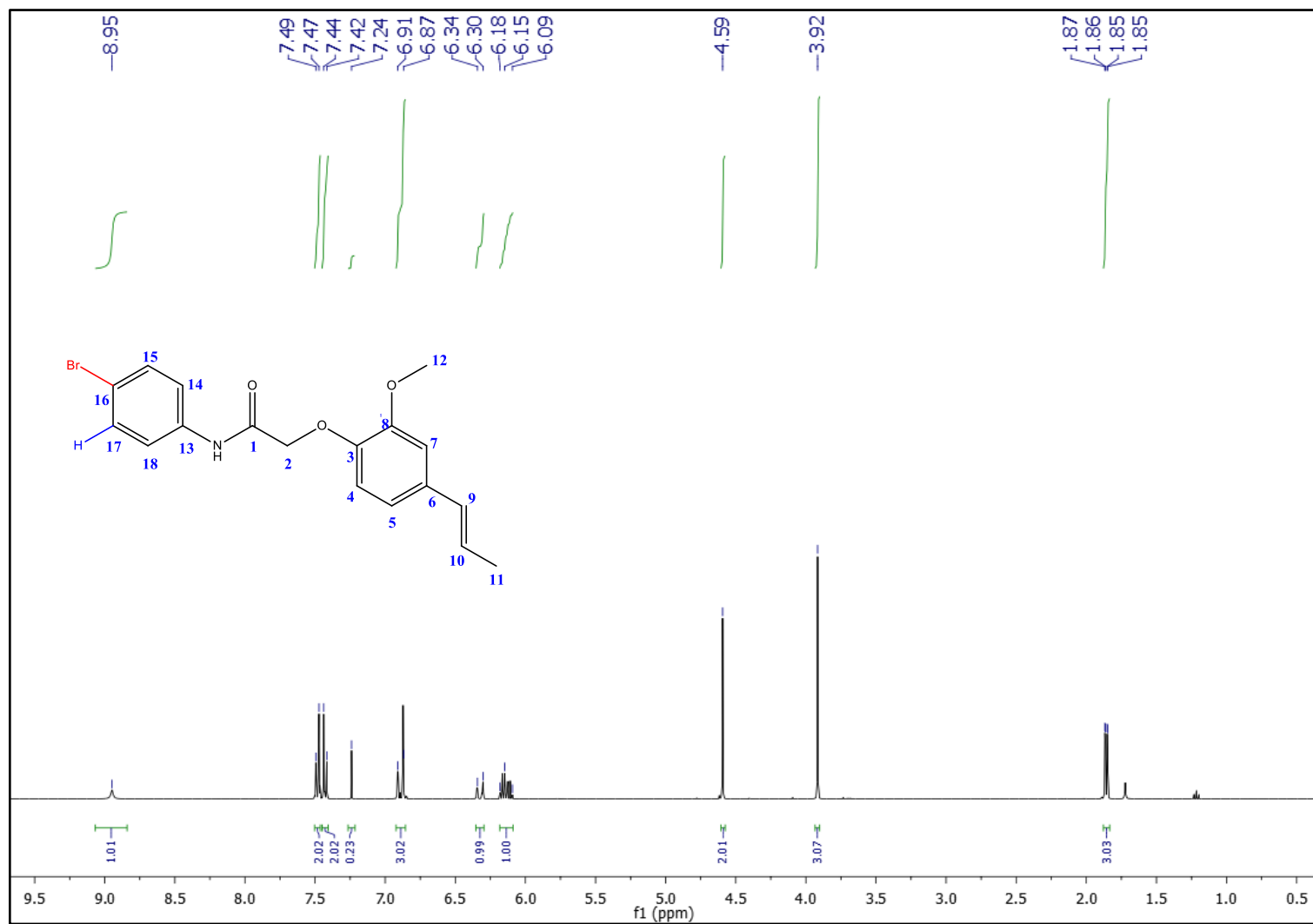


Espectro 66 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA4.

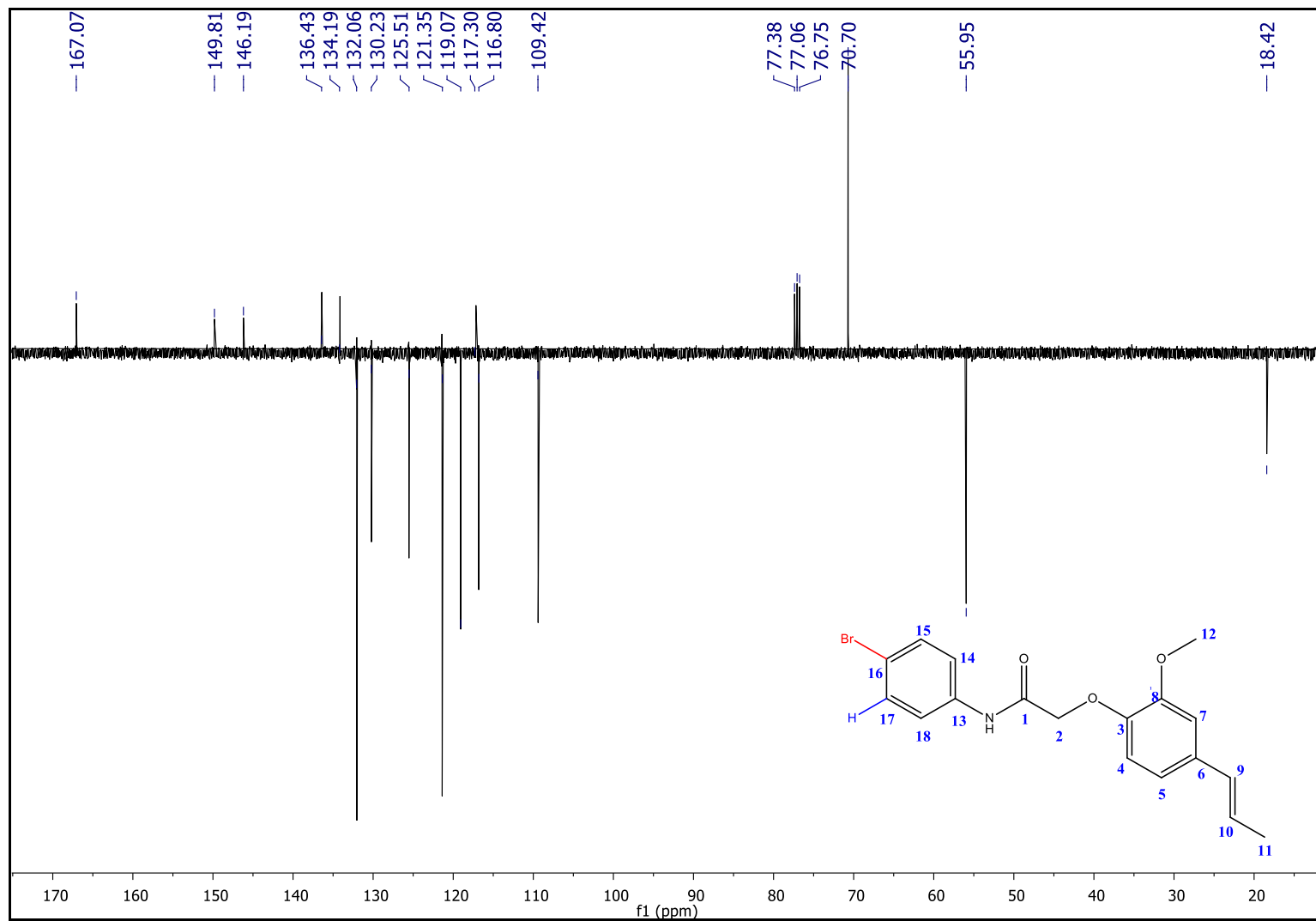
ISOA5



Espectro 67 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA5.

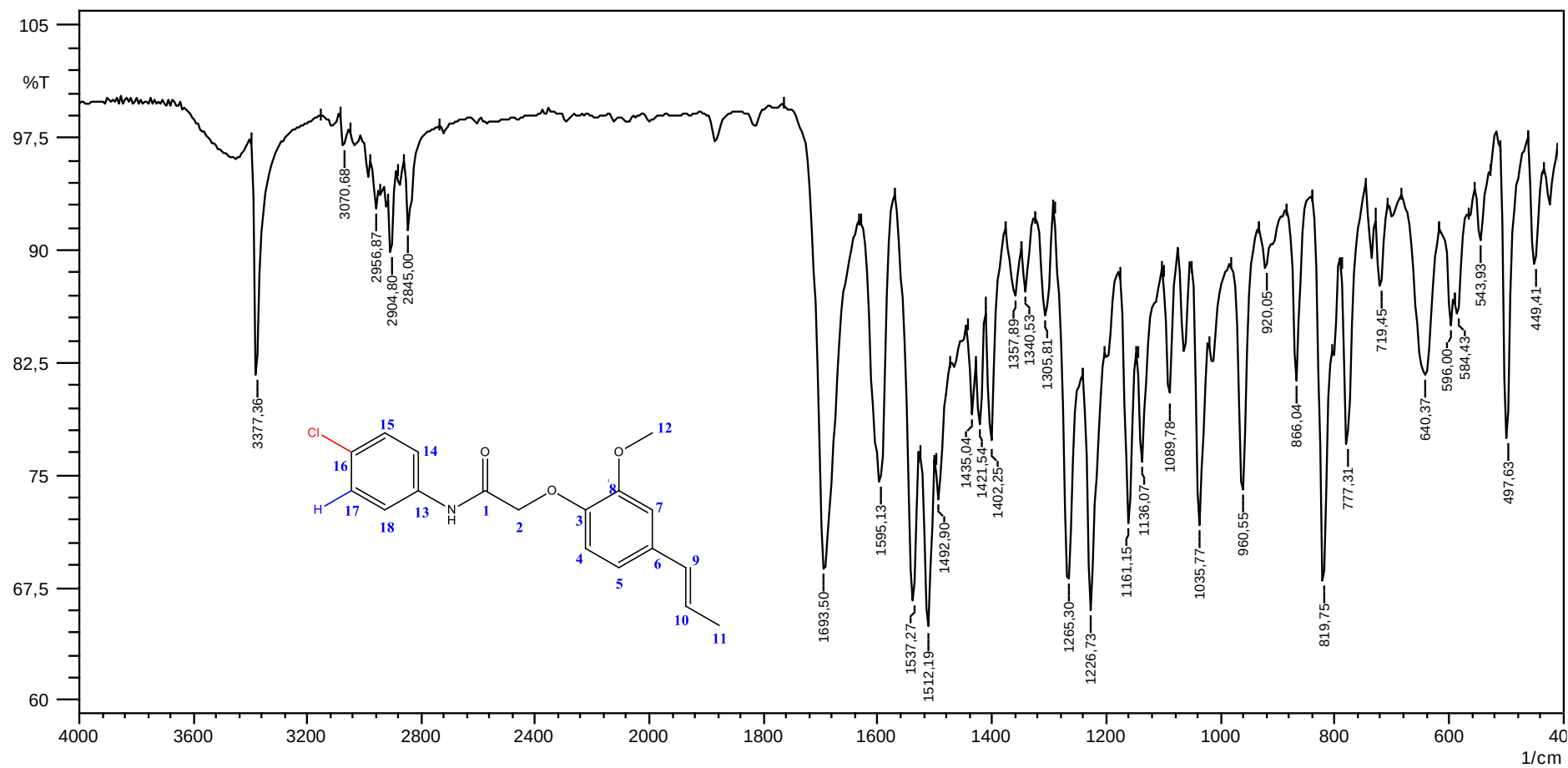


Espectro 68 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA5.

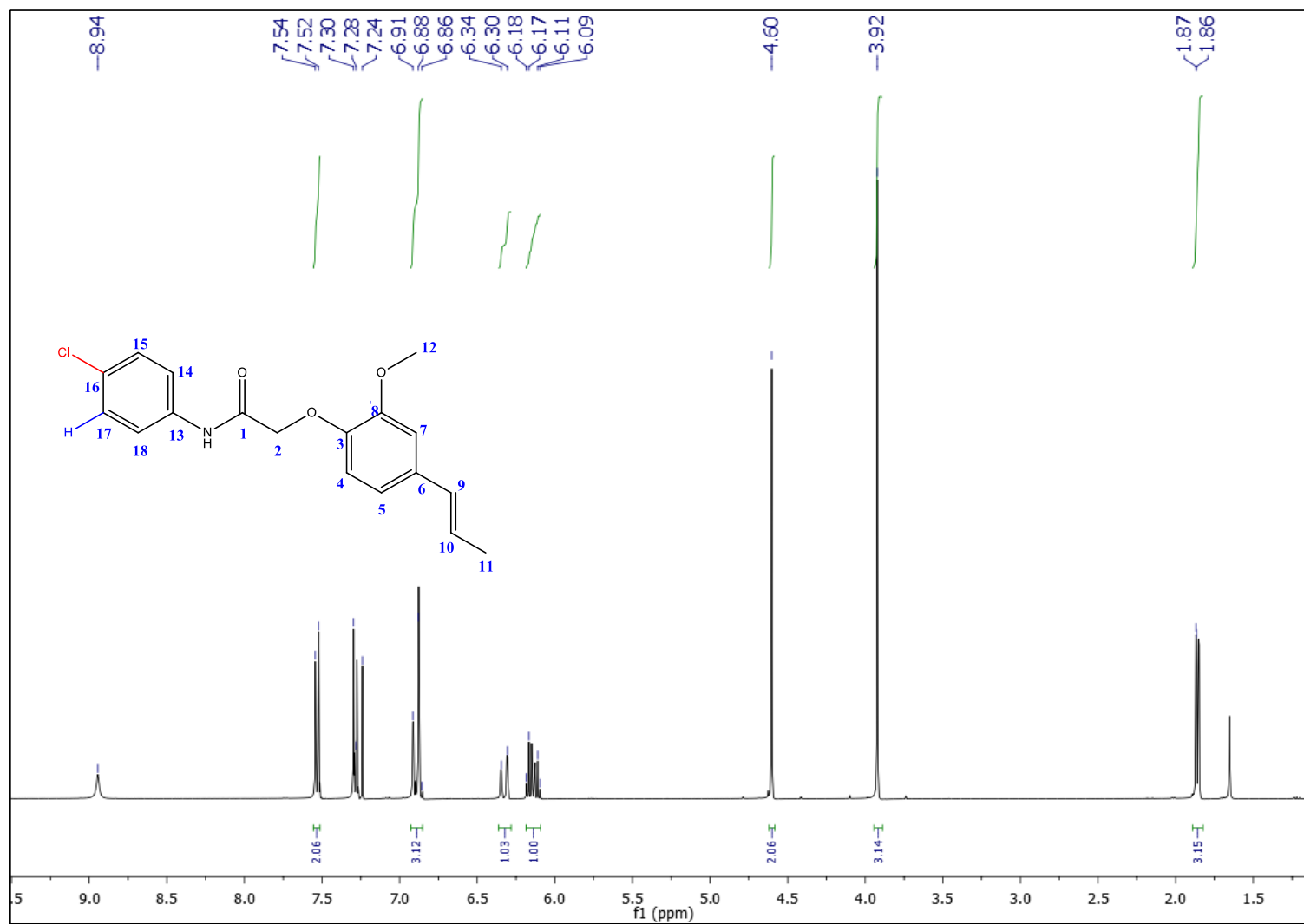


Espectro 69 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do eugenol ISOA5.

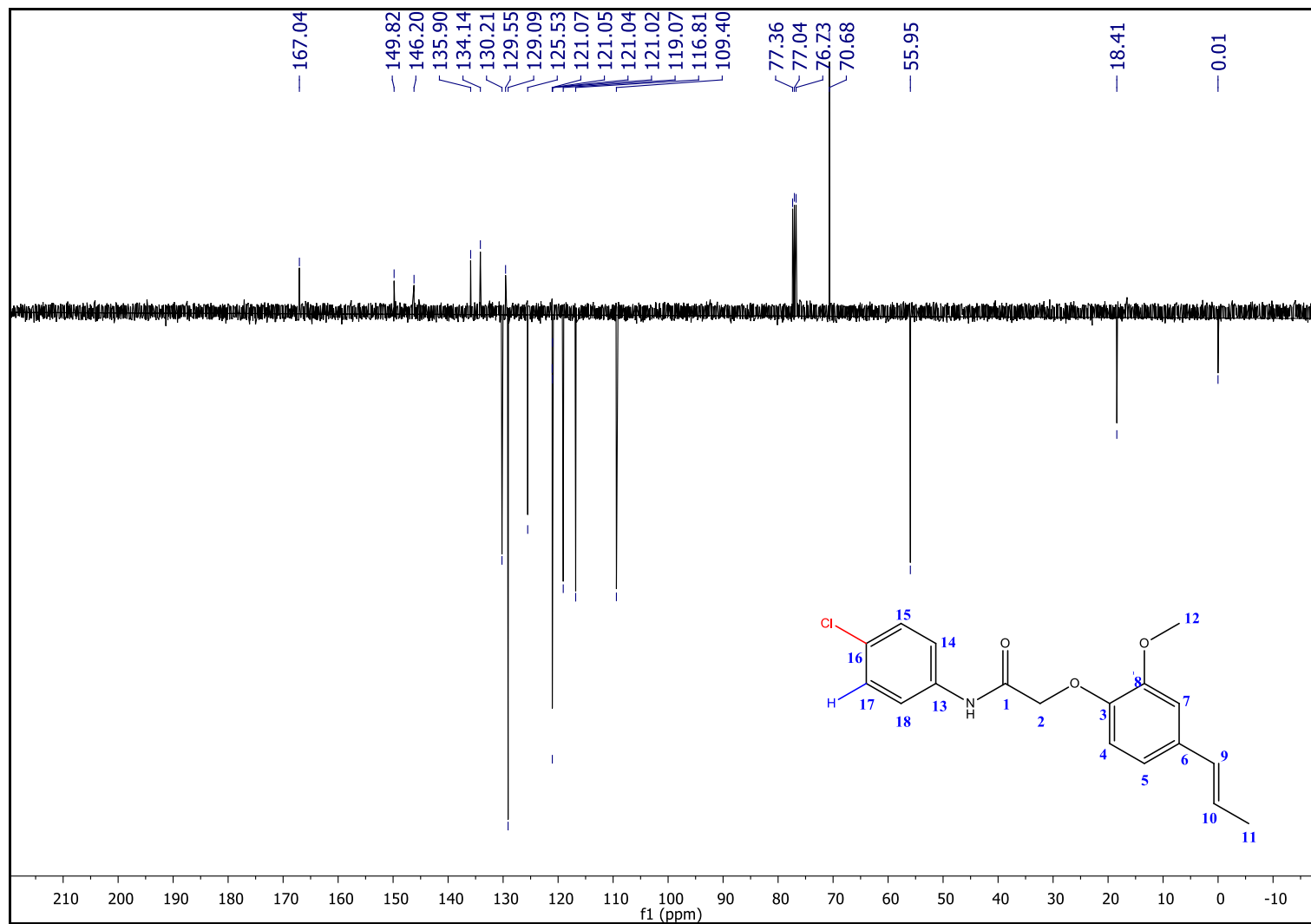
ISOA6



Espectro 70 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA6.

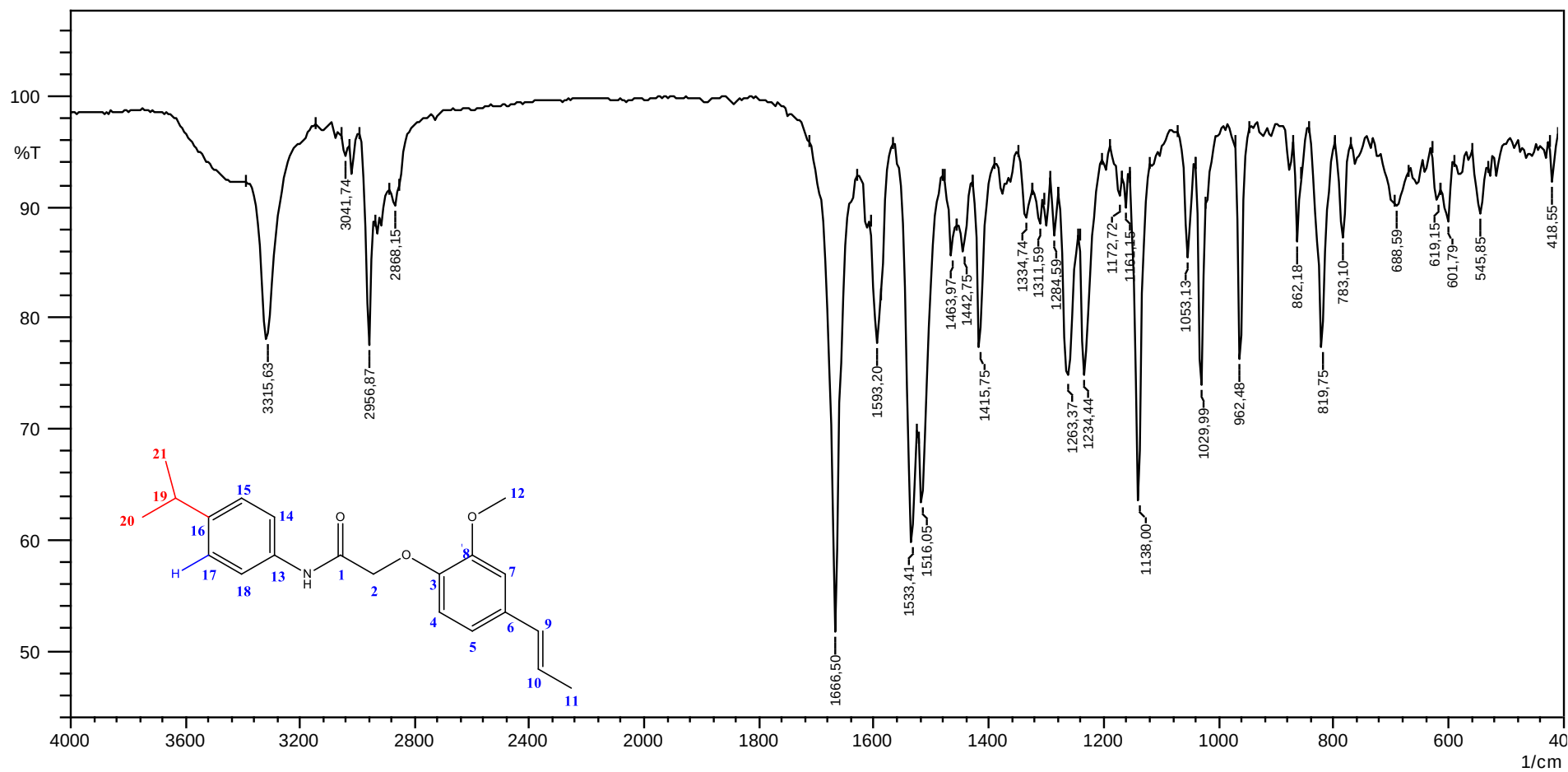


Espectro 71 – Espectro de RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA6.

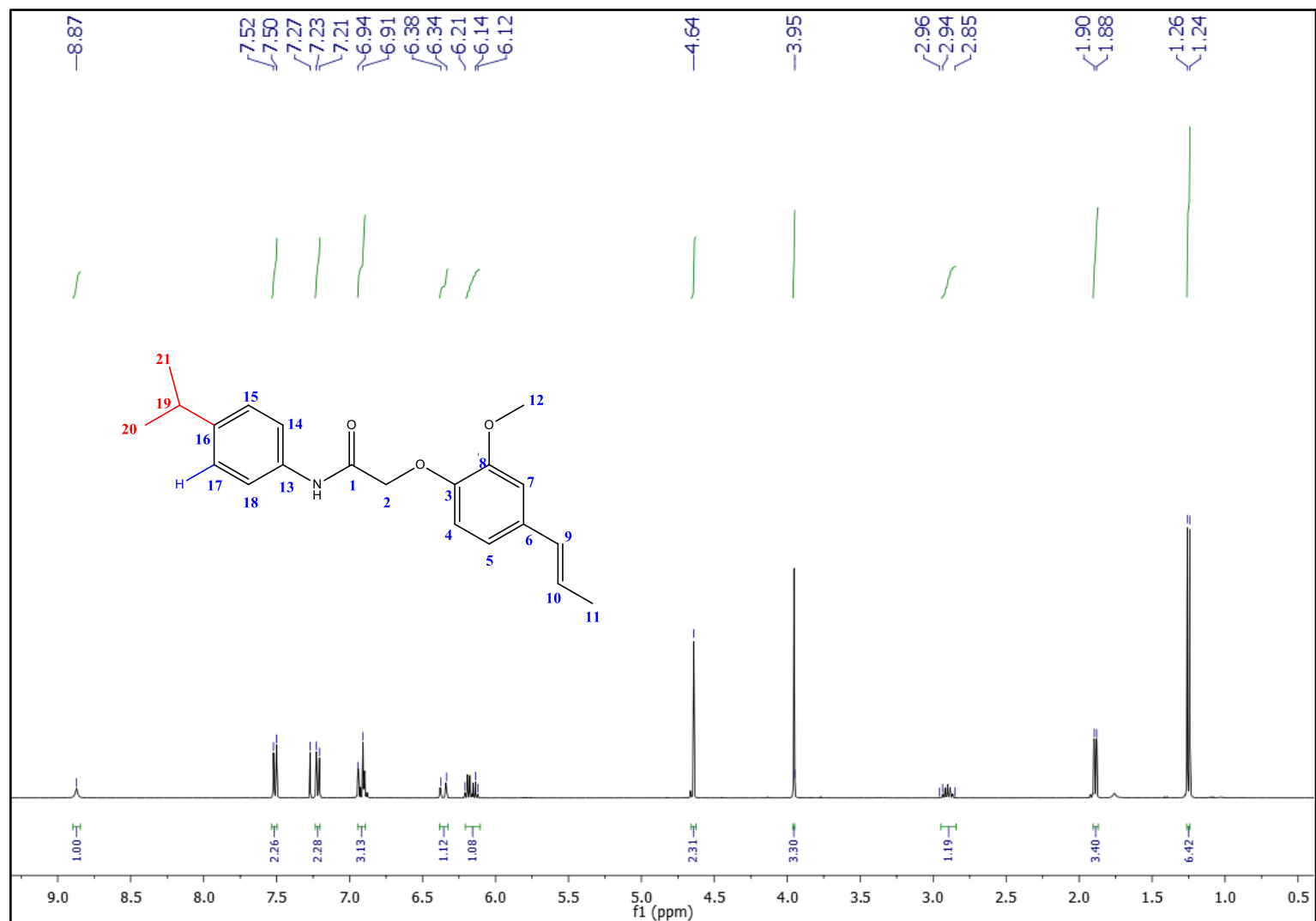


Espectro 72 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA6.

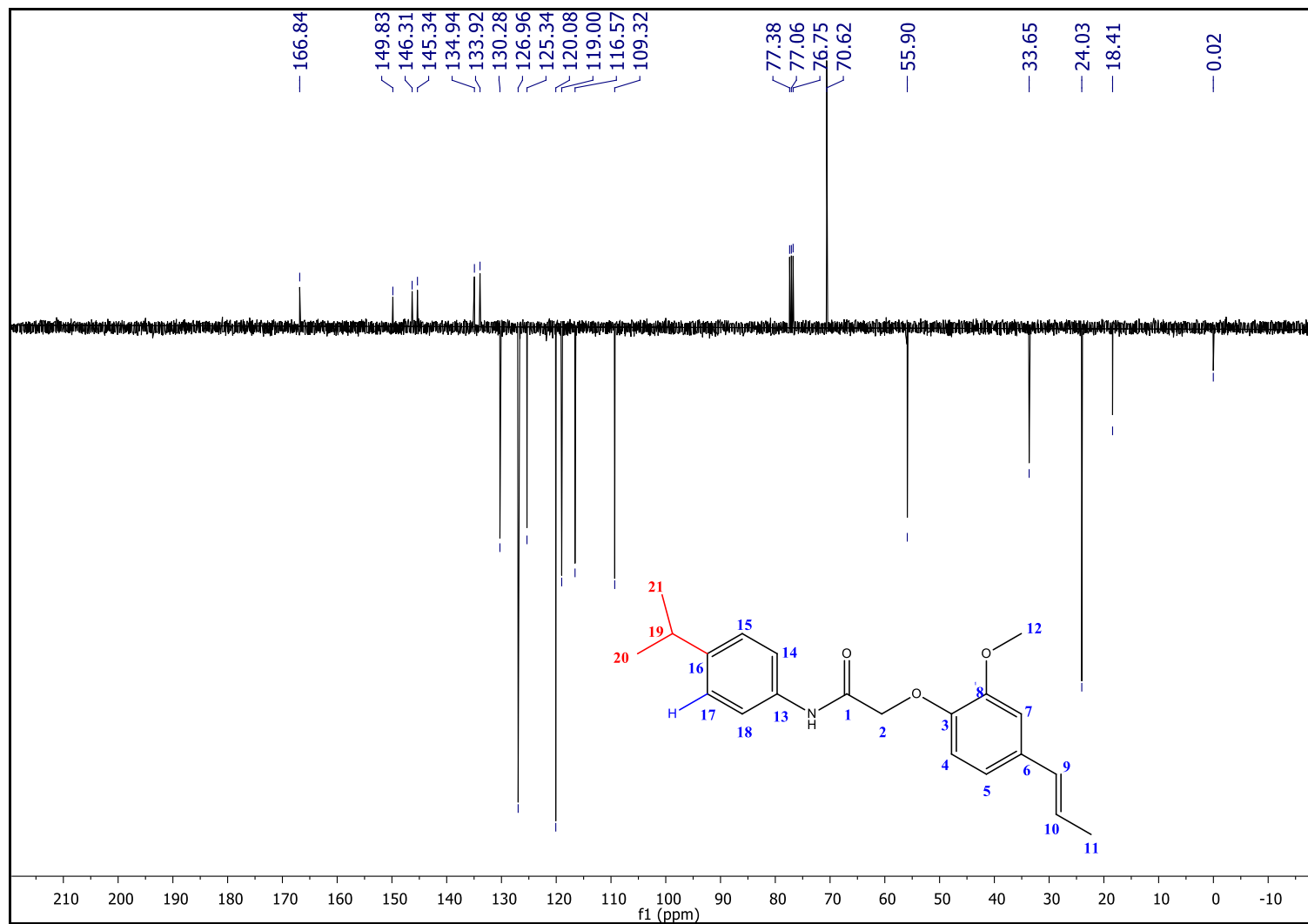
ISOA7



Espectro 73 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA7.

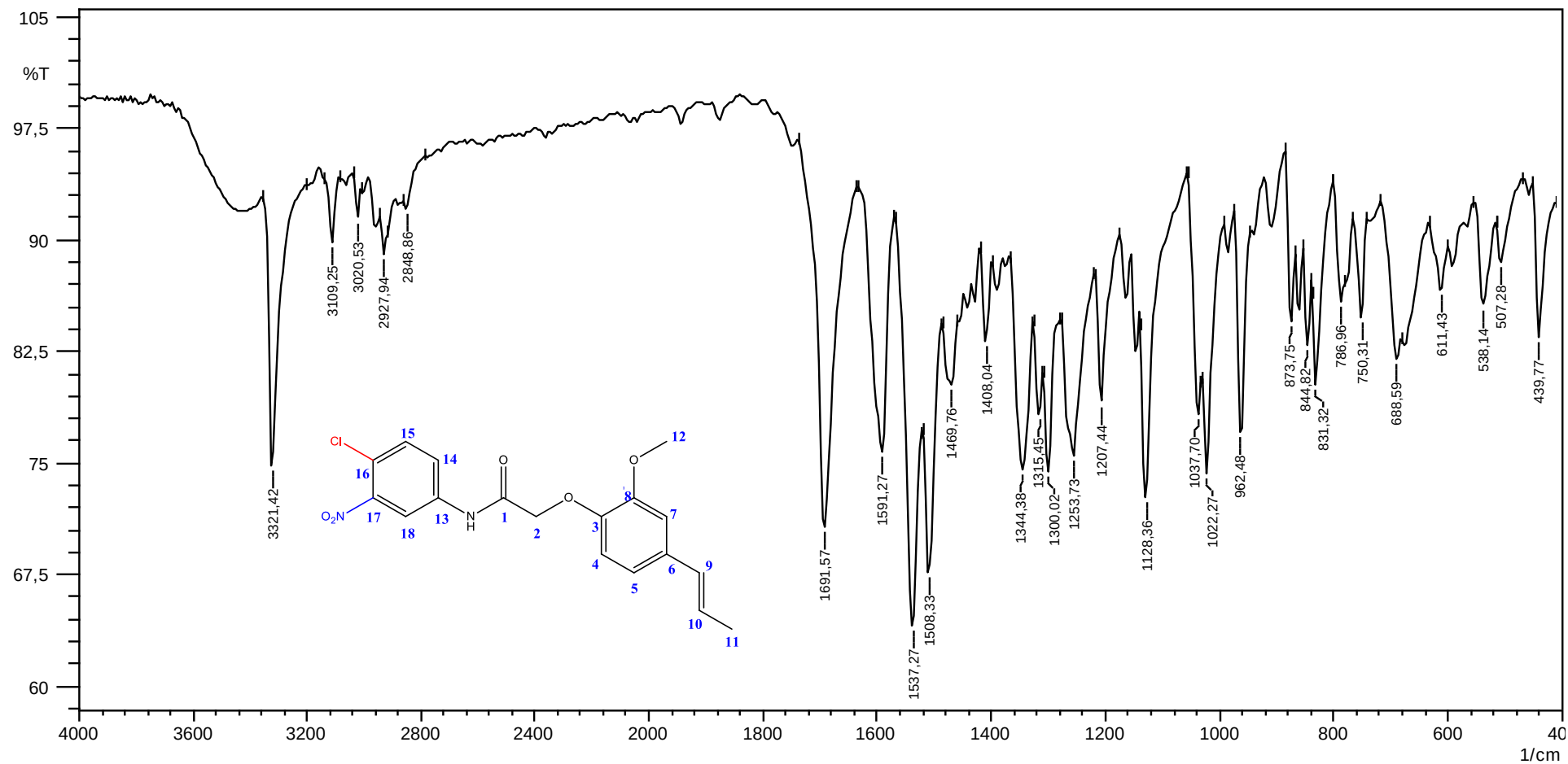


Espectro 74 – Espectro de RMN ^1H (CDCl₃, 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA7.

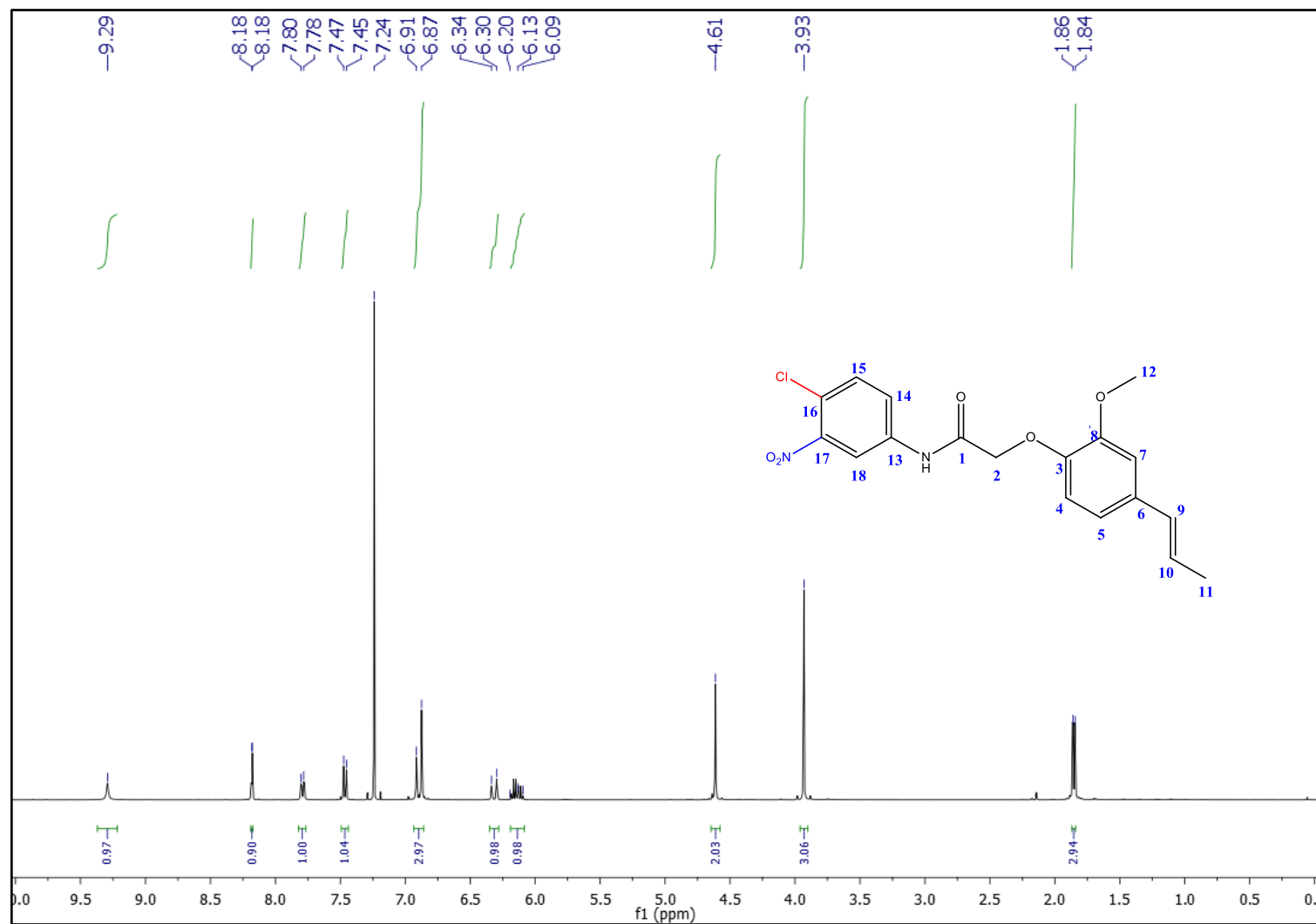


Espectro 75 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA7.

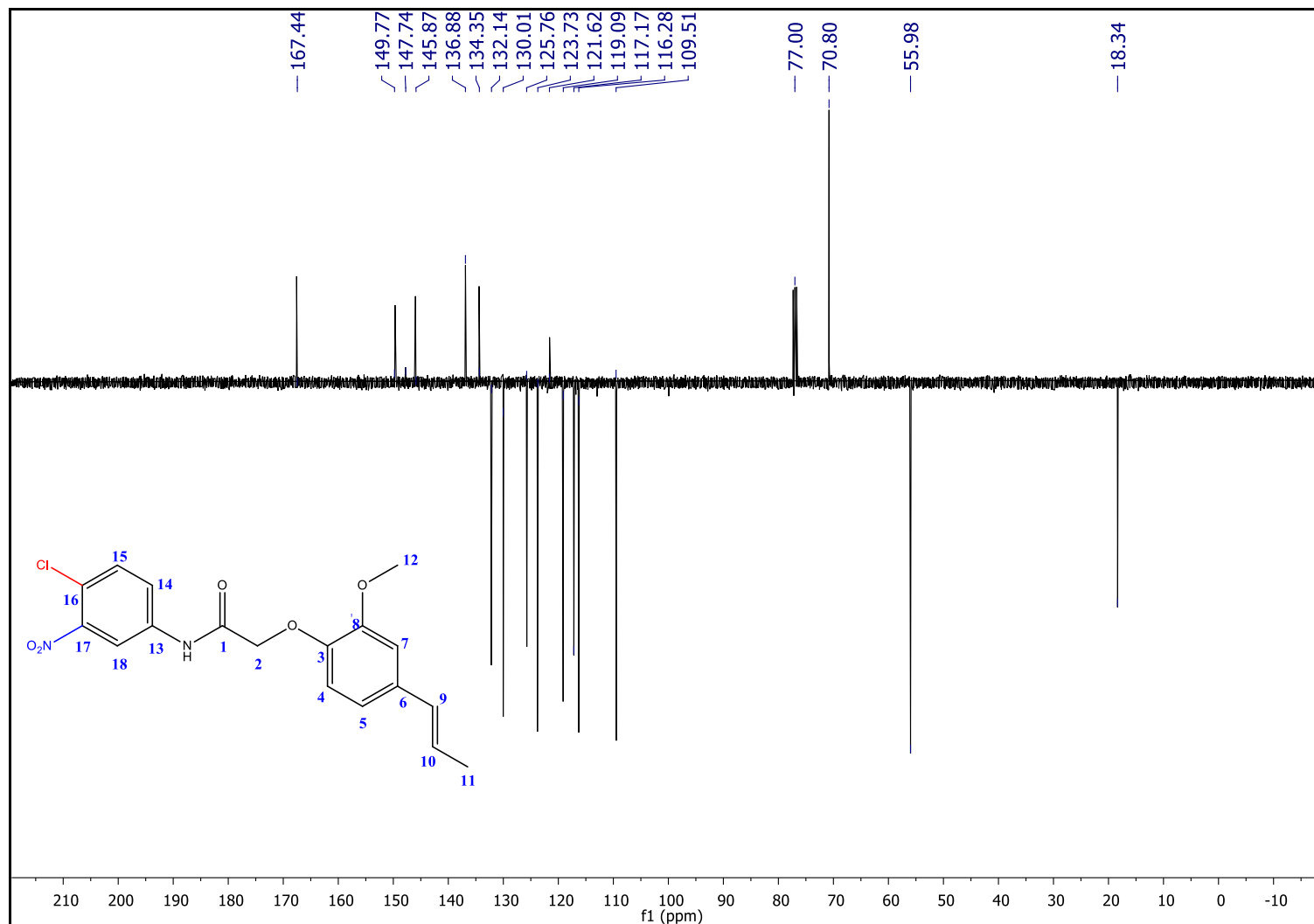
ISOA8



Espectro 76 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA8.

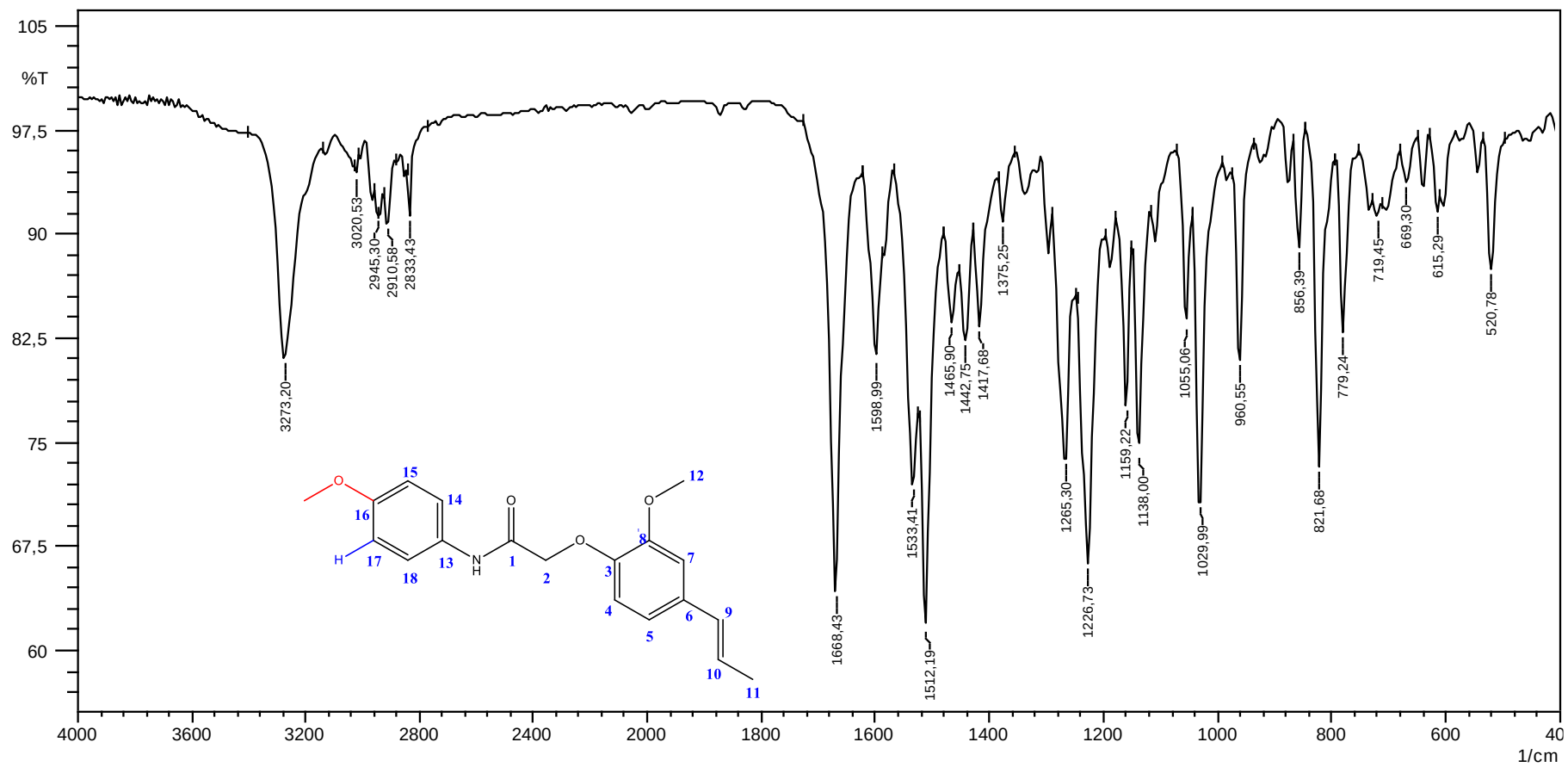


Espectro 77 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA8.

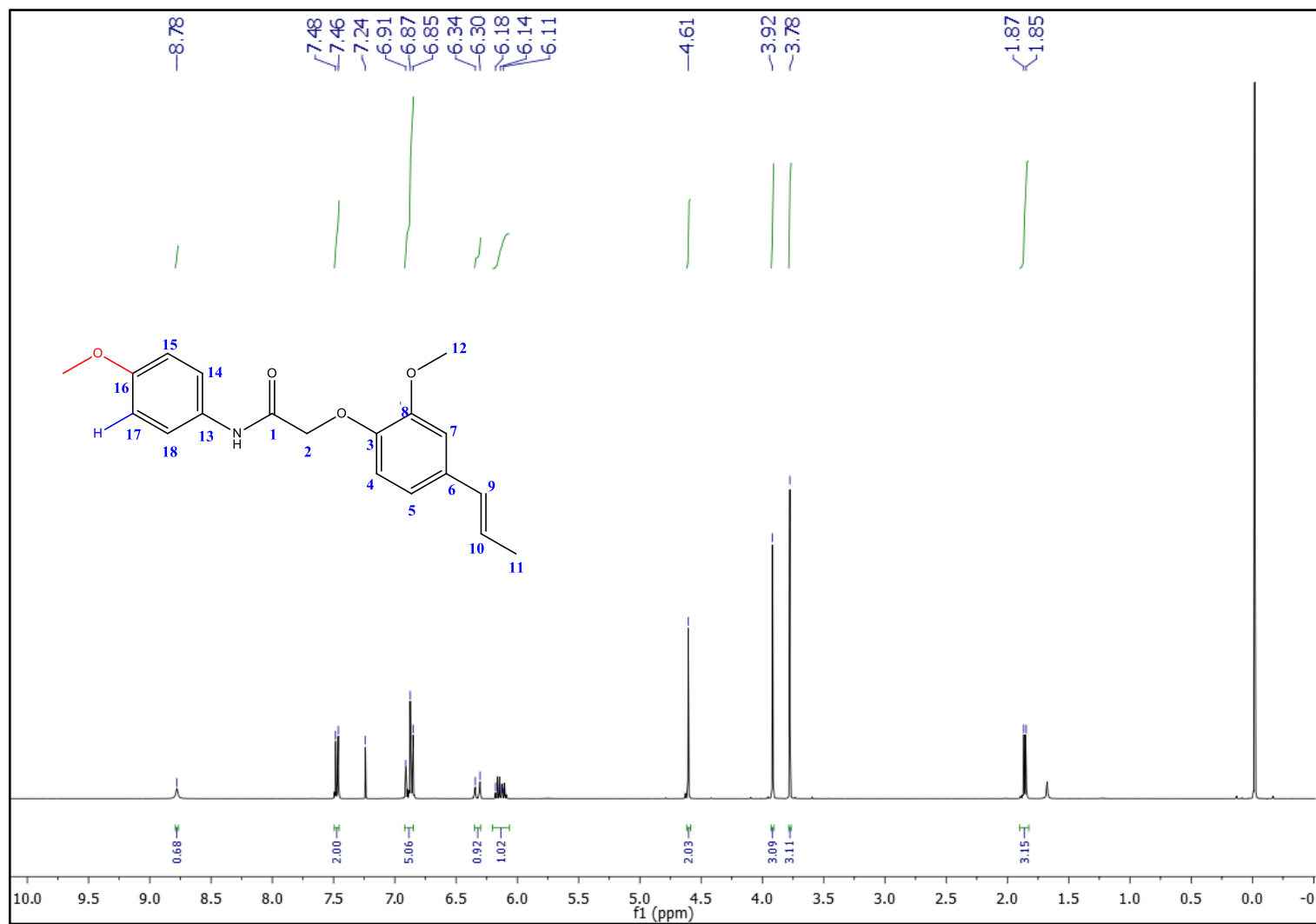


Espectro 78 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA8.

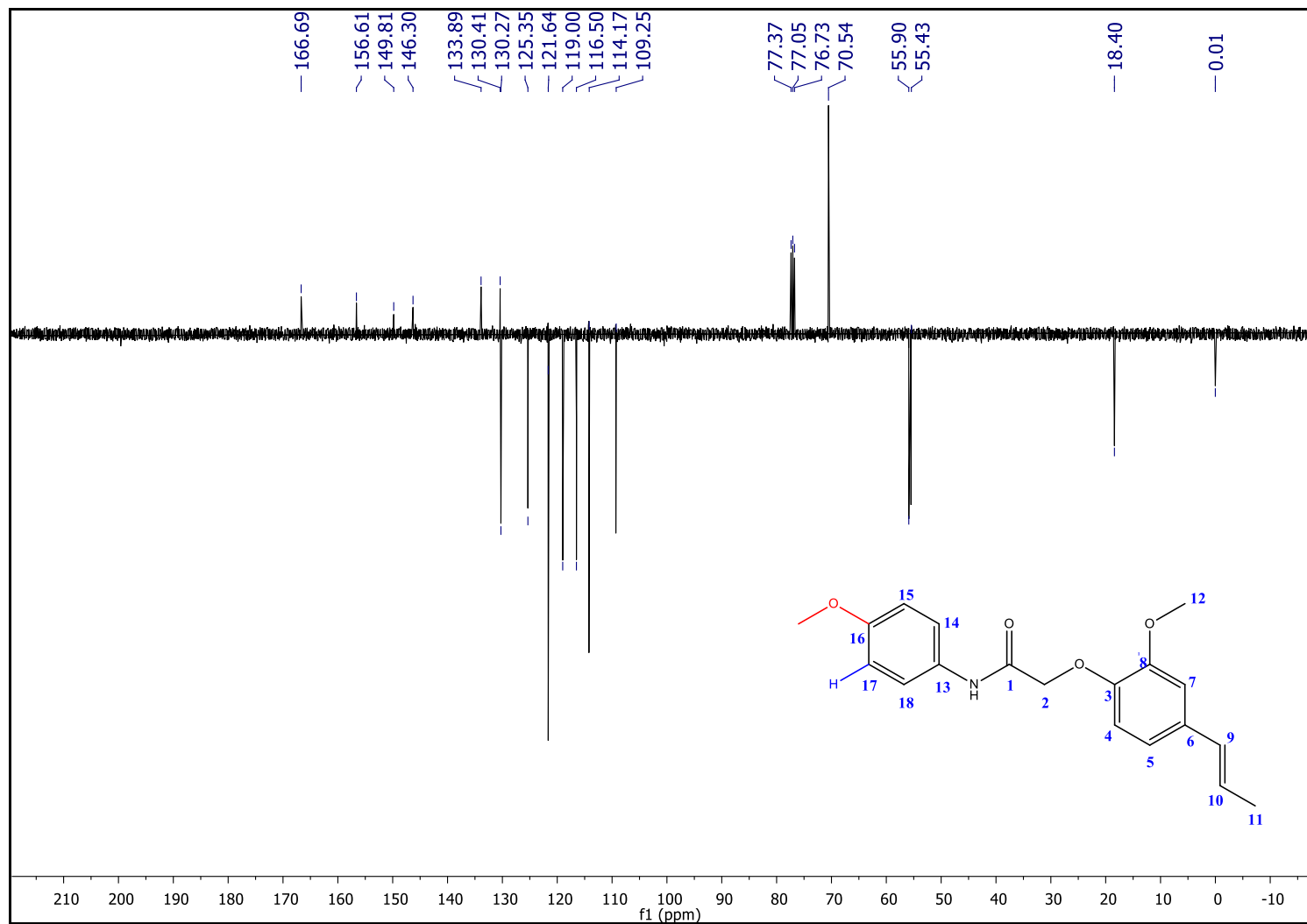
ISOA9



Espectro 79 – Espectro de IV (KBr) do derivado do isoeugenol ISOA9.



Espectro 80 – Espectro de RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA9.



Espectro 81 – Espectro de RMN ^{13}C – APT (CDCl_3 , 100 MHz) do derivado do isoeugenol ISOA9.

ANEXOS

(PUBLICAÇÕES)

ARTIGO PUBLICADO

Silva et al., IJP, 2018; Vol. 5(8): 100-05.

E- ISSN: 2348-3962, P-ISSN: 2394-5583

IJP (2018), Vol. 5, Issue 8

(Research Article)



Received on 15 May, 2018; received in revised form, 07 June, 2018; accepted, 13 June, 2018; published 01 August, 2018

ANTIFUNGAL STUDY OF CHEMICAL CONSTITUENTS ISOLATED FROM *PIPER CALDENSE* D.C.

G. A. T. Silva¹, E. B. V. de Sousa¹, J. U. G. Jardim¹, R. C. Montes^{*1}, B. F. Lira², J. Í. V. Costa¹, E. O. Lima², J. M. Barbosa Filho¹ and Maria C. O. Chaves¹

Department of Pharmaceutical Sciences¹, Department of Chemistry², Federal University of Paraíba, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 58051-900, Brazil.

Keywords:

Piperaceae,
Antimicrobial activity,
Prenylhydroxybenzoic acid
derivative, Antifungal activity

Correspondence to Author:

R. C. Montes

Department of Pharmaceutical
Sciences, Federal University of
Paraíba, Universidade Federal da
Paraíba, João Pessoa, 58051-900,
Brazil.

E-mail: ricsony_79@yahoo.com.br

ABSTRACT: An intensive phytochemical study of the two parts of the *Piper caldense* plant brings the isolation of secondary metabolites, generated by shikimate and the mevalonate pathways. Using chromatographic techniques, the ethanolic extract of leaves afforded two pheophytins, the pheophytina (1), 15-hydroxy-A-porphyrinolactone a (2), a mixture of the β -sitosterol and stigmasterol steroids (3-4), Four derivatives of benzoic acid (5-8) and the trilinoein (9) were isolated from the fruits. The spectroscopic methods such as ^1H and ^{13}C Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and electrospray mass spectrometry (ESI-MS) were used for structural characterization. The compounds were screened for their *in-vitro* antifungal activity against seven *Candida* strains. The control used in the antifungal assays was nystatin. In general, three compounds revealed fungal sensitivity, especially, the prenylated benzoic acid derivative (6) which accomplished the lowest minimum inhibitory concentration (MIC).

ARTIGO ACEITO

Journal of the Brazilian Chemical Society

Decision Letter (JBCHS-2018-0235.R1)

From: kaufman@iquir-conicet.gov.ar

To: athayde-filho@quimica.ufpb.br

CC:

Subject: Journal of the Brazilian Chemical Society - Decision on Manuscript ID JBCHS-2018-0235.R1

Body: 01-Jul-2018

Dear Prof. Athayde Filho:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Synthesis, In Silico Study and Antimicrobial Evaluation of New Selenoglycolicamides" in its current form for publication in the Journal of the Brazilian Chemical Society. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the foot of this letter.

You should receive shortly an e-mail from the JBCS Office (publication@jbcs.sbq.org.br) in order to proceed with the fee payment through the PayPal system. The proofing production will begin only after the JBCS Office verifies the payment was properly credited, process that will take no longer than 3 days (the corresponding author will receive a message).

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Journal of the Brazilian Chemical Society, we look forward to your continued contributions to the Journal.

Sincerely,
Dr. Teodoro Kaufman
Associate Editor, Journal of the Brazilian Chemical Society
kaufman@iquir-conicet.gov.ar, tkaufman@biocyf.unr.edu.ar

Entire Scoresheet:

Date Sent: 01-Jul-2018

 Close Window

Synthesis, *in silico* Study and Antimicrobial Evaluation of New Selenoglycolicamides

Helivaldo D. S. Souza,^a Roxana P. F. de Sousa,^a Bruno F. Lira,^a Raquel F. Vilela,^a
Nathalie H. P. B. Borges,^b José P. de Siqueira-Junior,^b Edeltrudes O. Lima,^c
Jeane U. G. Jardim,^c Gracielle A. T. da Silva,^c José M. Barbosa-Filho^c and
Petrônio F. de Athayde-Filho^{*a}

^aDepartamento de Química, Universidade Federal da Paraíba, 58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

^bDepartamento de Biologia Molecular, Universidade Federal da Paraíba,
58051-970 João Pessoa-PB, Brazil

^cDepartamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba,
58051-900 João Pessoa-PB, Brazil

Nine new compounds derived from selenoglycolic acid were synthesized, and their structures were fully characterized by elemental analysis, infrared (IR), ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance (NMR). The compounds were evaluated in an *in silico* study and showed strong to moderate antibacterial activity against several strains of *Staphylococcus aureus*. In particular, three compounds exhibited excellent antibacterial activity, with minimum inhibitory concentrations (MICs) between 16 and 64 µg mL⁻¹. Furthermore, two of the nine compounds showed antifungal activity, with MIC of 1024 and 512 µg mL⁻¹. *In silico* studies of the parameters of Lipinski's rule of five indicate that these compounds have potential to be new drug candidates.

Keywords: selenoglycolic acid, selenoglycolicamides, antibacterial activity, antifungal activity