



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



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Avaliação Antimicrobiana de 3-Nitrobenzamidazóis Sintéticos sobre Espécies de
Candida e Estudos de Docking Molecular**

SEVERINO FERREIRA NETO

**João Pessoa
UFPB – 2021**



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



**Avaliação Antimicrobiana de 3-Nitrobenzamidas Sintéticas sobre Espécies de
Candida e Estudos de Docking Molecular**

SEVERINO FERREIRA NETO

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

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

João Pessoa
UFPB - 2021

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

F383a Ferreira Neto, Severino.

Avaliação antimicrobiana de 3-nitrobenzamidas sintéticas sobre espécies de Candida e estudos de docking molecular / Severino Ferreira Neto. - João Pessoa, 2021.

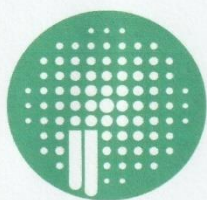
133 f. : il.

Orientação: Damião Pergentino de Sousa.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Atividade antifúngica. 2. Amidas. 3. Imida. 4. Nitrocomposto. I. Sousa, Damião Pergentino de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.282(043)



PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 448ª (quadringentésima quadragésima oitava) Dissertação de Mestrado do aluno do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Severino Ferreira Neto**, candidato ao Título de “Mestre” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica.

Às oito horas e trinta minutos (08h30) do dia trinta e um de agosto do ano de dois mil e vinte e um (31/08/2021), em ambiente virtual de videoconferência através do aplicativo Google Meet, link: <https://meet.google.com/sbg-mtur-van>, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o aluno **Severino Ferreira Neto**, candidato ao Título de “MESTRE” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de concentração Farmacoquímica. Foram componentes da Comissão Examinadora os pesquisadores Kristerson Reinaldo de Luna Freire, Ph.D em Síntese Orgânica, Luciana Scotti, Ph.D em Cosmetologia e Modelagem Molecular e Damião Pergentino de Sousa, Ph.D em Ciências. Sendo todos integrantes do corpo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Comissão, professor Damião Pergentino de Sousa, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o candidato **Severino Ferreira Neto**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado “Atividade Anti-*Candida* e Estudos de Docking Molecular de 3-Nitrobenzamidas Sintéticas”. Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, o candidato foi arguido pelos examinadores na forma regimental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se o examinado **Severino Ferreira Neto** legalmente habilitado a receber o Título de “MESTRE” em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na área de concentração Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da Comissão e pelo discente.

Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa (Orientador)

Prof. Dr. Kristerson Reinaldo de Luna Freire (Examinador)

Prof.^a Dr.^a Luciana Scotti (Examinadora)

Severino Ferreira Neto (Discente)



Dedicatória

Ao meu Deus, que me sustenta e
permite realizações como este
mestrado e que continuará sempre
ao meu lado e a minha querida
família, em especial aos meus pais,
que são fundamentais nas minhas
conquistas, dedico.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, agradeço a Deus, pois a sua misericórdia, seu amor e sua graça são abundantes e enchem a minha vida e sem Ele, nada disso seria possível. Porque dele, por ele e para ele são todas as coisas. A ele seja a glória (Rm 11:36).

Aos meus familiares, especialmente meus pais Milton e Isabel, meu irmão Pedro, e as minhas avós Maria e Carminha, e neles estejam representados todos os demais componentes da minha família que amo muito e que contribuíram significativamente para o que sou hoje, obrigado por toda paciência e confiança. Obrigado por me acompanhar nesses tempos tão corridos e pressionados de mestrado, só Deus pode recompensá-los. A minha namorada Juliana, por ser responsável por me acalantar, apoiar e acalmar. Com você, eu me sinto feliz, seguro e amado. O meu desejo é que Deus nos conceda toda uma vida lado a lado.

Gostaria de agradecer a todos os meus irmãos da Igreja Assembleia de Deus, em especial a todos os jovens que estão comigo sempre, inclusive do João 3.16 Movement. Todos vocês são bênçãos na minha vida. Aos meus amigos concurseiros Werton, Sabino, Thalysson, Melquisedeque, Valmir e Matheus. Obrigado por todo apoio e companheirismo.

Ao meu orientador Dr. Damião Pergentino de Sousa pelas orientações, correções, disponibilidade e oportunidade. Obrigado por não ter desistido de mim e acreditado no meu trabalho. Sou eternamente grato pelo que fez por mim. Espero que possamos trabalhar em outros projetos, obrigado pela confiança.

Aos meus amigos da turma do mestrado, Grasiela, Catarina, Carlos, Joice, Fernando, Camila, Ana Paula, Bárbara, Kimberly, Patrícia, Jociano, Neves, Érika, Natan, Ana Luiza, Júnior, Thiago, Francielly, vocês tornaram o caminho mais leve. Aos meus amigos da graduação (Farmalunos 2013.1), em especial os que compõem o grupo “Melhores Farmacêuticos”.

Aos amigos do Laboratório de Química Farmacêutica: Carlos, Mayara, Lázaro, Joice, Ana Júlia, Anna Emanuella, Alana Rodrigues, Allana Brunna, Marianna, Marina, Rayanne, Susiany, Fernando e Giselle, pelo convívio, auxílio e compartilhamento de grandes momentos durante as atividades realizadas no laboratório.

Aos técnicos do LMCA, Marcelo e Evandro pela ajuda na análise dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Bem como, a Raquel do Laboratório Analítico Multiusuário (CCS-UFPB) pelas análises de IV. Agradeço as “Donas Fátimas”, servidoras que sempre estavam em minha rotina, apoiando e alegrando.

Ao Professor Dr. Ricardo Castro e suas alunas Danielle e Karol, por terem realizado os testes biológicos destinados ao projeto. Sem a ajuda de vocês eu não conseguiria. Muito obrigado pelo empenho. Ao professor Dr. Yunierkis P. Castillo pelo estudo de *docking* molecular.

A todos os professores que orientaram e transmitiram seus conhecimentos de forma tão excelente para a minha formação, especialmente aos professores Dr. Kristerson Luna e Dra. Luciana Scotti por avaliarem e enriquecerem este estudo.

Agradeço ao CAPES pelo apoio financeiro e a UFPB pelo apoio institucional e a todos aqueles que estiveram presentes, direta e indiretamente, para a realização desta etapa tão especial da minha vida. Que Deus, com suas ricas bênção, abençoe a todos vocês.

RESUMO

As infecções fúngicas acometem uma significativa parte da população. Estima-se que cerca de 1 bilhão de pessoas em todo o mundo já foram afetadas por algum tipo de fungo. O gênero *Candida* é responsável por diversas doenças infecciosas, especialmente em indivíduos com imunidade comprometida. Além disso, é preocupante o surgimento de cepas resistentes aos fármacos disponíveis, o que resulta em maiores dificuldades para o tratamento e associação a casos de óbito. Portanto, é urgente a busca por novas alternativas farmacoterapêuticas. Derivados nitrobenzenos apresentam diversas propriedades antimicrobianas, incluindo ação antifúngica. Desse modo, no presente estudo investigou-se o potencial antifúngico de catorze derivados 3-nitrobenzamidas frente às espécies do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*) e estabeleceu-se uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas. Os derivados 3-nitrobenzamidas foram preparados utilizando a reação de Schotten-Baumann e foram estruturalmente caracterizados pelas técnicas de Espectroscopia de Infravermelho e Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C . Os produtos obtidos tiveram rendimentos de 25,2-72,7% e três derivados da coleção são inéditos (**6**, **8** e **10**). Nos testes antifúngicos determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) com a técnica de microdiluição em placas de 96 poços e a Concentração Fungicida Mínima (CFM) em meio de cultura sólido. Também se investigou o possível modo de ação utilizando os ensaios do sorbitol e ergosterol. Nove compostos apresentaram atividade antifúngica com valores de CIM que variaram de 39,06 a 1250 $\mu\text{g/mL}$. Considerando a análise da razão de CFM/CIM, que apresentou valores em um intervalo de 1 a 3, pode-se verificar que os derivados apresentam ação fungicida. A imida **14** demonstrou o melhor efeito fungicida da coleção frente às cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*, com valores de CIM e CFM de 39,06 $\mu\text{g/mL}$. Os dados sugerem que este composto não atua de forma direta sobre membrana celular fúngica ou por mecanismos que envolvam funções da parede celular. A respeito da relação estrutura e atividade antifúngica, a presença do sistema dicarbonílico ligado ao nitrogênio ou metilenodióxido potencializam a ação inibitória frente às espécies de fungos. O estudo de *docking* molecular mostra que sete dos dez alvos que compartilham *scores* de *docking* mais altos pertencem à via biossintética do ergosterol, com predição de ligação aos alvos: proteína de ligação a GTP RHO1, difosfomevalonato descarboxilase, esqualeno monooxigenase, esterol 24-C-metiltransferase e esqualeno sintase; o pequeno tamanho da molécula e os grupos carbonilas, principalmente, foram ideais para estabilização da molécula nos receptores. A análise, inicialmente feita para *C. albicans*, também foi feita para os alvos das espécies *C. krusei* e *C. glabrata*, em que há uma pequena mutação em resíduos do alvo de *C. krusei*, mas que não altera a ligação do composto neste alvo. Diante desses resultados, conclui-se que os derivados 3-nitrobenzamidas apresentam-se como compostos promissores para o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos contra *Candida* spp.

Palavras-chave: atividade antifúngica, amidas, imida, nitrocomposto.

ABSTRACT

Fungal infections affect a significant part of the population. It is estimated that around 1 billion people around the world have been affected by some type of fungus. The *Candida* genus is responsible for several infectious diseases, especially in individuals with compromised immunity. In addition, the emergence of strains resistant to available drugs is worrying, which results in greater difficulties for treatment and association with cases of death. Therefore, the search for new pharmacotherapeutic alternatives is urgent. Nitrobenzene derivatives have several antimicrobial properties, including antifungal action. Thus, in the present study, the antifungal potential of fourteen 3-nitrobenzamide derivatives against *Candida* species (*C. albicans*, *C. krusei* and *C. glabrata*) was investigated and a structure-activity relationship of the substances evaluated was established. The 3-nitrobenzamide derivatives were prepared using the Schotten-Baumann reaction and were structurally characterized by the techniques of Infrared Spectroscopy and Nuclear Magnetic Resonance of ^1H and ^{13}C . The products obtained had yields of 25.2-72.7% and three derivatives from the collection are unprecedented (**6**, **8** and **10**). In antifungal tests, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the microdilution technique in 96-well plates and the Minimum Fungicidal Concentration (MFC) in solid culture medium. The possible mode of action was also investigated using the sorbitol and ergosterol assays. Nine compounds showed antifungal activity with MIC values ranging from 39.06 to 1250 $\mu\text{g/mL}$. Considering the analysis of the CFM/CIM ratio, which presented values in a range of 1 to 3, it can be seen that the derivatives have fungicidal action. Imide **14** showed the best fungicidal effect in the collection against strains of *C. albicans*, *C. krusei* and *C. glabrata*, with MIC and CFM values of 39.06 $\mu\text{g/mL}$. The data suggest that this compound does not act directly on the fungal cell membrane or through mechanisms that involve cell wall functions. Regarding the structure and antifungal activity relationship, the presence of the dicarbonyl system linked to nitrogen or methylenedioxy potentiates the inhibitory action against fungal species. The molecular docking study shows that seven out of ten targets that share higher docking scores belonging to the ergosterol biosynthetic pathway, with predicted binding to targets: GTP RHO1 binding protein, diphosphomevalonate decarboxylase, squalene monooxygenase, 24-C-sterol methyltransferase and squalene synthase; the small size of the molecule and the carbonyl groups, mainly, were ideal for stabilizing the molecule in the receptors. The analysis, formula made for *C. albicans*, was also done for *C. krusei* and *C. glabrata* species targets, in which there is a small mutation in *C. krusei* target residues, but which does not alter the compound binding in this target. Given these results, it is concluded that 3-nitrobenzamides are promising compounds for the development of new antifungal drugs against *Candida* spp.

Keywords: antifungal activity, amides, imide, nitro compound.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Mecanismo de reação da síntese de cloretos ácidos a partir de ácidos carboxílicos e cloreto de tionila.	26
Esquema 2: Mecanismo de reação da síntese de amidas pela reação de Schotten-Baumann.....	30
Esquema 3: Planejamento experimental do estudo.	33
Esquema 4: Reação de Schotten-Baumann utilizando o cloreto de 3-nitrobenzoíla (a) e uma amina (b) para a formação de uma amida (c).	35
Esquema 5: Reação de Schotten-Baumann utilizando o cloreto de 3-nitrobenzoíla.	78

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura química do cloreto de 3-nitrobenzoíla.	26
Figura 2: formas de ressonâncias das amidas.	27
Figura 3: Reações que possibilitam a formação de amidas.	28
Figura 4: Estruturas químicas de fármacos que apresentam o grupo funcional amida.	29
Figura 5: Principais aplicações do <i>docking</i> molecular.	31
Figura 6: Estrutura química dos derivados de 3-nitrobenzamidas.	34
Figura 7: Estrutura em comum dos derivados de 3-nitrobenzamidas.	48
Figura 8: Ésteres e amidas de SANTOS (2020) e BARBOZA (2020), respectivamente.	59
Figura 9: Predição das energias livres de ligação do composto 14 a seus potenciais alvos biológicos.	68
Figura 10: Modo de ligação preditos do composto 14 a RHO1 (esquerda) e diagrama das interações ligante-receptor preditas (direita).	70
Figura 11: Modo de ligação predito do composto 14 para MVD (esquerda) e diagrama das interações ligante-receptor preditas (direita).	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados físico-químicos e experimentais dos produtos obtidos.....	45
Tabela 2: Espectroscopia de infravermelho – estiramentos (V) dos derivados de 3-nitrobenzamidas em cm^{-1}	47
Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidas 1-4	49
Tabela 4: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidas 5-7	50
Tabela 5: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidas 9-11	51
Tabela 6: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidas 12-14	53
Tabela 7: Assinalamentos de RMN de ^{13}C (δ_{C}) dos derivados de 3-nitrobenzamidas (1-14).....	54
Tabela 8: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos derivados 1-3, 5, 7, 10-11, 13-14 , com suas respectivas estruturas, contra <i>Candida</i> spp.	57
Tabela 9: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos derivados 1-14 , nistatina e cetoconazol contra <i>Candida</i> spp.	62
Tabela 10: O efeito do ergosterol exógeno (presença e ausência - 1,008.mM) na CIM da amida 14 e da nistatina contra <i>C. albicans</i> (ATCC 90028) e <i>C. krusei</i> (ATCC 6258).	63
Tabela 11: Valores de CIM da amida 14 e caspofungina na ausência e presença de sorbitol (0,8 M) contra cepas de <i>C. albicans</i> (ATCC 90028) e <i>C. krusei</i> (ATCC 6258).	64
Tabela 12: Alvos moleculares para investigar o potencial mecanismo de ação do composto 14 em <i>C. albicans</i>	66
Tabela 13: Pontuações da melhor posição de ligante por alvo de acordo com o esquema de pontuação de consenso aplicado.	67
Tabela 14: Resultados do acoplamento molecular do composto aos seus potenciais alvos moleculares.....	140
Tabela 15: Energias livres previstas de ligação do composto 14 aos seus alvos potenciais e seus componentes.	142

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida (01).	80
Espectro 2: Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida (01).	80
Espectro 3: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida (01).	81
Espectro 4: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida (01).	81
Espectro 5: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida (01).	82
Espectro 6: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida (02).	83
Espectro 7: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida (02).	84
Espectro 8: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida (02).	84
Espectro 9: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida (02).	85
Espectro 10: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida (02).	85
Espectro 11: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).	87
Espectro 12: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).	87
Espectro 14: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).	88
Espectro 13: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).	88
Espectro 15: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).	89
Espectro 16: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -fenetil-3-nitrobenzamida (04).	90
Espectro 17: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -fenetil-3-nitrobenzamida	

(04).....	91
Espectro 18: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -fenetil-3-nitrobenzamida (04).	92
Espectro 19: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -benzil-3-nitrobenzamida (05).....	95
Espectro 20: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -benzil-3-nitrobenzamida (05).....	95
Espectro 21: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -benzil-3-nitrobenzamida (05).	96
Espectro 22: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -benzil-3-nitrobenzamida (05).	97
Espectro 23: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (06).	98
Espectro 24: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (06).	98
Espectro 25: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (06).....	99
Espectro 26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (06).	100
Espectro 27: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).	101
Espectro 28: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).	102
Espectro 29: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).....	102
Espectro 30: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).	103
Espectro 31: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (08).	104
Espectro 32: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (08).	105
Espectro 33: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (08).....	105
Espectro 34: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(4-clorobenzil)-	

3-nitrobenzamida (08).	106
Espectro 35: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N,N</i> -dibenzil-3-nitrobenzamida (09).	108
Espectro 36: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da <i>N,N</i> -dibenzil-3-nitrobenzamida (09).	108
Espectro 37: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N,N</i> -dibenzil-3-nitrobenzamida (09).	109
Espectro 38: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N,N</i> -dibenzil-3-nitrobenzamida (09).	109
Espectro 39: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).	111
Espectro 40: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).	111
Espectro 41: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).	112
Espectro 42: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).	112
Espectro 43: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).	114
Espectro 44: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).	114
Espectro 45: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).	115
Espectro 46: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, DMSO-d_6) da <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).	115
Espectro 47: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).	116
Espectro 48: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).	117
Espectro 49: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).	117
Espectro 50: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).	118
Espectro 51: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida	

(13).....	120
Espectro 52: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).	120
Espectro 53: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).	121
Espectro 54: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).	121
Espectro 55: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).	122
Espectro 56: Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).....	123
Espectro 57: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).....	124
Espectro 58: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).....	124
Espectro 598: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).....	125
Espectro 60: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).....	125

LISTA DE ABREVIATURAS

- APT** – *Attached Proton Test*
- CC** – Cromatografia em Coluna
- CCDA** – Cromatografia em Camada Delgada Analítica
- CIM** – Concentração Inibitória Mínima
- CFM** – Concentração Fungicida Mínima
- d** – Dubleto
- dd** – Duplo dubleto
- ddd** – Dubleto de dubleto de dubleto
- DMSO-d₆** – Dimetilsulfóxido deuterado
- Hex: AcOEt** – Mistura de hexano e acetato de etila
- Hz** – Hertz
- IV** – Infravermelho
- J** – Constante de Acoplamento
- m** – Multiplete
- MHz** – Megahertz
- mL** – mililitro
- OMS** – Organização Mundial da Saúde
- ppm** – Partes por milhão
- q** – quarteto
- quint** - quinteto
- R_f** – Fator de Retenção
- RMN de ¹³C**: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze
- RMN de ¹H**: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
- s** – singleto
- sexteto** - sexteto
- sl** – singleto largo
- SN₂** – Substituição nucleofílica bimolecular
- t** – Tripleto
- δ** – Deslocamento químico em ppm

SUMÁRIO

1.0. INTRODUÇÃO	21
2.0. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	23
2.1. Considerações gerais sobre o gênero <i>Candida</i>	23
2.2. Alternativas farmacológicas antifúngicas	23
2.3. Resistência.....	24
2.4. Cloretos ácidos.....	25
2.5. Considerações sobre as amidas	27
2.5.1. Reação de Schotten-Baumann	29
2.6. Docking Molecular	30
3.0. OBJETIVOS	32
3.1. Objetivo geral.....	32
3.2. Objetivos específicos	32
4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1. Planejamento do estudo	33
4.2. Etapa Química.....	35
4.2.1 Preparação dos derivados de 3-nitrobenzamidas	35
4.3. Análise espectroscópica de derivados de 3-nitrobenzamidas	46
4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho	46
4.3.2. Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	48

4.4. Avaliação da atividade antifúngica dos derivados de 3-nitrobenzamidas .	56
4.4.1. Investigação do mecanismo de atividade antifúngica	60
4.5. <i>Docking</i> molecular	65
5.0. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	71
6.0. PARTE EXPERIMENTAL - QUÍMICA	72
6.1. Materiais e métodos utilizados no preparo dos derivados sintéticos	72
6.2. Métodos cromatográficos	72
6.3. Métodos espectroscópicos.....	72
6.3.1. Ressonância Magnética Nuclear	72
6.3.2. Espectroscopia de Infravermelho	73
6.4. Ponto de Fusão	73
7.0. PARTE EXPERIMENTAL – QUÍMICA COMPUTACIONAL	74
7.1. Local de Trabalho	74
7.2. Seleção de alvos	74
7.3. <i>Docking</i> molecular	74
7.4. Simulações de dinâmicas moleculares e predição das energias livres de ligação	75
8.0. PARTE EXPERIMENTAL – BIOLÓGICA	76
8.1. Local de Trabalho	76
8.2. Cepas fúngicas	76
8.3. Ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida	

Mínima (CFM).	76
8.4. Ensaios para avaliação do possível modo de ação dos compostos	77
9.0. QUÍMICA	78
9.1. Preparação dos derivados sintéticos 1- 14	78
9.2. Dados espectroscópicos dos derivados sintéticos.	79
9.2.1. 01: <i>N</i> -butil-3-nitrobenzamida	79
9.2.2. 02: <i>N</i> -octil-3-nitrobenzamida.....	83
9.2.3. 03: (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona.....	86
9.2.4. 04: <i>N</i> -fenetil-3-nitrobenzamida	90
9.2.5. 05: <i>N</i> -benzil-3-nitrobenzamida.....	94
9.2.6. 06: <i>N</i> -(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida	97
9.2.7. 07: <i>N</i> -(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida	101
9.2.8. 08: <i>N</i> -(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida.....	104
9.2.9. 09: <i>N, N</i> -dibenzil-3-nitrobenzamida	107
9.2.10. 10: <i>N</i> -(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida.....	110
9.2.11. 11: <i>N</i> -(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida	113
9.2.12. 12: <i>N</i> -(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida	116
9.2.13. 13: <i>N</i> -ciclohexil-3-nitrobenzamida.....	119
9.2.14. 14: 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona	123
10.0. REFERÊNCIAS	126
11.0 ANEXOS.....	140

11.1. Informações de apoio.....	140
--	------------

1.0. INTRODUÇÃO

As infecções fúngicas frequentemente estão presentes nos seres vivos e são responsáveis pelas doenças fúngicas que afetam mais de um bilhão de seres humanos, por meio de agentes fúngicos de diferentes gêneros e espécies. Capazes de causar micoses de pele, unhas, mucosas e até sistêmicas, os fungos são responsáveis por ter índices de mortalidade maiores que 1,6 milhões de pessoas, se equiparando à tuberculose neste quesito. Espécies dos gêneros *Aspergillus*, *Candida*, *Cryptococcus* e *Pneumocystis* são comumente encontradas nestas micoses e há um maior destaque para um grupo em especial, a saber: portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), pacientes transplantados sob uso de medicamentos imunossupressores, pessoas idosas, pacientes oncológicos sob tratamento quimioterápico e outras abordagens medicamentosas (BONGOMIN, GAGO, OLADELE, DENNING, 2017; CASADEVALL, 2018; RODRIGUES, NOSANCHUK, 2020; BANERJEE, DENNING, CHAKRABARTI, 2021; SEAGLE, WILLIAMS, CHILLER, 2021).

As espécies do gênero *Candida* são leveduras conhecidas por serem comensais cosmopolitas, distribuídas em partes do organismo como a pele, trato gastrointestinal, mucosas genitais e outras. Quando há a diminuição da imunidade do indivíduo, esses microrganismos passam de um estado comensal para agirem de forma patológica (são oportunistas). As espécies mais frequentes nas infecções são *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, e *C. krusei*, e usualmente são tratadas utilizando medicamentos da classe dos derivados azólicos, poliênicos e equinocandinas. Apesar das opções farmacoterapêuticas, cepas fúngica deste gênero têm adquirido resistência aos medicamentos disponíveis, sendo um fator relevante para o uso racional destas ferramentas farmacológicas e para a busca de novas alternativas clínicas (LANTERNIER, et al. 2013; d'ENFERT, et al., 2020; SEAGLE, WILLIAMS, CHILLER, 2021; BEM-AMI, KONTOYIANNIS, 2021).

As amidas são substâncias amplamente distribuídas na natureza e fazem parte de estruturas biológicas, como proteínas e enzimas. São estruturas com considerável estabilidade e as amidas primárias e secundárias são capazes de formar ligações de hidrogênio (MONTES, 2016; LIMA, 2018). São utilizadas na indústria, na agricultura (como pesticidas) e como produtos farmacêuticos, apresentando atividades, tais como: antimicrobiana (OLIVEIRA, et al., 2019; MARTÍNEZ, et al. 2020), antioxidante

(LIMA, et al., 2020), anti-inflamatória (ANDRYUKOV, KORKODINOVA, 2018; NIAN, et al., 2020), anticâncer (GULZAR, MAHMUD, MUNIR, ANJUM, 2018; BOHLOOL, et al., 2020), entre outros.

O grupo nitro (NO_2) tem contribuído na atividade biológica, incluindo a ação antimicrobiana, de diversos derivados sintéticos, nos quais este substituinte está presente (HIPÓLITO, et al., 2018; THAKRAL, et al., 2020). Nos estudos de NASCIMENTO (2017) e FERREIRA (2018), realizados no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF) da UFPB, foram produzidos ésteres do tipo nitrocinamatos e nitrobenzoatos, respectivamente, com atividade antifúngica contra espécies de *Candida*. Os compostos nitrocinamatos com melhor atividade inibitória foram (*E*)-butil-3-(2-nitrofenil) acrilato e (*E*)-2-metoxietil-3-(2-nitrofenil) acrilato com valores de CIM entre 128 – 256 $\mu\text{g/mL}$. Contudo, os derivados nitrobenzoatos apresentaram maior potência antimicrobiana frente ao gênero *Candida*, a exemplo do 3-metil-4-nitrobenzoato de metila (CIM = 0,039 $\mu\text{mol/mL}$) e 3-metil-4-nitrobenzoato de pentila (CIM = 0,031 $\mu\text{mol/mL}$). Portanto, dando continuidade a estes trabalhos, no presente estudo investigou-se o potencial antifúngico de uma coleção de catorze derivados de 3-nitrobenzamidas contra espécies do gênero *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*). Em adição, realizou-se o docking molecular do composto mais potente em diferentes alvos biológicos relacionados a possíveis mecanismos de ação antifúngica em espécies de *Candida*.

2.0. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Considerações gerais sobre o gênero *Candida*

O gênero *Candida* pertence ao Reino Fungi e apresenta uma variedade de espécies onde alguma destas podem estar presentes na microbiota humana (WÄCHTLER et al., 2012; SANTOS et al., 2018). São eucariontes, podendo ser do tipo unicelular (leveduriformes), pluricelular (filamentosos) ou haploides (homo ou heterocarióticos) e podem apresentar reprodução sexuada ou assexuada (STAJICH et al., 2009).

Podem estar presentes nos seres humanos, de forma comensal, em diversas regiões como epiderme, vagina e mucosas. Tornam-se agentes patológicos oportunistas no momento em que ocorre um desequilíbrio da microbiota em variados níveis de complexidade, podendo em casos mais graves, ocasionar a morte, principalmente em pacientes imunocomprometidos (BARBEDO; SGARBI, 2010; MARTIN et al., 2011; PENDLETON, HUFFNAGLE, DICKSON, 2017; BASMACIYAN et al., 2019)

Entre as 15 espécies identificadas como causadoras de doenças fúngicas, 90% são causadas apenas por cinco espécies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Essas aparecem com maior incidência por um conjunto de mecanismos de patogenicidade, com destaque para a *C. albicans* (PAPPAS, et al., 2016).

O tratamento destas doenças é feito por protocolos usando antifúngicos, principalmente os compostos azólicos. Entretanto, devido ao recorrente uso desta classe de medicamentos, muitas cepas dos variados fungos deste gênero têm apresentado resistência e causado então uma diminuição da efetividade do medicamento no tratamento dessas doenças, sendo necessária a busca por novos agentes antifúngicos (DEORUKHKAR, SAINI, & MATHEW, 2014; SANTOS et al., 2018).

2.2. Alternativas farmacológicas antifúngicas

Existem inúmeras condutas terapêuticas para o tratamento dos problemas causados por fungos e apresentam-se em formulações farmacêuticas tópicas e orais como as mais comuns. Esta classe de medicamentos apresenta uma variedade de

fármacos com vários alvos de ação, com o objetivo de evitar a resistência aos tratamentos (BENNETT, 2012; MURRAY et al., 2014).

A classificação destes medicamentos é feita por meio de sua composição química ou de seu local de ação, onde se pode elencar os polienos, representados pela anfotericina B e nistatina, inibidores da biossíntese do ergosterol, como fluconazol, itraconazol, posaconazol e voriconazol, equinocandinas - caspofungina, anidulafungina e micafungina (agem na parede celular fúngica) e o antimetabólito (análogo da citosina) flucitosina (5-fluorocitosina, 5-FC). (VYAS K, BARIOLA, BRADSHER, 2010; ALBURQUENQUE et al., 2013; BELLMANN, SMUSZKIEWICZ, 2017).

Um agente antifúngico ideal deve atender alguns aspectos, como o de agir em uma grande variedade de fungos, ter alvo direcionado e ação fungicida, dentre outros. Exemplo destes fármacos são os polienos, como nistatina, anfotericina B e suas formulações lipofílicas, pois agem na formação de complexo com o ergosterol, componente da membrana, que vai ocasionar a ruptura desta e consequentemente a morte do fungo, sem prejuízo ao hospedeiro (MAZU, et.al, 2016; CANDEL, et al., 2018).

Embora existam fármacos eficazes no tratamento fúngico, eles estão cada vez limitados. Por conta dos elevados números de casos de pessoas com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), pessoas usuárias de quimioterapia e de imunossupressores devido a transplante de órgãos, ocorre em conjunto o aumento de uso desses antimicrobianos. Esse fato acarreta consequências diretas no tratamento e na utilização dessas ferramentas medicamentosas, pois seu uso recorrente pode acarretar a resistência a estas opções, sendo necessária a constante revisão dos protocolos e da literatura para controle desta questão (MAZU, et al., 2016; CANDEL, et al., 2018; NAMIA, et al. 2019).

2.3. Resistência

O uso recorrente e indiscriminado de medicamentos antifúngicos implica em uma série de consequências negativas. Devido à estrutura celular e a presença de organelas especializadas, estes microrganismos constroem vias alternativas para impedir a ação do arsenal farmacológico que possa ser empregado, apresentando

então a resistência (KONTOYIANNIS, LEWIS, 2002; GOFFEAU, 2008; ROILIDES, IOSIFIDIS, 2019).

A resistência pode se apresentar da forma intrínseca ou na forma adquirida. A intrínseca corresponde a uma resistência inicial de alguma via metabólica ou alguma configuração estrutural do fungo, já na forma adquirida, inicialmente o fungo é passível a ação do medicamento, entretanto cria mecanismos para se manter vivo, contribuindo para a formação da resistência (ROILIDES, IOSIFIDIS, 2019).

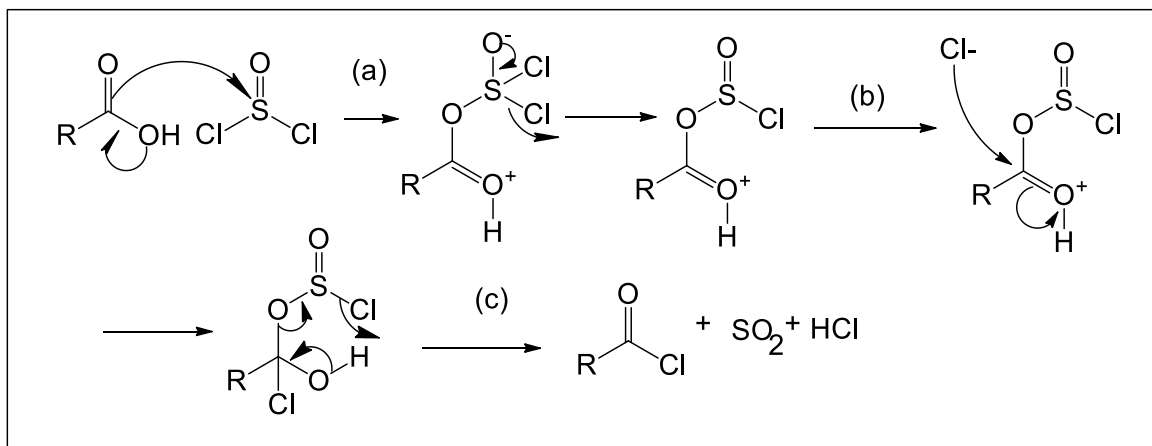
Os mecanismos já conhecidos de proteção dos microrganismos contra o tratamento medicamentoso podem ser relacionados com a alteração da permeabilidade da célula, alteração de rotas metabólicas, mudança nos transportadores dos fármacos, incompatibilidade da interação fármaco-receptor, formação de biofilmes e supressão do alvo. Isso faz com que haja a necessidade de criação de novas linhas terapêuticas e a busca de novos candidatos a fármacos antifúngicos, visto que, quando há a presença de alguns desses fatores, o tratamento passa a não ser eficaz (GOFFEAU, 2008; SHEPPARD, HOWELL, 2016; REVIE et al., 2018).

2.4. Cloretos ácidos

Estes compostos, que também são conhecidos como cloretos de acila são derivados de ácidos carboxílicos, onde são sintetizados por meio de adição nucleofílica–eliminação com o cloreto de tionila ou tricloreto de fósforo (SOLOMONS, FRYHLE, SNYDER, 2018; TAYLOR, BULL, 2014). Os produtos formados são altamente reativos em relação aos demais derivados do ácido carboxílico, e são capazes de reagir com a água presente no ar gerando o ácido carboxílico e o ácido clorídrico (HCl) (MURUGAN, SCRIVEN, 2003; LEGGIO et al 2017; SOLOMONS, FRYHLE, SNYDER, 2018).

O mecanismo reacional de síntese do cloreto ácido a partir de ácido carboxílico e cloreto de tionila (SOCl_2), uma reação de substituição nucleofílica bimolecular ($\text{S}_\text{N}2$), está representada no Esquema 1. Inicialmente há o ataque nucleofílico ao cloreto de tionila, gerando um intermediário que resulta na remoção do grupo de saída, o ânion cloreto (Cl^-) **(a)**. Esse ânion reage com o carbono carbonílico, formando intermediário tetraédrico **(b)**. Após remoção do hidrogênio, forma o cloreto ácido e seus subprodutos **(c)** (SOLOMONS, FRYHLE, SNYDER, 2018).

Devido à alta reatividade dos cloretos ácidos, a reação para síntese de novos compostos ocorre mais fácil e, por isso, eles são utilizados para síntese de derivados de polímeros e na produção de nanopartículas de uso farmacêutico, produção de novos fármacos, dentre outras aplicações (SARHAN, NEEMA, 2017; DECARLI, 2018).



Esquema 1: Mecanismo de reação da síntese de cloretos ácidos a partir de ácidos carboxílicos e cloreto de tionila.

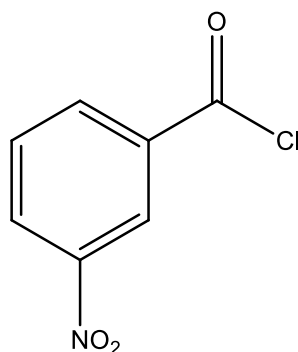


Figura 1: Estrutura química do cloreto de 3-nitrobenzoíla.

Apresentando a fórmula molecular $C_7H_4ClNO_3$, de massa molecular de 185,56 g/mol, o cloreto de 3-nitrobenzoíla (Figura 1) é um dos cloretos ácidos aromáticos utilizados para a produção de amidas, ésteres e demais derivados. Apresenta-se em estado sólido em baixas temperaturas e líquido em temperatura ambiente, com alta capacidade de reação com o ar atmosférico, formando o ácido carboxílico. A utilização deste reagente possibilita a síntese de vários compostos, por exemplo ésteres e amidas, com atividades anticâncer, anti-salmonella, anti-inflamatório, entre outros

(KALINOWSKI, et al., 2007; SALAMA, 2020; PUBCHEM, 2020).

2.5. Considerações sobre as amidas

Esta classe de compostos apresentam resultados positivos para várias atividades farmacológicas, tais como atividade anti-inflamatória (HUANG, et al., 2019; BARATA, et al 2020), antioxidante (STEFANUCCI, et al., 2020; SOVIC, et al., 2019), Anticâncer (RUDDARRAJU, et al., 2017; IQBAL, 2018), antipsicóticos (HUANG, et al., 2020; XIAO-WEN CHEN, 2016), antidepressivo (LI, et al., 2017), promissor contra COVID-19 (GHAFFARI et al., 2020), antimicrobiana (OLIVEIRA, 2019; BILDZIUKEVICH, 2019), na indústria como polímeros (MORADI, 2020; ZHU, 2014) entre outras atividades. Também são utilizadas nas reações em escalas industriais, com adição de catalisadores para melhor formação de seus produtos (CUI, 2014; XIE, DARREN, 2018; GUO, ZHAO, CHEN, 2020).

A ampla utilização de amidas é devida as suas características químicas de estabilidade, favorecendo a manutenção da composição química destas substâncias. A alta estabilidade de amidas primárias e secundárias é configurada pela realização de pontes de hidrogênio, que aumentam seu ponto de ebulição, e também devido a presença de estruturas de ressonância das ligações em amidas (Figura 2) (VALEUR, BRADLEY, 2009; XIEN, DARREN 2018; MAHESH, TANG, RAJ, 2018). Os compostos comumente utilizados para a síntese de amidas a partir de reações com aminas são cloretos de acila, anidridos, ésteres, rearranjo de aldoximas e hidratação de nitrilas (Figura 3) (WU et al, 2014; LEGGIO et al 2017).

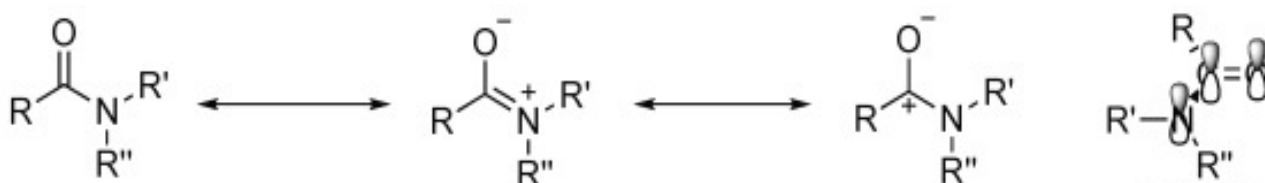


Figura 2: formas de ressonâncias das amidas. Fonte: MAHESH, TANG, RAJ, 2018.

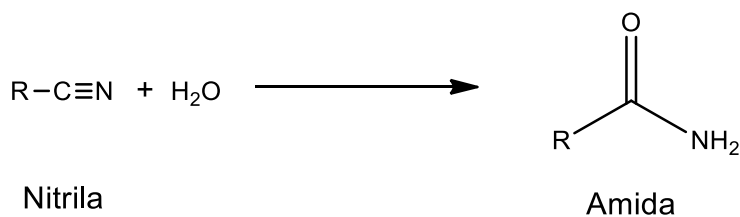
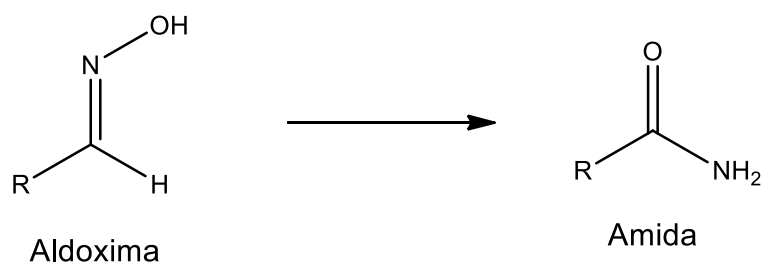
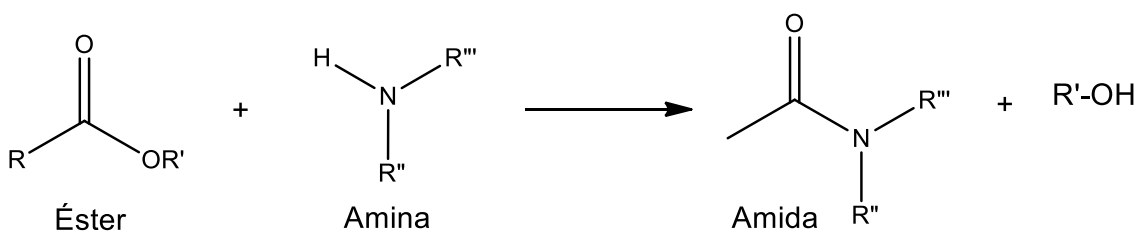
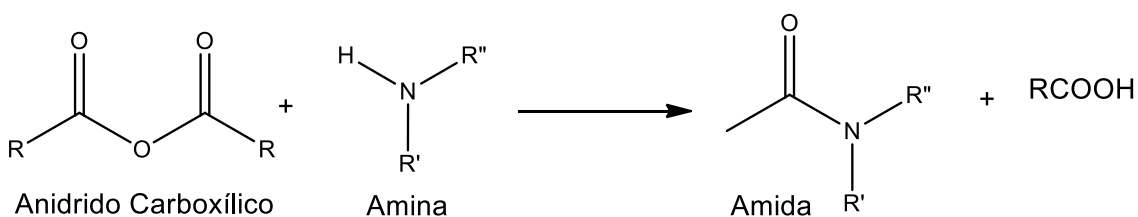
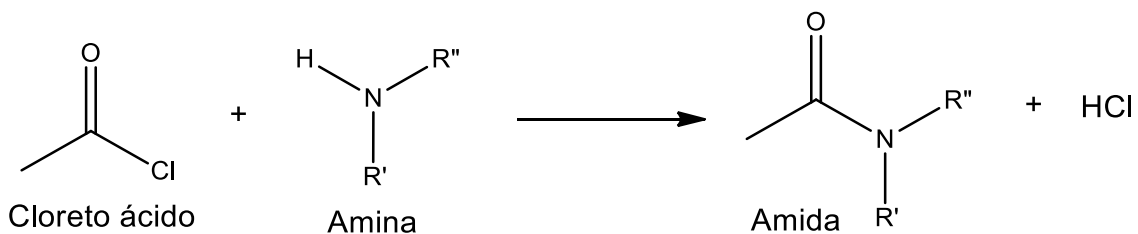


Figura 3: Reações que possibilitam a formação de amidas.

Quanto a atividade biológica e farmacológica desta classe química, pode-se aferir que as amidas foram capazes de interagir com macromoléculas (a exemplo de proteínas, DNA/RNA) e, por meio deste conhecimento, foram produzidos fármacos que atuam nestes alvos, a exemplo da benzilpenicilina G, lidocaína (desde o ano de 1943), bupivacaína, valsartana e atualmente os novos derivados de vimblastina e dexibuprofeno (Figura 4) (WRIGHT, 1999; MONTALBETTI, FALQUE, 2005; VALEUR,

BRADLEY, 2009; ASHRAF et al, 2019; LUKESH et al, 2017; GOSNELL, RAM, 2019).

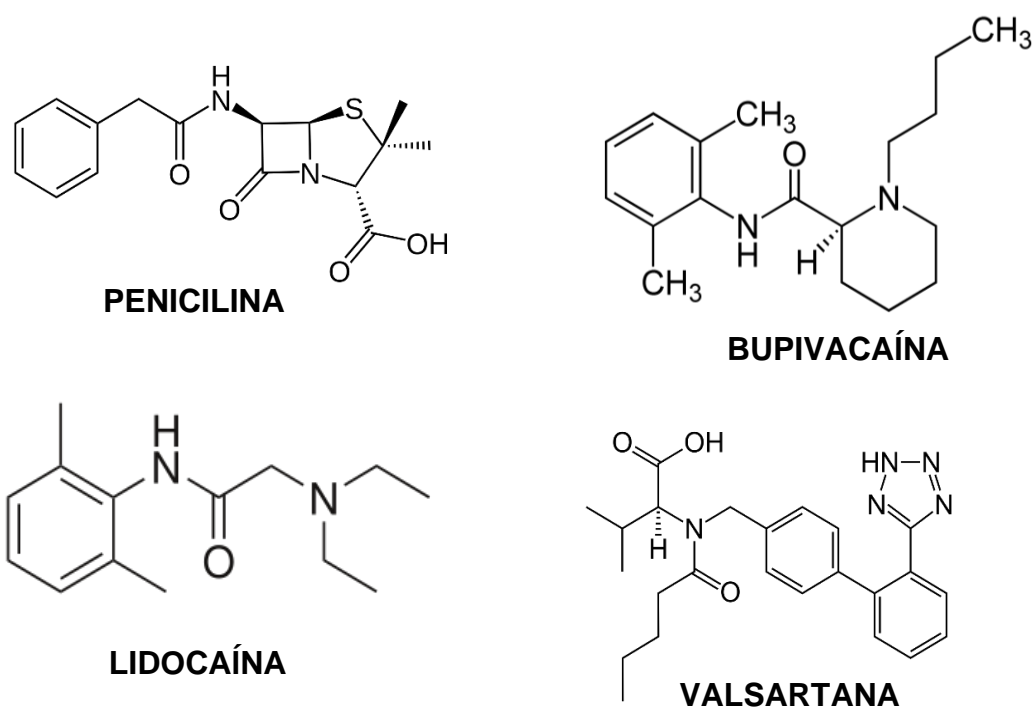
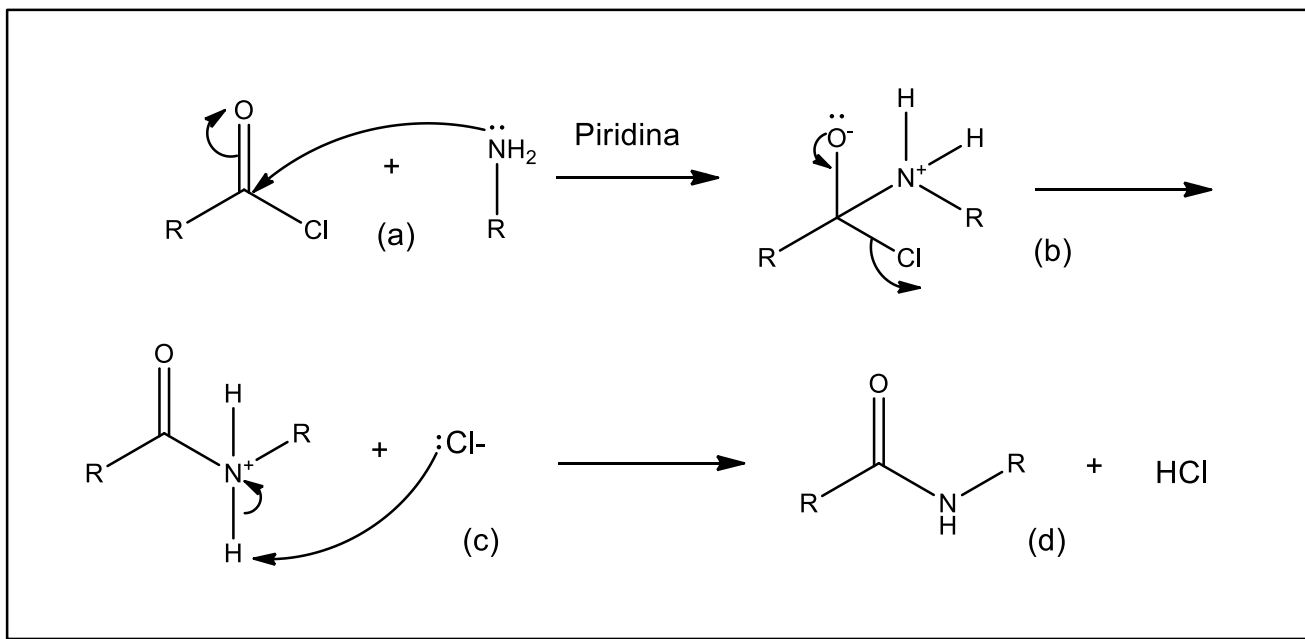


Figura 4: Estruturas químicas de fármacos que apresentam o grupo funcional amida.

2.5.1. Reação de Schotten-Baumann

Utilizando um cloreto de acila, esta é uma das reações clássicas para a síntese de amidas e ésteres (SCHOTTEN, 1884; BAUMANN, 1886; KUNUGI, TABEL, 1987; LOW, et al., 1992; KISHIMOTO, et al., 2015; BEGUM, et al., 2018). Apresenta uma única etapa, sem uso de solventes e pode ser utilizada com variações (o uso de catalisadores e acopladores, por exemplo); apresenta-se como uma alternativa de elevado rendimento para a produção de amidas (TAYLOR, BULL, 2014; DAMIÃO, 2014, SANTOS, 2020).

A reação, que é uma substituição nucleofílica acílica (S_NAc), ocorre com o ataque intermolecular da amina, que tem função de nucleófilo, ao carbono carbonílico do cloreto ácido, (Esquema 2, (a)). Após o ataque nucleofílico, há a quebra da ligação π entre carbono e oxigênio, formando intermediário tetraédrico. O par de elétrons do oxigênio do grupo carbonila desloca-se, restabelecendo a dupla ligação e remove o grupo abandonador, o cloreto (Cl^-) (b), e este, desprotona o nitrogênio da amina (c), formando então a amida como produto principal e o HCl como subproduto (d).



Esquema 2: Mecanismo de reação da síntese de amidas pela reação de Schotten-Baumann.

2.6. Docking Molecular

O estudo *in silico* visa à análise, por meio ambientes computacionais, das características de ligação entre uma substância e possíveis alvos biológicos, realizando simulações de interações entre estes. Áreas como farmacologia, toxicologia e bioquímica recorrem a técnicas, como *docking* molecular para ampliação e aprofundamento dos seus conhecimentos. (SELASSIE, VERMA, 2015; ROY, KAR, DAS, 2015; SAKATA, 2018; SOUZA, 2019).

O *docking* molecular compreende o estudo da ligação entre a molécula e alvo biológico, prevendo e quantificando a afinidade entre o ligante e receptor em nível molecular via simulações computacionais. Após a predição, é feito um *score*, que designa a função de acordo com a pontuação. Para a realização destas pesquisas, são comumente utilizados programas computacionais, no qual são exemplos destes (principalmente para uso acadêmico): AutoDock, AutoDock Vina, LeDock, rDock, UCSF DOCK, LigandFit, Glide, GOLD, MOE Dock e Surflex-Dock. Esta técnica é capaz de assegurar uma precisão da predição da ligação em torno de 90% e está melhorando gradativamente com o emprego de algoritmos flexíveis nos cálculos, gerando dados que otimizam a síntese de novas substâncias terapêuticas (WANG, et al., 2016; PAGADALA, SYED, TUSZYNSKI, 2017; PINZI, RASTELLI, 2019). A Figura 5 mostra as variadas funcionalidades atribuídas ao *docking* molecular.

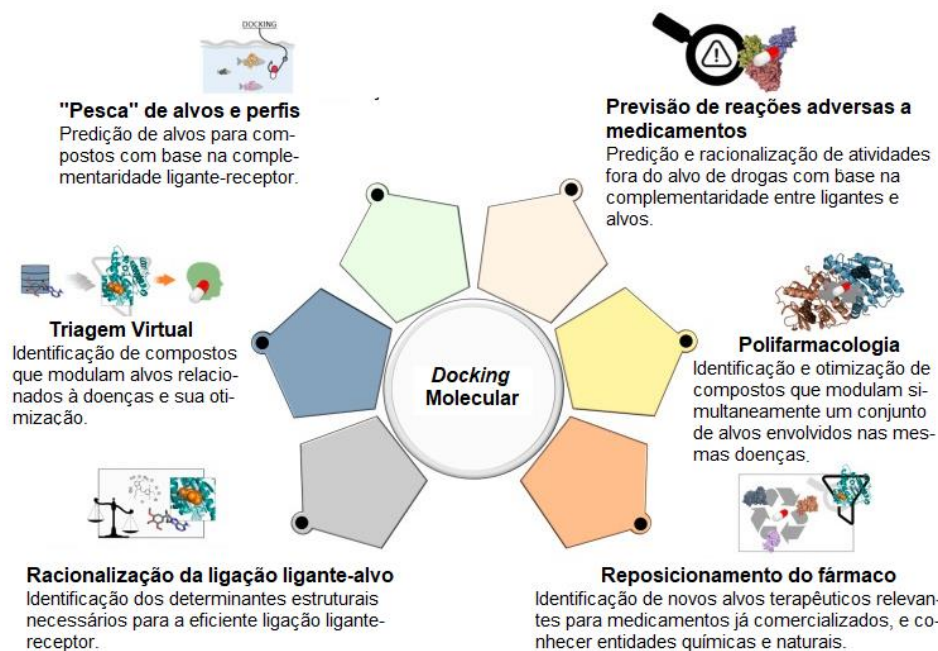


Figura 5: Principais aplicações do *docking* molecular. Adaptado de PINZI, RASTELLI, 2019.

3.0. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Preparar uma série de derivados de 3-nitrobenzamidás e avaliar o seu potencial antifúngico frente a espécies de *Candida*.

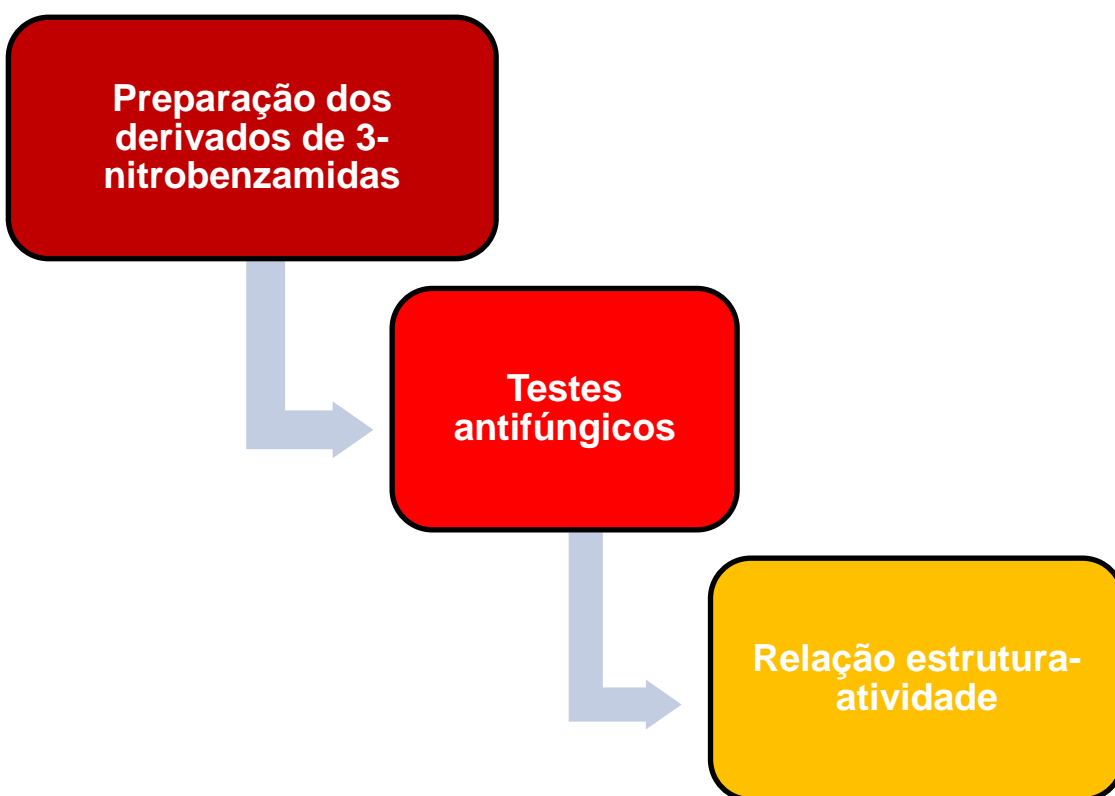
3.2. Objetivos específicos

- Preparar uma série de derivados de 3-nitrobenzamidás estruturalmente relacionados;
- Avaliar a atividade antifúngica dos derivados sintéticos frente às cepas fúngicas do gênero *Candida*;
- Traçar uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas;
- Realizar estudo de Docking molecular;
- Estabelecer características químicas para o desenvolvimento de agentes biologicamente ativos com melhor perfil antifúngico.

4.0. RESULTADOS E DISCUSSÃO

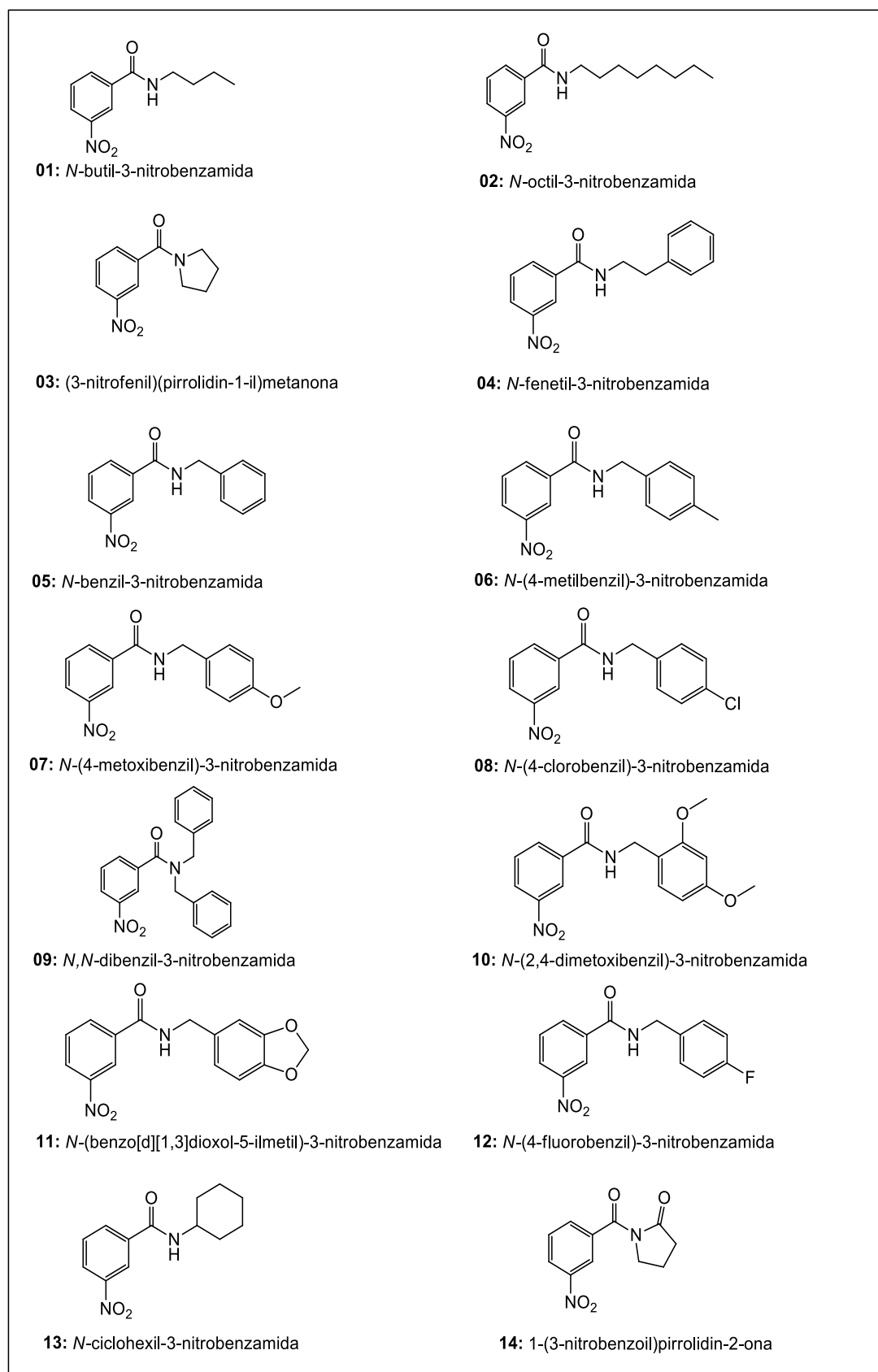
4.1. Planejamento do estudo

No presente trabalho, preparou-se quatorze derivados de 3-nitrobenzamidás (Figura 6) caracterizados utilizando as seguintes técnicas: Espectroscopia de Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono Treze (RMN de ^{13}C). Consequinte, os compostos foram testados frente às cepas padronizadas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*, que, por meio dos dados obtidos deste teste biológico, foi possível verificar a relação estrutura-atividade dos compostos e realizou-se o docking molecular para análise de características químicas anti-*Candida*. O planejamento e o desenvolvimento do estudo ocorreram conforme o Esquema 3.



Fonte: Elaborado pelo autor

Esquema 3: Planejamento experimental do estudo.



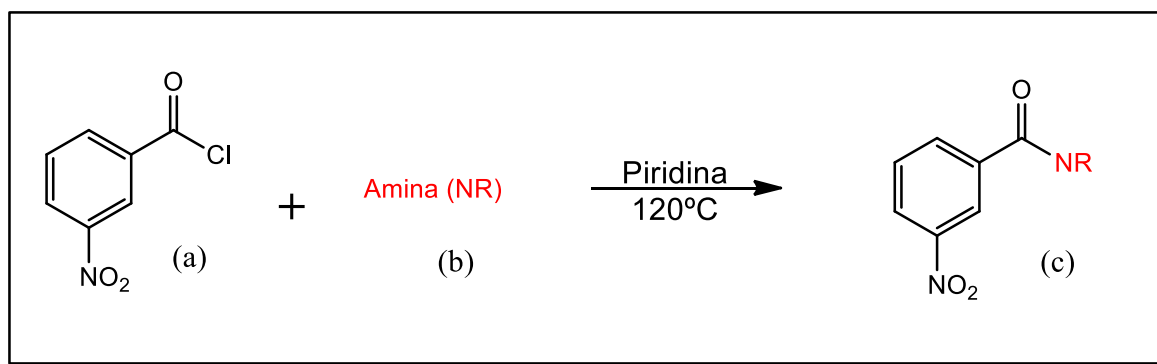
Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 6: Estrutura química dos derivados de 3-nitrobenzamidás.

4.2. Etapa Química

4.2.1 Preparação dos derivados de 3-nitrobenzamidás

Os catorze derivados de 3-nitrobenzamidás (**1 – 14**) foram obtidos em uma única etapa, via reação de Schotten-Baumann. As amins utilizadas nesta reação foram: butilamina, octilamina, pirrolidina, fenetilamina, benzilamina, 4-metilbenzilamina, 4-metoxibenzilamina, 4-clorobenzilamina, dibenzilamina, 2,4-dimetoxibenzilamina, piperonilamina, 4-fluorobenzilamina, ciclohexilamina e 2-pirrolidinona. O esquema reacional está a seguir (Esquema 4).

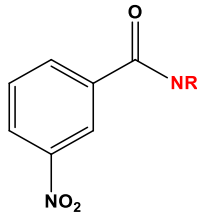


Fonte: Elaborado pelo autor

Esquema 4: Reação de Schotten-Baumann utilizando o cloreto de 3-nitrobenzoíla (a) e uma amina (b) para a formação de uma amida (c).

As reações duraram de 2:00-3:30 horas com rendimentos que variaram de 25,2 – 72,7%, tendo a amida **12** com maior rendimento (72,7%). A Tabela 1 contém os principais dados físico-químicos e experimentais de todas as amidás sintetizadas, bem como dados reacionais, de purificação, rendimento, ponto de fusão e fator de retenção (R_f) em uma mistura de hexano e acetato de etila (8/2 Hex:AcOEt). Os compostos **6**, **8** e **10** são inéditos.

Tabela 1: Dados físico-químicos e experimentais dos produtos obtidos.



Derivados de 3-nitrobenzamidas

Amida	Radical	Fórmula Molecular	Massa Molar (g/mol)	Tempo de Reação (h)	Purificação em Coluna (Hex:AcOEt)	Massa (mg)	Rendimento (%)	Aspecto	R _f (Hex: AcOEt)	Ponto de Fusão (°C)
01	Butila	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O ₃	222,24	2	-	126,2	52,7	Sólido branco	0,37 (8:2)	61-63
02	Octila	C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₃	278,35	2,5	-	201,1	67,0	Sólido branco	0,35 (8:2)	92-97
03	Pirrolidina	C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₃	220,22	3	65:35	59,7	25,2	Óleo amarelo	0,12 (8:2)	-
04	Fenetila	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	270,28	3	-	178,3	61,2	Sólido cristalino amarelo	0,28 (8:2)	122-124
05	Benzila	C ₁₄ H ₁₂ N ₂ O ₃	256,26	3	7:3	133,0	48,2	Sólido branco	0,30 (8:2)	94-95
06	4-metilbenzila	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₃	270,28	3	-	97,0	33,3	Sólido cristalino âmbar	0,33 (8:2)	132-134
07	4-metoxibenzila	C ₁₅ H ₁₄ N ₂ O ₄	286,28	3	7:3	188,7	61,2	Sólido branco	0,16 (8:2)	108-109
08	4-clorobenzila	C ₁₄ H ₁₁ ClN ₂ O ₃	290,70	2	-	160,7	51,3	Sólido amarelo	0,21 (8:2)	141-144
09	Dibenzila	C ₂₁ H ₁₈ N ₂ O ₃	346,38	3	8:2	215,0	57,6	Sólido cristalino	0,40 (8:2)	96-98
10	2,4-dimetoxibenzila	C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₅	316,31	2	6:4	160,0	46,9	Sólido amarelo	0,14 (8:2)	113-114
11	Piperonila	C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O ₅	300,27	2,5	-	234,5	72,5	Sólido cristalino marrom	0,16 (8:2)	109-111
12	4-fluorobenzila	C ₁₄ H ₁₁ FN ₂ O ₃	274,25	3	7:3	214,8	72,7	Sólido branco	0,42 (8:2)	129-131
13	Ciclohexila	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₃	248,28	3	-	180,6	67,5	Sólido branco	0,49 (8:2)	161-164
14	2-Pirrolidinona	C ₁₁ H ₁₀ N ₂ O ₄	234,21	3	8:2	131,1	26,0	Óleo verde	0,12 (8:2)	-

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.3. Análise espectroscópica de derivados de 3-nitrobenzamidás

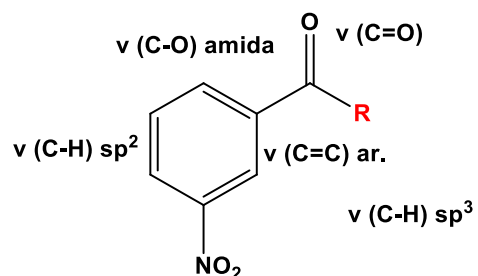
Na etapa de caracterização dos compostos utilizou-se as técnicas de RMN de ^1H e de ^{13}C e IV.

4.3.1. Espectroscopia de Infravermelho

Por intermédio da técnica de espectroscopia no infravermelho, também comumente utilizada para caracterização de compostos diversos, é possível a verificação de grupos funcionais presentes nas moléculas sintetizadas. Os dados obtidos por meio desta técnica para a tipificação dos derivados sintéticos estão dispostos na Tabela 2.

Devido à presença de estrutura básica em todas as moléculas, alguns valores de sinais são encontrados em boa parte dos espectros produzidos, a saber: bandas de absorção entre 3100-3500: estiramento N-H; bandas de absorção entre 2850-3000 cm^{-1} : estiramento C-H sp^3 ; bandas entre 3000-3100 cm^{-1} : estiramento C-H dos carbonos sp^2 ; banda em torno de 1630-1680 cm^{-1} : estiramento da carbonila de amida (C=O); bandas com valor cerca de 1350-1550 cm^{-1} : estiramento N=O do grupo R-NO₂; bandas em torno de 1450-1350 cm^{-1} : dobramento C-H sp^3 ; bandas por volta de 690, 780 e 880 cm^{-1} : dobramento de anéis aromáticos.

Tabela 2: Espectroscopia de infravermelho – estiramentos (V) dos derivados de 3-nitrobenzamidias em cm⁻¹.



R = N-Butila (**01**)
 R = N-Octila (**02**)
 R = Pirrolidina (**03**)
 R = N-Fenetila (**04**)
 R = N-Benzila (**05**)
 R = N-(4-metilbenzila) (**06**)
 R = N-(4-Metoxibenzila) (**07**)
 R = N-(4-clorobenzila) (**08**)
 R = N,N-Dibenzila (**09**)
 R = N-(2,4-dimetoxibenzila) (**10**)
 R = N-Piperonila (**11**)
 R = N-(4-fluorobenzila) (**12**)
 R = N-Ciclohexila (**13**)
 R = 2-Pirrolidinona (**14**)

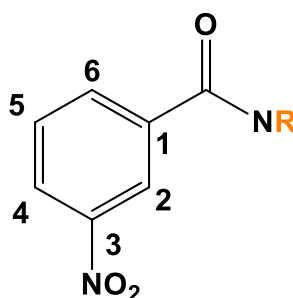
Amida	V (N-H)	V(C-H) sp ² aromático	V(C-H) sp ³	V(C=O)	v(N=O: R-NO ₂)	v(C-H) sp ³ dobramento	Aromático (dobramento)
01	3304	3092	2962; 2876	1634	1530	1350	903;725
02	3299	3089	2961; 2870	1643	1532	1347	905; 824; 704
03	-	3088	2969; 2879	1630	1531	1350	909; 815; 723
04	3310	3028	2874	1642	1522	1350	911; 816; 721
05	3299	3086	2921; 2866	1643	1525	1352	914; 812; 693
06	3309	3086	2920; 2868	1644	1525	1352	914; 806; 720
07	3279	3090	2936; 2837	1639	1516	1347	902; 815; 702
08	3300	3087	2919	1645	1525	1352	914; 798; 721
09	-	3027	2945	1633	1525	1354	901; 810; 699
10	3247	3090	2943; 2832	1639	1525	1347	924; 849; 711
11	3307	3073	2921; 2786	1629	1524	1351	928; 814; 732
12	3244	3078	2883	1631	1525	1349	913; 834; 722
13	3295	3088	2937; 2855	1639	1531	1346	919; 817; 722
14	-	3084	2941; 2889	1669	1533	1350	923; 818; 723

Fonte: Elaborado pelo autor

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

Na obtenção e interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C (Tabelas 3, 4, 5, 6 e 7 respectivamente), pode-se aferir que ocorreu a formação dos derivados de 3-nitrobenzamidás utilizando a metodologia e materiais enumerados neste trabalho, de acordo com os dados apresentados.

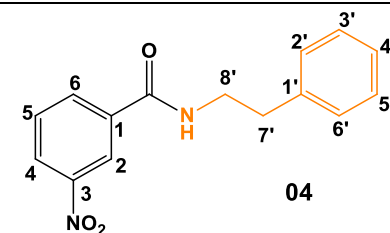
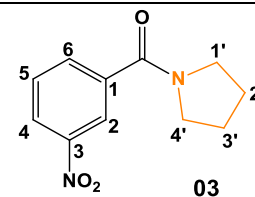
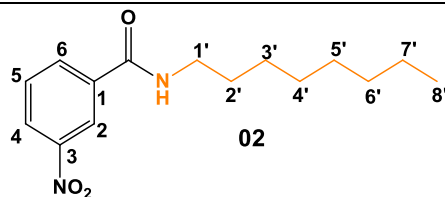
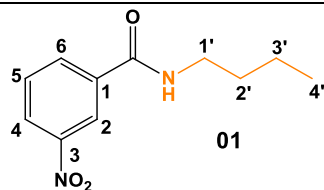
Dentre os diversos sinais apresentados pelos quatorze derivados, há um grupo de sinais que são comuns, oriundos do material de partida (Figura 7). Os deslocamentos químicos comuns assinalam os quatro hidrogênios pertencentes ao anel aromático (**H-2**, **H-4**, **H-5** e **H-6**) e, embora não apareça frequentemente, o hidrogênio ligado ao nitrogênio (**N-H**). Dos átomos anteriormente citados, o **H-2** é o mais desprotegido, recebendo o valor de δ_H em torno de 8,72 ppm, em forma de tripleto, seguido do **H-4** (δ_H 8,51 ppm), **H-6** (δ_H 8,42 ppm) e **H-5** (δ_H 7,89 ppm). O sinal do **N-H** pode ser visto em forma de singlete próximo à δ_H 6,30 ppm.



Fonte: Elaborado pelo autor

Figura 7: Estrutura em comum dos derivados de 3-nitrobenzamidás.

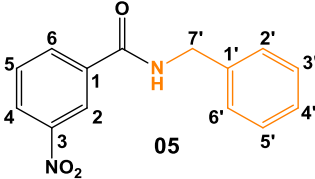
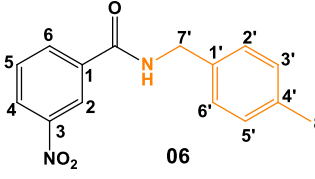
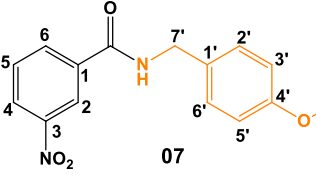
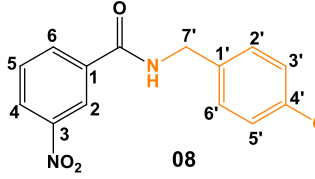
Quanto aos dados de RMN de ^{13}C , há um total de sete sinais similares entre os análogos. O valor a cerca de δ_C 168,0 ppm é atribuído à carbonila de amida (**C=O**); em torno de δ_C 148,0 ppm correlaciona com o **C-3**, ligado ao grupo **NO₂**; os demais carbonos apresentam valores de deslocamento químico em torno de δ_C 135,1 ppm (**C-1**), δ_C 133,6 ppm (**C-6**), δ_C 129,7 ppm (**C-5**), δ_C 127,3 ppm (**C-4**) e δ_C 122,3 ppm (**C-2**). As variações dos valores são justificadas pelo efeito dos grupos retiradores de elétrons, onde os carbonos 6 e 4 são mais desprotegidos e o C-2 é mais protegido no anel aromático. Os carbonos 1 e 3 são os mais desprotegidos no anel aromático pela sua proximidade com os grupos retiradores de elétrons presentes na estrutura base.

Tabela 3: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidás **01- 04**.**Carbonos**

	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
2	8,56 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,57 (<i>t</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	8,37 (<i>t</i> , $J = 1,8$ Hz, 1H)	8,52 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)
4	8,35 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,2, 1,1$ Hz, 1H)	8,32 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,2, 1,1$ Hz, 1H)	8,26 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,1$ Hz, 1H)	8,33 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,2, 1,1$ Hz, 1H)
5	7,64 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,62 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,60 (<i>t</i> , $J = 7,9$ Hz, 1H)	7,62 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	8,15 (<i>dt</i> , $J = 7,7, 1,5$ Hz, H-6, 1H)	8,15 (<i>dt</i> , $J = 7,8, 1,4$ Hz, 1H)	7,85 (<i>dt</i> , $J = 7,7, 1,2$ Hz, 1H)	8,07 (<i>dt</i> , $J = 7,7, 1,2$ Hz, 1H)
NH	6,28 (<i>s</i> , 1H)	6,59 (<i>s</i> , 1H)	-	6,48 (<i>s</i> , 1H)
1'	3,50 (<i>m</i> , 2H)	3,47 (<i>q</i> , $J = 7,6$ Hz, 2H)	3,66 (<i>t</i> , $J = 6,9$ Hz, 2H)	-
2'	1,68-1,62 (<i>m</i> , H-2', 2H)	1,63 (<i>quint</i> , $J = 8,2$, H-2', 2H)	2,02-1,90 (<i>m</i> , 2H)	7,29 – 7,23 (<i>m</i> , 1H)
3'	1,44 (<i>sextet</i> , $J = 7,3$ Hz H-3', 2H)	1,41-1,20 (<i>m</i> , 2H)	2,02-1,90 (<i>m</i> , 2H)	7,34 (<i>t</i> , $J = 7,2$ Hz, 1H)
4'	0,97 (<i>t</i> , $J = 7,4$ Hz, 3H)	1,41-1,20 (<i>m</i> , 2H)	3,43 (<i>t</i> , $J = 6,6$ Hz, 2H)	7,29 – 7,23 (<i>m</i> , 1H)
5'	-	1,41-1,20 (<i>m</i> , 2H)	-	7,34 (<i>t</i> , $J = 7,2$ Hz, 1H)
6'	-	1,41-1,20 (<i>m</i> , 2H)	-	7,29 – 7,23 (<i>m</i> , 1H)
7'	-	1,41-1,20 (<i>m</i> , 2H)	-	2,97 (<i>t</i> , $J = 7,0$ Hz, 2H)
8'	-	0,86 (<i>t</i> , $J = 7,2$ Hz, 3H)	-	3,76 (<i>q</i> , $J = 7,0$ Hz, 2H)

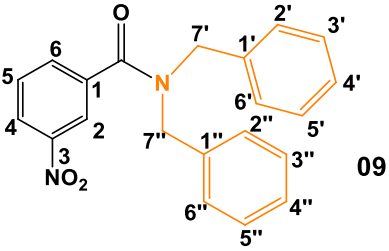
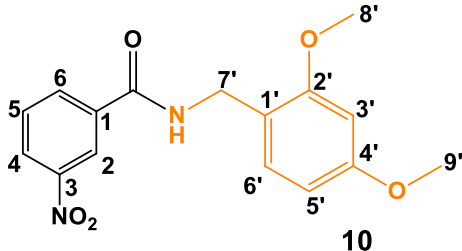
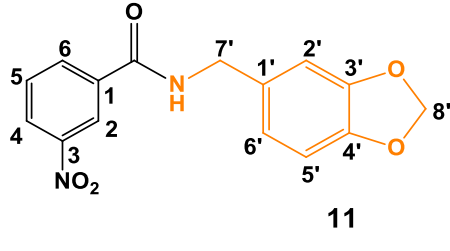
Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 4: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidás **05** - **07**.

Carbonos				
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
2	8,52 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,58 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,60 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,65 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)
4	8,25 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,2, 1,0$ Hz, 1H)	8,31 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,1$ Hz, 1H)	8,34 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,1$ Hz, 1H)	8,32 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,0$ Hz, 1H)
5	7,54 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,60 (<i>t</i> , $J = 8,1$ Hz, 1H)	7,63 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,72 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	8,08 (<i>dt</i> , $J = 7,7, 1,5$ Hz, 1H)	8,15 (<i>ddd</i> , $J = 7,8, 1,7, 1,1$ Hz, 1H)	8,17 (<i>ddd</i> , $J = 7,8, 1,7, 1,1$ Hz, 1H)	8,26 (<i>ddd</i> , $J = 7,8, 1,6, 1,1$ Hz, 1H)
NH	6,83 (<i>s</i> , 1H)	6,88 (<i>s</i> , 1H)	-	-
1'	-	-	-	-
2'	7,29 – 7,17 (<i>m</i> , 1H)	7,22 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,30 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)	7,36 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)
3'	7,29 – 7,17 (<i>m</i> , 1H)	7,14 (<i>d</i> , $J = 7,8$ Hz, 1H)	6,88 (<i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 1H)	7,36 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)
4'	7,29 – 7,17 (<i>m</i> , 1H)	-	-	-
5'	7,29 – 7,17 (<i>m</i> , 1H)	7,14 (<i>d</i> , $J = 7,8$ Hz, 1H)	6,88 (<i>d</i> , $J = 8,7$ Hz, 1H)	7,36 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)
6'	7,29 – 7,17 (<i>m</i> , 1H)	7,22 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,30 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)	7,36 – 7,26 (<i>m</i> , 1H)
7'	4,57 (<i>d</i> , $J = 5,7$ Hz, 2H)	4,58 (<i>d</i> , $J = 5,6$ Hz, 2H)	4,59 (<i>d</i> , $J = 5,6$ Hz, 2H)	4,43 (<i>d</i> , $J = 5,9$ Hz, 2H)
8'	-	2,33 (<i>s</i> , 3H)	3,80 (<i>s</i> , 3H)	-

Fonte: Elaborado pelo autor

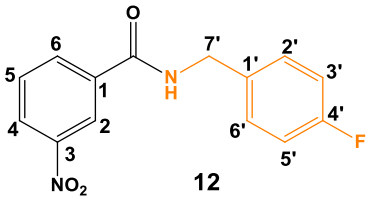
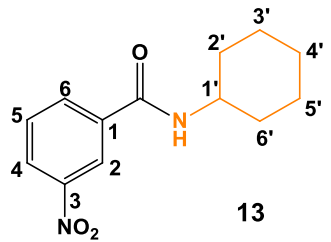
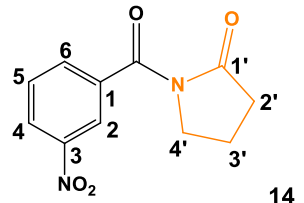
Tabela 5: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidás **09** - **11**.

Carbonos	<div>  09 </div>			<div>  10 </div>			<div>  11 </div>		
	δ_{H} (ppm)			δ_{H} (ppm)			δ_{H} (ppm)		
2	8,34 (<i>t</i> , $J = 4,0$ Hz, 1H)			8,71 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)			8,71 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)		
4	8,25 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,0$ Hz, 1H)			8,32 (<i>ddd</i> , $J = 8,1, 4,6, 3,3$ Hz, 1H)			8,38 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,3, 1,0$ Hz, 1H)		
5	7,57 (<i>t</i> , $J = 7,9$ Hz, 1H),			7,47 (<i>t</i> , H-5, $J = 8,0$ Hz, 1H)			7,78 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)		
6	7,79 (<i>dt</i> , $J = 7,6, 1,3$ Hz, 1H)			8,37 (<i>dt</i> , $J = 7,8, 1,1$ Hz, 1H)			8,32 (<i>ddd</i> , $J = 7,8, 1,6, 1,1$ Hz, 1H)		
NH	7,13 (<i>s</i> , 1H)			-			-		
1'	-			-			-		
2'	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			-			6,91 (<i>s</i> , 1H)		
3'	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			6,56 (<i>d</i> , $J = 2,4$ Hz, 1H)			-		
4'	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			-			-		
5'	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			6,48 (<i>dd</i> , $J = 8,3, 2,4$ Hz, 1H)			6,81 (<i>dd</i> , H-5', $J = 7,9, 1,6$ Hz, 1H)		
6'	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			7,13 (<i>d</i> , $J = 8,3$ Hz, 1H)			6,86 (<i>d</i> , H-6', $J = 7,9$ Hz, 1H)		
7'	4,39 (<i>s</i> , 2H)			4,40 (<i>d</i> , $J = 5,6$ Hz, 2H)			4,41 (<i>d</i> , $J = 5,9$ Hz, 2H)		
8'	-			-			5,98 (<i>s</i> , 2H)		
9'	-			-			-		
1''	-			-			-		
2''	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)			-			-		

3''	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)	-	-
4''	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)	-	-
5''	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)	-	-
6''	7,42 – 7,30 (<i>m</i> , 1H)	-	-
7''	4,74 (<i>s</i> , 2H)	-	-
2'-OCH₃	-	3,81 (<i>s</i> , 3H)	-
4'-OCH₃	-	3,74 (<i>s</i> , 3H)	-

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 6: Deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δ_{H}) dos derivados de 3-nitrobenzamidás **12** – **14**.

Carbonos	<div>    </div>		
	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{H} (ppm)
2	8,59 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,54 (<i>t</i> , $J = 1,9$ Hz, 1H)	8,41 (<i>t</i> , H-2, $J = 2,0$ Hz, 1H)
4	8,34 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,1, 1,0$ Hz, 1H)	8,31 (<i>ddd</i> , $J = 8,2, 2,2, 1,1$ Hz, 1H)	8,35 (<i>ddd</i> , H-4, $J = 8,2, 2,4, 1,1$ Hz, 1H)
5	7,63 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,61 (<i>t</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	7,59 (<i>t</i> , H-5, $J = 7,9$ Hz, 1H)
6	8,16 (<i>d</i> , $J = 7,8$ Hz, 1H)	8,13 (<i>dt</i> , $J = 7,7, 1,2$ Hz, 1H)	7,88 (<i>dt</i> , H-6, $J = 7,6, 1,3$, 1H)
NH	6,83 (<i>s</i> , 1H)	6,30 (<i>d</i> , $J = 5,7$ Hz, 1H)	-
1'	-	3,97 (<i>m</i> , 1H)	-
2'	7,35 – 7,29 (<i>m</i> , 1H)	2,03 (<i>dd</i> , $J = 12,2, 3,3$ Hz, 2H); 1,79-1,74 (<i>m</i> , 2H)	2,63 (<i>t</i> , H-2', $J = 8,0$ Hz, 2H)
3'	7,06 – 6,99 (<i>m</i> , 1H)	1,49 – 1,09 (<i>m</i> , 5H)	2,19 (<i>quint</i> , H-3' $J = 7,9$ Hz, 2H)
4'	-	1,71 – 1,61 (<i>m</i> , 1H); 1,49 – 1,09 (<i>m</i> , 5H)	4,04 – 3,93 (<i>m</i> , H-4', 2H)
5'	7,06 – 6,99 (<i>m</i> , 1H)	1,49 – 1,09 (<i>m</i> , 5H)	-
6'	7,35 – 7,29 (<i>m</i> , 1H)	2,03 (<i>dd</i> , $J = 12,2; 3,3$ Hz, 2H); 1,79-1,74 (<i>m</i> , 2H)	-
7'	4,61 (<i>d</i> , $J = 5,7$ Hz, 2H)	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 7: Assinalamentos de RMN de ^{13}C (δ_{C}) dos derivados de 3-nitrobenzamidás (1 – 14).

C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}	δ_{C}
C=O	165,19	165,23	167,09	165,24	165,16	165,07	165,04	164,23	169,79	164,20	164,03	165,12	164,33	174,90
1	136,60	136,56	138,75	136,38	136,06	136,13	136,14	135,57	137,89	135,90	135,70	135,94	136,79	136,06
2	121,72	121,80	122,36	121,85	121,97	121,95	121,93	122,04	122,20	122,11	122,04	121,90	121,77	124,19
3	148,60	148,24	148,02	148,28	148,28	148,24	148,25	147,85	148,21	147,82	147,81	148,30	148,22	147,68
4	126,07	126,00	124,70	126,90	128,10	126,14	126,12	126,03	124,57	125,85	125,94	126,33	125,93	126,06
5	129,99	129,92	129,72	129,96	129,97	129,90	129,51	129,31	129,91	130,15	130,18	130,05	129,88	129,04
6	133,35	133,41	133,36	133,21	133,45	133,41	133,42	131,53	132,65	133,80	133,78	133,46	133,42	134,63
1'	40,32	40,61	49,70	138,64	137,65	134,60	129,71	138,24	137,89	118,57	133,05	133,46	49,44	168,29
2'	31,77	29,65	26,54	126,90	127,96	128,09	129,92	133,77	128,02	157,77	108,15	129,81	33,20	33,23
3'	20,30	27,11	24,48	128,89	128,98	129,61	114,33	128,33	129,02	98,29	147,29	115,97	25,06	17,65
4'	13,71	29,38	46,62	126,10	126,22	137,71	159,37	130,24	126,90	159,83	146,20	161,26	25,58	46,46
5'	-	29,30	-	128,89	128,98	129,61	114,33	128,33	129,02	104,45	108,08	115,76	25,06	-
6'	-	31,89	-	126,90	127,96	128,09	129,92	133,77	128,02	128,88	122,04	129,89	33,20	-
7'	-	22,74	-	41,56	44,54	21,21	44,01	42,32	47,64	37,76	42,76	43,82	-	-
8'	-	14,19	-	35,65	-	44,30	55,42	-	-	-	100,89	-	-	-
9'	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1''	-	-	-	-	-	-	-	-	137,89	-	-	-	-	-

2''	-	-	-	-	-	-	-	-	128,02	-	-	-	-	-
3''	-	-	-	-	-	-	-	-	129,02	-	-	-	-	-
4''	-	-	-	-	-	-	-	-	126,90	-	-	-	-	-
5''	-	-	-	-	-	-	-	-	129,02	-	-	-	-	-
6''	-	-	-	-	-	-	-	-	128,02	-	-	-	-	-
7''	-	-	-	-	-	-	-	-	51,71	-	-	-	-	-
2'-OCH₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,50	-	-	-	-
4'-OCH₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,25	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pelo autor

4.4. Avaliação da atividade antifúngica dos derivados de 3-nitrobenzamidás

Na investigação da atividade biológica dos derivados de 3-nitrobenzamidás utilizou-se microrganismos fúngicos do gênero *Candida*. Os compostos foram submetidos ao teste de microdiluição em placas de 96 poços em formato de “U” e em triplicata, onde por meio deste teste, possibilitou-se a análise dos valores da Concentração Inibitória Mínima e da Concentração Fungicida Mínima, CIM e CFM, respectivamente, em meio líquido. As cepas utilizadas foram da seguinte espécie: *C. albicans* ATCC 90028, *C. krusei* ATCC 6258 e *C. glabrata* ATCC 90030.

Os dados obtidos oriundos destes ensaios foram utilizados para realizar as análises quanto a bioatividade dos derivados frente aos fungos mencionados, de acordo com as características estruturais químicas. A preparação dos materiais utilizados e a análise experimental biológica realizou-se no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (CCS/UFPB), coordenado pelo Prof. Dr. Ricardo Dias de Castro, no qual estão mencionados na Tabela 8 os valores de CIM e CFM das estruturas.

Para interpretação adequada da atividade antifúngica a partir dos valores obtidos das CIMs, os parâmetros utilizados foram: < 3,515 µg/mL = atividade muito forte; 3,516-25 µg/mL = atividade forte; 26-100 µg/mL = atividade moderada; 101-500 µg/mL = atividade fraca; 501-2000 µg/mL = atividade muito fraca; > acima de 2000 µg/mL = nenhuma atividade/produto inativo (ALVES, et al., 2021).

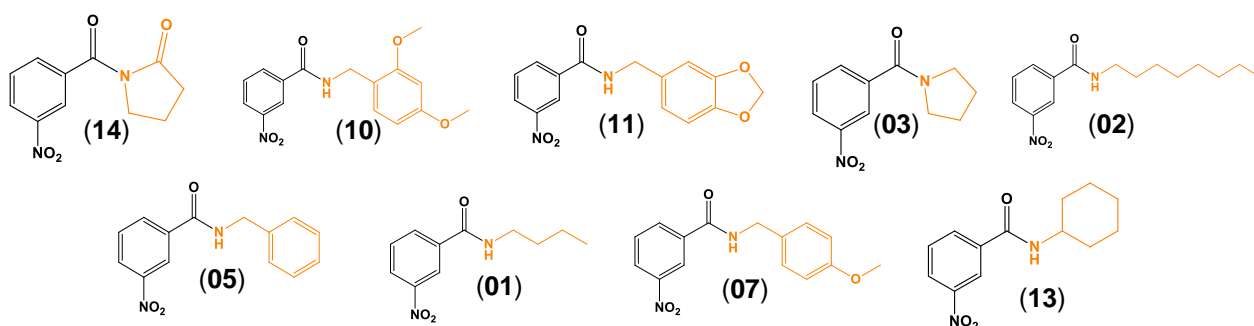
As diferenças estruturais entre os derivados sintéticos possibilitaram a análise comparativa no tocante a presença/ausência de substituintes retiradores/doadores de elétrons, lipofilicidade e aspectos estereoquímicos, que podem influenciar a bioatividade contra as cepas utilizadas. De acordo com os dados expostos, todos os análogos apresentam atividade antifúngica, variando de moderado a muito fraco, e pelo valor da razão de CIM/CFM, pode-se aferir que tem característica fungicida.

Analisando os dados de atividade antifúngica (Tabela 8 e 9) contra cepas da *C. albicans* (ATCC 90028), observou-se que o 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (**14**) exibiu melhor atividade antifúngica com o valor da CIM de 39,06 µg/mL. Em seguida, com atividade fraca, há os (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (**3**), *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (**10**) e *N*-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (**11**), respectivamente - CIM de 312,5 µg/mL. Os dados da literatura têm relatado a atividade antimicrobiana de derivados sintéticos frente a vários tipos

de microrganismos tais como, *Candida* spp., *Escherichia coli*, *Aspergillus* spp. (CHRISTOPHE, T., et al., 2009; JADHAV et al., 2016; YARLAGADDA, B., DEVUNURI, N., MANDAVA, V., B., R., 2016; ELSHERIF, et al., 2020). Os resultados do presente estudo confirmam o potencial antifúngico deste grupo de compostos sintéticos.

Tabela 8: Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos derivados 1-3, 5, 7, 10-11, 13-14, com suas respectivas estruturas, contra *Candida* spp. Os valores de CIM são expressos em µg/mL e mM.

Nº	<i>C. albicans</i> ATCC 90028		<i>C. krusei</i> ATCC 6258		<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	
	CIM (µg/mL)	CIM (mM)	CIM (µg/mL)	CIM (mM)	CIM (µg/mL)	CIM (mM)
14	39,06	0,17	39,06	0,17	39,06	0,17
10	312,5	0,99	156,25	0,49	>1250	3,95
11	312,5	1,04	78,25	0,26	78,25	0,26
03	312,5	1,42	312,5	1,42	625	2,84
02	625	2,25	156,25	0,56	312,5	1,12
05	625	2,44	625	2,44	312,5	1,22
01	625	2,81	312,5	1,41	1250	5,62
07	1250	4,37	625	2,18	>1250	>4,37
13	1250	5,03	625	2,52	156,25	0,63



Fonte: Elaborado pelo autor

O derivado **1** (com substituinte *n*-butílico) foi bioativo frente a todas as cepas fúngicas, sendo mais potente contra *C. krusei* (CIM = 312,5 µg/mL). Em **2** (com substituinte *n*-octano), o aumento da cadeia carbônica potencializou a ação antifúngica contra *C. krusei* e *C. glabrata*. A presença do anel heterocíclico em **3** potencializou a ação antifúngica frente a *C. albicans* e *C. glabrata*, em comparação com **1**. A adição do substituinte fenetila resultou no composto inativo **4**. Contudo, **5** foi bioativo em todas as cepas, indicando a importância de um espaçador mais curto entre a função amida e o anel aromático.

Dentre os derivados benzênicos *para*-substituídos (**6**, **7**, **8** e **12**), os compostos **6**, **8** e **12** foram inativos. Aparentemente, o aumento da lipofilicidade em relação ao **5**, implica na perda da ação antifúngica. Este comportamento também é observado no estudo de SINGH, BHAT, GAHTORIB (2012), onde o uso de 4-clorofenilamina como substituinte não implicou em nenhuma atividade contra espécies fúngicas. O resultado foi semelhante para o derivado **9**, no qual há o substituinte dibenzílico ligado ao nitrogênio da amida. É importante considerar que fatores estéricos também podem contribuir para esta inatividade.

A introdução de uma metoxila na posição *para* do anel benzênico torna **7** bioativo contra *C. krusei*. Enquanto a dimetoxilação em **10** potencializou a atividade contra *C. krusei* e torna-o antifúngico frente a *C. albicans*. Um resultado interessante foi obtido avaliando **11**. O substituinte benzodioxol torna o composto bioativo contra todas as cepas testadas, sendo potente em *C. krusei* e *C. glabrata* (CIM = 78,25 µg/mL). Aparentemente, a presença de substituintes oxigenados potencializa a atividade antimicrobiana. Esta suposição foi confirmada avaliando **14** (com substituinte pirrolidi-2-ona), o qual foi o derivado sintético mais potente da coleção de compostos investigada, com uma CIM = 39,06 µg/mL. A presença da carbonila no anel pirrolidínico da imida contribuiu para o aumento da bioatividade. A comparação de **14** com **3** (com substituinte pirrolidínico) mostra que a imida foi oito vezes mais potente contra *C. albicans* e *C. krusei*. Em relação a *C. glabrata*, **14** foi dezesseis vezes mais potente que **3**. De uma forma geral, a presença de átomos oxigênio nos substituintes aromáticos e alifáticos dos derivados sintéticos implica em potencialização da ação antifúngica.

No uso de substituintes heterocíclicos e não heterocíclicos, a exemplo de **3** e **13**, há uma melhor atividade do primeiro composto frente às espécies de *C. albicans* e *C. krusei*, onde a amida **13** tem melhor atividade comparada a **3** contra a *C. glabrata*.

Comparando **13** com o composto contendo o substituinte benzênico (**5**), o composto **13** teve inibição mais efetiva também contra *C. glabrata*, mas, o composto **5** foi mais potente frente a *C. albicans*.

Quanto aos compostos contendo substituintes acíclicos, **1** e **2** (radicais *n*-butílico e *n*-octano), observa-se que as duas estruturas apresentaram baixa potência antifúngica, pois os valores de CIM permaneceram os mesmos (CIM = 625 µg/mL) para *C. albicans*. Porém, a presença de um anel alifático (grupo ciclohexil de **13**), resultou em aumento do CIM para 1250 µg/mL, ou seja, redução da atividade antifúngica.

A presença do grupo benzila com e sem substituinte no anel, **5-8** e **12**, resultou em menor atividade antifúngica quando comparado com **14** (com grupo pirrolidin-2-ona), comportamento observado nos ésteres de SANTOS (2020) e nas amidas de BARBOZA (2020) (Figura 8).

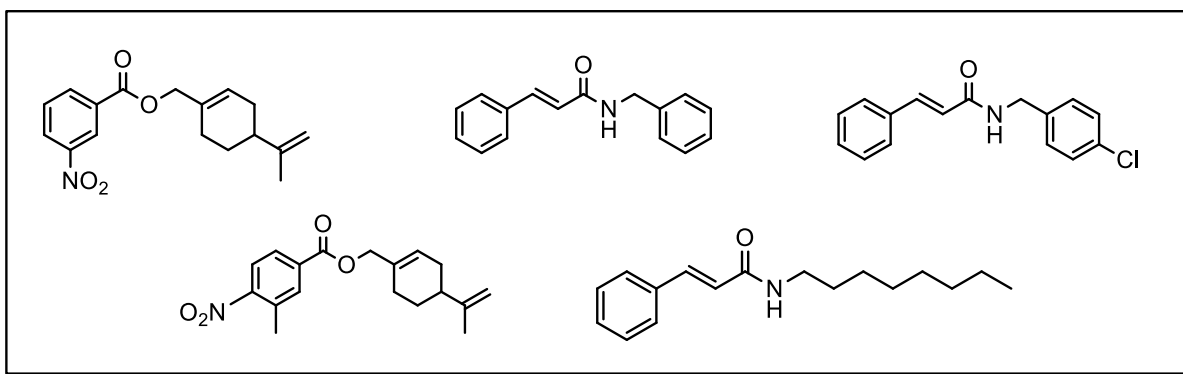


Figura 8: Ésteres e amidas de SANTOS (2020) e BARBOZA (2020), respectivamente.

Quanto aos compostos inéditos (**6**, **8** e **10**), há um destaque para a substância **10**, que apresentou valores de CIM entre 156,25 e 312,5 µg/mL frente à *C. albicans* e *C. krusei*, porém teve menor inibição da *C. glabrata*. Os demais análogos sintéticos não foram capazes de inibir nenhuma das cepas estudadas.

Pertinente a análise dos dados obtidos no tratamento contra a *C. krusei* (ATCC 6258) todos os compostos foram bioativos. O composto **14** manteve o valor de CIM observado anteriormente.

É possível observar que nas amidas com cadeias carbônicas há uma diferença na atividade de acordo com o número de carbonos presentes. No tocante a substância **2** (CIM = 156,25 µg/mL), esta apresentou atividade duas vezes maior em relação a substância **1** (CIM = 312,5 µg/mL) e quatro vezes maior em relação ao **13** (com grupo ciclohexil e CIM = 625 µg/mL), frente à *C. krusei* (ATCC 6258). Estes resultados

corroboram com o estudo de BARBOZA (2020).

Quanto ao análogo com grupo benzila, que apresentou uma CIM de 625 µg/mL (composto **5**), os compostos com dois substituintes metoxílicos em *orto* e *para* (composto **10**) e com o grupo benzodioxol (composto **11**), melhor bioatividade, principalmente o **11**, que teve sua atividade aumentada em quatro vezes, com CIM de 78,25 µg/mL, enquanto o primeiro apresentou uma CIM de 156,25 µg/mL, sendo um indicativo de que estes substituintes atuam potencializando a atividade antifúngica.

A imida **14** manteve sua atividade, reiterando a importância das carbonilas para a potência da atividade contra *Candida* spp. O composto **11** também apresentou boa atividade antifúngica. Enquanto o composto **5** foi o único com o substituinte benzila que apresentou atividade, mostrando que alterações na posição *para* do anel benzênico pode causar decréscimo do efeito biológico da molécula. Apenas uma modificação no grupo benzila surtiu efeito. A amida **11**, com o substituinte benzodioxol, manteve sua ação antifúngica com o mesmo valor de CIM determinado para a cepa *C. krusei*, sugerindo que essa subestrutura seja uma estratégia de modificação estrutural promissora para combate aos fungos desta espécie.

4.4.1. Investigação do mecanismo de atividade antifúngica

Após analisar a atividade biológica da coleção de moléculas, foram feitos testes para saber os possíveis alvos de atuação antifúngica desta estrutura. Foi eleita para o teste a amida 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (**14**), por apresentar o melhor valor de CIM para as três cepas fúngicas do presente estudo.

Os testes foram realizados com as espécies *C. albicans* ATCC 90028 e *C. krusei* ATCC 6258, no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (CCS/UFPB), coordenado pelo prof. Dr. Ricardo Dias de Castro. Os testes foram similares ao teste de microdiluição em placas de 96 poços em formato de “U”, entretanto, neste teste, foram enriquecidos com ergosterol e sorbitol, nutrientes importantes para formação da membrana celular e parede celular fúngica, respectivamente.

Conforme descrito nas Tabelas 9, 10 e 11 a substância utilizada no teste apresentou valores de CIM inalterados na presença do ergosterol e no sorbitol. Este fato sugere que a molécula sintetizada não atua de forma direta sobre membrana celular fúngica ou por mecanismos que envolvam funções da parede celular. Estes resultados sugerem a realização de ensaios mais específicos a partir de estratégias

farmacológicas que permitam compreender possível efeito desse composto sobre enzimas que participam do processo de formação dessas estruturas celulares (membrana ou parede celulares) ou de mecanismos relacionados à síntese de proteínas ou duplicação celular.

Tabela 9: Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) dos derivados **1-14**, nistatina e cetoconazol contra *Candida* spp. Os valores de CIM e CFM são expressos em µg/mL e mM.

Moléculas		<i>C. albicans</i> ATCC 90028				<i>C. krusei</i> ATCC 6258				<i>C. glabrata</i> ATCC 90030			
		CIM	CFM	CIM (mM)	CFM/ CIM	CIM	CFM	CIM (mM)	CFM/ CIM	CIM	CFM	CIM (mM)	CFM/ CIM
01		625	>1250	2,81	-	312,5	625	1,41	2	1250	1250	5,62	1
02		625	1250	2,25	2	156,25	312,5	0,56	2	312,5	312,5	1,12	1
03		312,5	625	1,42	2	312,5	1250	1,42	3	625	625	2,84	1
04		>1250	>1250	>4,62	-	>1250	>1250	>4,62	-	>1250	>1250	>4,62	-
05		625	625	2,44	1	625	625	2,44	1	312,5	312,5	1,22	1
06		>1250	>1250	>4,63	-	>1250	>1250	>4,63	-	>1250	>1250	>4,63	-
07		1250	1250	4,37	1	625	625	2,18	1	>1250	>1250	>4,37	-
08		>1250	>1250	>4,30	-	>1250	>1250	>4,30	-	>1250	>1250	>4,30	-
09		>1250	>1250	>4,33	-	>1250	>1250	>4,33	-	>1250	>1250	>4,33	-
10		312,5	625	0,99	2	156,25	312,5	0,49	2	>1250	>1250	3,95	-
11		312,5	625	1,04	2	78,25	78,25	0,26	1	78,25	78,25	0,26	1
12		>1250	>1250	>4,56	-	>1250	>1250	>4,56	-	>1250	>1250	>4,56	-
13		1250	1250	5,03	1	625	625	2,52	1	156,25	156,25	0,63	1
14		39,06	39,06	0,17	1	39,06	39,06	0,17	1	39,06	39,06	0,17	1
Cetoconazol		0,078	0,078	1,47x10 ⁻⁴	1	2,5	2,5	4,70x10 ⁻³	1	0,156	0,156	2,93x10 ⁻⁴	1
Nistatina		1,5	1,5	1,62x10 ⁻³	1	1,5	1,5	1,62x10 ⁻³	1	1,5	1,5	1,62x10 ⁻³	1

Tabela 10: O efeito do ergosterol exógeno (presença e ausência - 1,008.mM) na CIM da amida 14 e da nistatina contra *C. albicans* (ATCC 90028) e *C. krusei* (ATCC 6258). Os valores são expressos em µg/mL e mM.

1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14)					Nistatina				
Concen tração (µg/mL(mM))	<i>C. albicans</i> ATCC 90028		<i>C. krusei</i> ATCC 6258		Concentração (µg/mL (mM))	<i>C. albicans</i> ATCC 90028		<i>C. krusei</i> ATCC 6258	
	Sem ergosterol	Com ergosterol	Sem ergosterol	Com ergosterol		Sem ergosterol	Com ergosterol	Sem ergosterol	Com ergosterol
1250 (5,34)	-	-	-	-	48 (0,052)	-	-	-	+
625 (2,67)	-	-	-	-	24 (0,026)	-	+	-	+
312,50 (1,33)	-	-	-	-	12 (0,013)	-	+	-	+
156,25 (0,66)	-	-	-	-	6 (6,48x10 ⁻³)	-	+	-	+
78,25 (0,33)	-	-	+	+	3 (3,24x10 ⁻³)	-	+	-	+
39,06 (0,17)	+	+	+	+	1,5 (1,62x10 ⁻³)	+	+	+	+
19,53 (0,08)	+	+	+	+	0,75 (8,1x10 ⁻⁴)	+	+	+	+
9,76 (0,04)	+	+	+	+	0,37(4,0x10 ⁻⁴)	+	+	+	+

Legenda: +: crescimento fúngico; -: sem crescimento fúngico

Tabela 11: Valores de CIM da amida **14** e caspofungina na ausência e presença de sorbitol (0,8 M) contra cepas de *C. albicans* (ATCC 90028) e *C. krusei* (ATCC 6258). Os valores são expressos em µg/mL e mM.

1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14)					Caspofungina				
Concen tração (µg/mL (mM))	<i>C. albicans</i> ATCC 90028		<i>C. krusei</i> ATCC 6258		Concen tração (µg/mL(mM))	<i>C. albicans</i> ATCC 90028		<i>C. krusei</i> ATCC 6258	
	Sem sorbitol	Com sorbitol	Sem sorbitol	Com sorbitol		Sem sorbitol	Com sorbitol	Sem sorbitol	Com sorbitol
1250 (5,34)	-	-	-	-	2 (1,83x10 ⁻³)	-	+	-	+
625 (2,67)	-	-	-	-	1 (9,15x10 ⁻⁴)	-	+	-	+
312,50 (1,33)	-	-	-	-	0,5 (4,57x10 ⁻⁴)	-	+	-	+
156,25 (0,66)	-	-	-	-	0,25 (2,29x10 ⁻⁴)	-	+	-	+
78,25 (0,33)	-	-	+	+	0,125 (1,14x10 ⁻⁴)	-	+	-	+
39,06 (0,17)	+	+	+	+	0,062 (5,67x10 ⁻⁵)	-	+	-	+
19,53 (0,08)	+	+	+	+	0,031 (2,83x10 ⁻⁵)	+	+	-	+
9,76 (0,04)	+	+	+	+	0,015 (1,37x10 ⁻⁵)	+	+	+	+

Legenda: +: crescimento de fungo; -: sem crescimento fúngico

4.5. *Docking* molecular

Os alvos de *C. albicans* para estudos de modelagem molecular foram selecionados conforme descrito na seção “PARTE EXPERIMENTAL – QUÍMICA COMPUTACIONAL” e sua lista é fornecida na Tabela 12. Dentre eles, 18 estão associados à via de síntese do ergosterol e 13 estão relacionados à biogênese da parede celular. Por outro lado, a estrutura da maioria dos receptores (22) foi obtida por modelagem de homologia, seguida do AlphaFold (6) e do banco de dados PDB (3).

O composto **14** foi ancorado nos locais de ligação de todos os receptores seguindo o procedimento apresentado na seção “PARTE EXPERIMENTAL – QUÍMICA COMPUTACIONAL”. Os cálculos de *docking* molecular, cujos resultados são fornecidos na seção “Informações de Apoio – Tabela 14”, levam a um total de 72 complexos ligante-receptor selecionados para investigação posterior.

A melhor posição *scored* por alvo está listada na Tabela 13. Esses complexos preditos mostram o ligante dentro das cavidades de ligação e interações capazes de estabilizá-los são observadas em todos os casos. Se a mesma abordagem de pontuação de consenso for usada para a seleção dos modos de ligação mais prováveis para cada alvo for aplicada àqueles apresentados na Tabela 13, os alvos com pontuação mais alta para o ligante são ERG11, RHO1 e ERG1. Por outro lado, PGA4, PHR3 e MVD são os receptores onde são obtidos os piores escores de *docking*. Além disso, 7 dos 10 alvos que compartilham as pontuações de *docking* mais altas pertencem à via biossintética do ergosterol.

Ao usar ferramentas de modelagem molecular, é importante levar em consideração que cada abordagem atende a certas compensações de precisão / velocidade de acordo com seus propósitos. Por exemplo, as ferramentas de acoplamento molecular são projetadas para processar grandes quantidades de moléculas em um curto espaço de tempo.

Tabela 12: Alvos moleculares para investigar o potencial mecanismo de ação do composto **14** em *C. albicans*.

UniProt Accession	Alvo ID ^(a)	Descrição	Mecanismo	Fonte da Estrutura ^(b)
P10613	ERG11	Lanosterol 14-alfa desmetilase	Ergosterol	PDB
Q92206	ERG1	Esqualeno monooxigenase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PCB9	ERG2	C-8 esterol isomerase	Ergosterol	SwissModel
P12461	TMP1	Timidilato sintase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PH52	ERG10	Acetil-CoA acetiltransferase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PTW6	ERG13	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A synthase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PD39	HMG1	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PEL1	ERG12	Mevalonato quinase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PLH0	ERG8	Fosfomevalonato quinase	Ergosterol	AlphaFold
A0A1D8PC43	MVD	Difosfomevalonato decarboxilase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PLI2	IDI1	Isopentenil-difosfato Delta-isomerase	Ergosterol	SwissModel
A0A1D8PH78	ERG20	Bifunctional (2E,6E)-farnesil difosfato sintase/dimetilalliltransferase	Ergosterol	SwissModel
P78589	ERG9	Esqualeno sintase	Ergosterol	SwissModel
Q04782	ERG7	Lanosterol sintase	Ergosterol	SwissModel
Q5A1B0	ERG26	Esterol-4-alfa-carboxilato3-dehidrogenase	Ergosterol	AlphaFold
Q874K0	ERG27	3-ceto-esteroide redutase	Ergosterol	SwissModel
O74198	ERG6	Esterol 24-C-metiltransferase	Ergosterol	SwissModel
G1UB11	ERG5	C-22 esterol desaturase	Ergosterol	AlphaFold
A0A1D8PKB6	KRE6	Beta-glucano sinteses-associada a proteina KRE6	Parede celular	AlphaFold
P29717	XOG1	Glucano 1,3-beta-glucosidase	Parede celular	PDB
A0A1D8PFV8	BHSD	17-beta-hidroxiesteroide dehidrogenase	Parede celular	AlphaFold
A0A1D8PMH9	CWH41	Manosil-oligossacarídeo glucosidase	Parede celular	SwissModel
Q5AEC0	SKN2	Envolvido na biossíntese de beta-1,6 glucano	Parede celular	AlphaFold
A0A1D8PTY8	BGL22	Beta-glucosidase	Parede celular	SwissModel
P43076	PHR1	1,3-beta-glucanosiltransferase	Parede celular	SwissModel
A0A1D8PKY4	PHR3	1,3-beta-glucanosiltransferase	Parede celular	SwissModel
Q5AJY5	PGA4	1,3-beta-glucanosiltransferase	Parede celular	SwissModel
Q59VW6	PGA5	1,3-beta-glucanosiltransferase	Parede celular	SwissModel
O42825	RHO1	Proteína de ligação a GTP RHO1	Parede celular	SwissModel
P46598	HSP90	Proteína Heat shock 90	Parede celular	PDB
Q5ANK2	PKC1	Proteína Cinase C	Parede celular	SwissModel

Legenda: ^(a) Identificação do alvo. ^(b) Fonte da estrutura do receptor. PDB: Banco de dados de proteínas. SwissModel: modelo de homologia obtido com o servidor SwissModel. AlphaFold: recuperado do repositório EMBL-EBI AlphaFold.

Tabela 13: Pontuações da melhor posição de ligante por alvo de acordo com o esquema de pontuação de consenso aplicado.

Alvo	PLP ^(a)	Z_PLP ^(b)	GS ^(c)	Z_GS ^(d)	CS ^(e)	Z_CS ^(f)	ASP ^(g)	Z_ASP ^(h)	Agregado Z-score
ERG11	60.15	1.63	26.30	1.16	25.69	1.87	33.83	0.87	1.38
ERG1	55.68	1.47	10.91	0.47	21.15	1.89	41.24	2.87	1.67
ERG2	52.97	2.59	25.43	1.12	19.45	1.30	29.23	1.49	1.62
TMP1	52.03	2.49	13.66	0.89	8.83	0.38	24.94	1.53	1.32
ERG10	47.80	2.07	21.98	2.27	12.42	-0.47	16.98	1.68	1.39
ERG13	39.78	1.78	24.61	1.51	14.63	0.53	21.60	1.52	1.34
HMG1	35.29	1.20	16.94	1.42	10.45	0.34	17.61	1.80	1.19
ERG12	33.95	1.89	13.55	0.76	22.22	1.65	23.15	1.82	1.53
ERG8	34.39	-0.24	13.99	1.28	16.80	0.97	15.44	1.45	0.86
MVD	25.95	1.55	-62.39	0.31	6.73	2.70	-2.22	0.72	1.32
IDI1	52.91	1.64	24.19	0.83	19.74	2.10	24.79	1.63	1.55
ERG20	38.54	0.90	21.74	1.35	16.21	1.19	17.52	1.59	1.26
ERG9	55.61	3.53	12.40	0.45	24.18	2.11	30.90	1.77	1.97
ERG7	49.66	0.92	22.37	1.27	15.25	1.17	31.66	0.05	0.85
ERG26	45.15	2.29	18.44	0.33	18.22	1.93	22.93	1.46	1.50
ERG27	54.72	1.33	15.94	1.49	17.20	1.78	33.97	2.33	1.73
ERG6	45.21	2.85	16.04	0.81	15.21	1.57	15.48	0.09	1.33
ERG5	57.21	1.24	22.82	1.06	21.00	1.83	32.42	2.52	1.66
KRE6	45.70	1.56	17.23	1.07	15.39	1.64	31.41	1.68	1.49
XOG1	42.56	2.42	23.99	1.29	9.34	1.74	24.39	1.98	1.86
BHSD	54.93	1.52	29.07	1.37	16.48	0.48	39.88	1.55	1.23
CWH41	50.51	2.92	27.14	1.33	16.82	1.21	30.35	1.28	1.69
SKN2	51.42	1.66	24.65	0.92	16.45	0.81	32.26	1.17	1.14
BGL22	35.48	1.59	-3.76	-0.32	15.38	1.79	18.34	1.74	1.20
PHR1	41.81	1.36	23.37	1.46	15.61	2.07	15.03	-0.10	1.20
PHR3	29.65	0.17	14.41	1.10	8.45	0.86	18.03	1.48	0.90
PGA4	37.20	2.29	12.97	0.49	11.34	2.04	11.32	0.11	1.23
PGA5	40.53	1.38	13.64	0.29	12.04	2.28	26.59	2.05	1.50
RHO1	68.14	1.84	39.74	1.30	19.66	0.76	23.91	1.04	1.23
HSP90	48.33	2.56	18.88	1.71	21.91	1.57	22.09	1.23	1.77
PKC1	44.81	1.67	-0.30	0.01	18.18	2.30	19.87	1.79	1.45
(a) PLP score. (b) PLP Z-score. (c) GoldScore score. (d) GoldScore Z-score. (e) ChemScore score. (f) ChemScore Z-score. (g) ASP score. (h) ASP Z-score									

Para este fim, muitos fatores envolvidos no reconhecimento molecular são simplificados ou negligenciados. Por esta razão, os 72 complexos ligante-receptor preditos pelos cálculos de docking molecular foram submetidos a simulações de

dinâmica molecular e as energias livres de ligação do ligante foram previstas a partir deles. Essas previsões foram realizadas conforme descrito na seção “PARTE EXPERIMENTAL – QUÍMICA COMPUTACIONAL” e representaram um tempo total de simulação de 1,44 μ s. Os resultados completos das energias livres de ligação previstas podem ser encontrados na seção “Informações de Apoio – Tabela 15” e estão resumidos na Figura 09.

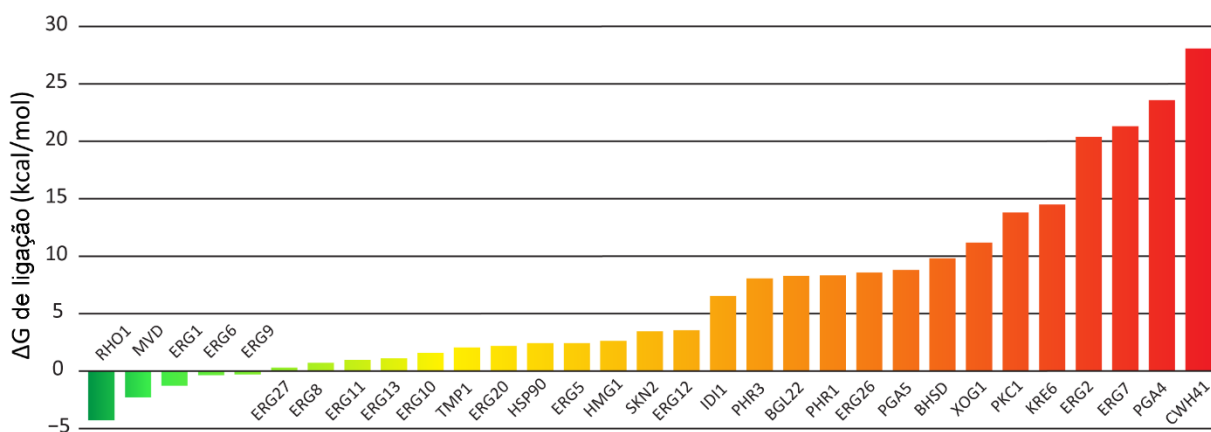


Figura 9: Predição das energias livres de ligação do composto **14** a seus potenciais alvos biológicos.

Para cada alvo, a posição do ligante com a energia livre de ligação mais baixa predita foi selecionada como a mais provável. De acordo com os resultados obtidos, a maioria dos complexos preditos são energeticamente inviáveis. Na verdade, energias livres de ligação negativas (favoráveis) são obtidas apenas para cinco alvos: RHO1, MVD, ERG1, ERG6 e ERG9. Com base nesses resultados, propomos que os alvos mais prováveis do composto **14** em *C. albicans* são RHO1 e MVD. Destes, o RHO1 está relacionado à regulação da biogênese da parede celular, enquanto o MVD faz parte da via de síntese do ergosterol.

Os modos de ligação preditos do ligante para RHO1 e MVD foram analisados em detalhes e resumidos nas Figuras 10 e 11, respectivamente. As conformações de ligante representadas correspondem ao centróide do cluster mais populoso resultante do agrupamento dos instantâneos de 100 MD empregados para cálculos de MM-PBSA. Apenas os resíduos/átomos que interagem com o ligante em pelo menos 50% dos *snapshots* são rotulados nas figuras. As fotos dos complexos foram produzidas com UCSF Chimera (PETTERSEN, et al., 2004), as frequências das interações ligante-receptor foram analisadas com o software posterior e Cytoscape (SHANNON, et al., 2003) e os diagramas de interação foram obtidos com Ligplot + (LASKOWSKI,

SWINDELLS, 2011).

Pode-se prever que o composto **14** se liga à RHO1 em seu local de ligação de GTP e forme uma grande rede de contatos com o receptor (ver Figura 10). A conformação do ligante é estabilizada por uma ligação de hidrogênio à estrutura do resíduo catalítico K22 por meio de seu grupo carbonila no substituinte da pirrolidina, enquanto o oxigênio da amida aceita ligações de hidrogênio das estruturas de T23 e C24. Além disso, a porção nitrobenzil se liga a uma região favorável para uma interação de empilhamento π - π com Y38. O resto dos contatos de **14** com RHO1 ocorrem principalmente com G18, G21 (ocasionalmente ligação de hidrogênio ao seu backbone), P35, V37, Y38, V39, P40 e K166.

Para MVD, o composto **14** (ver Figura 11) liga o hidrogênio ao receptor por meio de ambos os grupos carbonila. A carbonila de amida interage com a cadeia lateral de R155, enquanto a carbonila substituinte da pirrolidina aceita uma ligação de hidrogênio da estrutura de Y17. A parte posterior do ligante se orienta em direção aos resíduos catalíticos K16 e D297, interagindo diretamente com eles e com os resíduos vizinhos A13, W18 e F257. Do outro lado, o grupo nitrobenzil aponta para a entrada da cavidade flanqueada por A116, S118, A119, S152 e S205.

Além disso, o alinhamento dos alvos mais prováveis do composto **14** em *C. albicans* com seus homólogos em *C. krusei* e *C. glabrata* mostra uma conservação quase perfeita dos resíduos interagentes para os fungos posteriores. Uma única mutação é observada entre os resíduos de interação em RHO1, V37M em *C. krusei*, uma mutação não sinônima que não afeta a ligação do ligante, uma vez que a interação predita ocorre com a espinha dorsal deste resíduo e sua cadeia lateral não faz parte da cavidade de ligação. Finalmente, todos os resíduos interagentes são conservados nas três espécies para MVD. Os sítios de ligação conservados e os perfis de inibição semelhantes do composto **14** em *C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata* apoiam ainda mais os mecanismos de ação propostos.

As duas proteínas analisadas desempenham papéis críticos no ciclo de vida de *C. albicans*. RHO1 é uma proteína essencial que regula uma cascata de sinalização que leva à fosforilação de MKC1 que leva à expressão de genes envolvidos na construção e remodelação da parede celular (SMITH, et al., 2002; IBE, MUNRO, 2021). Por outro lado, o MVD tem sido proposto como alvo de drogas antifúngicas (DASSANAYAKE, et al., 2002).

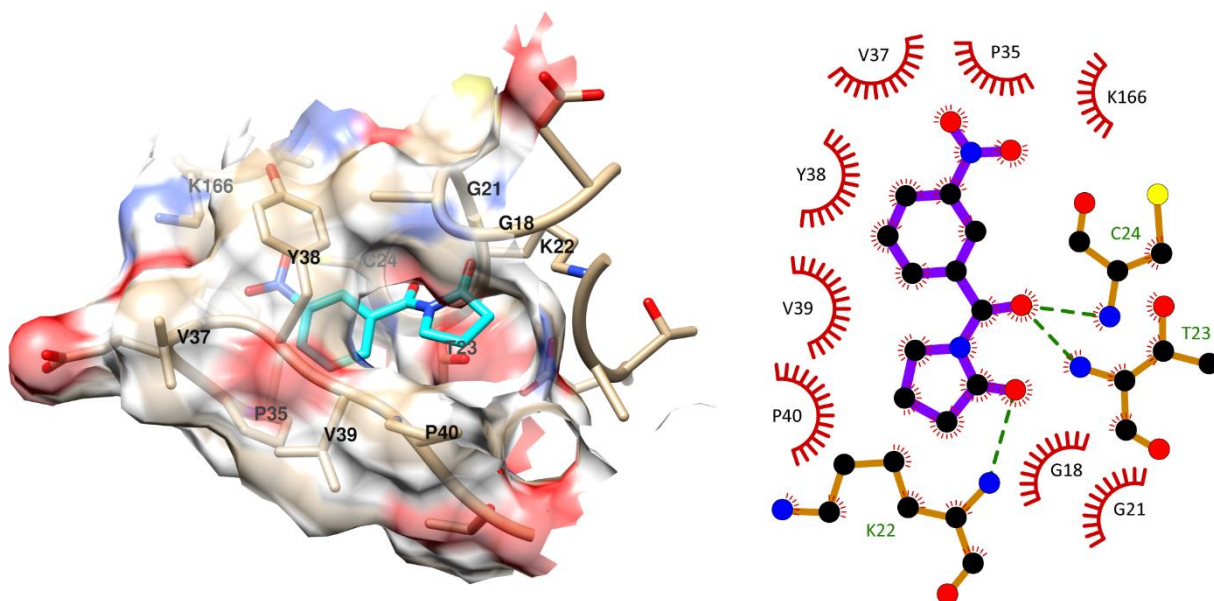


Figura 10: Modo de ligação preditos do composto **14** a RHO1 (esquerda) e diagrama das interações ligante-receptor preditas (direita). O ligando é representado em ciano para representar seu modo de ligação ao receptor. O seguinte esquema é usado para átomos que não são de carbono: vermelho de oxigênio, azul de nitrogênio e amarelo de enxofre. No diagrama de interação (à esquerda), átomos de carbono são representados em preto e átomos pesados são representados apenas para resíduos formando ligações de hidrogênio com o ligante.

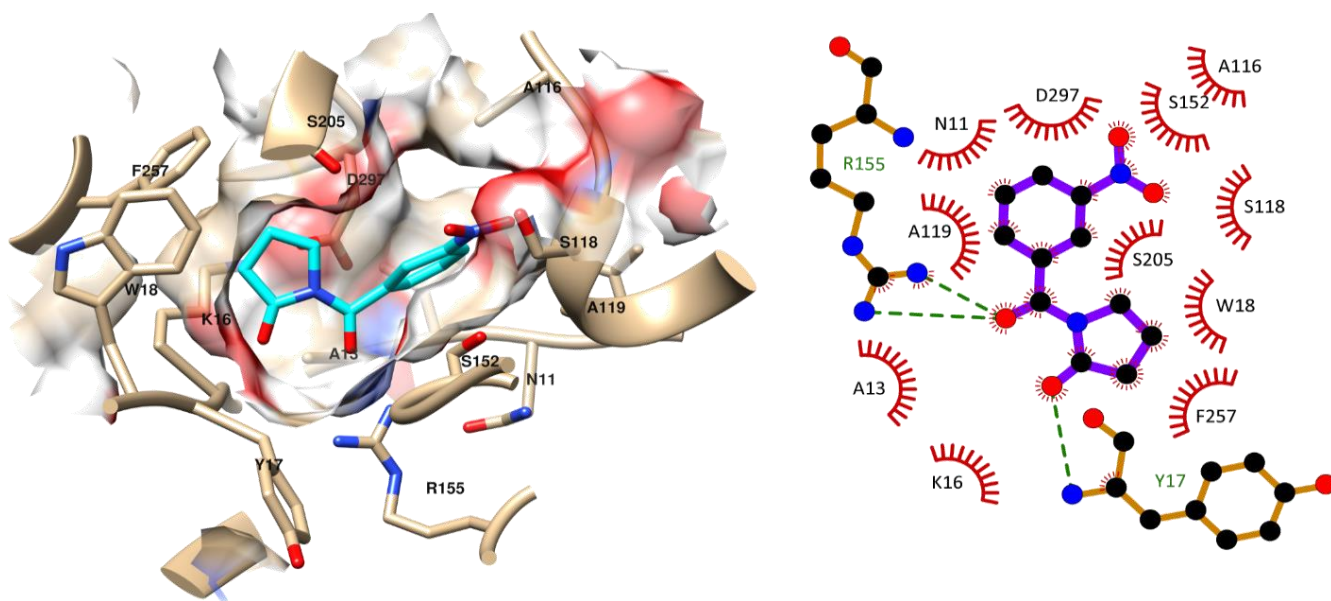


Figura 11: Modo de ligação predito do composto **14** para MVD (esquerda) e diagrama das interações ligante-receptor preditas (direita). O ligando é representado em ciano para representar seu modo de ligação ao receptor. Os átomos que não são de carbono são coloridos de vermelho para oxigênio e azul para nitrogênio. No diagrama de interação (à esquerda), átomos de carbono são representados em preto e átomos pesados são representados apenas para resíduos formando ligações de hidrogênio com o ligante.

5.0. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O estudo resultou na preparação de catorze derivados 3-nitrobenzamidás (**1** – **14**) em uma etapa única. O derivado **12** foi o que apresentou o melhor rendimento (72,7%) e todos os compostos foram caracterizados por meio das técnicas de IV e RMN de ^1H e ^{13}C .

No tocante a atividade fungicida, dentre os catorze compostos avaliados frente às cepas de *C. albicans*, *C. krusei* e *C. glabrata*, o composto com substituinte 2-pirrolidinona (**14**) foi o derivado que demonstrou melhor atividade contra todas as cepas fúngicas, com valores de CIM e CFM = 39,06 µg/mL. O mecanismo de ação foi feito utilizando o sorbitol e ergosterol, onde conclui-se que este composto não atua na formação de parede/membrana celular fúngica.

Quanto ao *docking* molecular, o presente estudo fornece informações úteis sobre o potencial mecanismo de ação do composto **14** contra *C. albicans* e para o planejamento de futuros experimentos com o objetivo de testar esses mecanismos e melhorar a potência antifúngica dessa classe de produtos químicos. O pequeno tamanho do ligante o torna um bom candidato para otimização adicional, um processo que pode se beneficiar dos resultados de modelagem aqui apresentados. Por exemplo, em ambos os receptores, prevê-se que os grupos carbonila do composto desempenhem um papel fundamental na estabilidade dos complexos, indicando que qualquer modificação futura não deve alterá-los para preservar suas capacidades de ligação de hidrogênio a esses receptores.

6.0. PARTE EXPERIMENTAL - QUÍMICA

6.1. Materiais e métodos utilizados no preparo dos derivados sintéticos

Os procedimentos para síntese dos análogos do cloreto de 3-nitrobenzoíla foram executados no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF), localizado na Universidade Federal da Paraíba (UFPB), que faz parte do Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde (DCF/CCS/UFPB).

Foram usados reagentes das empresas Sigma Aldrich, Vetec, Neon, Dinâmica, Qhemis, entre outras, com elevado grau de pureza para uma ideal obtenção de produtos sintéticos. Para a preparação das amidas foram usadas 14 (catorze) aminas que reagiram com o cloreto de 3-nitrobenzoíla, a saber: butilamina, octilamina, pirrolidina, fenetilamina, benzilamina, 4-metilbenzilamina, 4-metoxibenzilamina, 4-clorobenzilamina, dibenzilamina, 2,4-dimetoxibenzilamina, piperonilamina, 4-fluorobenzilamina, ciclohexilamina e 2-pirrolidinona.

6.2. Métodos cromatográficos

A Cromatografia em Camada Delgada Analítica (CCDA), utilizando cromatoplasmas com fase estacionária a sílica gel 60 F254, foi usada para monitoração e análise das reações e substâncias usando, no caso, hexano e acetato de etila (Hex:AcOEt, fase móvel) em diferentes proporções. Para visualização do resultado deste processo, utilizou-se a câmara de luz UV com comprimento de onda de 254 nm, que foi suficiente, não necessitando de revelador químico.

Utilizou-se também a técnica de Cromatografia em Coluna (CC) para a purificação de substâncias, utilizando sílica gel 60 ART 7734 da MERK (partículas de dimensões entre 0,063-0,200 mm) suportada em colunas de vidro cilíndricas. A fase móvel utilizada foi uma mistura de hexano e acetato de etila (Hex:AcOEt) em diferentes proporções.

6.3. Métodos espectroscópicos

6.3.1. Ressonância Magnética Nuclear

Por meio dos equipamentos Mercury-Varian (400 MHz (^1H) e 100 MHz

(^{13}C) e Varian-RMN- System (500 MHz (^1H) e 125 MHz para (^{13}C)), alocados no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA/UFPB), foi feita a análise de caracterização das substâncias sintetizadas pelos espectros por estes fornecidos, apresentando deslocamentos químicos (δ) medidos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz), com a técnica APT (*Attached Proton Test*: analisa carbonos onde os sinais dos carbonos quaternários(CH_4)/metilênicos ($-\text{CH}_2-$) estão no mesmo face do espectro (posicionado para cima). Já os sinais para carbonos metínicos($-\text{CH}-$)/metílicos($-\text{CH}_3$) encontram-se na face oposta (posicionado para baixo)) para o ^{13}C .

Os solventes utilizados para solubilizar os miligramas da amostra para análise foram clorofórmio deuterado (CDCl_3 - $\delta_{\text{H}} = 7,26$ ppm e $\delta_{\text{C}} = 77,20$ ppm) e Dimetilsulfóxido deuterado ($\text{DMSO}-d_6$ - $\delta_{\text{H}} = 2,50$ ppm e $\delta_{\text{C}} = 39,52$ ppm), ambos da marca MERK. As múltiplas bandas provenientes do espectro de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio foram indicadas de acordo com as convenções: *s* (singlete), *d* (duplete), *dd* (dublo duplete), *ddd* (dublo dublo duplete) *t* (triplete), *q* (quarteto), *quint* (quinteto), *sext* (sexteto), *m* (multiplete).

6.3.2. Espectroscopia de Infravermelho

Também foram realizadas análises de identificação das amidas utilizando a técnica de infravermelho (IV). O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro por transformada de Fourier modelo Cary 630, da fabricante Agilent Technologies, que está alocado no Laboratório Analítico Multiusuário (DCF/CSS/UFPB). Para a caracterização, foi utilizado 1 mg de cada substância sintetizada, que foi misturada com brometo de potássio (KBr) para a formação de pastilhas, após a prensagem dessa mistura em prensa hidráulica. A análise da frequência foi feita na unidade $1/\text{cm}$ (cm^{-1}).

6.4. Ponto de Fusão

Os análogos também foram submetidos ao teste de ponto de fusão, que foi realizado no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF/DCF/CCS/UFPB). O laboratório dispõe da placa de aquecimento de um aparelho da Microquímica Equipamentos LTDA, modelo MQAPF 302, que opera na faixa entre $10-350^\circ\text{C}$, que possibilitou a análise correta deste parâmetro.

7.0. PARTE EXPERIMENTAL – QUÍMICA COMPUTACIONAL

7.1. Local de Trabalho

O estudo computacional foi produzido na Universidade das Américas, Quito, Equador pelo pesquisador Yunierkis P. Castillo.

7.2. Seleção de alvos

Com base nos resultados experimentais, os alvos moleculares envolvidos na síntese de ergosterol e relacionados à biogênese da membrana celular em *C. albicans* foram selecionados para estudos de modelagem. Os alvos envolvidos na via de síntese de ergosterol foram definidos a partir do *Candida* Genome Database (Pathway PWY3B3-3) (SKRZYPEK, et al., 2017). Da mesma forma, alvos moleculares relacionados à síntese e regulação da parede celular foram obtidos no mesmo banco de dados e na literatura científica (SANT, et al., 2016; GONG, et al., 2017; LIMA, COLOMBO, JUNIOR 2019; IBE, MUNRO, 2021).

7.3. Docking molecular

Os cálculos de docking molecular foram feitos seguindo o protocolo prévio publicado (LOPES, et al., 2020; PEREZ-CASTILLO, et al., 2020). Resumindo, uma estrutura tridimensional inicial do composto **14** foi gerada com OpenEye's Omega (OMEGA 4.1.0.0; HAWKINS, et al., 2010) e Molcharge (QUACPAC 2.1.1.0), foi usada para adicionar am1-bcc cargas atômicas parciais para fazê-la. As estruturas dos receptores foram também tiradas da base de dados Protein Data Bank (PDB) (BERMAN, et al., 2000), geradas por meios de modelagem de homologia com o servidor SWISS-MODEL (WATERHOUSE, et al., 2018) ou baixada do AlphaFold Protein Structure Database depositada no EMBL-EBI (<https://alphafold.ebi.ac.uk/>) (JUMPER, et al., 2021). O critério para escolha de uma das últimas fontes de proteínas foram: 1) selecionar a estrutura PDB quando disponível, 2) se nenhuma estrutura foi experimentalmente determinada, gerar modelos homólogos e selecionar esta abordagem apenas se os modelos com QMEAN > -4 foram obtidos e 3) baixar o modelo postado no repositório da AlphaFold se a opção anterior não proveu uma estrutura receptora.

Cálculos de *docking* molecular foram carregados com o software Gold (JONES, et al., 1997) e a função de pontuação *ChemPLP* foi selecionada para *docking* primário.

Para cada alvo, 30 soluções diferentes foram geradas para o composto **14** considerando as correntes laterais de resíduos apontando para a cavidade como flexível, enquanto o parâmetro de eficiência de pesquisa foi definido para 200%. Os modos de ligação preditos do ligante foram recuperados com *GoldScore*, *ChemScore* e ASP, função de pontuação do *Gold*. Os mais prováveis modelos de ligação do composto para cada receptor foram determinados seguindo a abordagem de pontuação de consenso descrita na publicação prévia (LOPES, et al., 2020; PEREZ-CASTILLO, et al., 2020). A posição de ligação com pontuação superior do ligante para cada receptor, bem como qualquer uma com uma pontuação de consenso maior do que 1, foram selecionados para estudos de modelagem adicionais.

7.4. Simulações de dinâmicas moleculares e predição das energias livres de ligação

Simulações de dinâmicas moleculares foram feitas com o *Amber 20 suite* (CASE, et al., 2020). Proteínas e ligantes foram parametrizados com os campos de força ff19SB e gaff2, respectivamente. Parâmetros para cofatores foram obtidos do *website* Bryce Group (<http://amber.manchester.ac.uk/> - GIAMMONA, 1984; HOLMBERG, RYDE, BÜLOW, 1999; ANTONY, MEDVEDEV, STUCHEBRUKHOV, 2000). O mesmo protocolo foi seguido para simular todos os complexos e incluiu a minimização de energia, aquecimento, equilíbrio e execuções de produção.

Os complexos foram anexados nas caixas de octaedro truncado, solvatado com moléculas de água OPC e neutralizados com contra-íons Na⁺ ou Cl⁻. Em seguida, ocorreu a minimização de energia, aquecimento de 0 K até 300 K e o sistema de equilíbrio foi carregado como previamente descrito (LOPES, et al., 2020; PEREZ-CASTILLO, et al., 2020). Os complexos equilibrados foram usados como entrada para 5 pequenas séries de produção, cada uma durando por 4ns. Para melhorar a exploração do espaço conformacional de cada uma das execuções, suas velocidades iniciais foram aleatoriamente inicializadas. Este protocolo foi responsável por um total de 20 ns de tempo de simulação MD de cada complexo estudado.

O método MM-PBSA, conforme implementado no script 20 MM-PBSA.py de Amber, foi empregado para prever as energias livres de ligação do composto **14** a cada receptor. Os cálculos de energia livre ocorreram em 100 MD instantâneos selecionados uniformemente de cada uma das cinco execuções de produção, considerando apenas o intervalo de tempo de simulação de 1 ns a 4 ns. A força iônica

para cálculos de MM-PBSA foi ajustada para 100 mM.

8.0. PARTE EXPERIMENTAL – BIOLÓGICA

8.1. Local de Trabalho

Para realização da etapa biológica, as amostras foram enviadas ao Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular da Universidade Federal da Paraíba (CCS/UFPB), coordenado pelo prof. Dr. Ricardo Dias de Castro.

8.2. Cepas fúngicas

Para o corrente estudo, foram utilizadas cepas de *C. albicans* ATCC 90028, *C. krusei* ATCC 6258 e *C. glabrata* ATCC 90030.

8.3. Ensaio de Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM).

Inicialmente foi preparado o inóculo das cepas que fariam parte do estudo. Esse preparo foi de acordo com a escala nefelométrica de McFarland, que é uma escala que determina a concentração de microrganismos em meio líquido. A opacidade utilizada para o nosso teste foi determinada por equipamento de espectrofotometria, onde se buscou obter o valor ideal de 0,5 da escala de McFarland, que corresponde ao valor de $1,5 \times 10^6$ Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL. Os inóculos foram preparados de acordo com protocolo proposto pelo CLSI (2008).

O meio de cultura escolhido, preconizado pela Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), foi o RPMI 1640 Sigma-Aldrich® Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), que foi devidamente preparado, mantendo sua esterilidade. Para suporte do meio, foram utilizadas microplacas de 96 (noventa e seis) poços em formato de “U”, pois facilita a aplicação e visualização das triplicatas das amostras testadas. A estes poços, são adicionados 100 µL do meio RPMI 1640, ficando pronto para a adição dos componentes do ensaio.

As amidas foram solubilizadas em DMSO 5% e água destilada esterilizados e inseridas nas placas de 96 poços, sendo submetidas à diluição seriada para obtenção de concentrações que variam de 1250 a 9,765 µg/mL. Nistatina e cetoconazol, adquiridos na Sigma-Aldrich® Chemical Co. (St. Louis, MO, USA), foram utilizados como controles positivos. Adicionalmente foram realizados controles de esterilidade

do meio de cultura e de crescimento fúngico.

Após este procedimento, 100 µL do inóculo foram inseridos na placa, resultado em concentração celular final de $2,5 \times 10^3$ UFC/mL. As placas foram incubadas a 35°C durante 24-48 horas. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico visível.

A CFM foi determinada pelo subcultivo de alíquotas (20 µL) da CIM, CIM x2 e CIM x4 em placas de Petri contendo meio de cultura agar Sabouraud Dextrose (KASVI1, Kasv Imp and Dist. Prod/Laboratórios LTDA, Curitiba, Brazil). As placas foram incubadas durante 24 em estufa microbiológica a 35°C. A leitura foi realizada por observação visual do crescimento de unidades formadoras de colônias (UFC). $\pm 2^\circ\text{C}$, and reading was performed by visual observation of fungal growth based on the counting of Colony-Forming Units (CFU). A relação CFM/CIM foi calculada para determinar se o composto tem atividade fungistática ($\text{CFM/CIM} \geq 4$) ou fungicida ($\text{CFM/CIM} < 4$) (Siddiqui et al, 2013).

8.4. Ensaios para avaliação do possível modo de ação dos compostos

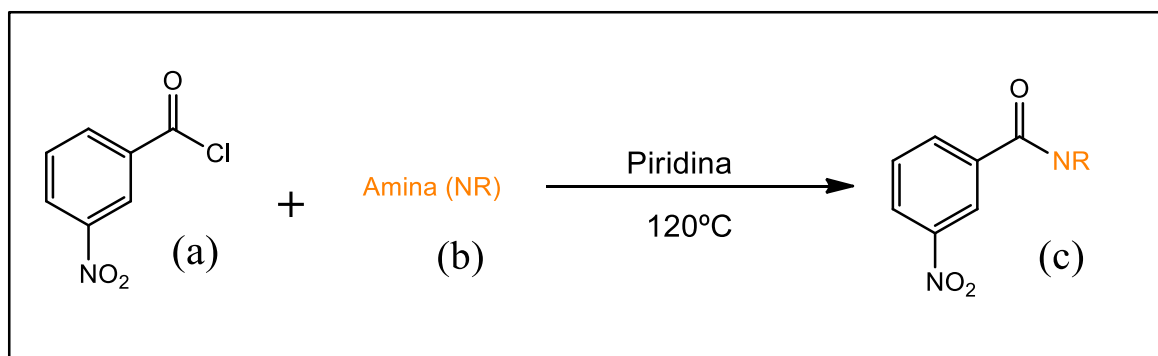
Para definir o possível mecanismo de ação do composto sintético **14**, o qual apresentou melhor ação antifúngica, foram realizados ensaios para avaliar efeito desse composto sobre funções celulares que envolvem a participação da membrana ou parede celulares. Para condução desses ensaios, foram utilizadas cepas de *C. albicans* ATCC 90028 e *C. krusei* ATCC 6258.

A avaliação do efeito do composto sobre parede celular, foi realizado teste de microdiluição, previamente descrita para definição da CIM, em presença de sorbitol (D-sorbitol, anidro) INLAB laboratório. O inóculo foi preparado com sorbitol em concentração final de 0,8 M. As placas foram seladas assepticamente e incubadas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Caspofungina foi usada como controle positivo (Freires et al., 2014; Lima et al, 2013).

O ensaio do ergosterol, conduzido para avaliar possível efeito do composto na membrana celular fúngica, foi executado através do método de microdiluição. Neste teste, o inóculo foi preparado com ergosterol na concentração de 400 µg/mL. As placas foram incubadas a uma temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Nistatina foi utilizada como controle positivo (Freires et al., 2014; Lima et al, 2013).

9.0. QUÍMICA

9.1. Preparação dos derivados sintéticos 1- 14



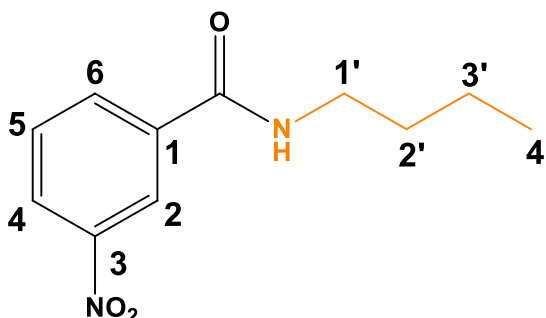
Fonte: Elaborado pelo autor

Esquema 5: Reação de Schotten-Baumann utilizando o cloreto de 3-nitrobenzoíla.

As amidas foram preparadas seguindo o procedimento geral (Esquema 5): em um balão de fundo redondo de 25 mL, adicionou-se 200 mg (1,08 mmol) do cloreto de 3-nitrobenzoíla, 2 mL de piridina e 1,08 mmol da amina. A reação foi conduzida sob refluxo e agitação durante 2-3 h e monitorada por CCDA. Em seguida, rotoevaporou-se parte da piridina do meio reacional. Adicionou-se 30mL de ácido clorídrico (HCl) 0,1M de forma gradativa e transferiu-se o conteúdo do balão para um funil de separação. Fez-se extrações com acetato de etila (3 x 10 mL). A fase orgânica foi tratada com água destilada (3 x 10 mL), seguido de bicarbonato de sódio 5% (3 x 10 mL) e novamente água destilada (2 x 10 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e submetida a rotaevaporação. Os produtos foram obtidos puros via precipitação ou purificados por cromatografia em coluna utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila em diferentes proporções.

9.2. Dados espectroscópicos dos derivados sintéticos.

9.2.1. 01: *N*-butil-3-nitrobenzamida



Aspecto: Sólido branco;

Massa do produto: 126,2 mg

Rendimento: 52,7%;

Fórmula molecular: C₁₁H₁₄N₂O₃

Massa molecular: 222,24 g/mol

Ponto de Fusão: 61-63 °C;

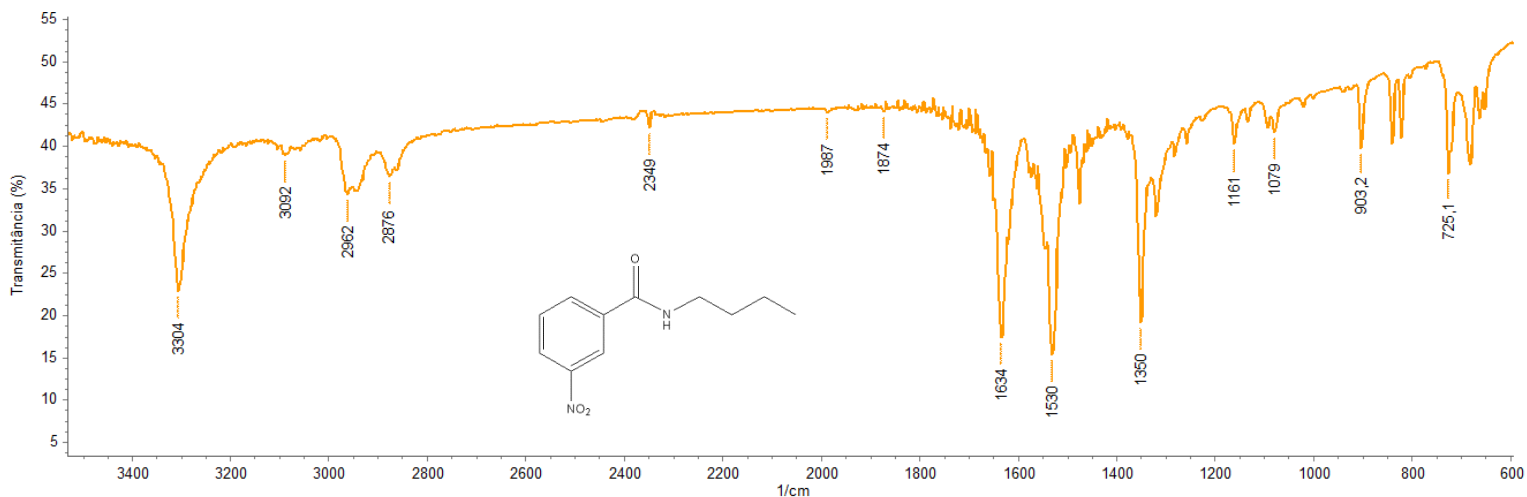
Tempo de Reação: 2 horas;

Fator de Retenção: 0,37 (8:2 Hex/AcOEt)

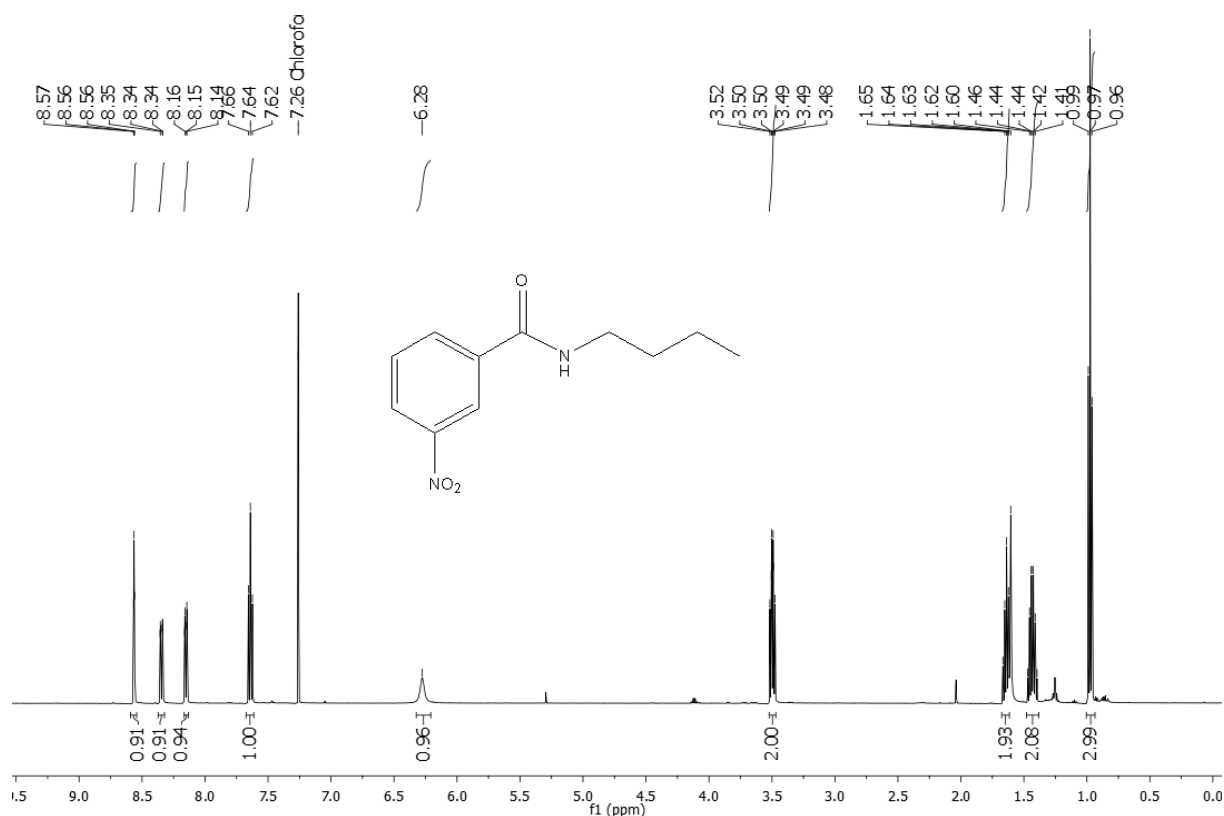
RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ_H 8,56 (*t*, H-2, *J*=1,9 Hz, 1H), 8,35 (*ddd*, H-4; *J* = 8,2, 2,2, 1,1 Hz, 1H), 8,15 (*dt*, H-6, *J* = 7,7, 1,5, Hz, 1H), 7,64 (*t*, H-5, *J*=8,0 Hz, 1H), 6,28 (*s*, NH, 1H), 3,50 (*m*, H-1', 2H), 1,68-1,62 (*m*, H-2', 2H), 1,44 (*sext*, *J* = 7,3, 14,6, H-3', 2H), 0,97 (*t*, H-4', *J* = 7,4 Hz, 3H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ_C 165,19 (C=O); 148,60 (C-3); 136,60 (C-1); 133,35 (C-6); 129,99 (C-5); 126,07 (C-4); 121,72 (C-2); 40,32 (C-1'); 31,77 (C-2'); 20,30 (C-3'); 13,71 (C-4').

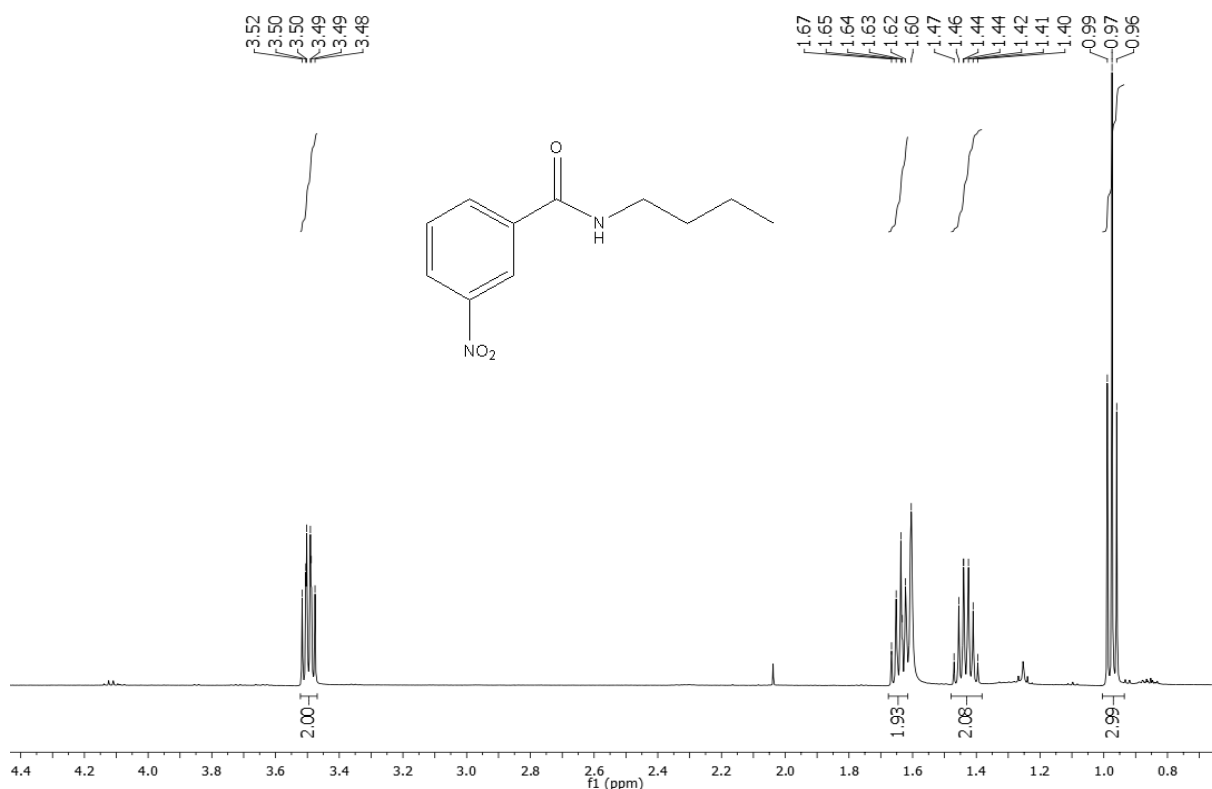
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3304 (N-H); 3092 (C-H sp^2); 2962, 2876 (C-H sp^3); 1634 (C=O); 1530 (N=O (NO_2)); 1350 (C-H, sp^3 , dobramento); 903, 725 (aromático, dobramento).



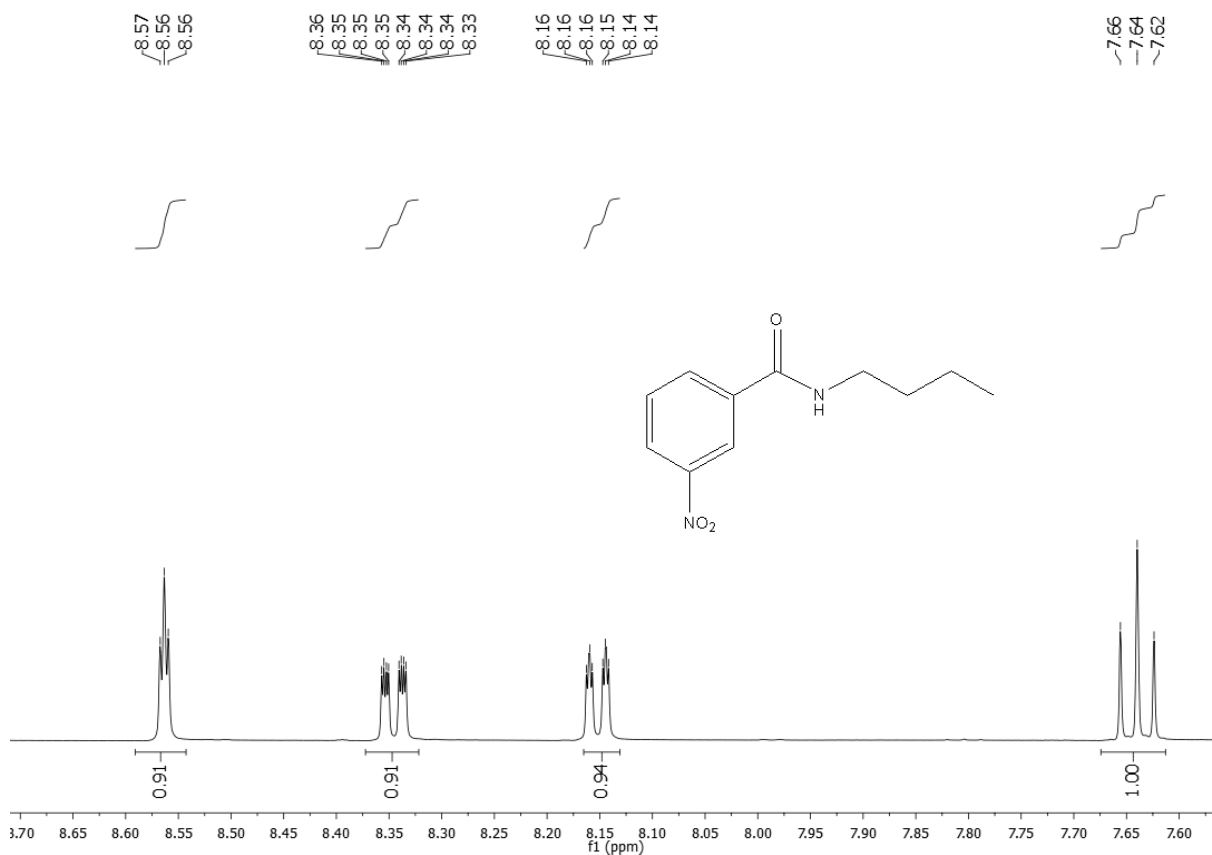
Espectro 1: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da *N*-butil-3-nitrobenzamida (01).



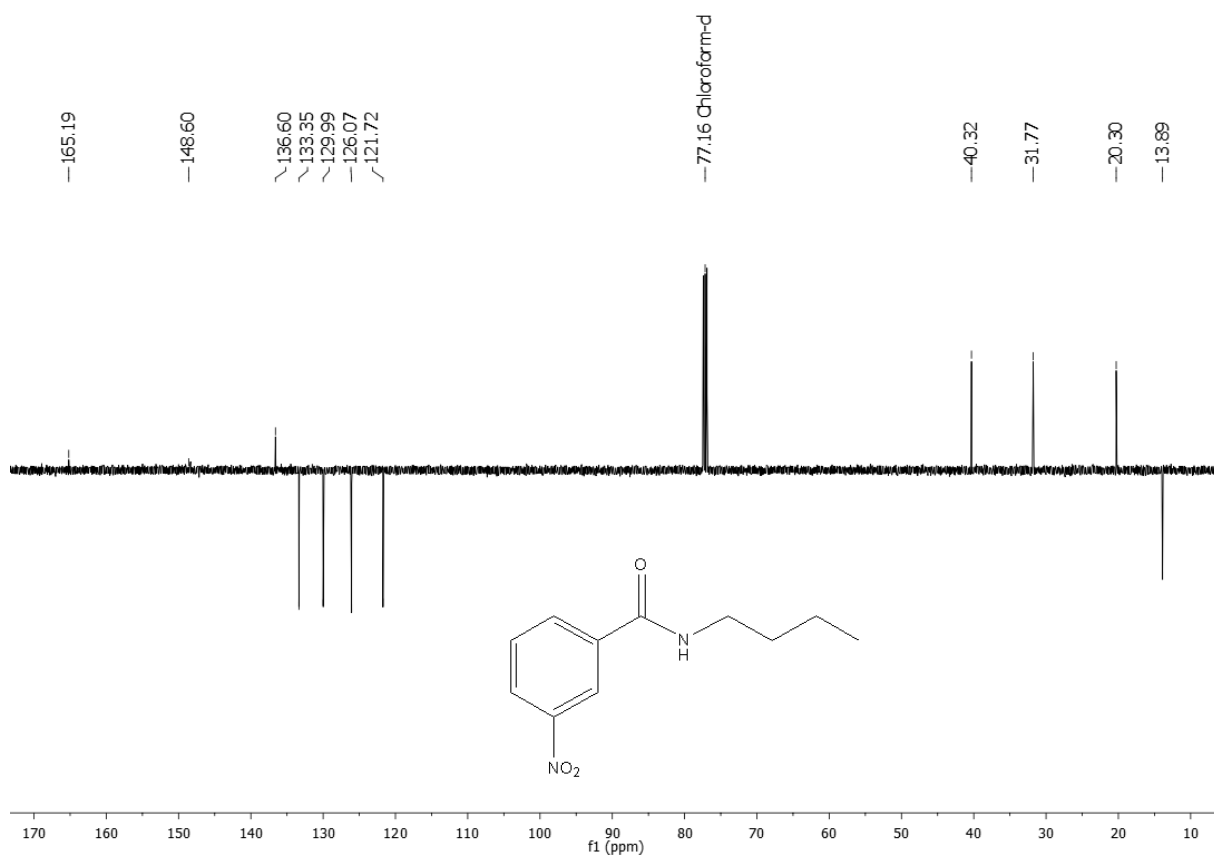
Espectro 2: Espectro de RMN de ¹H (500MHz, CDCl_3) da *N*-butil-3-nitrobenzamida (01).



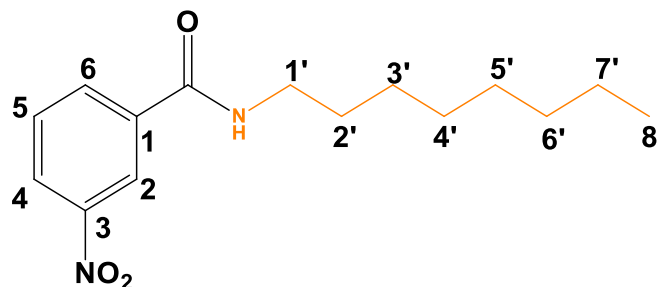
Espectro 3: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) da *N*-butil-3-nitrobenzamida (**01**).



Espectro 4: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) da *N*-butil-3-nitrobenzamida (**01**).



Espectro 5: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) da *N*-butil-3-nitrobenzamida (01).

9.2.2. 02: *N*-octil-3-nitrobenzamida

Aspecto: Sólido branco;

Massa do produto: 201,1 mg

Rendimento: 67%;

Fórmula molecular: C₁₅H₂₂N₂O₃

Massa molecular: 278,35 g/mol

Ponto de Fusão: 92-97°C;

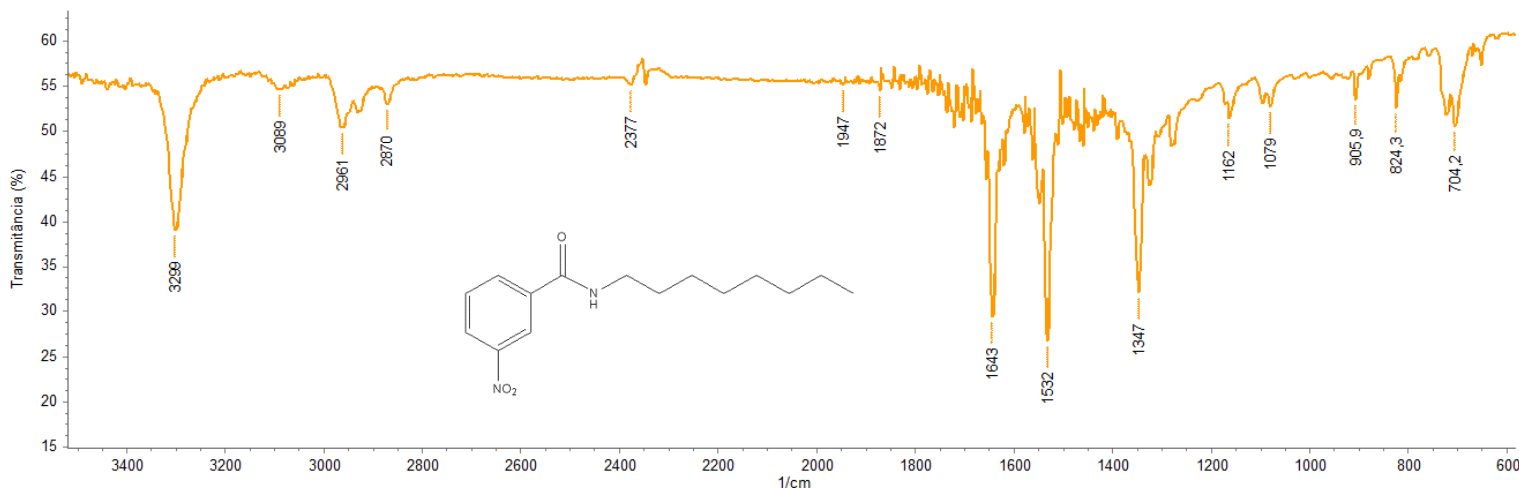
Tempo de Reação: 2,5 horas;

Fator de Retenção: 0,35 (8:2 Hex/AcOEt)

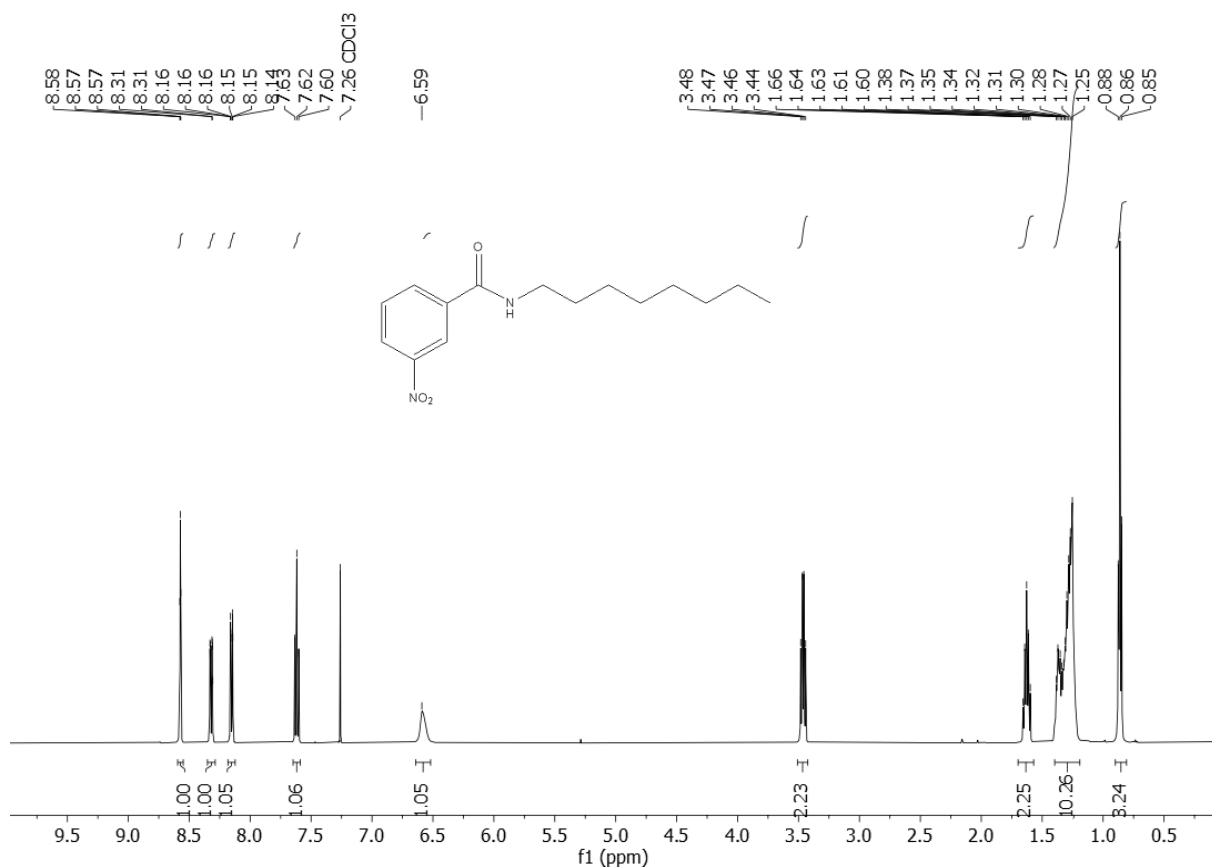
RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ_H 8,57 (*t*, H-2, *J*=2,0 Hz, 1H), 8,32 (*ddd*, H-4; *J* = 8,2, 2,2, 1,1 Hz, 1H), 8,15 (*dt*, H-6, *J* = 7,8, 1,4 Hz, 1H), 7,62 (*t*, H-5, *J*=8,0 Hz, 1H), 6,59 (*s*, NH, 1H), 3,47 (*q*, *J* = 7,6 Hz, H-1', 2H), 1,63 (*quint*, *J* = 8,2, H-2', 2H), 1,41-1,20 (*m*, H-3', 4', 5', 6', 7', 10H), 0,86 (*t*, *J* = 7,2 Hz, H-8', 3H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ_C 165,23 (C=O); 148,24 (C-3); 136,56 (C-1); 133,41 (C-6); 129,92 (C-5); 126,00 (C-4); 121,80 (C-2); 40,61 (C-1'); 31,89 (C-6'); 29,65 (C-2'); 29,38 (C-4'); 29,30 (C-5'); 27,11 (C-3'); 22,74 (C-7'); 14,19 (C-8').

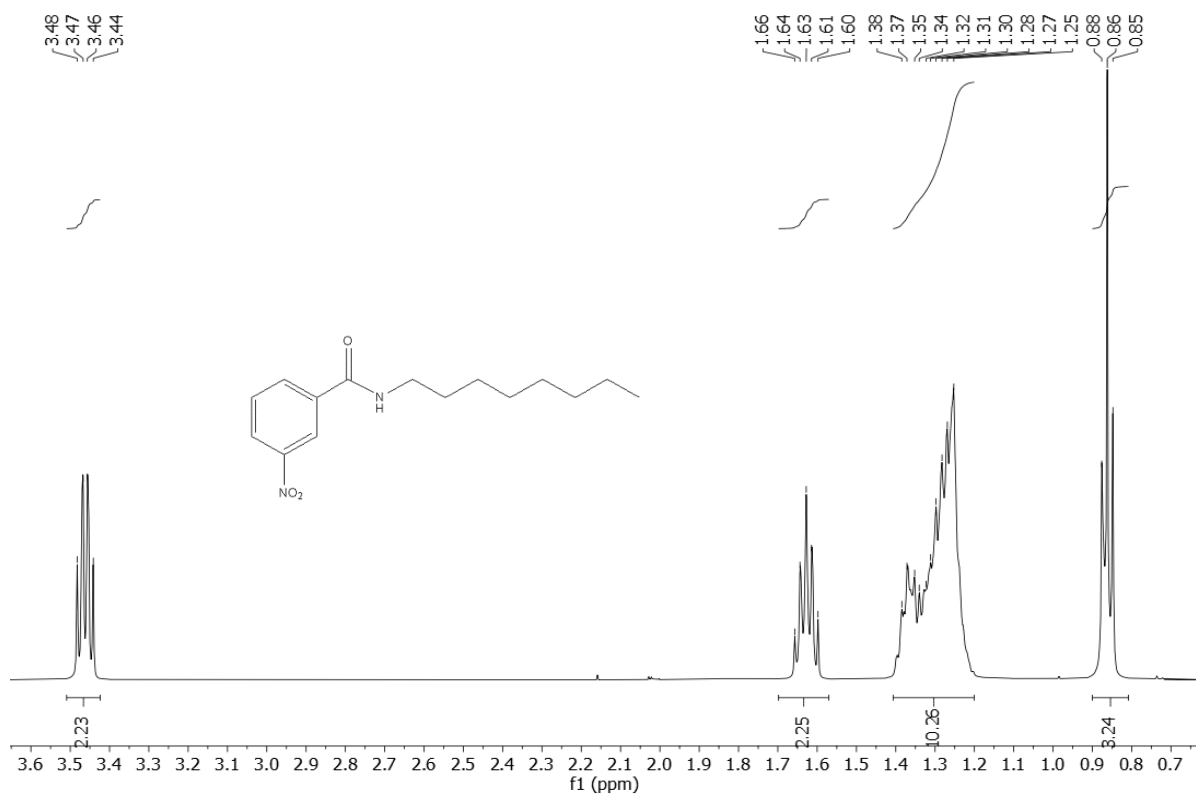
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3299 (N-H); 3089 (C-H sp²); 2961, 2870 (C-H sp³); 1643 (C=O); 1532 (N=O (NO₂)); 1347 (C-H, sp³, dobramento); 905, 824, 725 (aromático, dobramento).



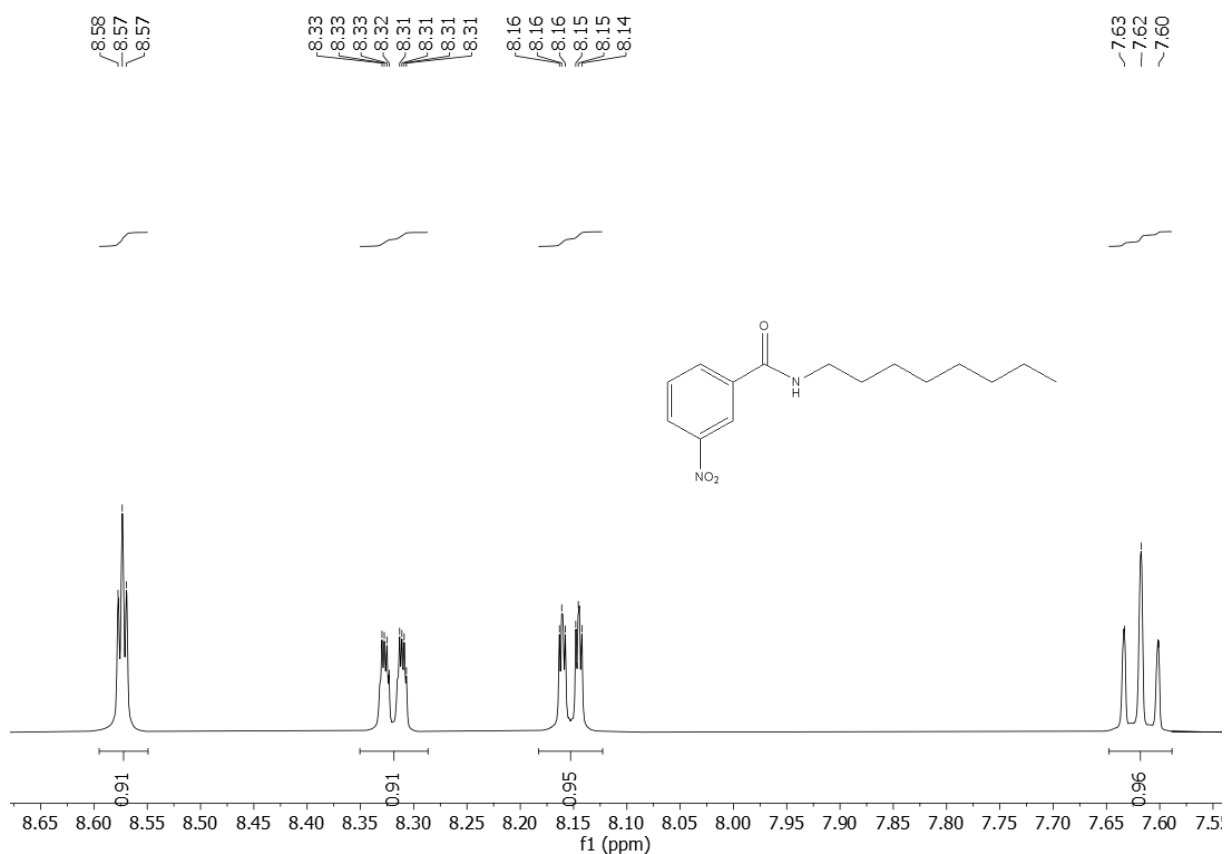
Espectro 6: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-octil-3-nitrobenzamida (**02**).



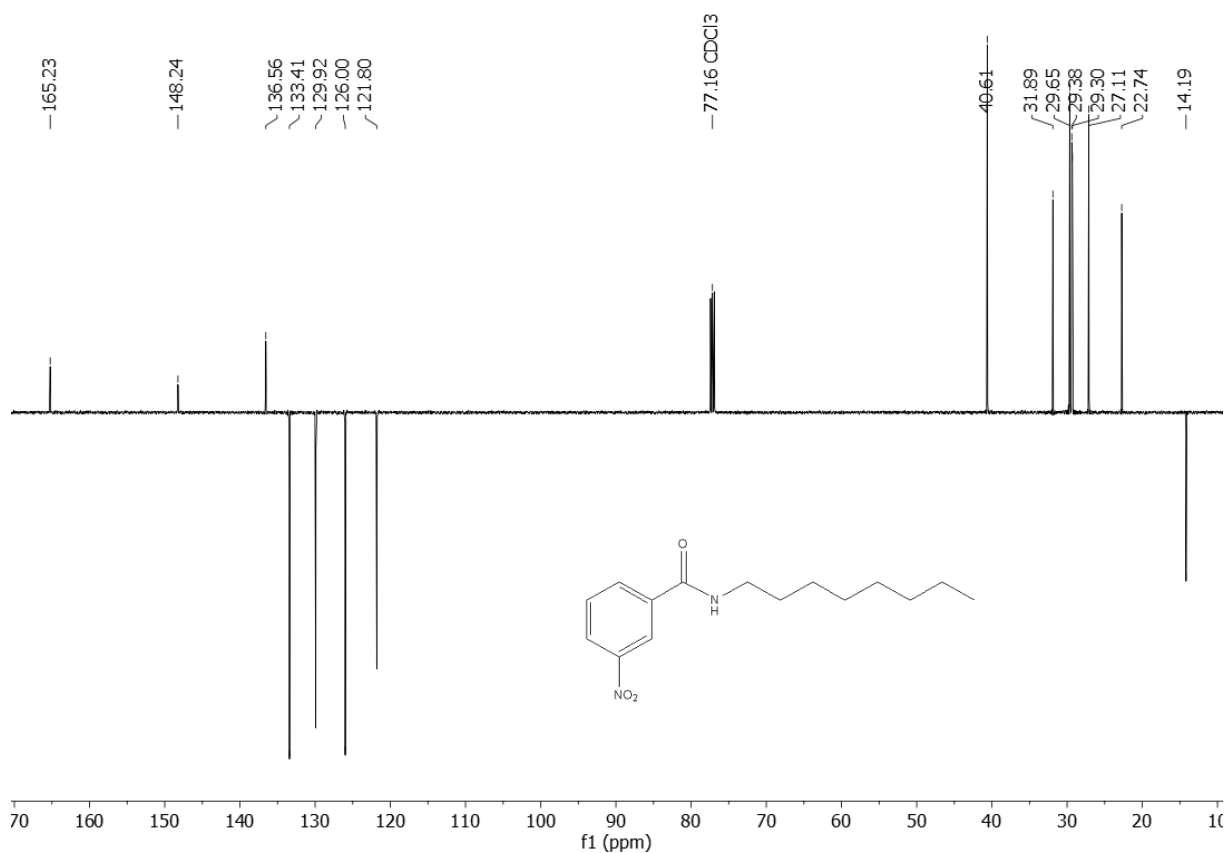
Espectro 7: Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da *N*-octil-3-nitrobenzamida (02).



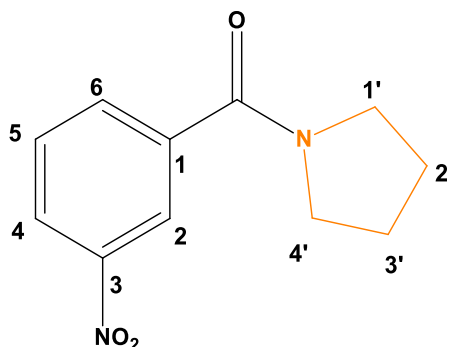
Espectro 8: Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) do *N*-octil-3-nitrobenzamida (02).



Espectro 9: Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da *N*-octil-3-nitrobenzamida (02).



Espectro 10: Espectro de RMN de ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) da *N*-octil-3-nitrobenzamida (02).

9.2.3. 03: (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona

Aspecto: Óleo amarelo;

Massa do produto: 59,7 mg

Rendimento: 25,2%;

Fórmula molecular: C₁₁H₁₂N₂O₃

Massa molecular: 220,22g/mol

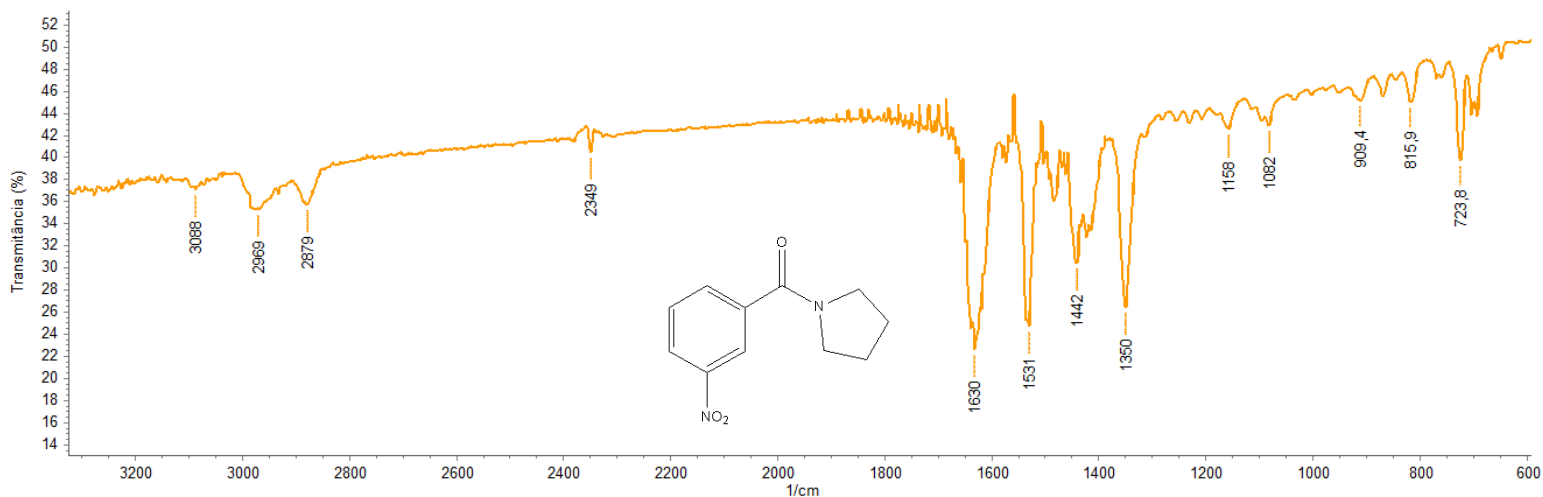
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,12 (8:2 Hex/AcOEt)

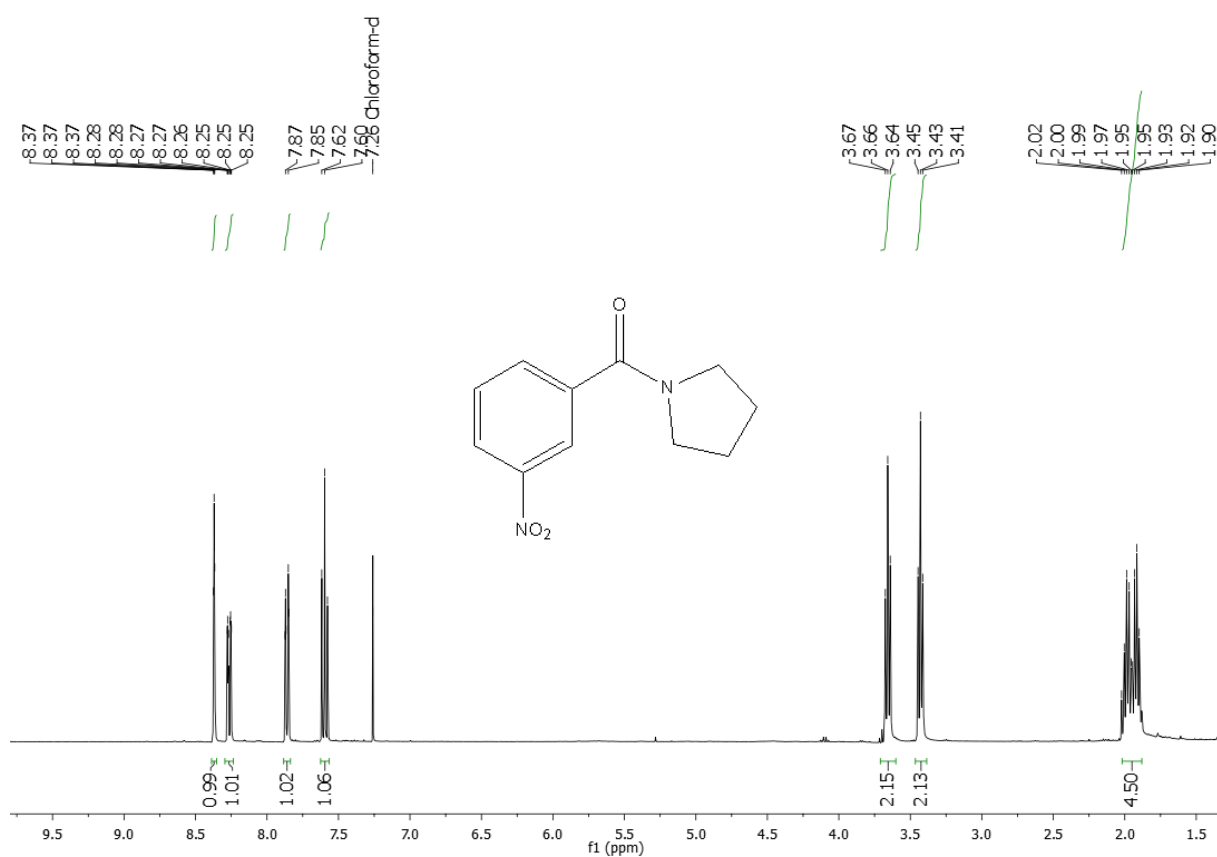
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,37 (*t*, H-2, *J* = 1,8 Hz, 1H), 8,26 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,3, 1,1 Hz, 1H), 7,85 (*dt*, *J* = 7,7, 1,2 Hz, H-6, 1H), 7,60 (*t*, H-5, *J* = 7,9 Hz, 1H), 3,66 (*t*, H-1', *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,43 (*t*, H-4', *J* = 6,6 Hz, 2H), 2,02-1,90 (*m*, H-2' e H-3', 4H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 167,09 (C=O); 148,02 (C-3); 138,75 (C-1); 133,36 (C-6), 129,72 (C-5); 124,70 (C-4); 122,36 (C-2); 49,70 (C-1'); 46,62 (C-4'); 26,54 (C-2'); 24,48 (C-3').

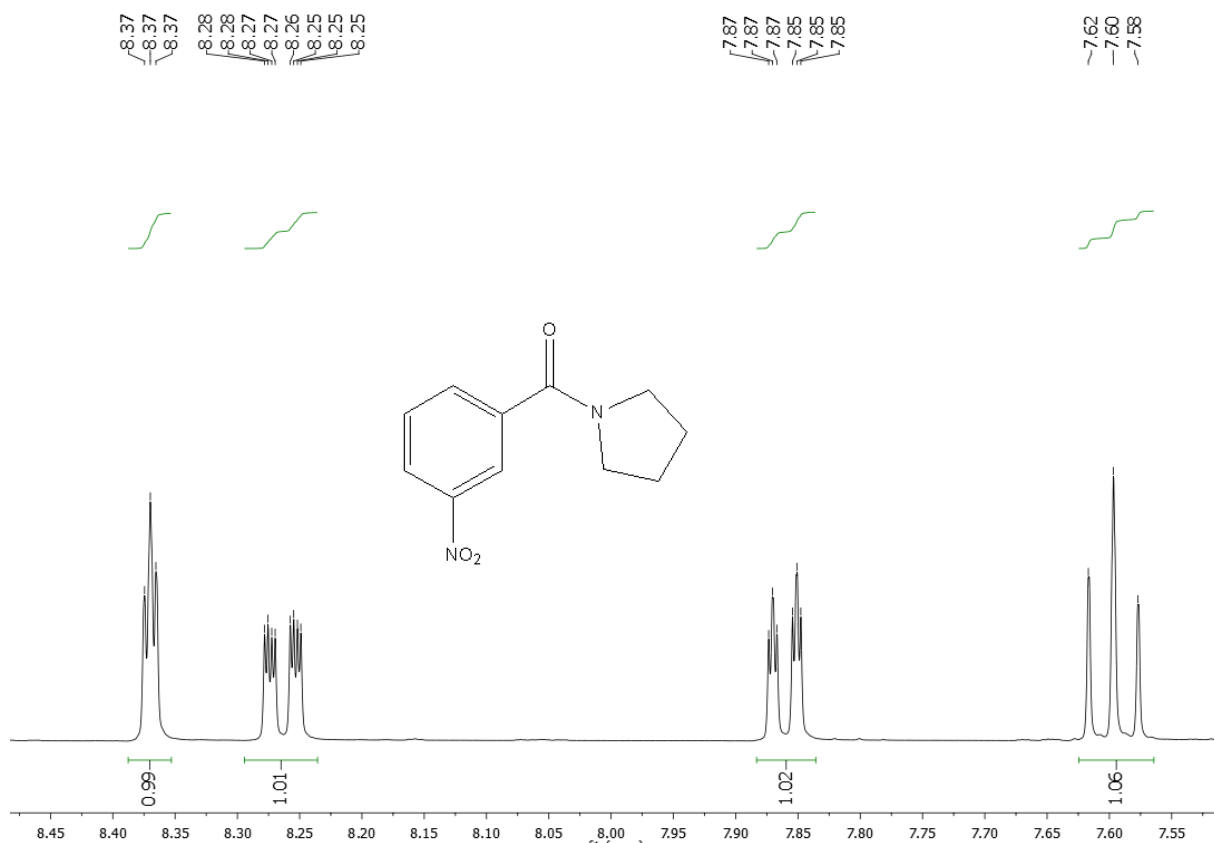
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): (N-H ausente = amida terciária); 3088 (C-H sp²); 2969, 2879 (C-H sp³); 1630 (C=O); 1531 (N=O (NO₂)); 1350 (C-H, sp³, dobramento); 909, 815, 723 (aromático, dobramento) (WANG, et al., 2016).



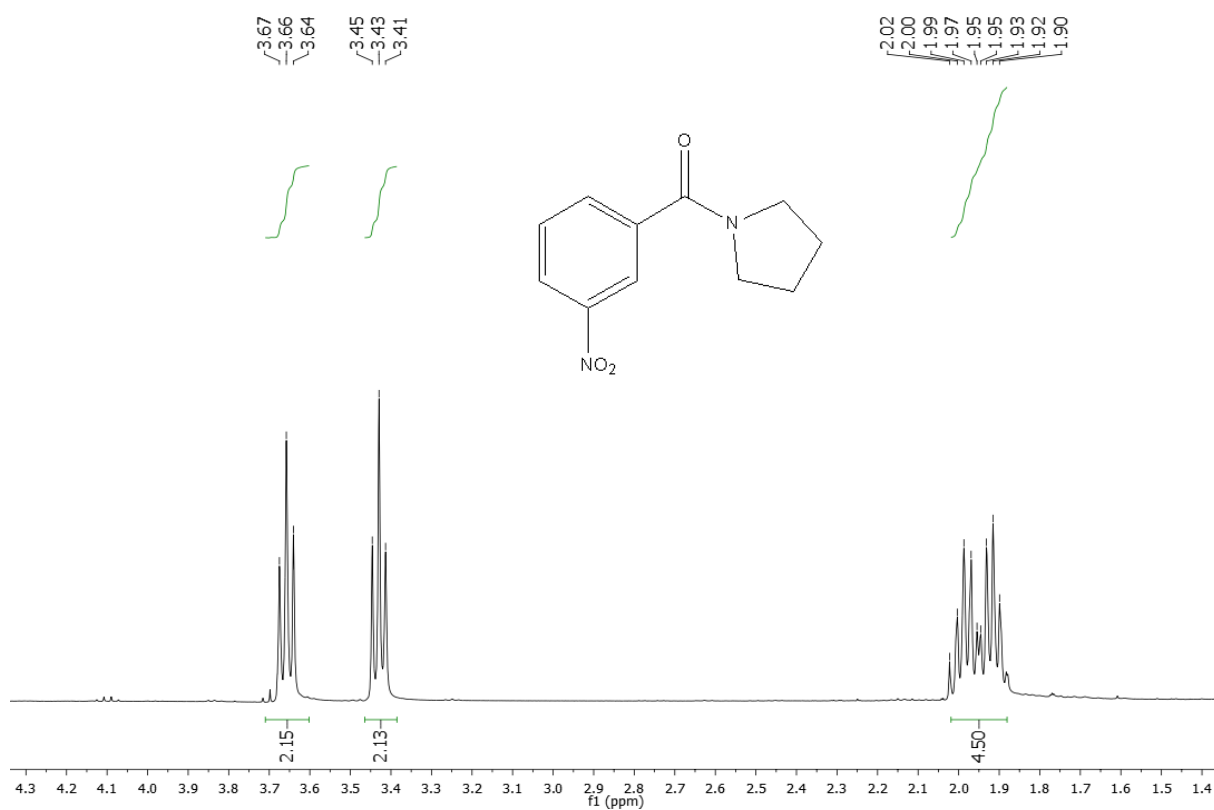
Espectro 11: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (**03**).



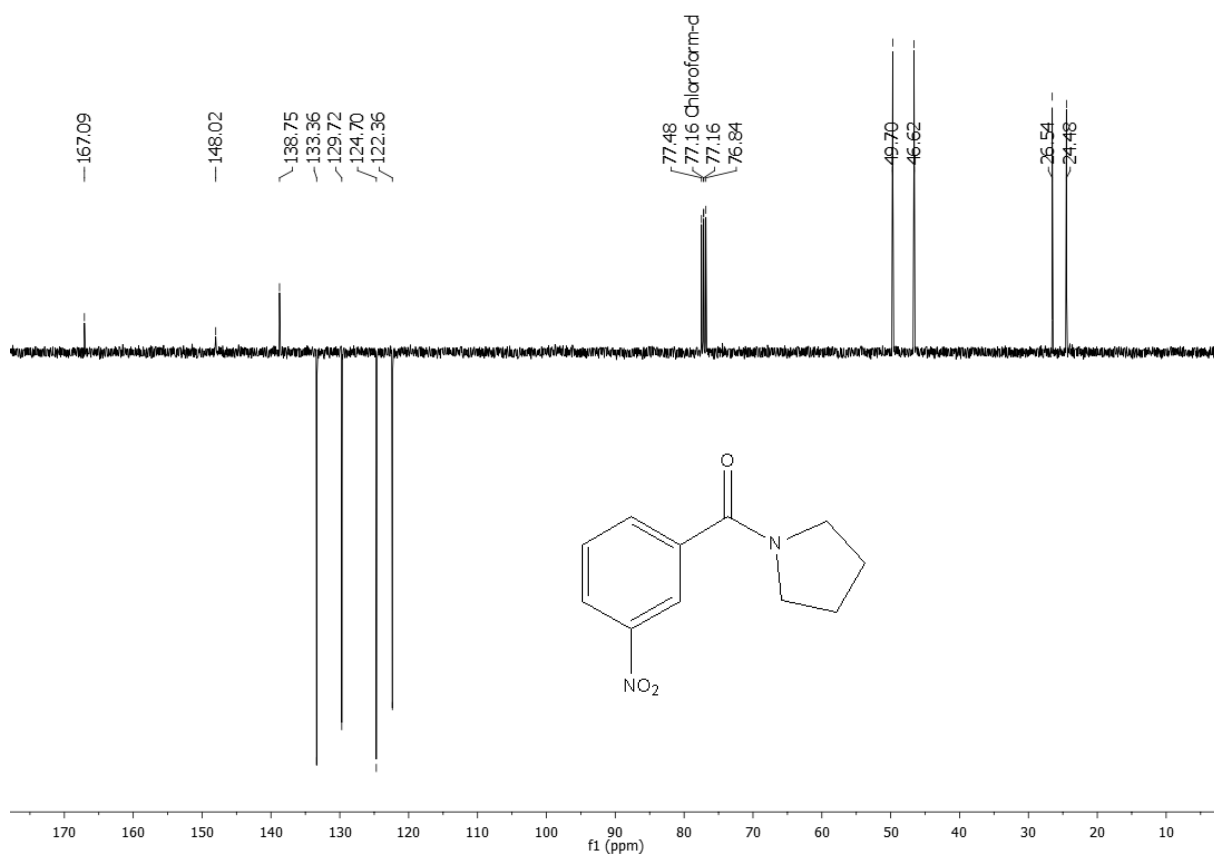
Espectro 12: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (**03**).



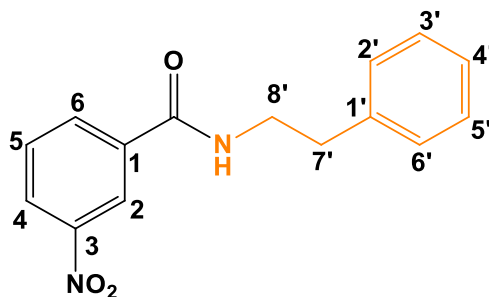
Espectro 13: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (**03**).



Espectro 14: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (**03**).



Espectro 15: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da (3-nitrofenil)(pirrolidin-1-il)metanona (03).

9.2.4. 04: *N*-fenetil-3-nitrobenzamida

Aspecto: Sólido cristalino amarelo;

Massa do produto: 178,3 mg

Rendimento: 61,2%;

Fórmula molecular: C₁₅H₁₄N₂O₃

Massa molecular: 270,28 g/mol

Ponto de Fusão: 122-124 °C; (lit.: 118–120 °C, KUMAR ACHAR, MAL, 2015)

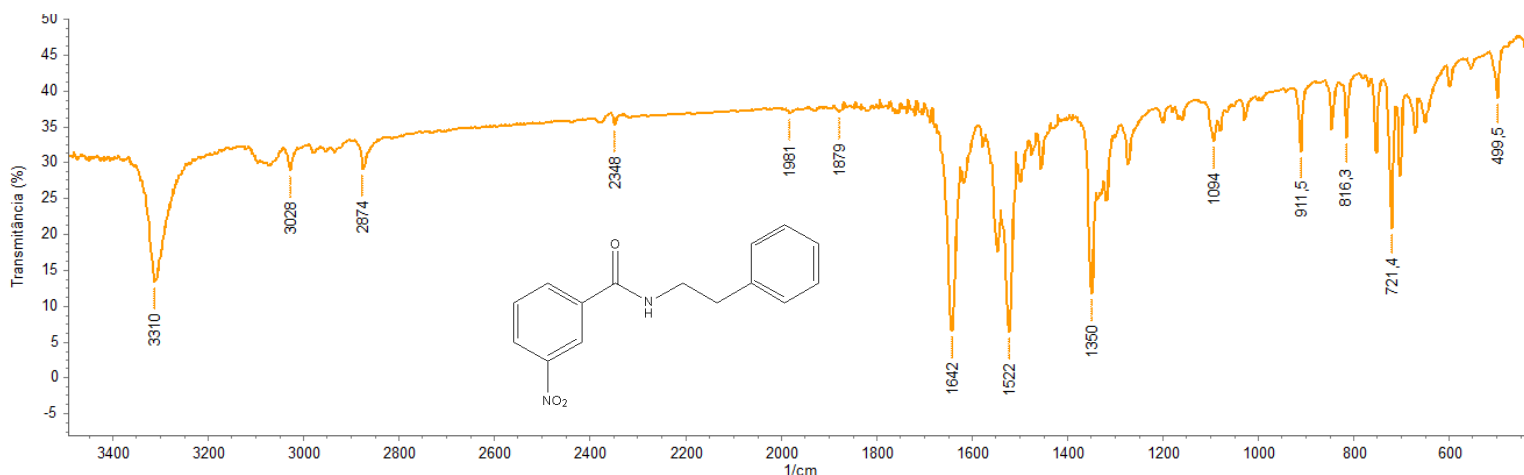
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,28 (8:2 Hex/AcOEt)

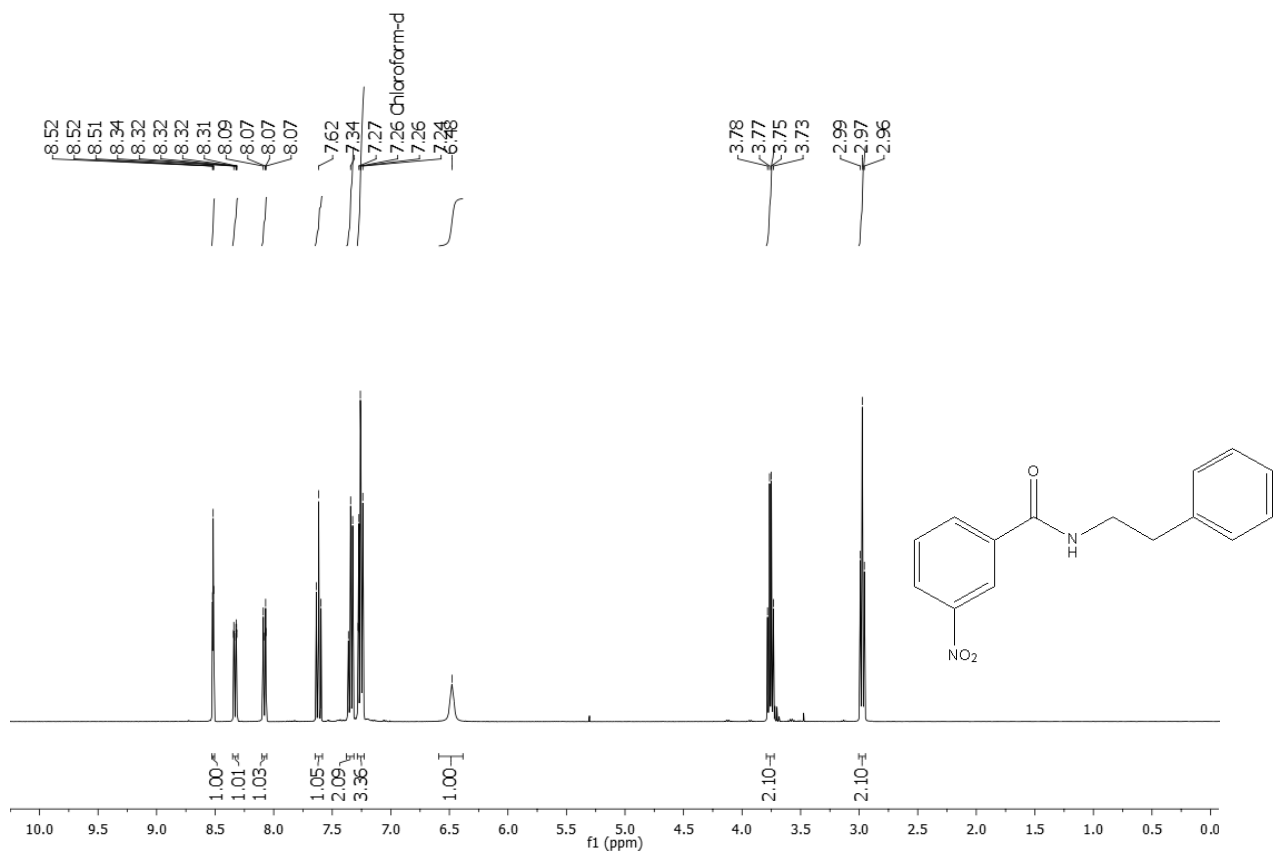
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,52 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,33 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,2, 1,1 Hz, 1H), 8,07 (*dt*, *J* = 7,7, 1,2 Hz, H-6, 1H), 7,62 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,34 (*t*, H-3' e 5', *J* = 7,2 Hz, 2H), 7,29 – 7,23 (*m*, H-2', 4' e 6', 3H), 6,48 (*s*, NH, 1H), 3,76 (*dd*, H-8', *J* = 12,9, 7,0 Hz, 2H), 2,97 (*t*, H-7', *J* = 7,0 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 165,24 (C=O); 148,28 (C-3); 138,64 (C-1'); 136,38 (C-1); 133,21 (C-6), 129,96 (C-5); 128,89 (C-3',5'); 126,90 (C-2',6',4); 126,10 (C-5'); 121,85 (C-2'); 41,56 (C-8'); 35,65 (C-7') (KUMAR ACHAR, MAL, 2015).

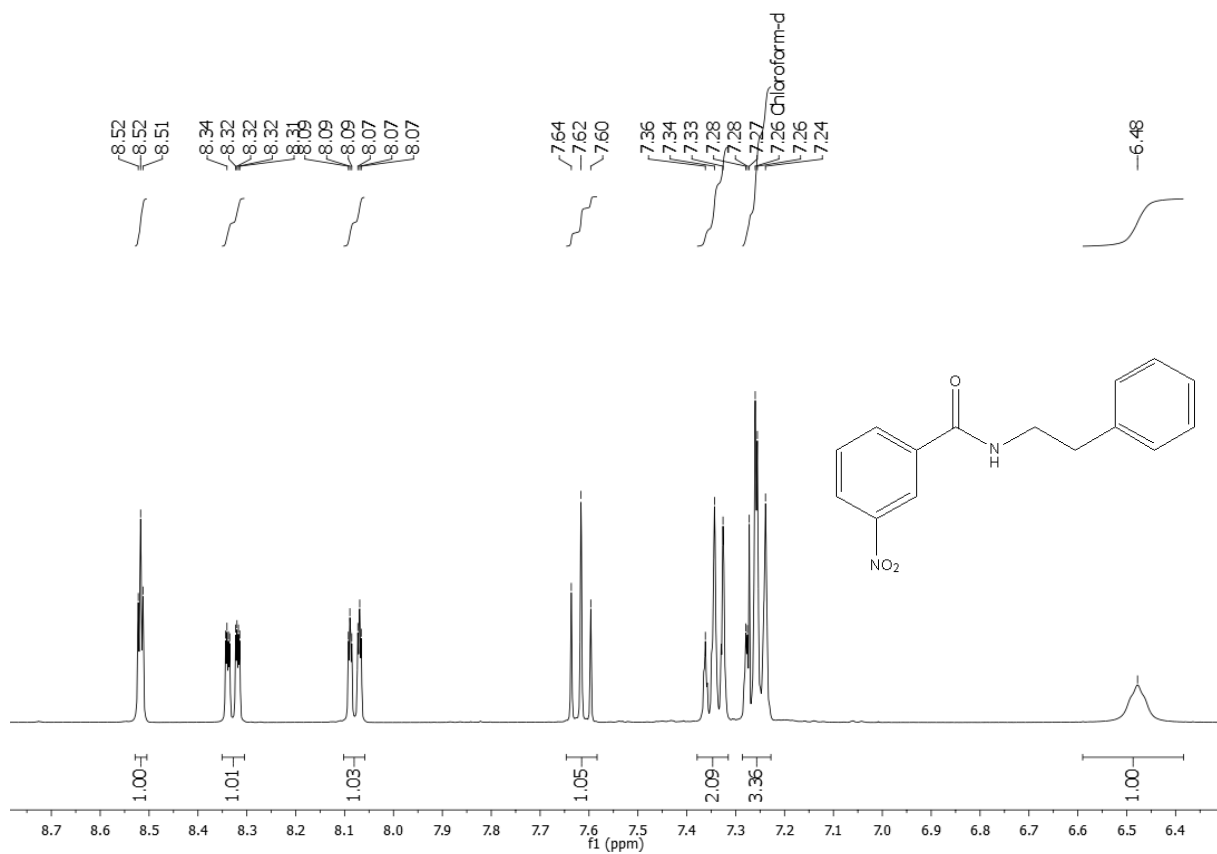
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3310 (N-H); 3028 (C-H sp²); 2874 (C-H sp³); 1642 (C=O); 1522 (N=O (NO₂)); 1350 (C-H, sp³, dobramento); 911, 816, 721 (aromático, dobramento).



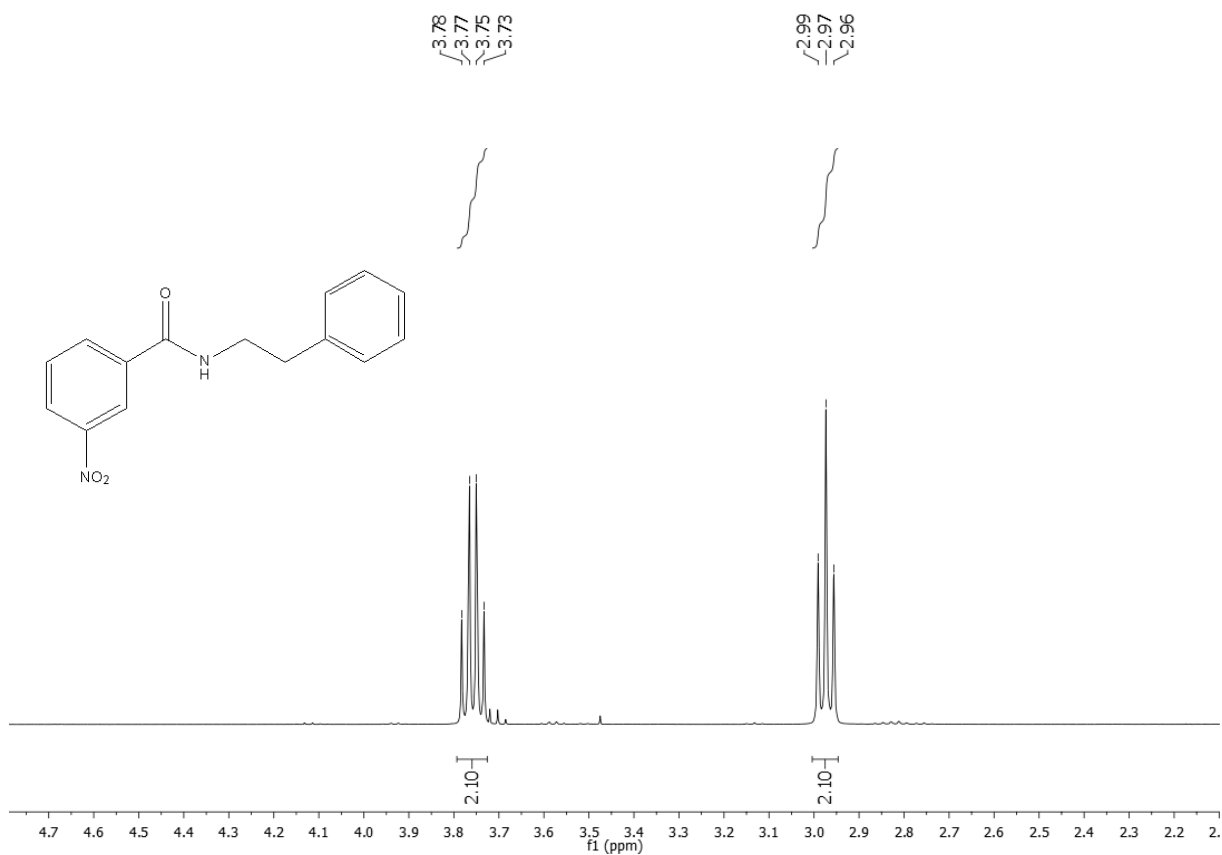
Espectro 16: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-fenetil-3-nitrobenzamida (**04**).



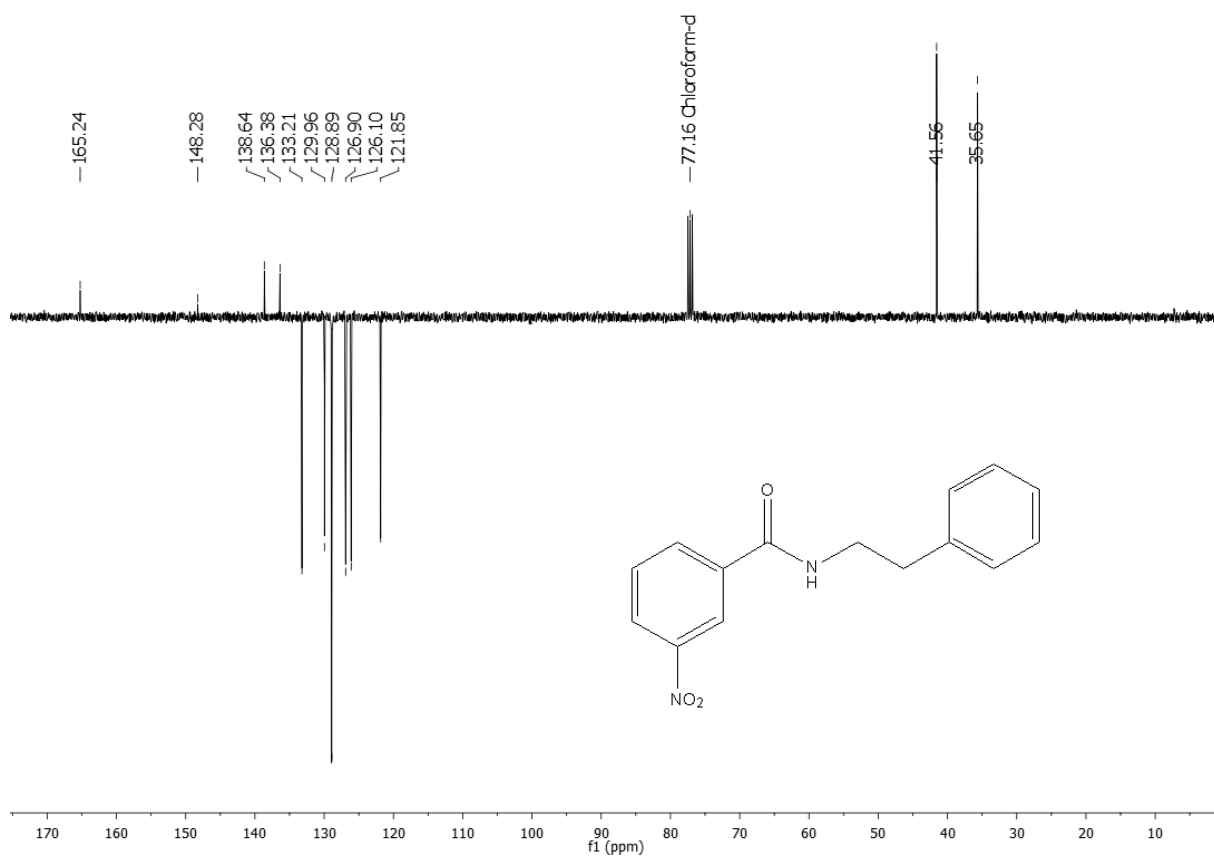
Espectro 17: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da *N*-fenetil-3-nitrobenzamida (**04**).



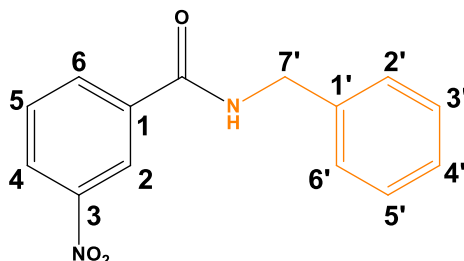
Espectro 18: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da *N*-fenetil-3-nitrobenzamida (04).



Espectro 16: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da *N*-fenetil-3-nitrobenzamida (04).



Espectro 17: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da *N*-fenetil-3-nitrobenzamida (04).

9.2.5. 05: *N*-benzil-3-nitrobenzamida

Aspecto: Sólido branco;

Massa do produto: 133 mg

Rendimento: 48,2%;

Fórmula molecular: C₁₄H₁₂N₂O₃

Massa molecular: 256,26 g/mol

Ponto de Fusão: 94-95 °C; (lit.: 95–96 °C, AGWADA, 1982).

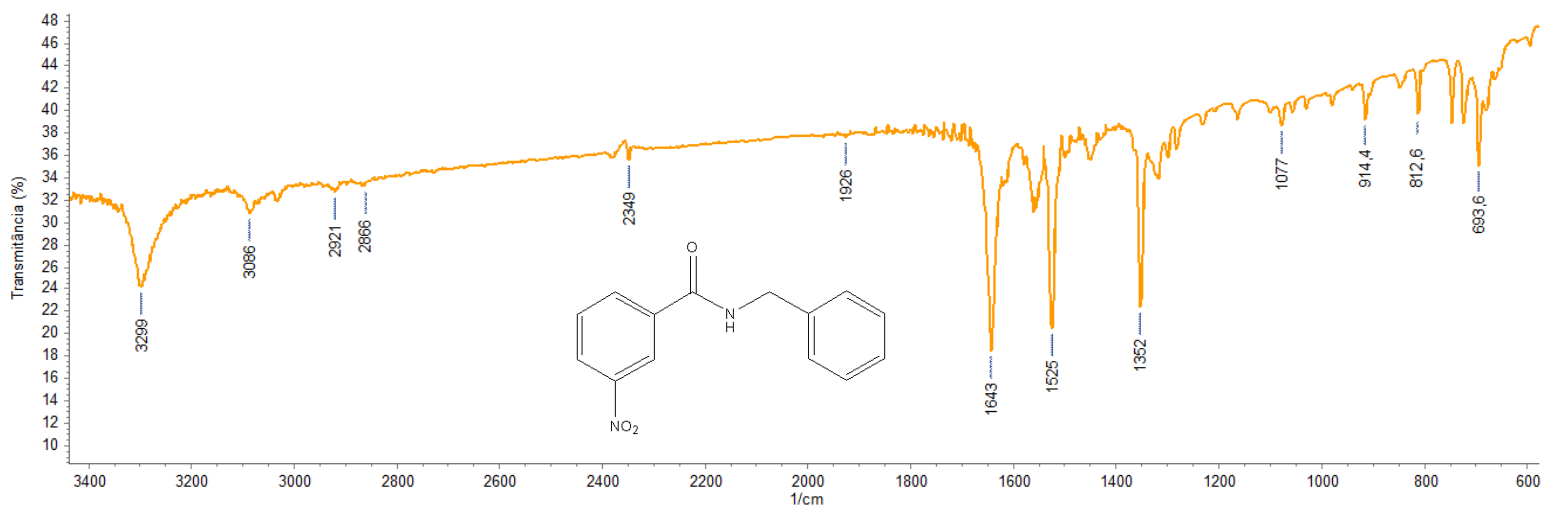
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,30 (8:2 Hex/AcOEt)

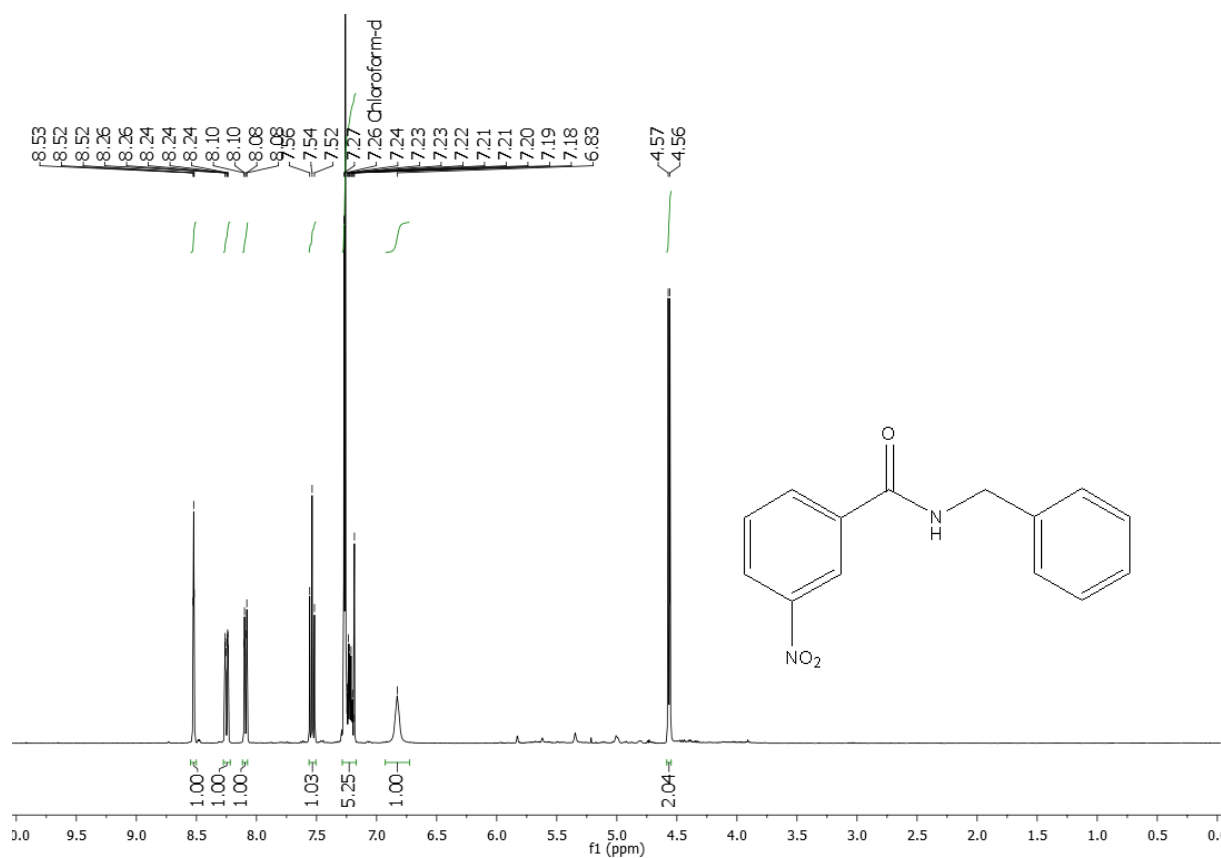
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) = δ_H 8,52 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,25 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,2, 1,0 Hz, 1H), 8,08 (*dt*, *J* = 7,7, 1,5 Hz, H-6, 1H), 7,54 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,29 – 7,17 (*m*, H- 2', 3', 4', 5', 6', 5H), 6,83 (*s*, NH, 1H), 4,57 (*d*, H-7', *J* = 5,7 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 165,16 (C=O); 148,28 (C-3); 137,65 (C-1'); 136,06 (C-1); 133,45 (C-6); 129,97 (C-5); 128,98 (C-3',5'); 128,10 (C-4); 127,96 (C-2',6'); 126,22 (C-4'); 121,97 (C-2); 44,54 (C-7').

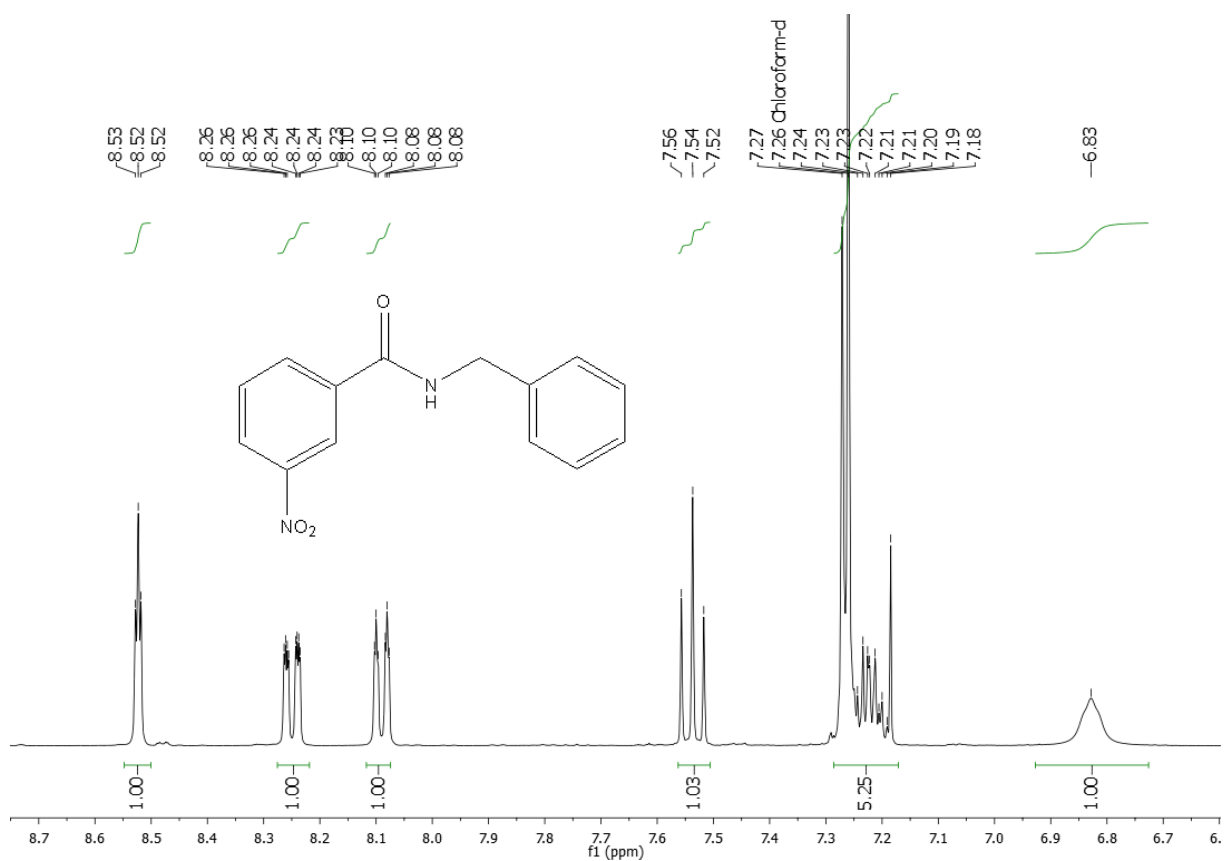
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3299 (N-H); 3086 (C-H sp²); 2921, 2866 (C-H sp³); 1643 (C=O); 1525 (N=O (NO₂)); 1352 (C-H, sp³, dobramento); 914, 812, 693(aromático, dobramento) (AGWADA, 1982).



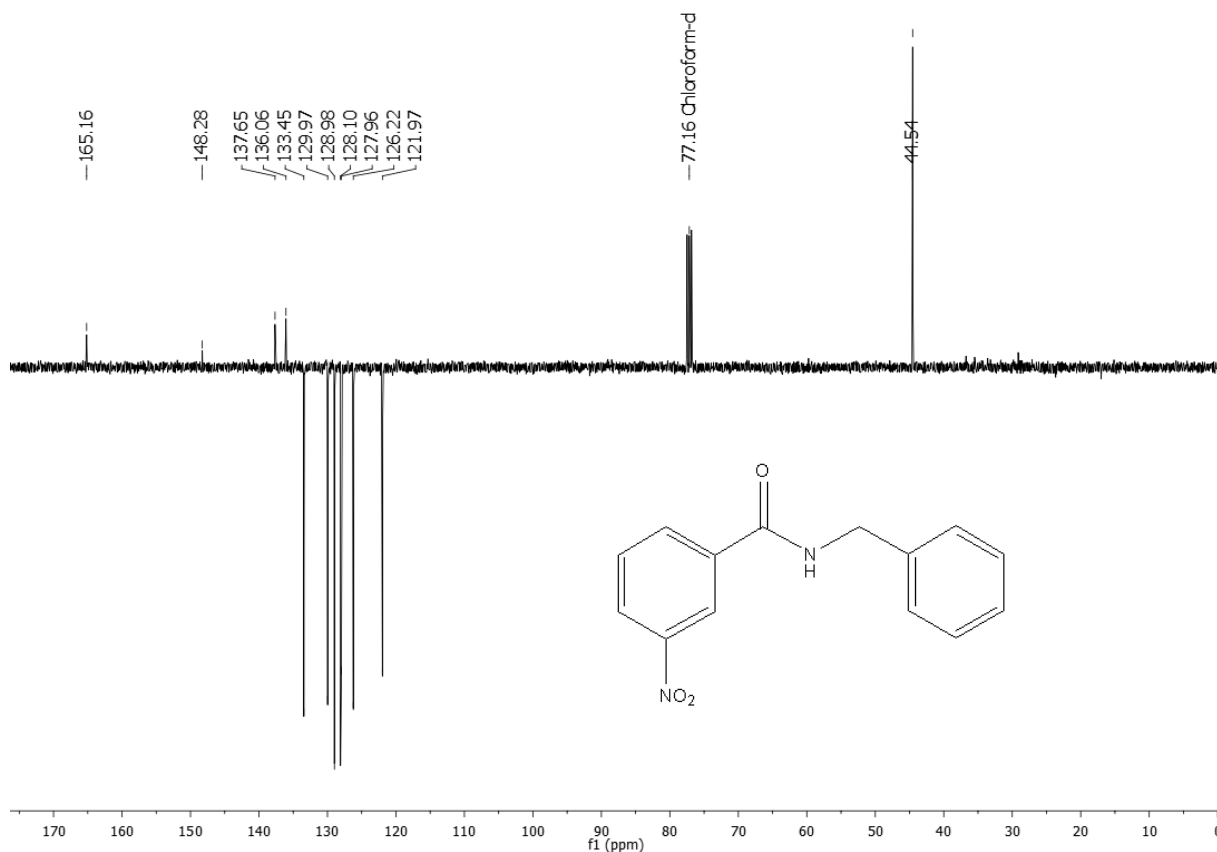
Espectro 19: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-benzil-3-nitrobenzamida (05).



Espectro 20: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-benzil-3-nitrobenzamida (05).

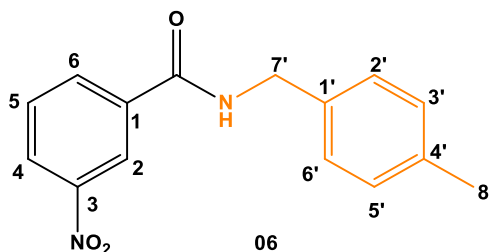


Espectro 21: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da *N*-benzil-3-nitrobenzamida (05).



Espectro 22: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da *N*-benzil-3-nitrobenzamida (05).

9.2.6. 06: *N*-(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida



Aspecto: Sólido cristalino âmbar;

Massa do produto: 97 mg

Rendimento: 33,3%;

Fórmula molecular: $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$

Massa molecular: 270,28 g/mol

Ponto de Fusão: 132-134 °C;

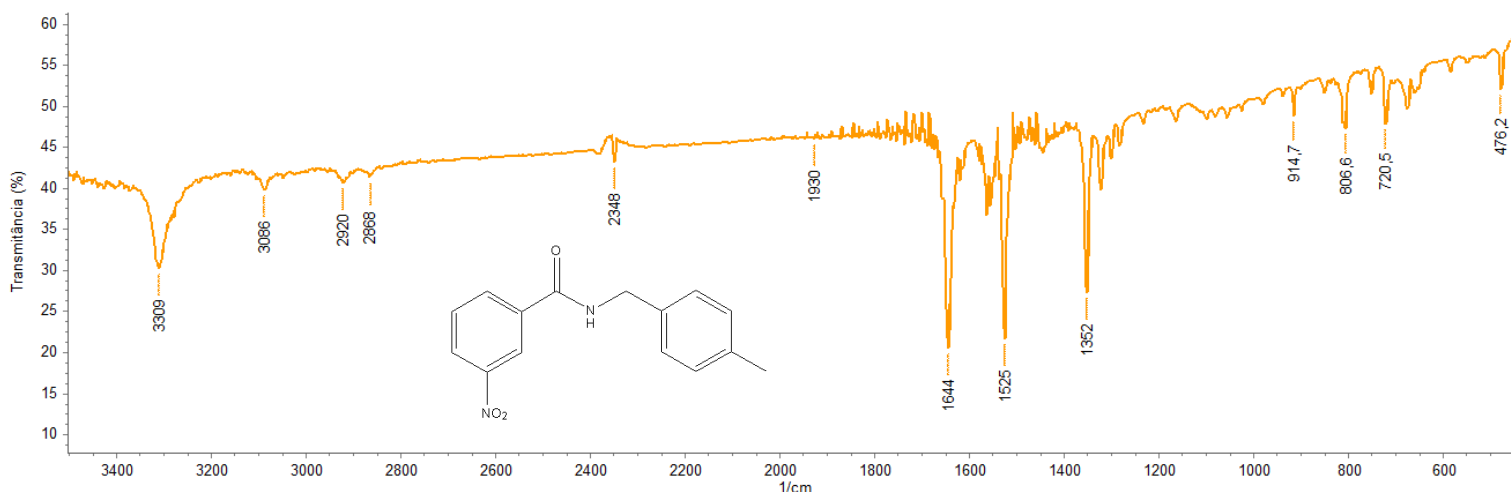
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,33 (8:2 Hex/AcOEt)

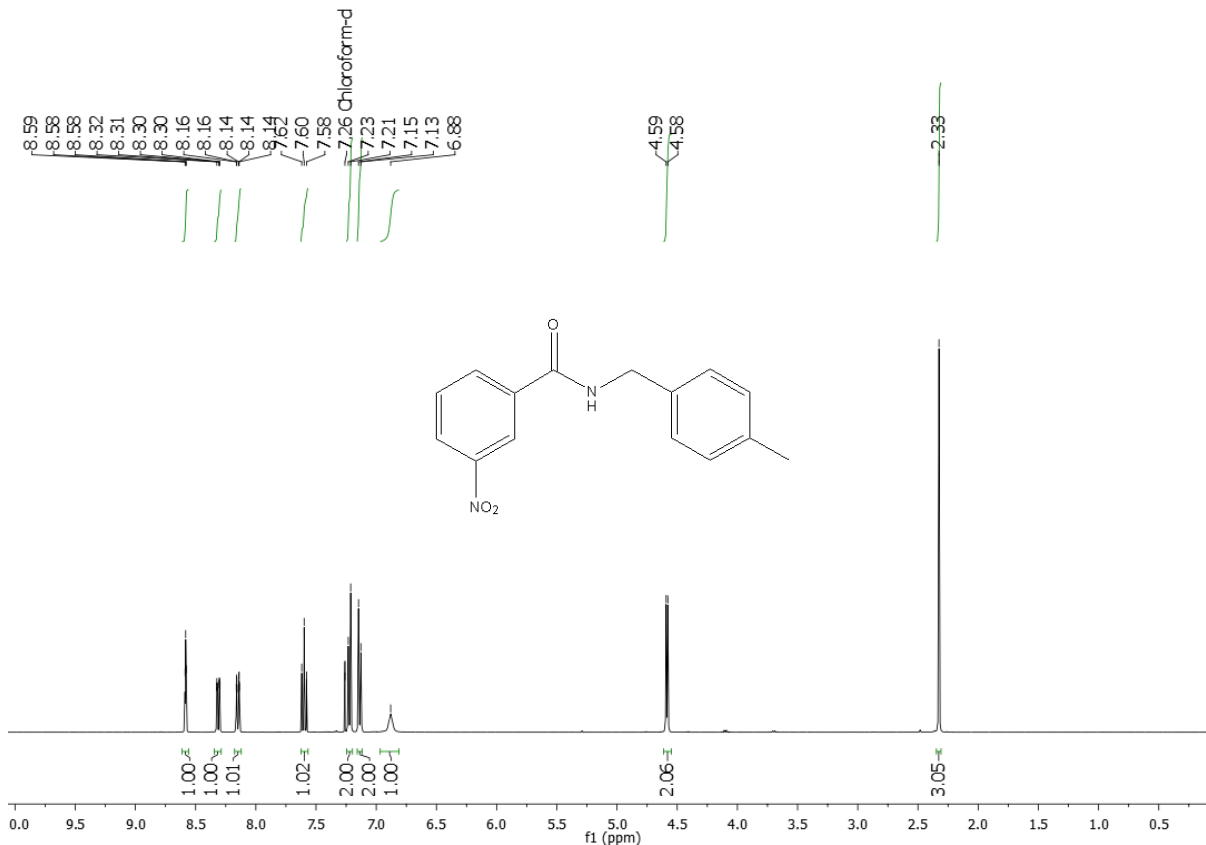
RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz)= δ_{H} 8,58 (*t*, H-2, $J = 1,9$ Hz, 1H), 8,31 (*ddd*, H-4, $J = 8,2$, 2,2, 1,0 Hz, 1H), 8,15 (*ddd*, H-6, $J = 7,8$, 1,7, 1,1 Hz, 1H), 7,60 (*t*, H-5, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,22 (*d*, H-2' e 6', $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,14 (*d*, H-3' e 5', $J = 7,8$ Hz, 2H), 6,88 (*s*, NH, 1H), 4,58 (*d*, H-7', $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,33 (*s*, H-8', 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ_{C} 165,07 (C=O); 148,24 (C-3); 137,71 (C-4'); 136,13 (C-1); 134,60 (C-1'); 133,41 (C-6); 129,90 (C-5); 129,61 (C-3',5'); 128,09 (C-2',6'); 126,14 (C-4); 121,95 (C-2); 44,30 (C-8'); 21,21 (C-7').

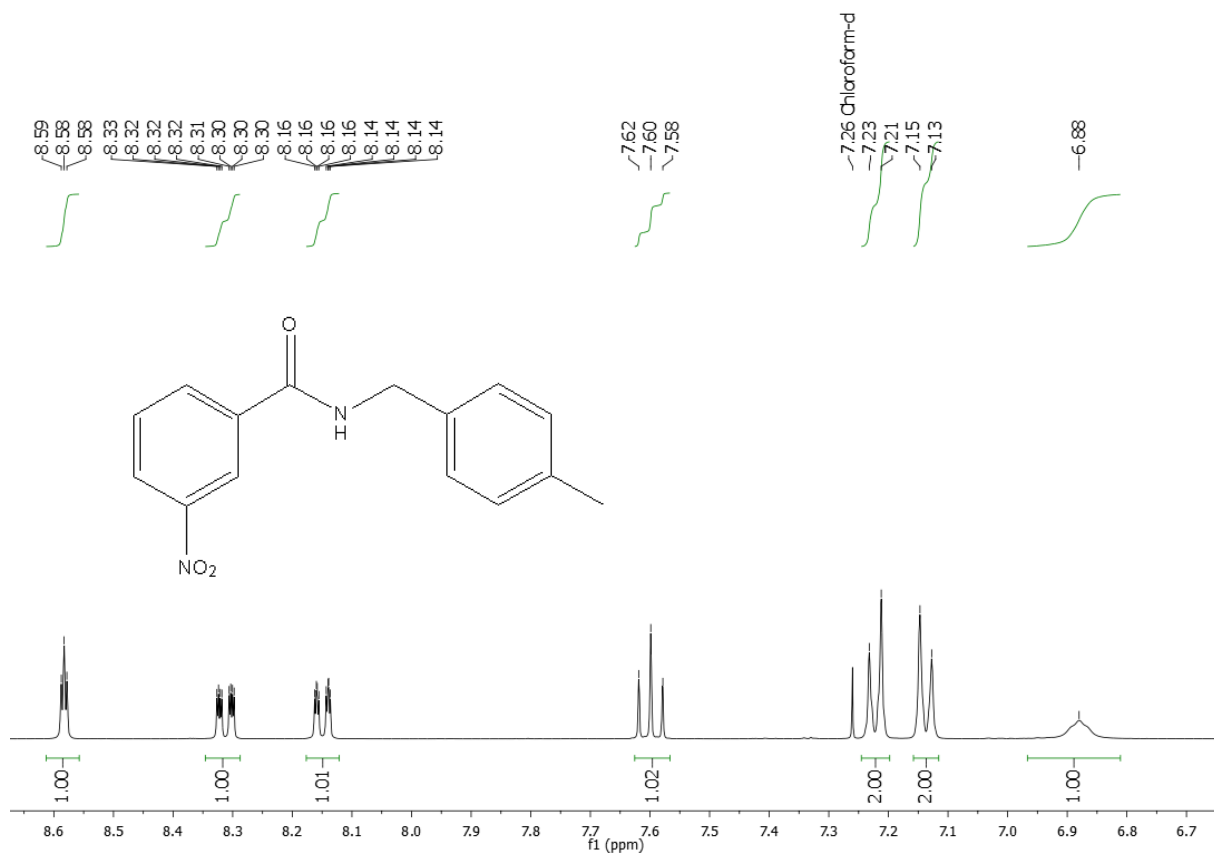
IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3309 (N-H); 3086 (C-H sp^2); 2920, 2868 (C-H sp^3); 1644 (C=O); 1525 (N=O (NO_2)); 1352 (C-H, sp^3 , dobramento); 914, 806, 720 (aromático, dobramento).



Espectro 23: Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) da *N*-(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (**06**).



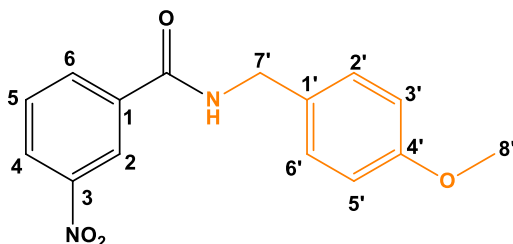
Espectro 24: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (**06**).



Espectro 25: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da N-(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (**06**).



Espectro 26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metilbenzil)-3-nitrobenzamida (06).

9.2.7. 07: *N*-(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida

Aspecto: sólido amorfo branco;

Massa do produto: 188,7 mg

Rendimento: 61,2%;

Fórmula molecular: C₁₅H₁₄N₂O₄

Massa molecular: 286,28 g/mol

Ponto de Fusão: 108-109 °C;

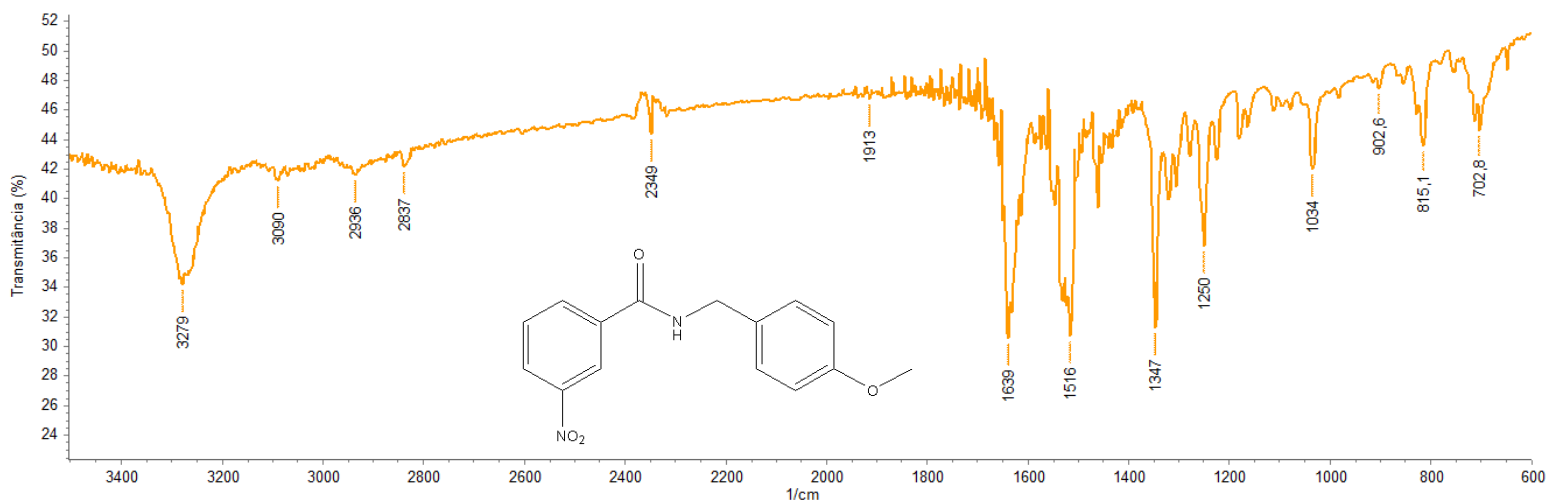
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,16 (8:2 Hex/AcOEt)

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,60 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,34 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,3, 1,1 Hz, 1H), 8,17 (*ddd*, H-6, *J* = 7,8, 1,7, 1,1 Hz, 1H), 7,63 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,30 – 7,26 (*m*, H-2' e 6', 2H), 6,88 (*d*, H-3' e 5', *J* = 8,7 Hz, 2H), 4,59 (*d*, H-7', *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,80 (*s*, H-8', 3H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 165,04 (C=O); 159,37 (C-4'); 148,25 (C-3); 136,14 (C-1); 133,42 (C-6); 129,92 (C-2',6'); 129,71 (C-1'); 129,51 (C-5); 126,12 (C-4); 121,93 (C-2); 114,33 (C-3',5'); 55,42 (C-8'); 44,01 (C-7').

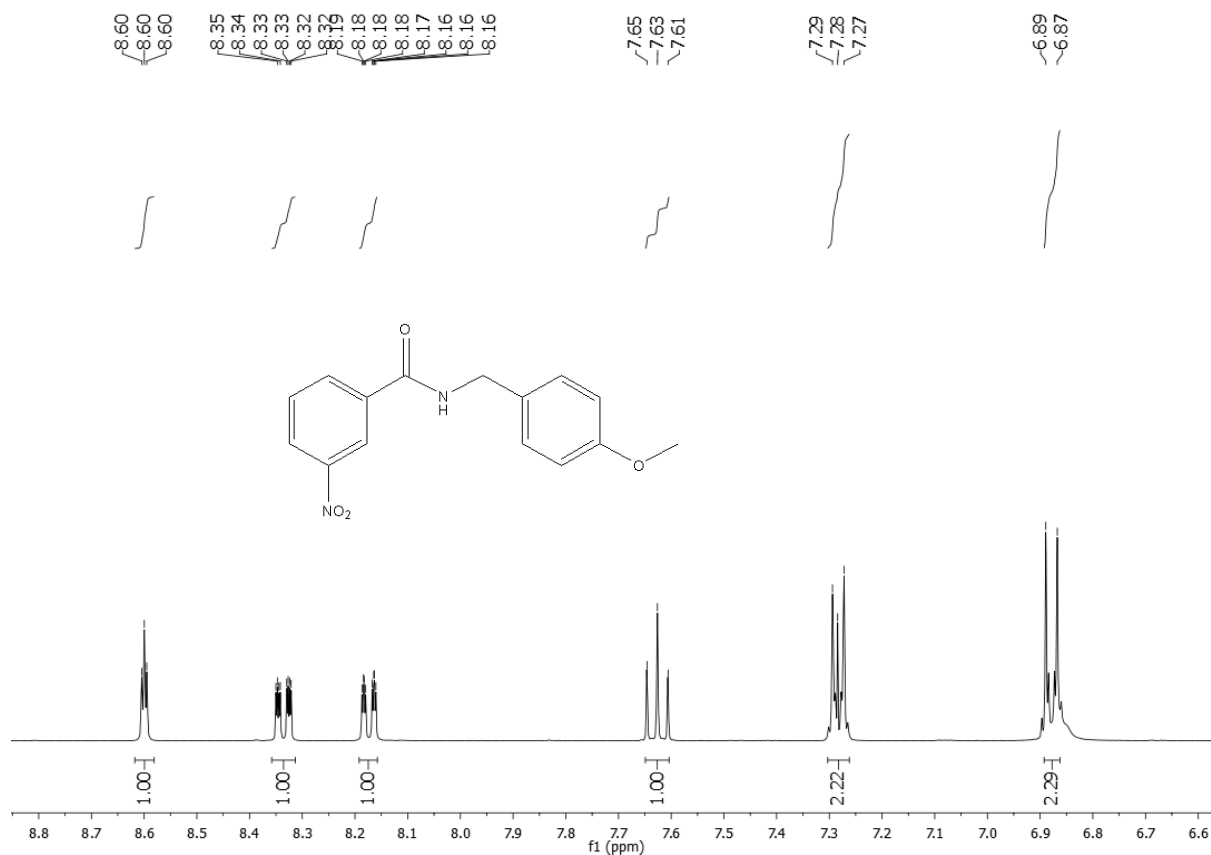
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3279 (N-H); 3090 (C-H sp²); 2936, 2837 (C-H sp³); 1639 (C=O); 1516 (N=O (NO₂)); 1347 (C-H, sp³, dobramento); 902, 815, 702 (aromático, dobramento).



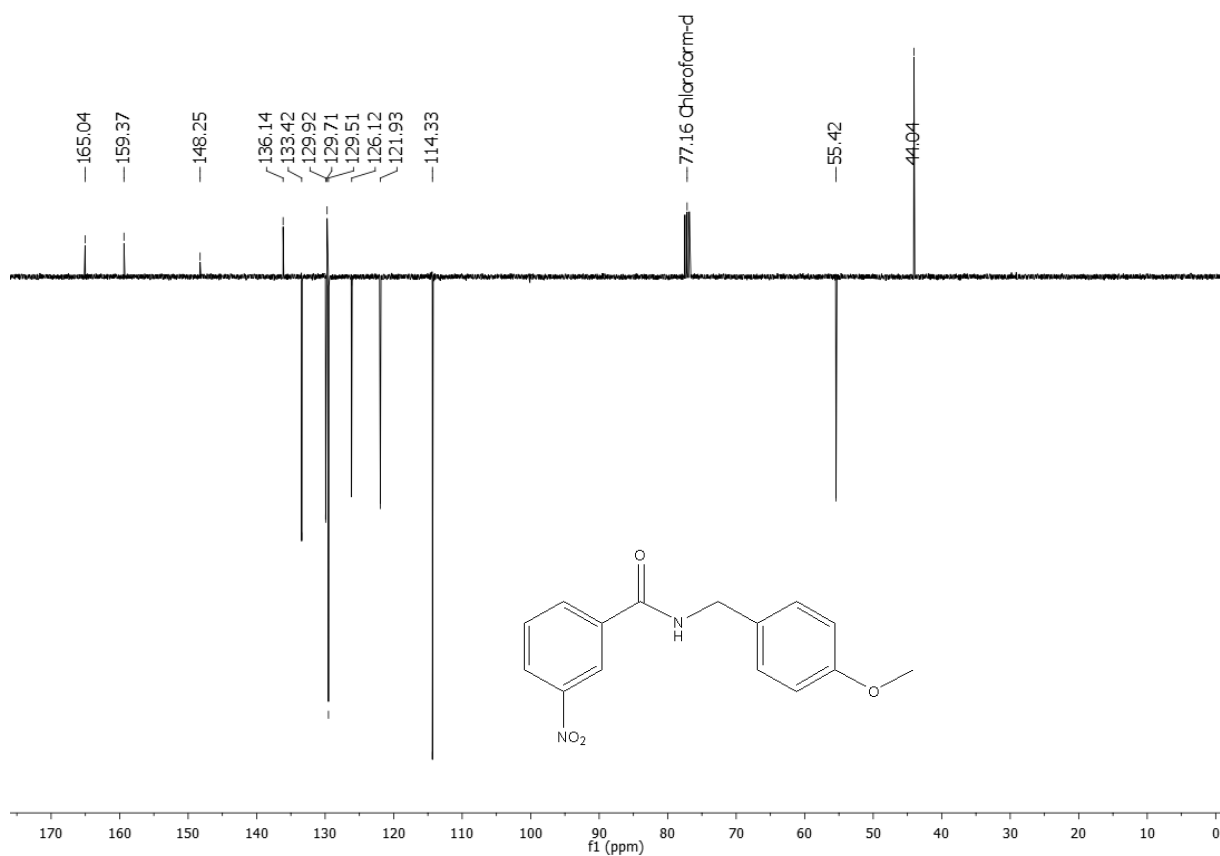
Espectro 27: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).



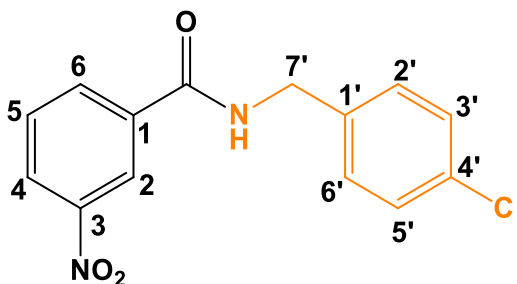
Espectro 28: Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da *N*-(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).



Espectro 29: Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da *N*-(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).



Espectro 30: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-metoxibenzil)-3-nitrobenzamida (07).

9.2.8. 08: *N*-(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida

Aspecto: sólido amarelo;

Massa do produto: 160,7 mg

Rendimento: 51,3%;

Fórmula molecular: C₁₄H₁₁ClN₂O₃

Massa molecular: 290,70 g/mol

Ponto de Fusão: 141-144 °C;

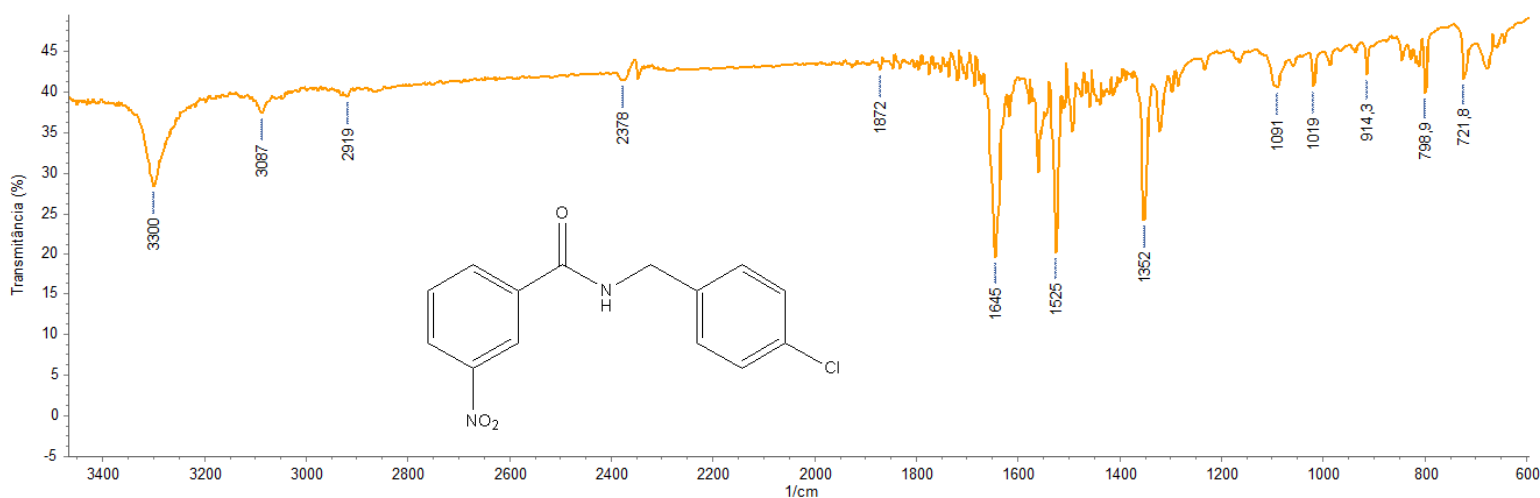
Tempo de Reação: 2 horas;

Fator de Retenção: 0,21 (8:2 Hex/AcOEt)

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,65 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,32 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,3, 1,0 Hz, 1H), 8,26 (*ddd*, H-6, *J* = 7,8, 1,6, 1,1 Hz, 1H), 7,72 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,36 – 7,26 (*m*, H- 2', 3', 5', 6', 4H), 4,43 (*d*, H: 7', *J* = 5,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 164,23 (C=O); 147,85 (C-3); 138,24 (C-1'); 135,57 (C-1); 133,77 (C-2' e 6'); 131,53 (C-6); 130,24 (C-4'); 129,31 (C-5); 128,33 (C-3' e 5'); 126,03 (C-4); 122,04 (C-2); 42,32 (C-7').

IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3300 (N-H); 3087 (C-H sp²); 2919 (C-H sp³); 1645 (C=O); 1525 (N=O (NO₂)); 1352 (C-H, sp³, dobramento); 914, 798, 721 (aromático, dobramento).

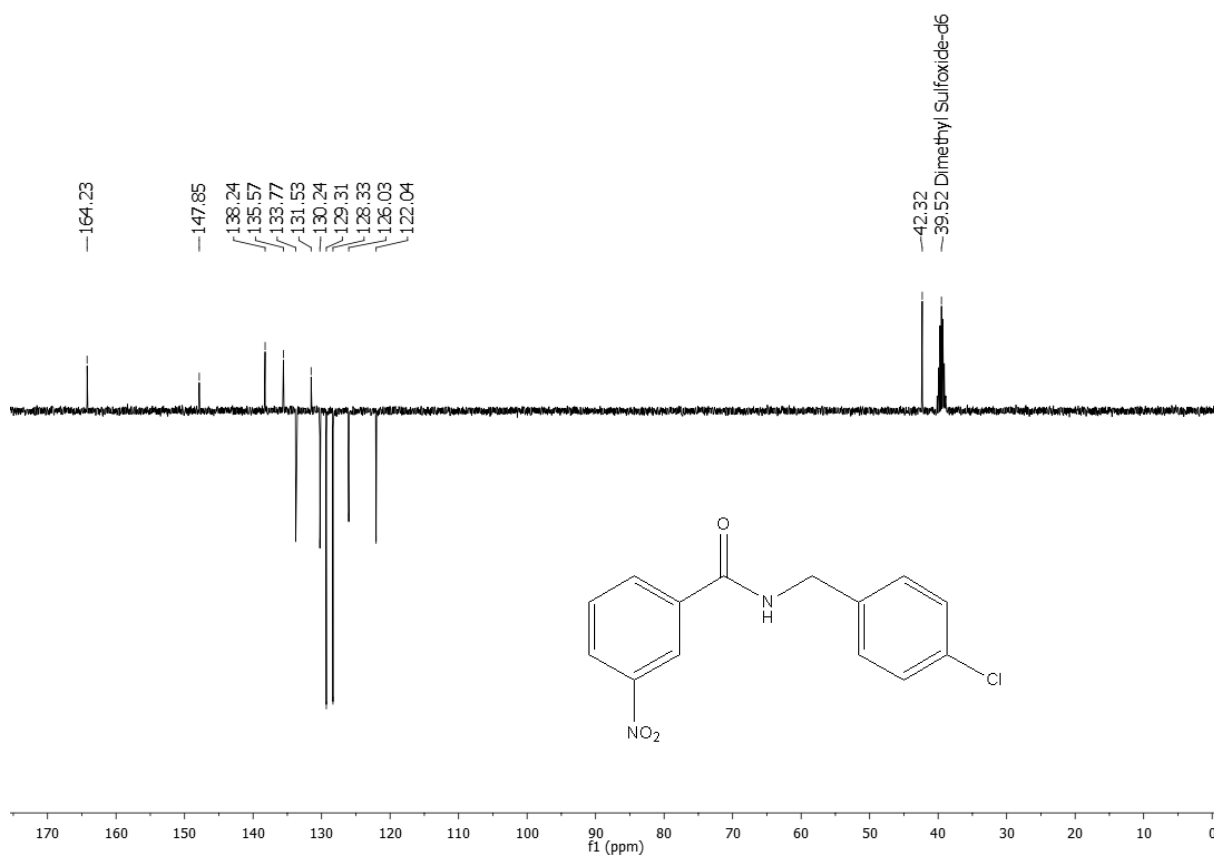


Espectro 31: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (**08**).

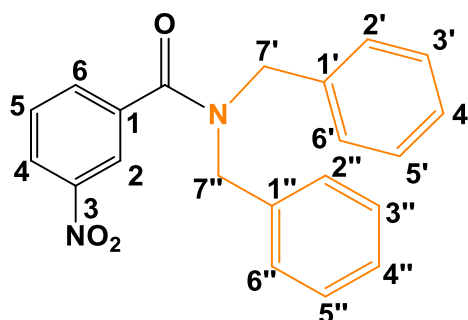
Chemical structure: O=C(NCc1ccc(Cl)cc1)c2ccc([N+](=O)[O-])cc2

¹H NMR spectrum (DMSO-d₆) showing peaks at 8.66, 8.65, 8.34, 8.33, 8.33, 8.33, 8.32, 8.31, 8.31, 8.27, 8.27, 8.27, 8.26, 8.25, 8.25, 8.24, 7.74, 7.72, 7.70, 7.34, 7.33, 7.31, 7.30, 7.30, 7.29, 7.28 ppm. Integration values are 1.01, 1.03, 1.08, 1.08, and 4.29.

Espectro 33: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) da *N*-(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (**08**).



Espectro 34: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, DMSO-d_6) da *N*-(4-clorobenzil)-3-nitrobenzamida (**08**).

9.2.9. 09: *N, N*-dibenzil-3-nitrobenzamida

Aspecto: Sólido cristalino âmbar;

Massa do produto: 215,0 mg

Rendimento: 57,6%;

Fórmula molecular: C₂₁H₁₈N₂O₃

Massa molecular: 346,38 g/mol

Ponto de Fusão: 96-98 °C;

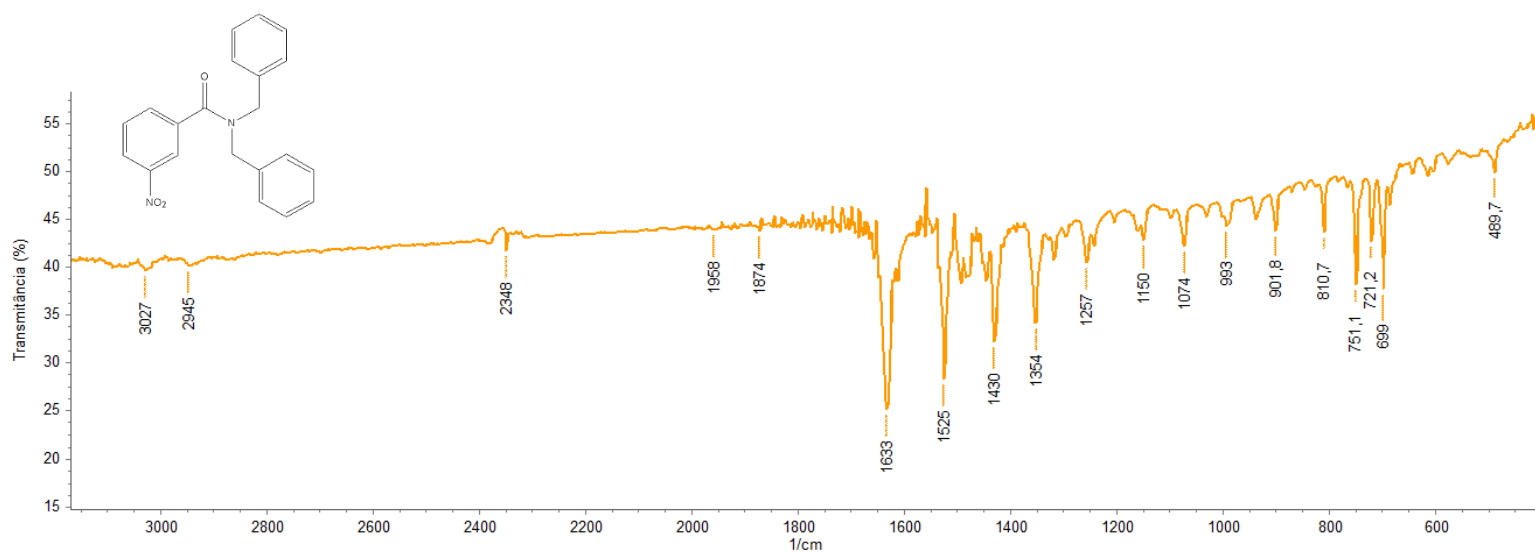
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,40 (8:2 Hex/AcOEt)

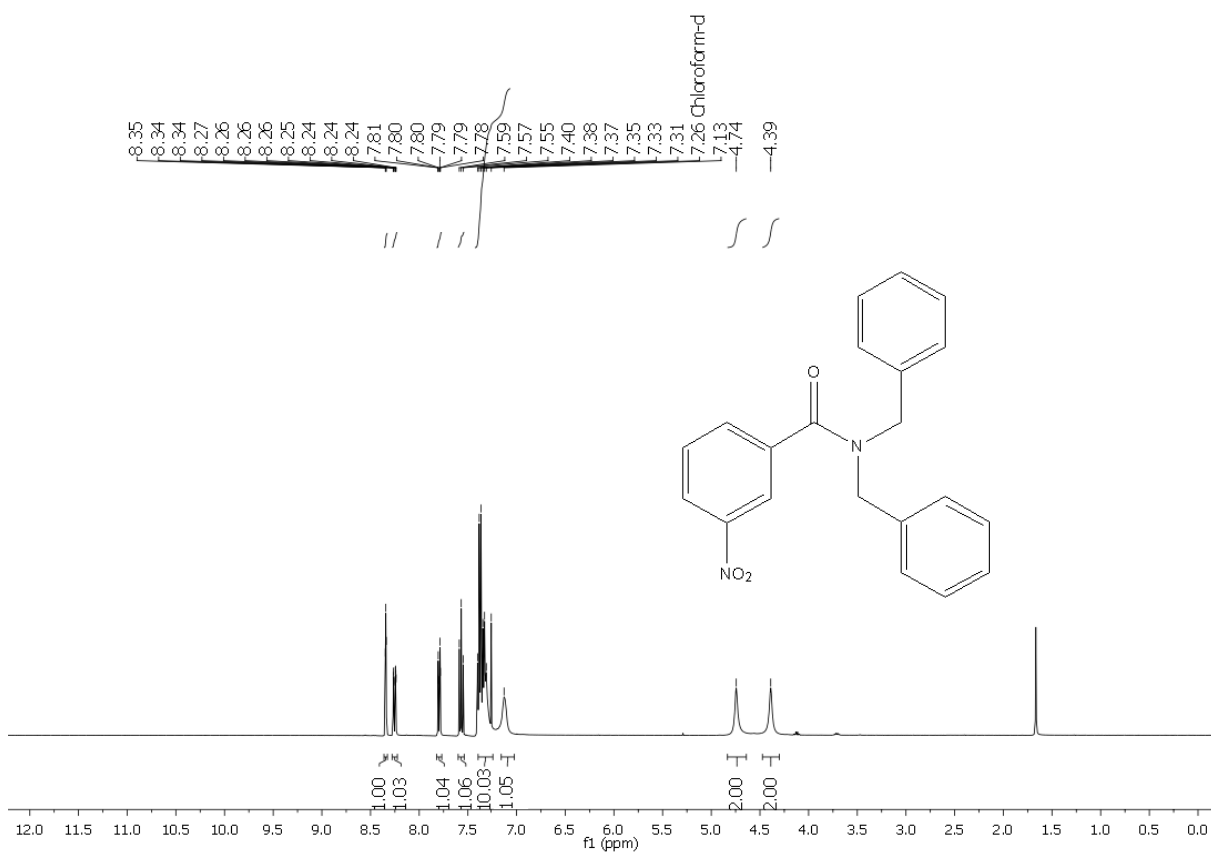
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,34 (*t*, H-2, *J* = 4,0 Hz, 1H), 8,25 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,3, 1,0 Hz, 1H), 7,79 (*dt*, H-6, *J* = 7,6, 1,3 Hz, 1H), 7,57 (*t*, H-5, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,42 – 7,30 (*m*, H- 2', 2'', 3', 3'', 4', 4'', 5', 5'' 6', 6'', 10H), 7,13 (*s*, NH, 1H), 4,74 (*s*, H – 7'', 2H) e 4,39 (*s*, H-7', 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 169,79 (C=O); 148,21 (C-3); 137,89 (C-1, 1', 1''); 132,65 (C-6); 129,91 (C-5); 129,02 (C-3', 3'', 5', 5''); 128,02 (C-2', 2'', 6', 6''); 126,90 (C-4' e 4''); 124,57 (C-4); 122,20 (C-2); 51,71 (C-7''); 47,64 (C-7').

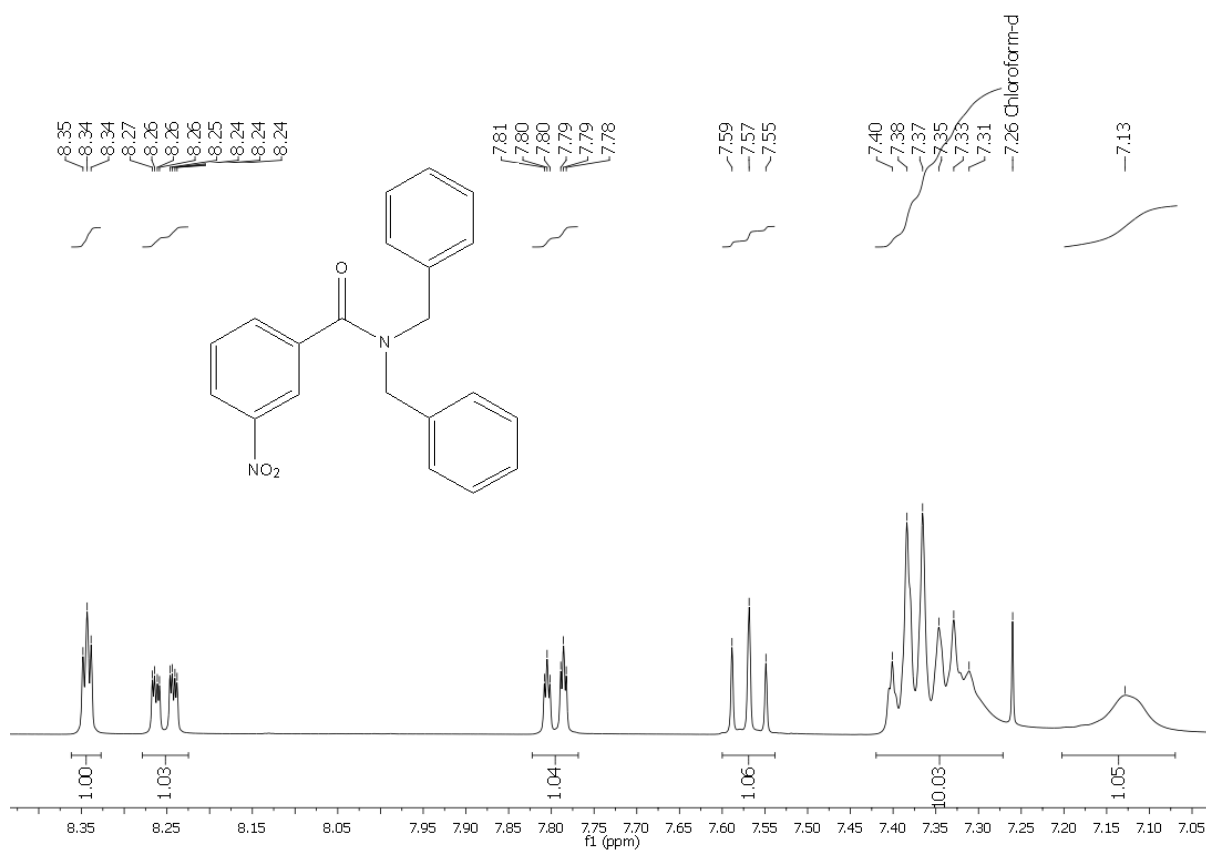
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): (N-H ausente = amida terciária); 3027 (C-H sp²); 2945 (C-H sp³); 1633 (C=O); 1525 (N=O (NO₂)); 1354 (C-H, sp³, dobramento); 901, 810, 699 (aromático, dobramento).



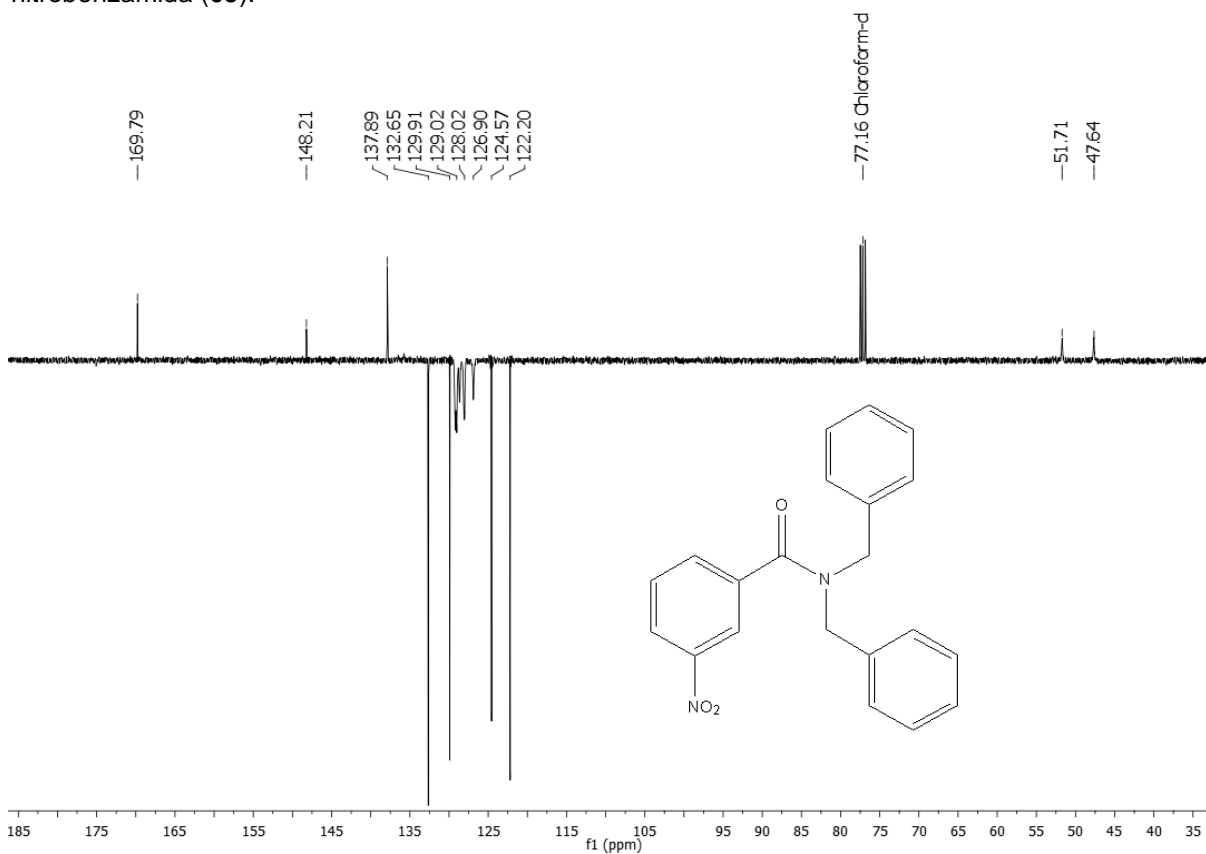
Espectro 35: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N,N*-dibenzil-3-nitrobenzamida (09).



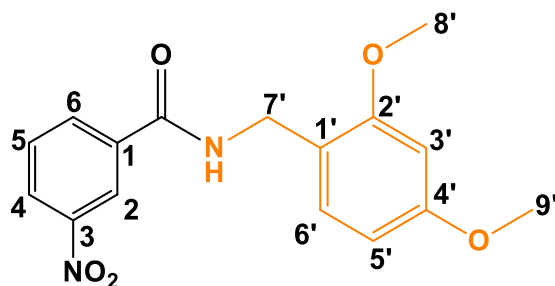
Espectro 36: Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da *N,N*-dibenzil-3-nitrobenzamida (09).



Espectro 37: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N,N*-dibenzil-3-nitrobenzamida (09).



Espectro 38: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, CDCl₃) da *N,N*-dibenzil-3-nitrobenzamida (09).

9.2.10. 10: *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida

Aspecto: sólido amarelo;

Massa do produto: 160,0 mg

Rendimento: 46,9%;

Fórmula molecular: C₁₆H₁₆N₂O₅

Massa molecular: 316,31 g/mol

Ponto de Fusão: 113-114 °C;

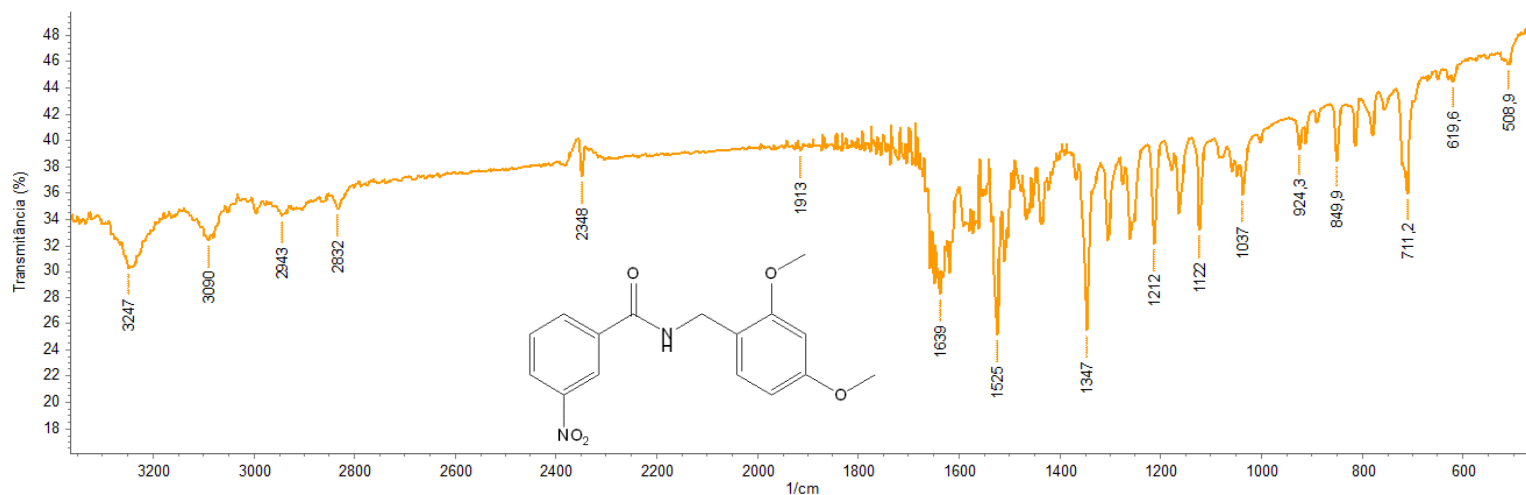
Tempo de Reação: 2 horas;

Fator de Retenção: 0,14 (8:2 Hex/AcOEt)

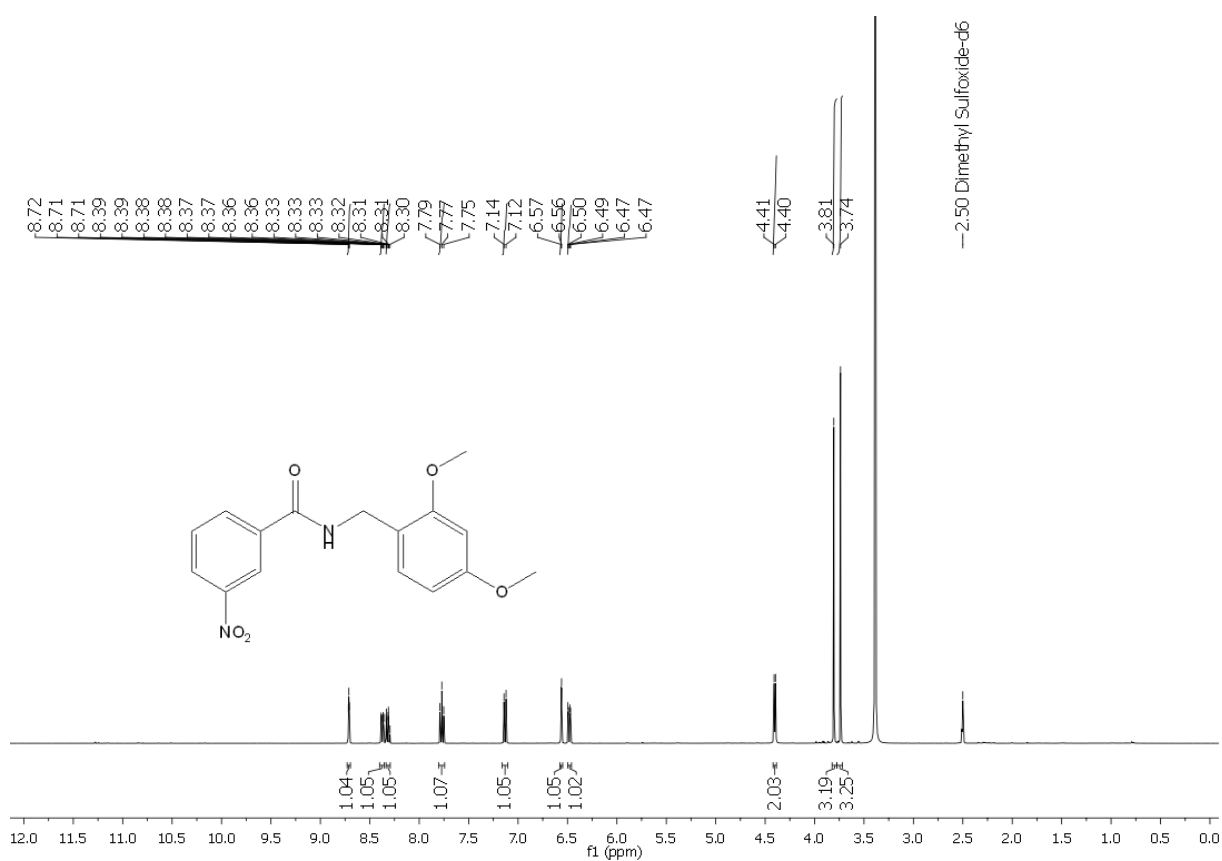
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,71 (*t*, H-2 *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,32 (*ddd*, H-4, *J* = 8,1, 4,6, 3,3 Hz, 1H), 8,37 (*dt*, *J* = 7,8, 1,1 Hz, 1H), 7,47 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,13 (*d*, H-6' *J* = 8,3 Hz, 1H), 6,56 (*d*, H-3', *J* = 2,4 Hz, 1H), 6,48 (*dd*, H-5', *J* = 8,3; 2,4 Hz, 1H), 4,40 (*d*, H-7', *J* = 5,6 Hz, 2H), 3,81 (*s*, 2'-OCH₃, 3H), 3,74 (*s*, 4'-OCH₃, 3H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 164,20 (C=O); 159,83 (C-4'); 157,77 (C-2'); 147,82 (C-3); 135,90 (C-1); 133,80 (C-6); 130,15 (C-5); 128,88 (C-6'); 125,85 (C-4); 122,11 (C-2); 118,57 (C-1'); 104,45 (C-5'); 98,29 (C-3'); 55,50 (2'-OCH₃); 55,25 (4'-OCH₃); 37,76 (C-7'). *Permutáveis.

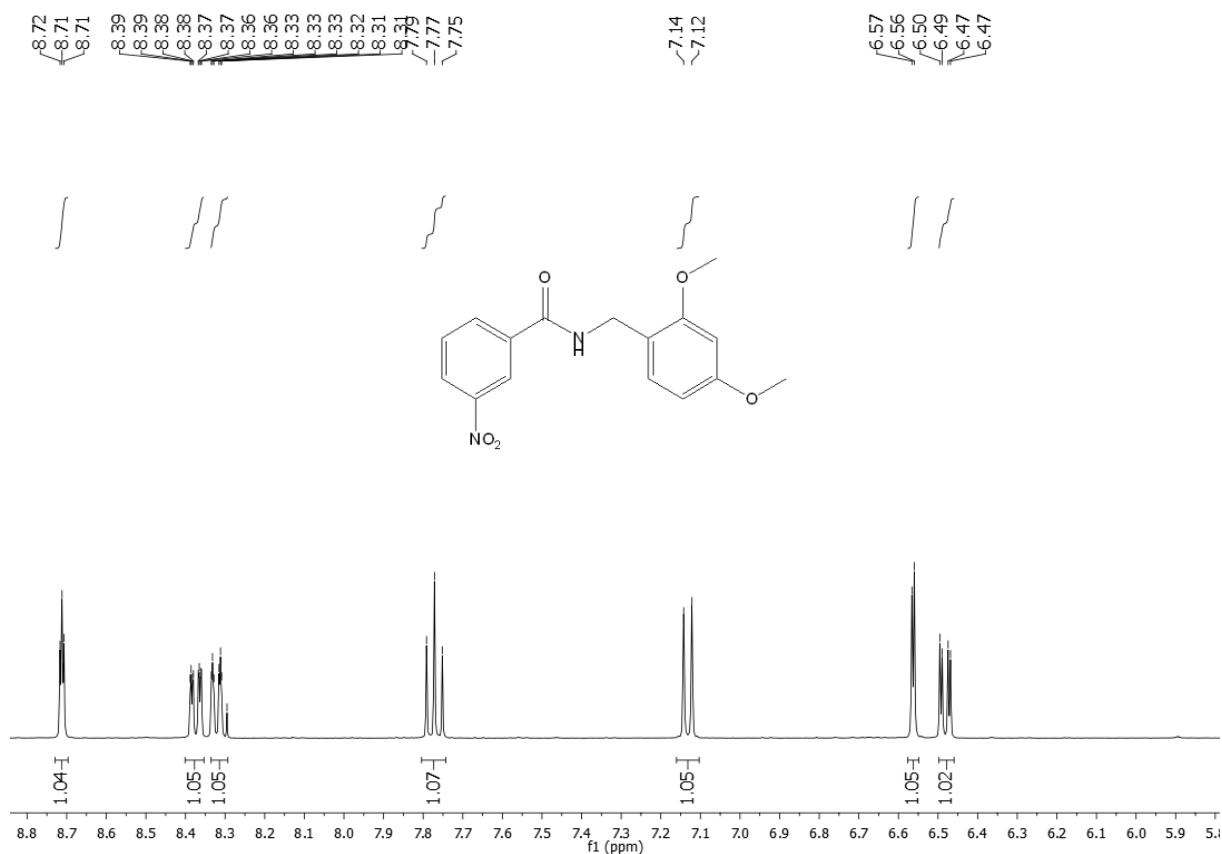
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3247 (N-H); 3090 (C-H sp²); 2943, 2832 (C-H sp³); 1639 (C=O); 1525 (N=O (NO₂)); 1347 (C-H, sp³, dobramento); 924, 849, 711 (aromático, dobramento).



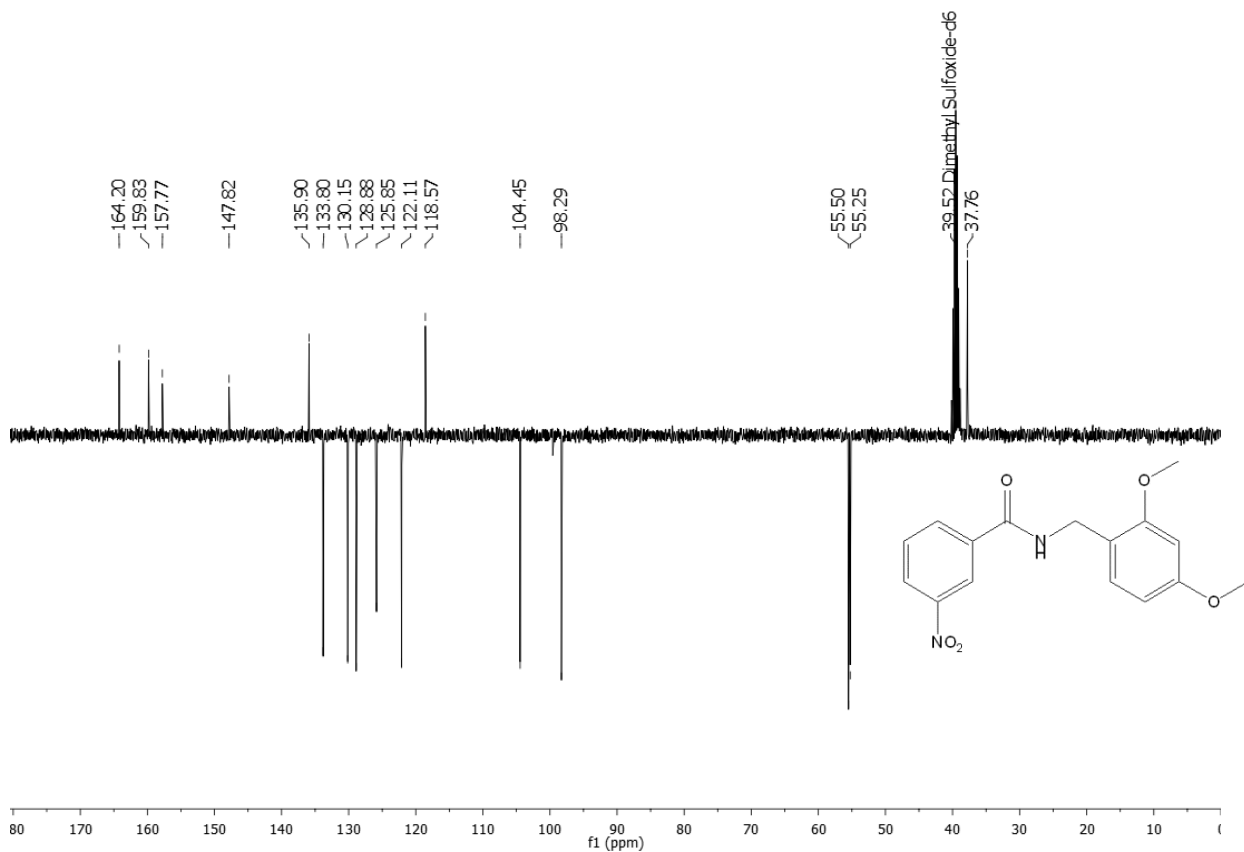
Espectro 39: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).



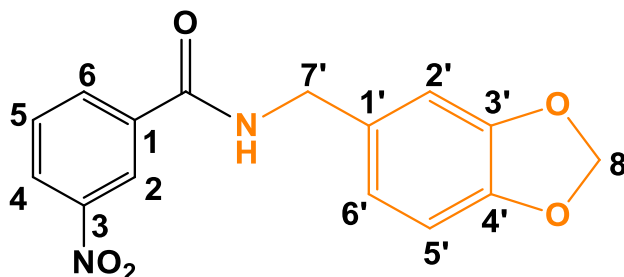
Espectro 40: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) da *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (10).



Espectro 41: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) da *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (**10**).



Espectro 42: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, DMSO-d₆) da *N*-(2,4-dimetoxibenzil)-3-nitrobenzamida (**10**).

9.2.11. 11: *N*-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida

Aspecto: Sólido cristalino marrom;

Massa do produto: 234,5 mg

Rendimento: 72,5%;

Fórmula molecular: C₁₅H₁₂N₂O₅

Massa molecular: 300,27 g/mol

Ponto de Fusão: 109-111 °C;

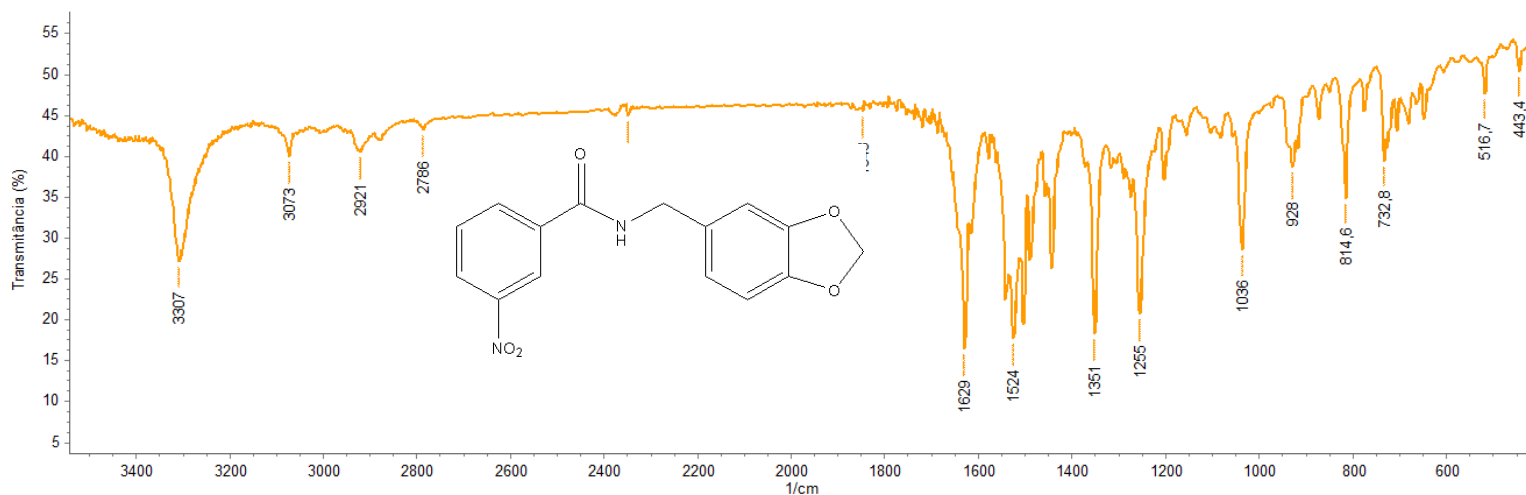
Tempo de Reação: 2,5 horas;

Fator de Retenção: 0,16 (8:2 Hex/AcOEt)

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,71 (*t*, H-2 *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,38 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,3, 1,0 Hz, 1H), 8,32 (*ddd*, H-6, *J* = 7,8, 1,6, 1,1 Hz, 1H), 7,78 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,91 (*s*, H-2', 1H), 6,86 (*d*, H-6', *J* = 7,9 Hz, 1H), 6,81 (*dd*, H-5', *J* = 7,9, 1,6 Hz, 1H), 5,98 (*s*, H-8', 2H), 4,41 (*d*, H-7', *J* = 5,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 164,03 (C=O); 147,81 (C-3); 147,29 (C-3'); 146,20 (C-4'); 135,70 (C-1); 133,78 (C-6); 133,05 (C-1'); 130,18 (C-5); 125,94 (C-4); 122,04 (C-2 e 6'); 108,15 (C-2'); 108,08 (C-5'); 100,89 (C-8'); 42,76 (C-7').

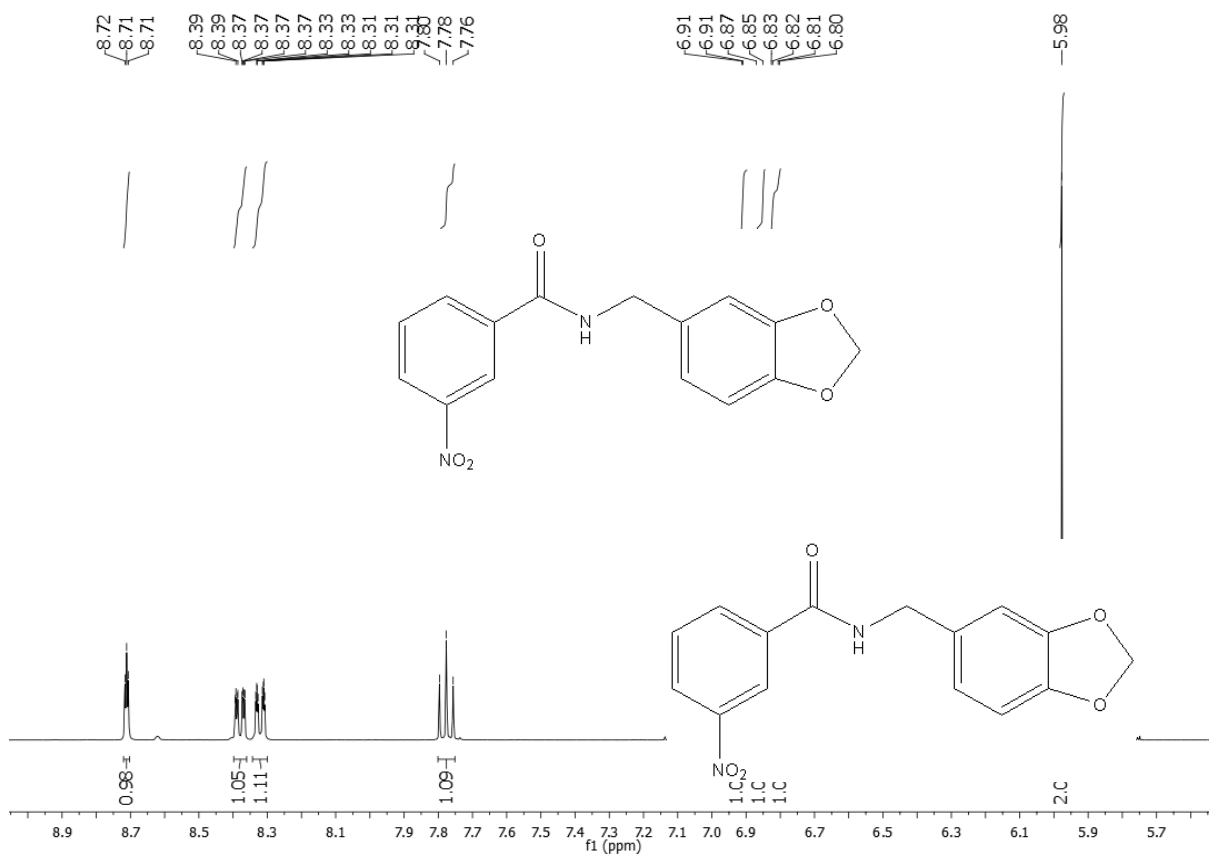
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3307 (N-H); 3073 (C-H sp²); 2921, 2786 (C-H sp³); 1629 (C=O); 1524 (N=O (NO₂)); 1351 (C-H, sp³, dobramento); 928, 814, 732 (aromático, dobramento).



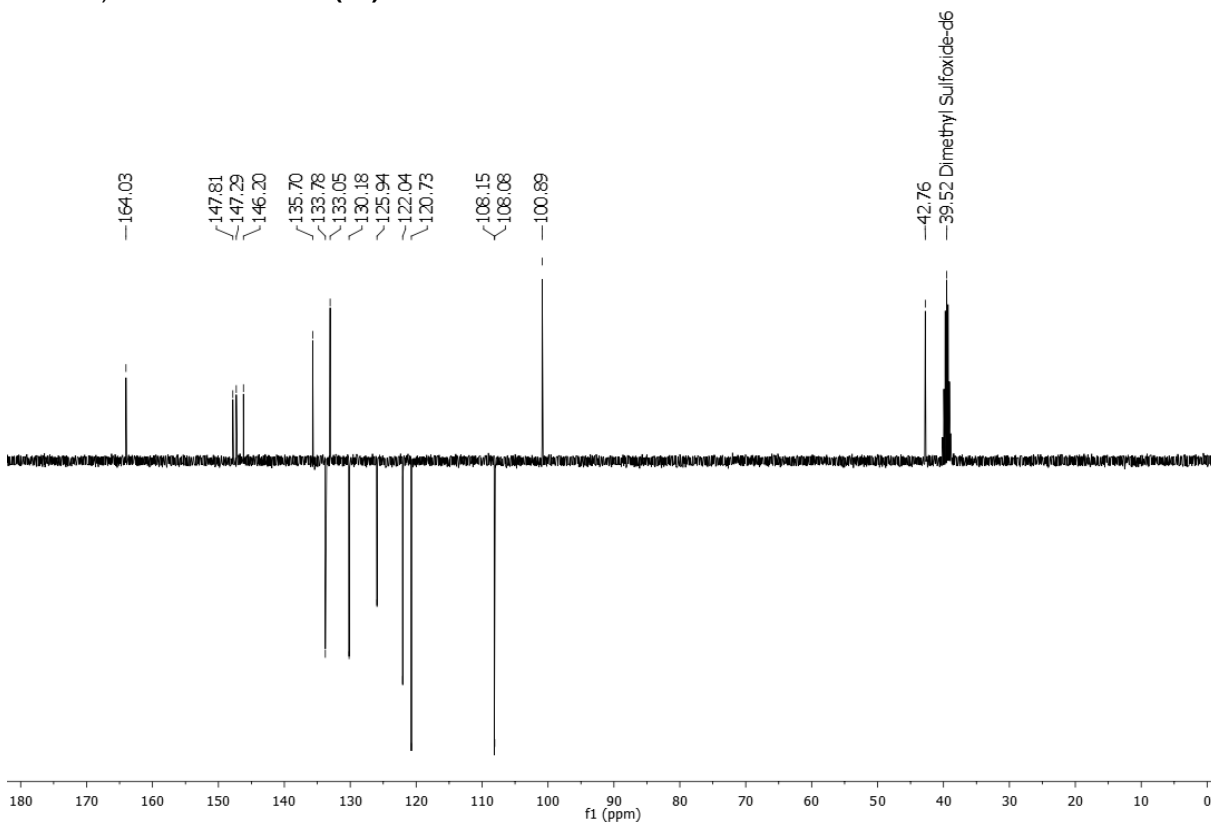
Espectro 43: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).



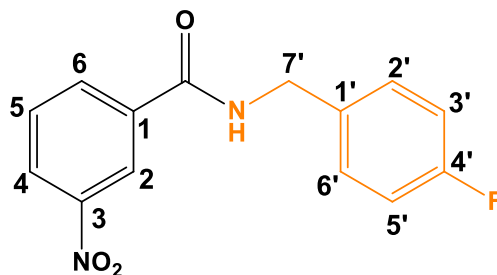
Espectro 44: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) da *N*-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (11).



Espectro 45: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) da N-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (**11**)



Espectro 46: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, DMSO-d₆) da N-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-3-nitrobenzamida (**11**).

9.2.12. 12: *N*-(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida

Aspecto: sólido branco;

Massa do produto: 214,8 mg

Rendimento: 72,7%;

Fórmula molecular: C₁₄H₁₁FN₂O₃

Massa molecular: 274,25 g/mol

Ponto de Fusão: 129-131 °C; (lit.: 119–121 °C, KUMAR ACHAR, MAL, 2015).

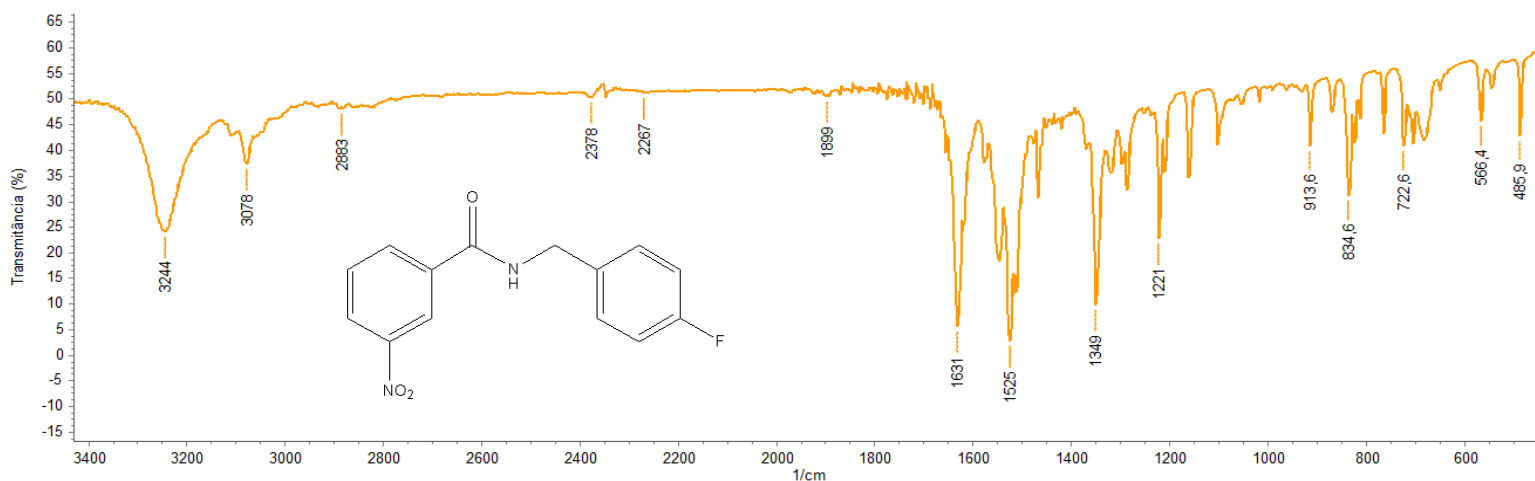
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,42 (8:2 Hex/AcOEt)

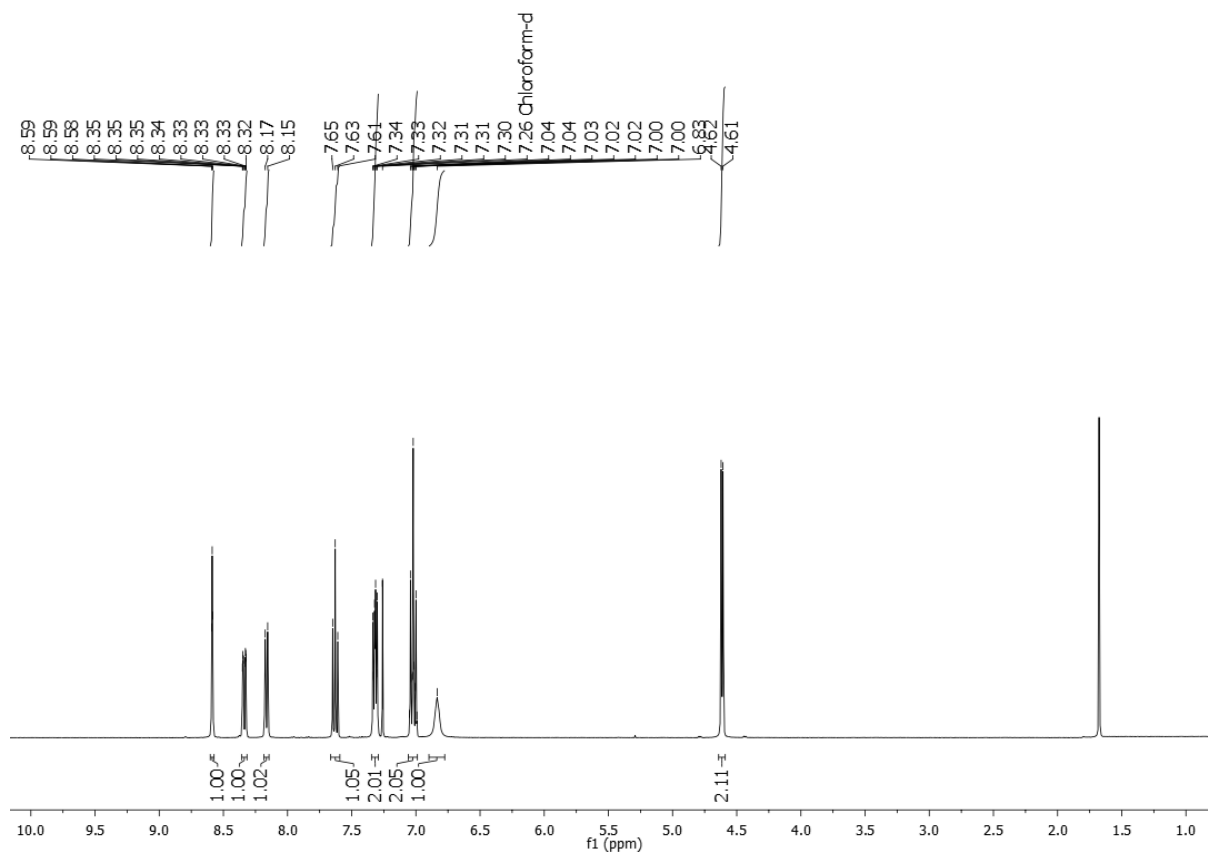
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,59 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,34 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,1, 1,0 Hz, 1H), 8,16 (*d*, H-6, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,63 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,35-7,29 (*m*, H-2' e 6', *m*, 2H), 7,06-6,99 (*m*, H-3' e 5', 2H), 6,83 (*s*, NH, 1H), 4,61 (*d*, H-7', *J* = 5,7 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 165,12 (C=O); 161,26 (C-4'); 148,30 (C-3); 135,94 (C-1); 133,50 (C-1') 133,46 (C-6); 130,05 (C-5); 129,89 (C-6'); 129,81 (C-2'); 126,33 (C-4); 121,90 (C-2); 115,97 (C-3'); 115,76 (C-5'); 43,82 (C-7').

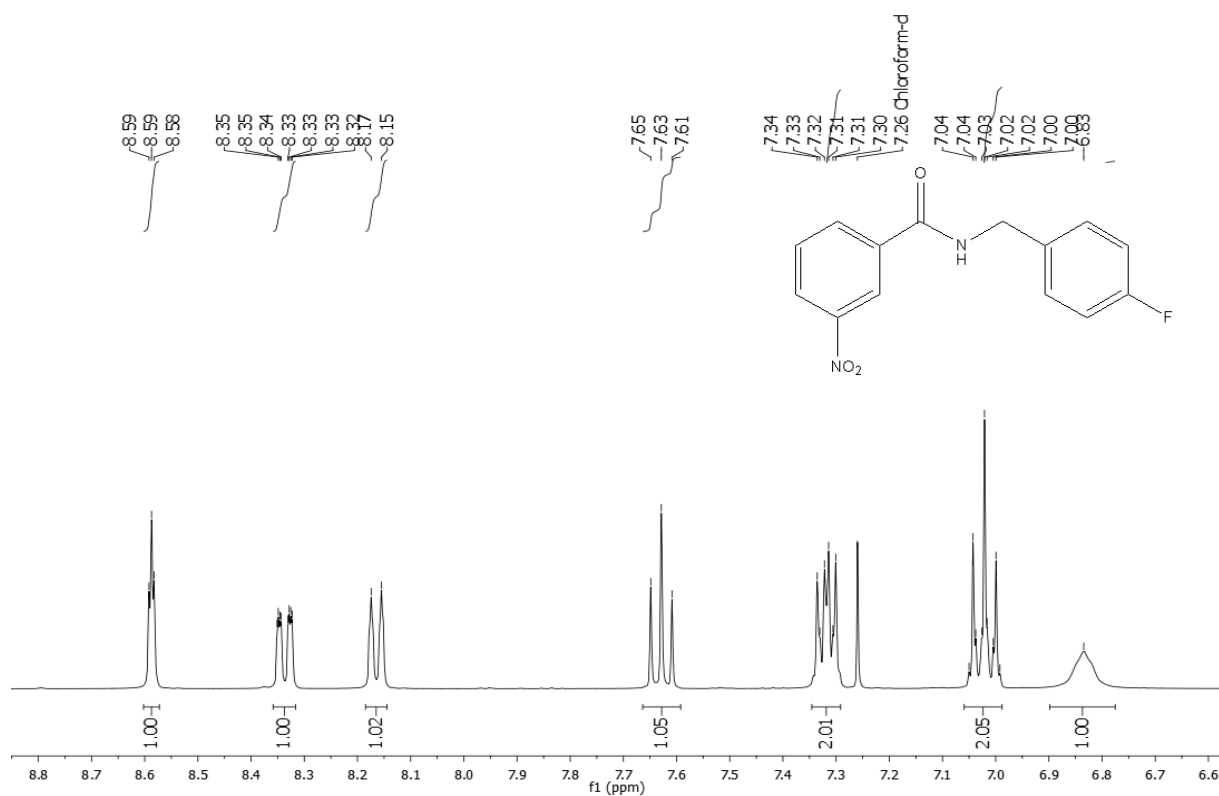
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3244 (N-H); 3078 (C-H sp²); 2883 (C-H sp³); 1631 (C=O); 1525 (N=O (NO₂)); 1349 (C-H, sp³, dobramento); 913, 834, 722 (aromático, dobramento) (KUMAR ACHAR, MAL, 2015).



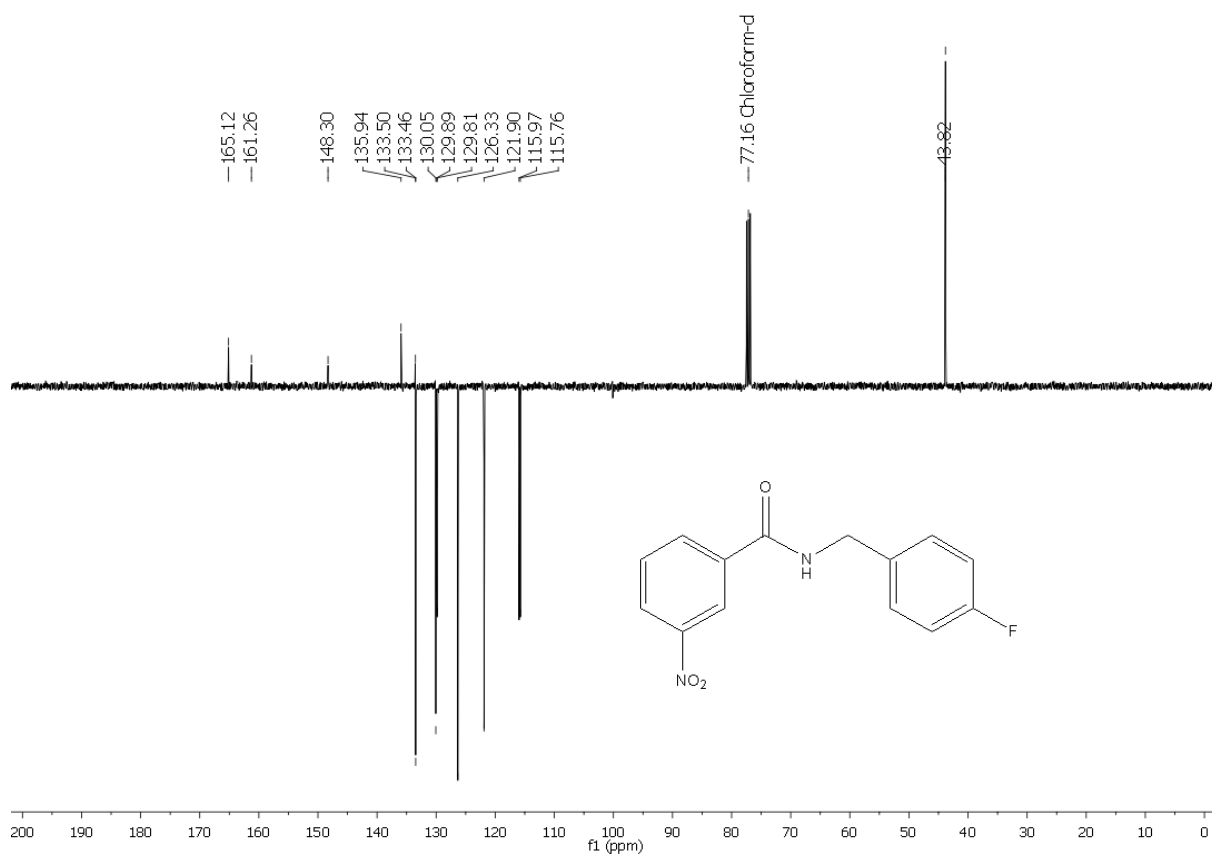
Espectro 47: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).



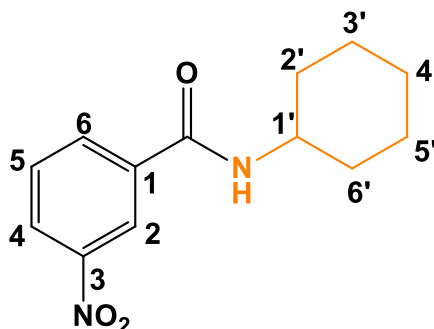
Espectro 48: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).



Espectro 49: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).



Espectro 50: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) da *N*-(4-fluorobenzil)-3-nitrobenzamida (12).

9.2.13. 13: *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida

Aspecto: sólido branco;

Massa do produto: 180,6 mg

Rendimento: 67,5%;

Fórmula molecular: C₁₃H₁₆N₂O₃

Massa molecular: 248,28 g/mol

Ponto de Fusão: 161-164 °C;

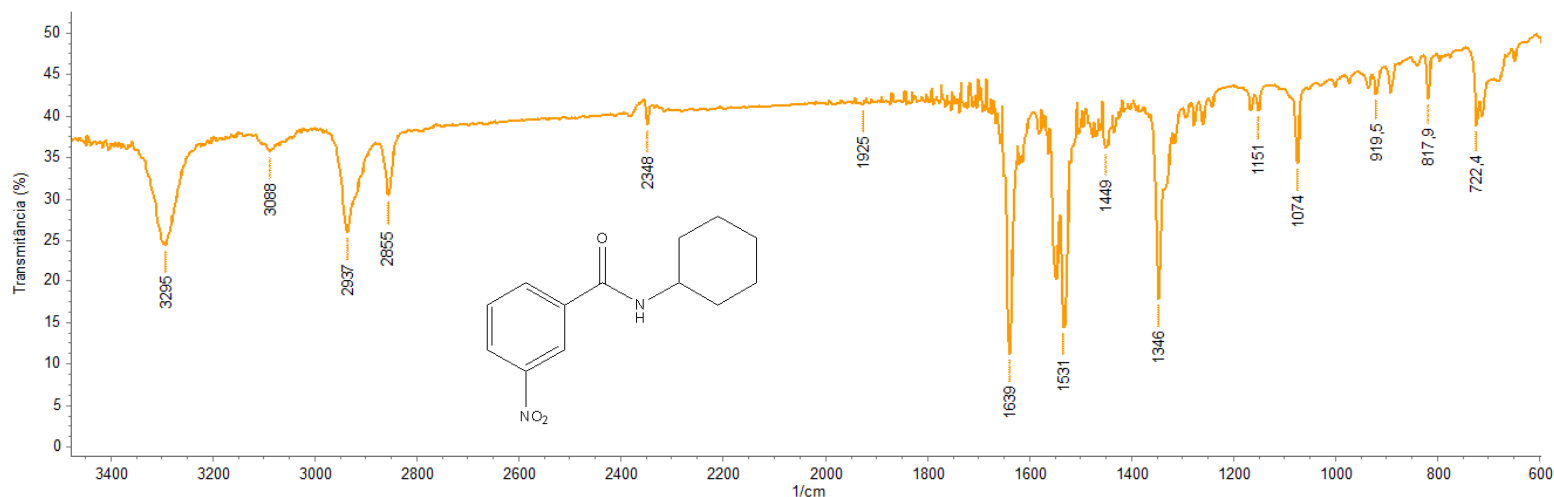
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,49 (8:2 Hex/AcOEt)

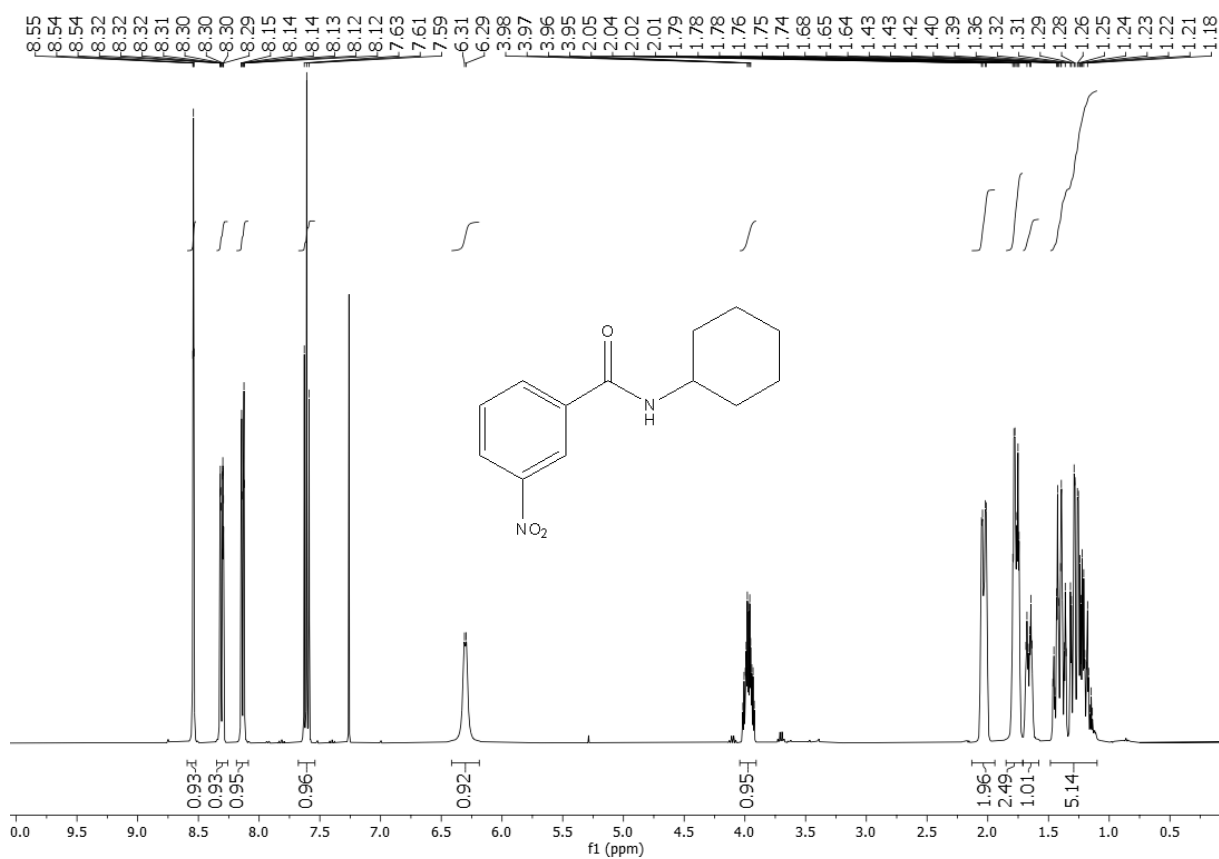
RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz): δ_H 8,54 (*t*, H-2, *J* = 1,9 Hz, 1H), 8,31 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,2, 1,1 Hz, 1H), 8,13 (*dt*, H-6, *J* = 7,7, 1,2 Hz, 1H), 7,61 (*t*, H-5, *J* = 8,0 Hz, 1H), 6,30 (*s*, NH, 1H), 4,02 - 3,91 (*m*, H-1', 1H), 2,03 (*dd*, H-2' e H-6', *J* = 12,2, 3,3 Hz, 2H), 1,79-1,74 (*m*, H-2' e 6', 2H), 1,71 - 1,61 (*m*, H-4', 1H), 1,49 - 1,09 (*m*, H-3', 4' e 5', 5H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 100 MHz): δ_C 164,33 (C=O); 148,22 (C-3); 136,79 (C-1); 133,42 (C-6); 129,88 (C-5); 125,93 (C-4); 121,77 (C-2); 49,44 (C-1'); 33,20 (C-2' e 6'); 25,58 (C-4'); 25,06 (C-3' e 5').

IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): 3295 (N-H); 3088 (C-H sp²); 2937, 2855 (C-H sp³); 1639 (C=O); 1531 (N=O (NO₂)); 1346 (C-H, sp³, dobramento); 919, 817, 722 (aromático, dobramento).



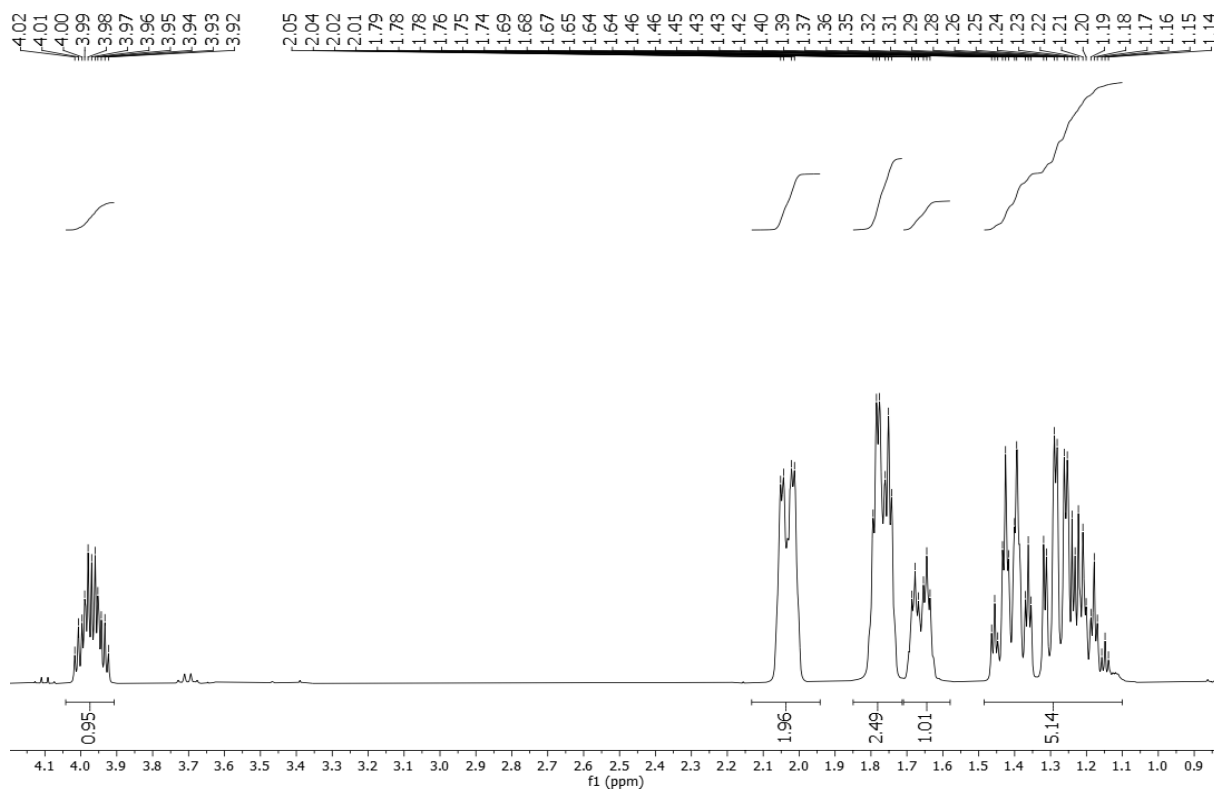
Espectro 51: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).



Espectro 52: Espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).



Espectro 53: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).

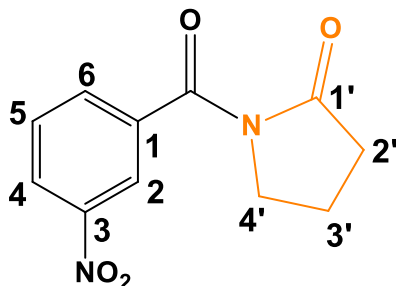


Espectro 54: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) da *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).



Espectro 55: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl₃) da *N*-ciclohexil-3-nitrobenzamida (13).

9.2.14. 14: 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona



Aspecto: óleo verde;

Massa do produto: 131,1 mg

Rendimento: 26,0%;

Fórmula molecular: C₁₁H₁₀N₂O₄

Massa molecular: 234,21 g/mol

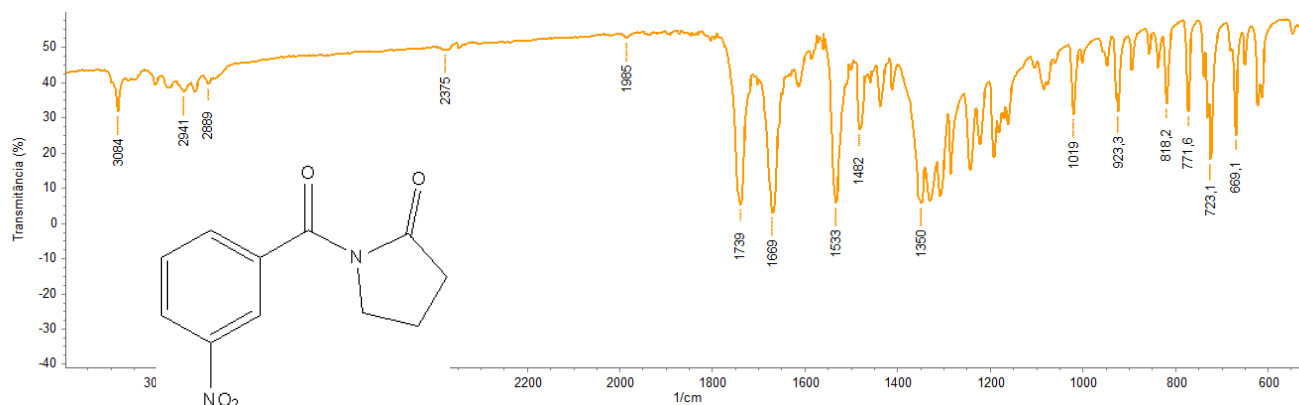
Tempo de Reação: 3 horas;

Fator de Retenção: 0,12 (8:2 Hex/AcOEt)

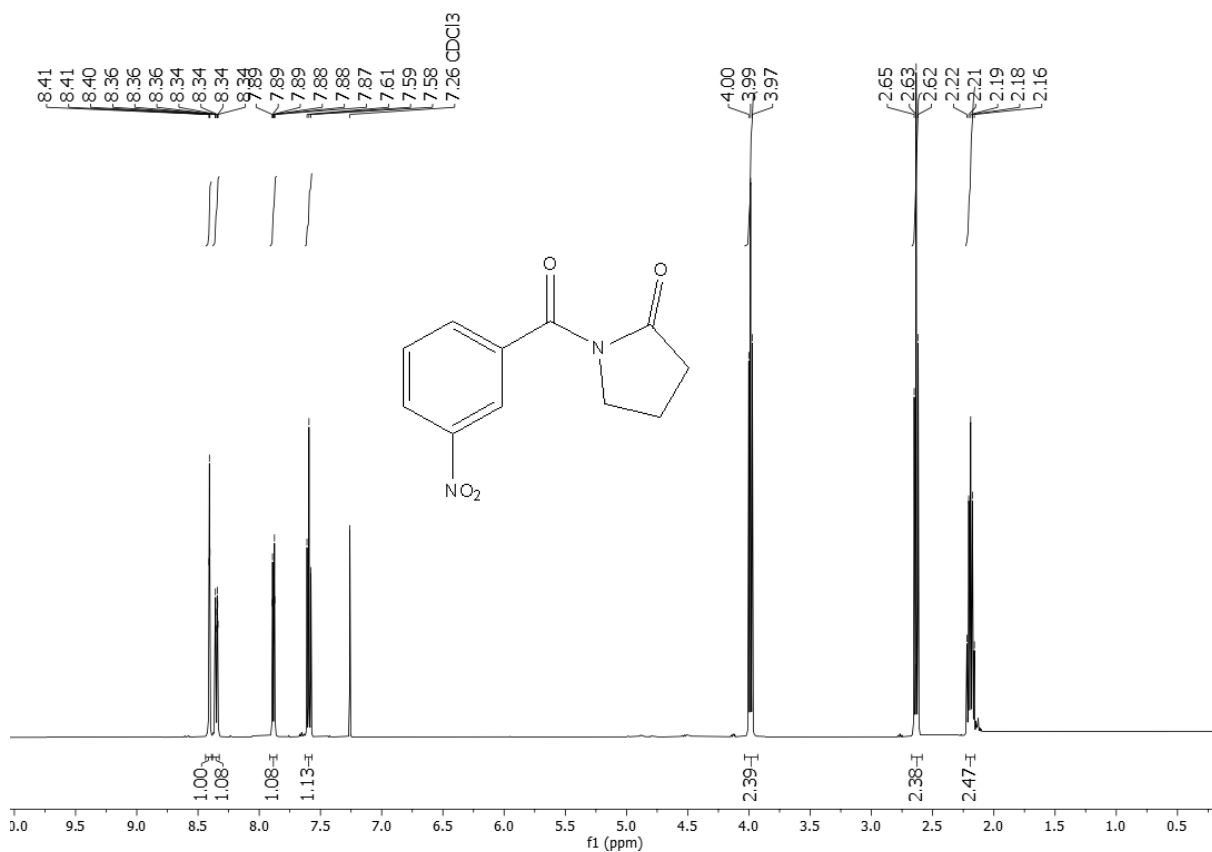
RMN ¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ_H 8,41 (*t*, H-2, *J* = 2,0 Hz, 1H), 8,35 (*ddd*, H-4, *J* = 8,2, 2,4, 1,1 Hz, 1H), 7,88 (*dt*, H-6, *J* = 7,6, 1,3, 1H), 7,59 (*t*, H-5, *J* = 7,9 Hz, 1H), 4,04 – 3,93 (*m*, H-4', 2H), 2,63 (*t*, H-2', *J* = 8,0 Hz, 2H), 2,19 (*quint*, H-3' *J* = 7,9 Hz, 2H).

RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz): δ_C 174,90 (C=O); 168,29 (C-1'); 147,68 (C-3); 136,06 (C-1); 134,63 (C-6); 129,04 (C-5); 126,06 (C-4); 124,19 (C-2); 46,46 (C-4'); 33,23 (C-2'); 17,65 (C-3').

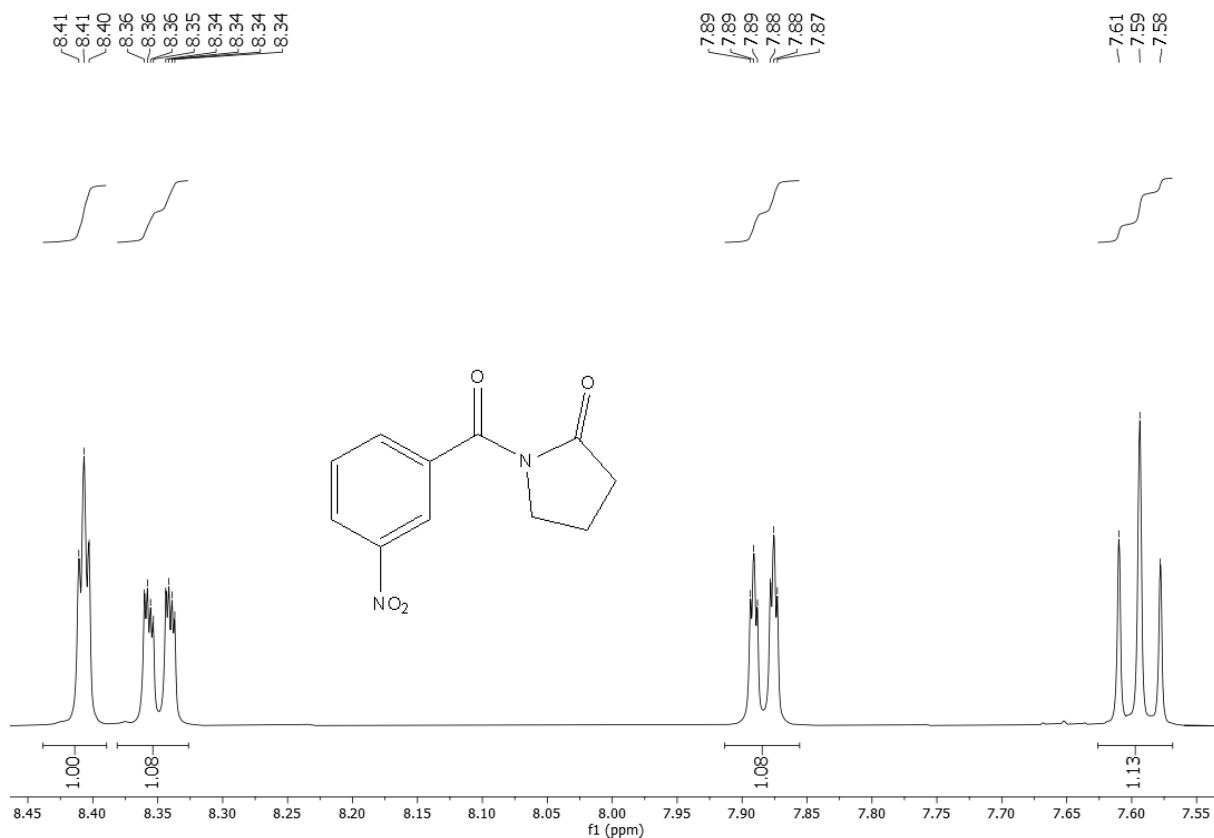
IV v_{max} (KBr, cm⁻¹): (N-H ausente = amida terciária); 3084 (C-H sp²); 2941, 2889 (C-H sp³); 1669 (C=O); 1533 (N=O (NO₂)); 1350 (C-H, sp³, dobramento); 923, 818, 723 (aromático, dobramento).



Espectro 56: Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) da 1-(3-nitrobenzoil)pirrolidin-2-ona (14).



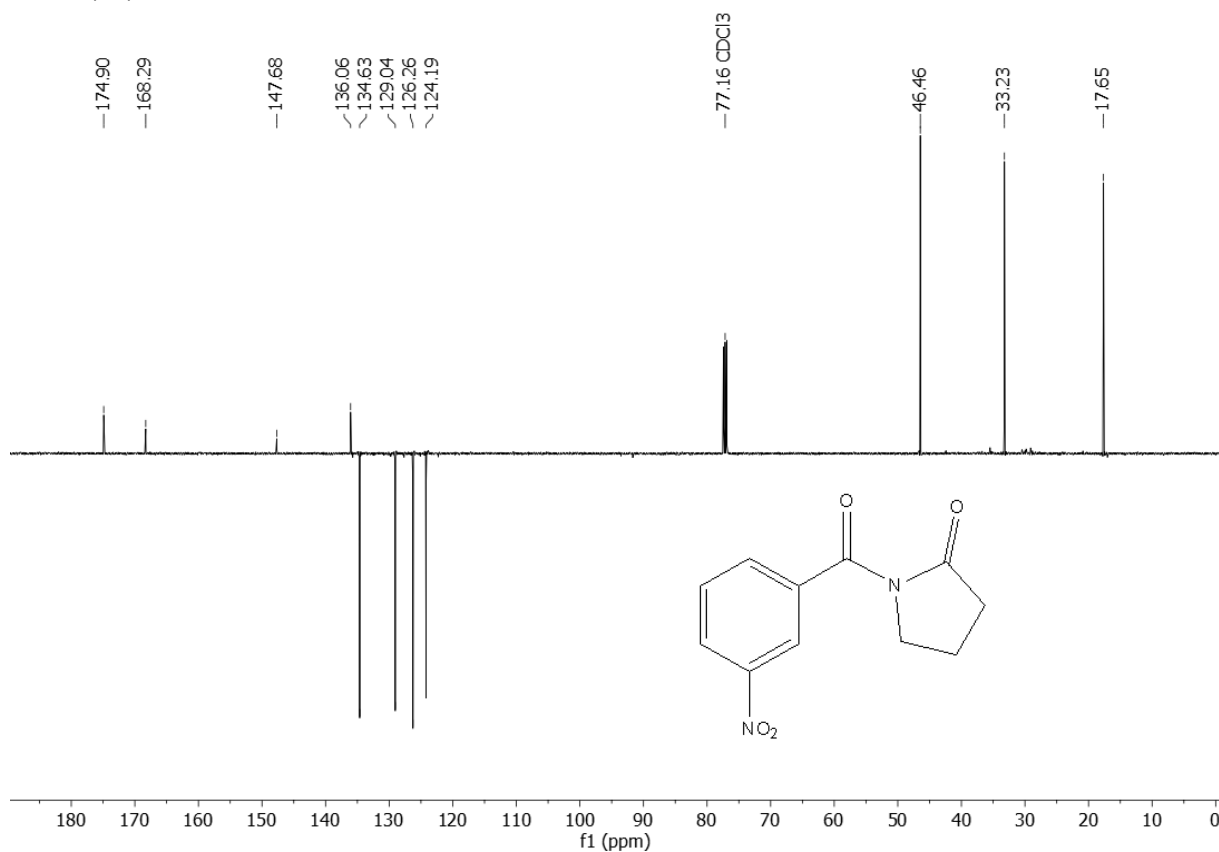
Espectro 57: Espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da 1-(3-nitrobenzoyl)pirrolidin-2-ona (14).



Espectro 58: Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da 1-(3-nitrobenzoyl)pirrolidin-2-ona (14).



Espectro 598: Expansão do espectro de RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) da 1-(3-nitrobenzoyl)pirrolidin-2-ona (14).



Espectro 60: Espectro de RMN de ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) da 1-(3-nitrobenzoyl)pirrolidin-2-ona (14).

10.0. REFERÊNCIAS

- AGWADA, V. C. Potential central nervous system active agents. 2. Synthesis of N-benzylphenylacetamides. **J. Chem. Eng.** 1982.
- ALVES, D. N.; FERREIRA A. R.; DUARTE, A. B. S.; MELO, A. K. V.; SOUSA, D. P.; CASTRO, R.D. Breakpoints for the Classification of Anti-Candida Compounds in Antifungal Screening. **BioMed Research International**. 2021.
- ANDRYUKOV, K. V.; KORKODINOVA, L. M. Molecular-docking study of the interaction of anti-inflammatory *N*-aroyl-substituted Halo(h)anthranilic acid amides and hydrazides with cyclooxygenase 1. **Pharmaceutical Chemistry Journal**. 2018.
- ASHRAF, Z.; MAHMOOD, T.; HASSAN, M.; AFZAL, S.; RAFIQUE, H.; AFZAL, K.; LATIP, J. Dexibuprofen amide derivatives as potential anticancer agents: synthesis, in silico docking, bioevaluation, and molecular dynamic simulation. **Dovepress**. 2019.
- ANTONY, J.; MEDVEDEV, D. M.; STUCHEBRUKHOV, A. A. Theoretical Study of Electron Transfer between the Photolyase Catalytic Cofactor FADH- and DNA Thymine Dimer. **Journal of the American Chemical Society**. 2000.
- BANERJEE, S.; DENNING, D. W.; CHAKRABARTI, A. One Health aspects & priority roadmap for fungal diseases: A mini-review. **Indian Journal of Medical Research**. Março, 2021.
- BARATA, P. H. S.; et al. Chemoenzymatic Synthesis and Anti-Inflammatory Activity of Fatty Acid Amides Prepared from *Bertholletia excelsa* (Brazil Nut) Triglycerides. **J. Braz. Chem. Soc.** 2020.
- BARBOZA, J., N. **Amidas cinâmicas sintéticas e investigação da atividade antifúngica frente às cepas de Candida spp.** Paraíba, 2020. Dissertação de Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal da Paraíba.

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

- BEGUM, S. NIZAMI, S. S., MAHMOOD, U., MASOOD, S., IFTIKHAR, S., SAIED, S. In-vitro evaluation and in-silico studies applied on newly synthesized amide derivatives of N-phthaloylglycine as Butyrylcholinesterase (BChE) inhibitors. **Comput Biol Chem.** 2018.

- BEN-AMI, R., KONTOYIANNIS, D. P. Resistance to Antifungal Drugs. **Infectious Disease Clinics of North America.** 2021.

- BERMAN, H. M., WESTBROOK, J., FENG, Z., GILLILAND, G., BHAT, T. N., WEISSIG, H., SHINDYALOV, I. N., BOURNE, P. E. The Protein Data Bank. **Nucleic Acids Research.** 2000.

- BILDZIUKEVICH, U., RÁROVÁ, L., JANOVSÁ, L., ŠAMAN, D., WIMMER, Z. Enhancing effect of cystamine in its amides with betulinic acid as antimicrobial and antitumor agent in vitro. **Steroids.** 2019.

- BOHLOOLI, S., NEJATKHAH, N., SEPEHRI, S., DOOSTKAMEL, D., RAZZAGHI-ASL, N. Synthesis and cytotoxicity evaluation of novel cyclic/non-cyclic N-aryl enamino amides against human cancer cell lines. **Research in Pharmaceutical Sciences.** 2020.

- BONGOMIN, F., GAGO, S., OLADELE, R. O., DENNING, D. W. Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision. **Jornal of Fungi.** 2017.

- CASADEVALL, A. Fungal Diseases in the 21st Century: The Near and Far Horizons. **Pathogens and Immunity.** 2018.

- CASE, D. A., BELFON, K., BEN-SHALOM, I. Y., BROZELL, S. R., CERUTTI, D. S., CHEATHAM, T. E., CRUZEIRO, III V. W. D., DARDEN, III V. W. D., DUKE, R. E., GIAMBASU, G., GILSON, R. E., GOHLKE, H., GOETZ, A. W., HARRIS, R., IZADI, S.,

IZMAILOV, S. A., KASAVAJHALA, K., KOVALENKO, A., KRASNY, R., KURTZMAN, T., LEE, T. S., LEGRAND, S., LI, P., LIN, C., LIU, J., LUCHKO, T., LUO, R., MAN, V., MERZ, K., M., MIAO, Y., MIKHAILOVSKII, O., MONARD, G., NGUYEN, H., ONUFRIEV, A., PAN, F., PANTANO, S., QI, R., ROE, D., R., ROITBERG, A., SAGUI, C., SCHOTT-VERDUGO, S., SHEN, J., SIMMERLING, C., L., SKRYNNIKOV, N., R., SMITH, J., SWAILS, J., WALKER, R. C., WANG, J., WILSON, L., WOLF, R. M., WU, X., XIONG, Y., XUE, Y., YORK D. M., KOLLMAN, P. A. AMBER 2020, University of California, San Francisco. **2020.**

- CHEN, X., SUN, Y., FU, L., LI, J. Synthesis and pharmacological characterization of novel N-(trans-4-(2-(4-(benzo[d]isothiazol-3-yl)piperazin-1-yl)ethyl)cyclohexyl)amides as potential multireceptor atypical antipsychotics. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2016.

- CHRISTOPHE, T., et al. High Content Screening Identifies Decaprenyl-Phosphoribose 2' Epimerase as a Target for Intracellular Antimycobacterial Inhibitors. **PLoS Pathogens**. 2009.

- CUI, Y., CUI, W., LIU, Z., ZHOU, L., KOBAYASHI, M., ZHOU, Z. Improvement of stability of nitrile hydratase via protein fragment swapping. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. 2014.

- DAMIÃO, M. C. F. C. B. **Planejamento e síntese de análogos da capsaicina e avaliação da atividade antitumoral**. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 2014.

- DASSANAYAKE, R., CAO, L., SAMARANAYAKE, L., BERGES, T. Characterization, heterologous expression and functional analysis of mevalonate diphosphate decarboxylase gene (MVD) of *Candida albicans*. *Molecular Genetics and Genomics*. **2002.**

- DECARLI, N., O. **Síntese e caracterização de derivados acilados do polímero poli (éter imida) (ULTEM 1000)**. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Programa de Pós-

Graduação em Química, 2018.

- d'ENFERT, C., et al. The impact of the Fungus-Host-Microbiota interplay upon *Candida albicans* infections: current knowledge and new perspectives. **FEMS Microbiology Reviews**. 2020.

- ELSHERIF, M., A., HASSAN, A., S., MOUSTAFA, G., O., AWAD, H., M., MORSY, N., M. Antimicrobial evaluation and molecular properties prediction of pyrazolines incorporating benzofuran and pyrazole moieties. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**. 2020.

- FERREIRA, A., R. **Ésteres sintéticos derivados do ácido 3-metil-4-nitrobenzoico e avaliação da sua atividade antifúngica**. Paraíba. 2018. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba.

- FREIRES, I. A. et al. *Coriandrum sativum* L.(coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on *Candida* spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. **PLoS One**. 2014.

- GHAFFARI, S., ROSHANRAVAN, N., TUTUNCHI, H., OSTADRAHIMI, A., POURAGHAEI, M., KAFIL, B. Oleoylethanolamide, A Bioactive Lipid Amide, as A Promising Treatment Strategy for Coronavirus/COVID-19. **Archives of Medical Research**. 2020.

- GIAMMONA, D. A. Ph.D. thesis, University of California, Davis. **1984**.

- GONG, Y., LI, T., YU, C., SUN, S. *Candida albicans* Heat Shock Proteins and Hsps-Associated Signaling Pathways as Potential Antifungal Targets. **Front. Cell. Infect. Microbiol**. 2017.

- GOSNELL, E. S., THIKKURISY, S. Assessment and Management of Pain in the Pediatric Patient. *Pediatric Dentistry* (Sixth Edition). **2019**.

- GULZAR, A., MAHMUD, T., MUNIR, R., ANJUM, A. Anti-Cancerous and Anti-

Inflammatory Activities of some Novel Schiff Bases Derived from 2-[(1,3-benzothiazol-2-yl)sulfanyl]-N-[4-(hydrazinecarbonyl)phenyl]acetamide. **Pakistan Journal of Zoology**. 2018.

- GUO, Q., ZHAO, M., CHEN, J. Efficient synthesis of α -amino secondary amides by direct aminocarbonylation of *N*-Boc-imines using carbamoylsilane as an amide source. **Tetrahedron**. 2020.

- HOLMBERG, N., RYDE, U., BÜLOW, L. Redesign of the coenzyme specificity in L-lactate dehydrogenase from bacillus stearothermophilus using site-directed mutagenesis and media engineering. **Protein Eng**. 1999.

- HAWKINS, P., C., SKILLMAN, A., G., WARREN, G., L., ELLINGSON, B., A., STAHL, M., T. Conformer generation with OMEGA: algorithm and validation using high quality structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **J Chem Inf Model**. 2010.

- HUANG, Y., ZHANG, B., LI, J., LIU, H., ZHANG Y., YANG, Z., LIU, W. Design, synthesis, biological evaluation and docking study of novel indole-2-amide as anti-inflammatory agents with dual inhibition of COX and 5-LOX. **European Journal of Medicinal Chemistry**. 2019.

- HIPÓLITO, T., M., M., BASTOS, G., T., L., BARBOSA, T., W., L., DE SOUZA, T., B., COELHO, L., F., L., DIAS, A., L., T., RODRÍGUEZ, I., C., DOS SANTOS, M., H., DIAS, D., F., FRANCO, L., L., CARVALHO, D., T. Synthesis, activity, and docking studies of eugenol-based glucosides as new agents against Candida sp. **Chem Biol Drug Des**. 2018.

- IBE, C., MUNRO, C., A. Fungal cell wall: An underexploited target for antifungal therapies. **PLoS Pathogens**. 2021.

- JONES, G., WILLETT, P., GLEN, R. C., LEACH, A. R., TAYLOR, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. **J Mol Biol**. 1997.

- JORGE, S.D. **Planejamento, desenvolvimento e estudos de QSAR de derivados benzofuroxânicos com atividade frente Staphylococcus aureus e Trypanosoma cruzi**. São Paulo, 2011. Tese (Doutorado em Tecnologia Químico-Farmacêutica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- JUMPER, J., EVANS, R., PRITZEL, A., GREEN, T., FIGURNOV, M., RONNEBERG, O., TUNYASUVUNAKOOL, K., BATES, R., ŽÍDEK, A., POTAPENKO A., BRIDGLAND, A., MEYER, C., KOHL, S., A., A., BALLARD, A., J., COWIE, A., ROMERA-PAREDES, B., NIKOLOV, S., JAIN, R., ADLER, J., BACK, T., PETERSEN, S., REIMAN, D., CLANCY, E., ZIELINSKI, M., SETEINEGGER, M., PACHOLSKA, M., BERGHAMMER, T., BODENSTEIN, S., SILVER, D., VINYALS, O., SÊNIOR, A. W., KAVUKCUOGLU, K., KOHLI, P., HASSABIS, D. Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. **Nature**. 2021.
- KALINOWSKI, D. S., YU, Y., SHARPE, P. C., ISLAM, M., LIAO, Y., LOVEJOY, D. B., KUMAR, N., BERNHARDT, P. V., RICHARDSON, D. R. Design, Synthesis, and Characterization of Novel Iron Chelators: Structure-Activity Relationships of the 2-Benzoylpyridine Thiosemicarbazone Series and Their 3-Nitrobenzoyl Analogues as Potent Antitumor Agents. **Journal f Medicinal Chemistry**, 2007.
- KAR, S., LESZCZYNSKI, J. Exploration of Computational Approaches to Predict the Toxicity of Chemical Mixtures. **Toxics**. 2019.
- KHAZAEI, A., TAVASOLI, M., MOOSAVI-ZARE, A., R. Fabrication, identification and application of Fe₃O₄ bonded nicotinic acid-sulfonic acid chloride as a retrievable magnetic nanostructured catalyst for the one-pot synthesis of 1-carbamato-alkyl-2-naphthols. **Research on Chemical Intermediates**. 2018.
- KIM, S., CHEN, J., CHENG, T., GINDULYTE, A., HE, J., HE, S., LI, Q., SHOEMAKER, B., A., THIESSEN, P., A., YU, B., ZASLAVSKY, L., ZHANG, J., BOLTON, E., E. PubChem 2019 update: improved access to chemical data. **Nucleic acids research**. 2019.
- KISHIMOTO, S., NISHIMURA, S., HATANO, M., IGARASHI, M., KAKEYA, H. Total

Synthesis and Antimicrobial Activity of Chlorocatechelin A. **The Journal of organic chemistry**, 2015.

- KOVÁCS, E., RÓZSA, B., CSOMOS, A., CSIZMADIA, I., G., MUCSI, Z. Amide Activation in Ground and Excited States. **Molecules**. 2018.

- KUMAR ACHAR, T., MAL, P. Transformation of Contact-Explosives Primary Amines and Iodine(III) into a Successful Chemical Reaction under Solvent-Free Ball Milling Conditions. **Adv. Synth. Catal.** 2015.

- KUNUGI, A., TABEL, K. On-column organic reactions: Schotten-Baumann benzoylation of phenols on an Extrelut column. **Journal of Chromatography A**. 1987.

- LASKOWSKI, R. A., SWINDELLS, M. B. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug discovery. **J Chem Inf Model**. 2011.

- LANTERNIER, F., CYPOWYJ, S., PICARD, C., BUSTAMANTE, J., LORTHOLARY, O., CASANOVA, J., PUEL, A. Primary immunodeficiencies underlying fungal infections. **Curr Opin Pediatr**. 2013.

- LEGGIO, A., BAGALÀ, J., BELSITO, E.L., COMANDÈ, A., GRECO, M., LIGUORI, A. Formation of amides: one-pot condensation of carboxylic acids and amines mediated by TiCl₄. **Chemistry Central Journal**. 2017.

- LI, M., JIANG, Z., SONG, L., QUAN, Z., YU, H. Antidepressant and anxiolytic-like behavioral effects of erucamide, a bioactive fatty acid amide, involving the hypothalamus–pituitary–adrenal axis in mice. **Neuroscience Letters**. 2017.

- LIMA, I. O. et al. Antifungal activity and mode of action of carvacrol against *Candida albicans* strains. **Journal of essential oil research**. 2013.

- LIMA, R. N. **Síntese de amidas e amidas-graxas utilizando metodologias aplicados ao princípio da química verde**. São Paulo, 2018. Tese (Doutor em Ciências) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.

- LIMA, R. N., SANTOS, A. D. C., RIBEIRO, A. S., CARDOZO-FILHO, L., FREITAS, L. S., BARISON, A. COSTA, E. V., ALVES, P. B. Selective amides extraction and biological activity from *Piper hispidum* leaves using the supercritical extraction. **The Journal of Supercritical Fluids**. 2020.

- LIMA, S. L., COLOMBO, A. L., JUNIOR, J., N., A. Fungal Cell Wall: Emerging Antifungals and Drug Resistance. **Front. Microbiol.** 2019.

- LOPES, S. P., YEPES, L. M., PÉREZ-CASTILLO, Y., ROBLEDO, S. M., DE SOUSA, D. P. Alkyl and Aryl Derivatives Based on *p*-Coumaric Acid Modification and Inhibitory Action against *Leishmania braziliensis* and *Plasmodium falciparum*. **Molecules**. 2020.

- LOW, C., M., R., BROUGHTON, H., B., KALINDJIAN, S., B., MCDONALD, I., M. Novel oxathiazinones as gastrin ligands: Unexpected products from the schotten-baumann reaction of arylsulphonyl chlorides with derivatives of aspartic acid. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. 1992.

- LUKESH, J. C., CARNEY, D. W., DONG, H., CROSS, R. M., SHUKLA, V., DUNCAN, K. K., YANG, S., BRODY, D. M., BRÜTSCH, M. M., RADA KOVIC, A., BOGER, D. L. Vinblastine 20' Amides: Synthetic Analogues That Maintain or Improve Potency and Simultaneously Overcome Pgp-Derived Efflux and Resistance. **Journal of Medicinal Chemistry**. 2017.

- MAHESH, S., TANG, K. C., RAJ, M. Amide Bond Activation of Biological Molecules. **Molecules**. 2018.

- MARTÍNEZ, M. D., RIVA, D. A., GARCIA, C., DURÁN, F. J., BURTON, G. Synthesis and Antibacterial Activity of Difluoromethyl Cinnamoyl Amides. **Molecules**. 2020.

- MOLDOVEANU, S. C. Pyrolysis of Various Derivatives of Carboxylic Acids. Pyrolysis of Organic Molecules. **2019**.

- MONTALBETTI, C. A. G. N., FALQUE, V. Amide bond formation and peptide

coupling. **Tetrahedron**. 2005.

- MONTES, R. C. **Amidas halogenadas: reações de acoplamento e investigação *in silico* da atividade antimicrobiana**. João Pessoa, 2016. Tese (Doutorado em Farmacoquímica) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba.

- MORADI, L. G., SARI, M. G., RAMEZANZADEH, B. Polyester-amide hyperbranched polymer as an interfacial modifier for graphene oxide nanosheets: Mechanistic approach in an epoxy nanocomposite coating. **Progress in Organic Coatings**. 2020.

- MURUGAN, R., SCRIVEN, E. F. V. Applications of dialkylaminopyridine (DMAP) catalysts in organic synthesis. **Aldrichimica Acta**. 2003.

- NASCIMENTO, L. G. **Preparação de ésteres nitrocinâmicos e avaliação da sua atividade antimicrobiana**. Paraíba. 2017. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba.

- NIAN, H., XIONG, H., ZHONG, F., TENG, H., TENG, H., CHEN, Y., YANG, G. Anti-inflammatory and antiproliferative prenylated sulphur-containing amides from the leaves of *Glycosmis pentaphylla*. **Fitoterapia**. 2020.

- OLIVEIRA, A. J. M. S., CASTRO, R. D., PESSÔA, H. L. F., WADOOD, A., SOUSA, D. P. Amides Derived from Vanillic Acid: Coupling Reactions, Antimicrobial Evaluation, and Molecular Docking. **BioMed Research International**. 2019.

- OMEGA 4.1.0.0: OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM. <http://www.eyesopen.com>.

- OUELLETTE, R. J., RAWN, J. D. Carboxylic Acid Derivatives. **Organic Chemistry**. 2018.

- PAGADALA, N., SYED, K., TUSZYNSKI, J. Software for molecular docking: a review.

Biophysical Reviews. 2017.

- PEREZ-CASTILLO, Y., LIMA, T. C., FERREIRA, A., R., SILVA, C., R., CAMPOS, R., S., NETO, J., B., A., MAGALHÃES, H., I., F., CAVALCANTI, B., C., JÚNIOR, H., V., N., DE SOUSA, D., P. Bioactivity and Molecular Docking Studies of Derivatives from Cinnamic and Benzoic Acids. **Biomed Res Int.** 2020.

- PERUQUETTI, P.H. **Estudo QSAR aplicado a pesticidas benzimidazólicos para a análise de risco ambiental.** São Paulo, 2019. Dissertação (Mestrado em Química)
- Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2020.

- PETTERSEN, E. F., GODDARD, T. D., HUANG, C. C., COUCH, G. S., GREENBLATT, D. M., MENG, E. C., FERRIN, T. E. UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. **J Comput Chem.** 2004.

- PINZI L., RASTELLI, G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. **International Journal of Molecular Sciences.** 2019.

- PUBCHEM. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 8495, 3-Nitrobenzoyl chloride.

- QUACPAC 2.1.1.0: OpenEye Scientific Software, Santa Fe, NM.
<http://www.eyesopen.com>

- RODRIGUES, M. L., NOSANCHUK, J. D. Fungal diseases as neglected pathogens: A wake-up call to public health officials. **PLoS Neglected Tropical Diseases.** 2020.

- ROY, K., KAR, S., DAS, R.N. Background of QSAR and Historical Developments. Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment. **2015.**

- RUDDARRAJU, R. R., MURUGULLA, A. C., KOTLA, R., TIRUMALASETTY, M. C., B., WUDAYAGIRI, R., DONTABAKTHUNI, S., MAROJU, R. Design, synthesis,

anticancer activity and docking studies of theophylline containing 1,2,3-triazoles with variant amide derivatives. **Med. Chem. Commun.** 2017.

- SAKATA, R. P. **Docking molecular, síntese e estudo biológico de potenciais inibidores da beta-secretase (BACE-1) e da acetilcolinesterase (AChE).** São Paulo, 2018. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química, Campinas, SP.

- SALAMA, E. E. Synthesis of new 2-amino-1,3,4-oxadiazole derivatives with *anti-salmonella typhi* activity evaluation. **BMC Chemistry.** 2020.

- SANT, D. G., TUPE, S. G., RAMANA, C. V., DESHPANDE, M. V. Fungal cell membrane—promising drug target for antifungal therapy. **Journal of Applied Microbiology.** 2016.

- SANTOS, M. S. F. **Híbridos Moleculares Derivados do Álcool Perílico e Borneol: Avaliação Antifúngica.** Paraíba, 2020. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Universidade Federal da Paraíba.

- SARHAN, B. M., NEEMA, B. Z. Synthesis and Spectroscopic Studies of some Divalent Metall Ion Complexes of 3-(4-hydroxyphenyl)-2-(3-(4-nitrobenzoyl) thioureido) propanoic acid. **Baghdad Science Journal.** 2017.

- SCHOTTEN, C.; Ber. Dtsch. Chem. Gess. **1884**, 17, 2544.

- SEAGLE, E. E., WILLIAMS, S. L., CHILLER, T. M., Recent trends in the epidemiology of fungal infections. **Infectious Diseases Clinics of North America.** 2021.

- SELASSIE, C., VERMA R.P. QSAR of toxicology of substituted phenols. **Journal of Pesticide Science.** 2015.

- SHANNON, P., MARKIEL, A., OZIER, O., BALIGA, N. S., WANG, J., T., RAMAGE, D., AMIN, N., SCHWIKOWSKI, B., IDEKER, T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. **Genome Res.** 2003.

- SINGHA, U. P., BHATA, H. R., GAHTORI, P. Antifungal activity, SAR and physicochemical correlation of some thiazole-1,3,5-triazine derivatives. **Journal de Mycologie Médicale**. 2012.

- SIDDIQUI, Z. N. et al. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, 2013.

- SKRZYPEK, M. S., BINKLEY, J., BINKLEY, G., MIYASATO, S. R., SIMISON, M. SHERLOCK, G. The Candida Genome Database (CGD): incorporation of Assembly 22, systematic identifiers and visualization of high throughput sequencing data. **Nucleic Acids Res**. 2017.

- SMITH, S. E., CSANK, C., REYES, G., GHANNOUM, M. A., BERLIN, V. *Candida albicans* *RHO1* is required for cell viability in vitro and in vivo. **FEMS Yeast Research**. 2002.

- STEFANUCCI, A., DIMMITO, M. P., TENORE, G., PIERETTI, S., MINOSI, P., ZENGİN, G., STURARO, C., CALÒ, G., NOVELLINO, E., CICHELLI, A., MOLLICA, A. Plant-derived peptides rubiscolin-6, soymorphin-6 and their c-terminal amide derivatives: Pharmacokinetic properties and biological activity. **Journal of Functional Foods**. 2020.

- SOLOMONS, T.W.G., FRYHLE, C.B., SNYDER, S.A. Química orgânica: volume 2/Tradução Edilson Clemente da Silva [et al]. 12ª edição, p. 190-216 – Rio de Janeiro: LTC, 2019.

- SOUZA, A.S. **Estudos em quimioinformática baseados na estrutura do ligante e do receptor de candidatos a agentes antichagásicos**. São Paulo, 2019. Tese (Doutorado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

- SOVIĆ, I., CINDRIĆ, M., PERIN, N., BOČEK, I., NOVAKOVIĆ, I., DAMJANOVIĆ, A., STANOJKOVIĆ, T., ZLATOVIĆ, M., HRANJEC, M., BERTOŠA, B. Biological Potential

of Novel Methoxy and Hydroxy Substituted Heteroaromatic Amides Designed as Promising Antioxidative Agents: Synthesis, 3D-QSAR **Analysis, and Biological Activity**. **Chemical Research in Toxicology**. 2019.

- TAYLOR, J. E., BULL, S. D. *N*-Acylation Reactions of Amines. **Comprehensive Organic Synthesis II (Second Edition)**. 2014.

- THAKRAL, S., NARANG, R., KUMAR, M., SINGH, V. Synthesis, molecular docking and molecular dynamic simulation studies of 2-chloro-5-[(4-chlorophenyl)sulfamoyl]-*N*-(alkyl/aryl)-4-nitrobenzamide derivatives as antidiabetic agents. **BMC Chem**. 2020.

- VALEUR, E, BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagents. **Chem Soc Rev**. 2009.

- WATERHOUSE, A., BERTONI, M., BIENERT, S., STUDER, G., TAURIELLO, G., GUMIENNY, R., HEER, F., T., DE BEER, T., A., P., REMPFER, C., BORDOLI, L., LEPORE, R., SCHWEDE, T. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes. **Nucleic Acids Res**. 2018.

- WANG, X., YU, S., WANG, C., XUE, D., XIAO, J. BODIPY catalyzed amide synthesis promoted by BHT and air under visible light. *Org. Biomol. Chem*. 2016.

- WANG, Z., SUN, H., YAO, X., LI, D., XU, L., LI, Y., TIAN, S., HOU, T. Comprehensive evaluation of ten docking programs on a diverse set of protein–ligand complexes: the prediction accuracy of sampling power and scoring power. **Phys.Chem.Chem.Phys**. 2016.

- WU, J., WU, Y., DAI, J., XU, H. Benzoic Acid-Catalyzed Transamidation Reactions of Carboxamides, Phthalimide, Ureas and Thioamide with Amines. **Adv. Synth. Catal**. 2014.

- XIE, L., DIXON, D., J. Iridium-catalyzed reductive Ugi-type reactions of tertiary amides. **Nat Commun**. 2018.

- YARLAGADDA, B., DEVUNURI, N., MANDAVA, V., B., R. Facile Synthesis of N-(Benzyl-1H-1,2,3-Triazol-5-yl)methyl)-4-(6-Methoxybenzo[d]Thiazol-2-yl)-2-Nitrobenzamides via Click Chemistry. **Journal of Heterocyclic Chemistry**. 2016.

11.0 ANEXOS

11.1. Informações de apoio

Tabela 14: Resultados do acoplamento molecular do composto aos seus potenciais alvos moleculares.

Alvo	Pose	PLP ^(a)	Z_PLP ^(b)	GS ^(c)	Z_GS ^(d)	CS ^(e)	Z_CS ^(f)	ASP ^(g)	Z_ASP ^(h)	Agregado Z-score
ERG11	1	60.15	1.63	26.30	1.16	25.69	1.87	33.83	0.87	1.38
	2	54.75	0.51	27.91	1.39	22.24	0.63	37.03	1.63	1.04
	3	57.87	1.16	21.24	0.41	24.46	1.43	34.68	1.07	1.02
ERG1	1	55.68	1.47	10.91	0.47	21.15	1.89	41.24	2.87	1.67
ERG2	1	52.97	2.59	25.43	1.12	19.45	1.30	29.23	1.49	1.62
	2	52.00	2.30	14.82	0.20	19.12	1.19	27.66	1.00	1.17
	3	47.70	1.05	19.90	0.64	18.93	1.12	30.03	1.74	1.14
TMP1	1	52.03	2.49	13.66	0.89	8.83	0.38	24.94	1.53	1.32
	2	45.64	1.12	19.40	1.31	9.17	0.46	25.30	1.59	1.12
	3	42.79	0.52	19.15	1.29	14.05	1.59	22.47	1.07	1.12
ERG10	1	47.80	2.07	21.98	2.27	12.42	-0.47	16.98	1.68	1.39
	2	45.05	1.59	15.68	1.41	13.60	0.02	17.72	1.89	1.23
	3	39.55	0.62	9.56	0.58	18.75	2.16	13.81	0.76	1.03
ERG13	1	39.78	1.78	24.61	1.51	14.63	0.53	21.60	1.52	1.34
	2	40.45	1.96	13.04	0.37	18.48	1.99	17.63	0.47	1.20
	3	36.78	0.98	13.47	0.42	16.72	1.32	23.20	1.94	1.16
HMG1	4	38.91	1.55	14.46	0.51	13.98	0.28	22.45	1.74	1.02
ERG12	1	35.29	1.20	16.94	1.42	10.45	0.34	17.61	1.80	1.19
	1	33.95	1.89	13.55	0.76	22.22	1.65	23.15	1.82	1.53
ERG8	2	31.77	1.19	17.19	0.88	19.30	1.23	18.19	1.19	1.12
	1	34.39	-0.24	13.99	1.28	16.80	0.97	15.44	1.45	0.86
MVD	1	25.95	1.55	-62.39	0.31	6.73	2.70	-2.22	0.72	1.32
	2	24.14	1.07	-47.67	0.95	-0.62	1.03	0.69	1.25	1.07
IDI1	1	52.91	1.64	24.19	0.83	19.74	2.10	24.79	1.63	1.55
	2	48.96	0.65	20.49	0.39	18.89	1.82	25.94	2.01	1.22
	3	51.60	1.31	25.74	1.01	19.59	2.05	21.01	0.38	1.19
	4	54.76	2.10	24.28	0.84	15.94	0.85	21.63	0.59	1.10
ERG20	1	38.54	0.90	21.74	1.35	16.21	1.19	17.52	1.59	1.26
	2	34.99	0.02	19.75	1.18	15.07	0.86	19.82	2.11	1.04
	3	40.77	1.45	19.08	1.12	15.30	0.93	13.01	0.56	1.02
	4	35.57	0.17	19.17	1.13	15.38	0.95	18.48	1.81	1.01
ERG9	1	55.61	3.53	12.40	0.45	24.18	2.11	30.90	1.77	1.97
	2	49.98	1.60	13.67	0.65	22.92	1.53	31.41	1.91	1.42
	3	46.48	0.40	17.21	1.20	21.86	1.03	30.48	1.65	1.07
ERG7	1	49.66	0.92	22.37	1.27	15.25	1.17	31.66	0.05	0.85
ERG26	1	45.15	2.29	18.44	0.33	18.22	1.93	22.93	1.46	1.50
	2	44.96	2.21	16.03	-0.04	16.30	1.17	20.90	0.74	1.02

ERG27	1	54.72	1.33	15.94	1.49	17.20	1.78	33.97	2.33	1.73
	2	55.05	1.41	14.09	1.22	17.44	1.86	30.40	1.52	1.50
	3	53.15	0.91	11.25	0.79	17.61	1.92	30.08	1.44	1.27
ERG6	1	45.21	2.85	16.04	0.81	15.21	1.57	15.48	0.09	1.33
	2	41.87	1.75	16.11	0.82	13.90	0.86	19.14	1.54	1.24
	3	40.51	1.30	3.65	-0.42	15.43	1.68	19.24	1.58	1.04
ERG5	1	57.21	1.24	22.82	1.06	21.00	1.83	32.42	2.52	1.66
	2	62.58	2.72	-4.54	-1.09	21.37	2.02	29.56	1.41	1.26
KRE6	1	45.70	1.56	17.23	1.07	15.39	1.64	31.41	1.68	1.49
	2	43.95	1.22	23.30	1.39	11.61	0.82	27.42	0.99	1.10
XOG1	1	42.56	2.42	23.99	1.29	9.34	1.74	24.39	1.98	1.86
	2	37.88	1.05	26.77	1.56	9.77	1.84	21.71	1.52	1.49
	3	41.09	1.99	14.18	0.34	9.63	1.81	17.18	0.73	1.22
BHSD	1	54.93	1.52	29.07	1.37	16.48	0.48	39.88	1.55	1.23
	2	56.62	2.00	23.00	0.69	18.16	1.10	37.10	0.98	1.19
CWH41	1	50.51	2.92	27.14	1.33	16.82	1.21	30.35	1.28	1.69
SKN2	1	51.42	1.66	24.65	0.92	16.45	0.81	32.26	1.17	1.14
BGL22	1	35.48	1.59	-3.76	-0.32	15.38	1.79	18.34	1.74	1.20
	2	34.26	1.32	14.04	1.56	13.31	1.37	11.28	-0.19	1.02
PHR1	1	41.81	1.36	23.37	1.46	15.61	2.07	15.03	-0.10	1.20
	2	37.87	0.32	29.50	2.52	12.14	0.56	22.29	1.39	1.20
PHR3	1	29.65	0.17	14.41	1.10	8.45	0.86	18.03	1.48	0.90
PGA4	1	37.20	2.29	12.97	0.49	11.34	2.04	11.32	0.11	1.23
	2	34.38	1.59	10.68	0.28	8.83	1.40	17.76	1.55	1.20
PGA5	1	40.53	1.38	13.64	0.29	12.04	2.28	26.59	2.05	1.50
	2	43.06	2.09	17.01	0.93	11.15	1.78	17.94	0.32	1.28
RHO1	1	68.14	1.84	39.74	1.30	19.66	0.76	23.91	1.04	1.23
	2	64.46	1.17	36.01	0.67	16.96	-0.17	32.24	2.99	1.17
	3	67.33	1.69	38.26	1.05	18.24	0.27	24.67	1.22	1.06
	4	65.28	1.32	27.75	-0.72	24.22	2.33	24.94	1.28	1.05
HSP90	1	48.33	2.56	18.88	1.71	21.91	1.57	22.09	1.23	1.77
	2	46.64	1.97	16.37	1.40	21.63	1.48	19.61	0.48	1.33
PKC1	1	44.81	1.67	-0.30	0.01	18.18	2.30	19.87	1.79	1.45
	2	43.92	1.38	6.09	0.87	18.67	2.53	15.75	0.26	1.26
	3	44.64	1.62	1.84	0.30	15.69	1.15	19.32	1.59	1.17

(a) PLP score. (b) PLP Z-score. (c) GoldScore score. (d) GoldScore Z-score. (e) ChemScore score. (f) ChemScore Z-score. (g) ASP score. (h) ASP Z-score.

Tabela 15: Energias livres preditas de ligação do composto **14** aos seus alvos potenciais e seus componentes.

Alvo	Conformer	MM-PBSA Component							ΔG_{Total}
		VD WAALS	EEL	EPB	ENPOLAR	EDISPER	ΔG_{gas}	ΔG_{solv}	
ERG11	1	-36.00	-4.58	23.40	-23.45	41.62	-40.58	41.56	0.98
	2	-33.65	-4.94	23.71	-22.86	41.45	-38.59	42.30	3.71
	3	-34.48	-5.03	25.86	-23.53	42.64	-39.51	44.97	5.47
ERG1	1	-34.97	-13.98	29.72	-23.87	41.83	-48.95	47.67	-1.28
ERG2	1	-35.04	2.54	83.76	-23.41	42.72	-32.50	103.07	70.57
	2	-34.94	-2.90	40.86	-23.65	41.01	-37.84	58.23	20.39
	3	-34.70	-25.15	61.48	-23.03	43.02	-59.85	81.46	21.61
TMP1	1	-34.98	-11.22	37.26	-22.39	40.34	-46.21	55.21	9.00
	2	-32.54	-9.51	28.96	-22.01	40.42	-42.05	47.37	5.32
	3	-36.14	-32.55	52.23	-22.71	41.21	-68.69	70.74	2.05
ERG10	1	-24.83	-16.46	32.02	-17.10	27.96	-41.30	42.89	1.59
	2	-22.33	-1.98	14.74	-15.18	26.63	-24.32	26.19	1.87
	3	-8.95	-1.50	6.10	-6.36	13.07	-10.45	12.80	2.35
ERG13	1	-32.76	-11.29	31.96	-22.95	39.39	-44.04	48.40	4.35
	2	-31.44	-12.00	33.09	-22.54	39.44	-43.44	50.00	6.55
	3	-33.48	-24.31	42.11	-22.93	39.72	-57.79	58.90	1.11
HMG1	4	-31.89	-20.12	38.12	-22.77	38.40	-52.01	53.74	1.73
	1	-26.39	-19.72	32.59	-19.31	35.44	-46.11	48.72	2.62
ERG12	1	-24.48	-18.73	33.40	-18.01	31.35	-43.21	46.75	3.54
	2	-25.25	-10.48	26.77	-18.36	31.37	-35.73	39.77	4.05
ERG8	1	-32.83	-27.30	43.72	-23.20	40.34	-60.14	60.86	0.72
MVD	1	-36.12	-28.60	55.71	-23.42	40.53	-64.72	72.82	8.10
	2	-35.06	-36.63	53.08	-23.20	39.53	-71.69	69.42	-2.27
IDI1	1	-32.08	-16.40	38.71	-21.86	39.24	-48.48	56.08	7.60
	2	-29.40	-7.38	26.91	-20.40	36.78	-36.77	43.29	6.52
	3	-28.55	-10.26	29.32	-20.53	37.01	-38.81	45.81	7.00
ERG20	4	-33.35	-24.49	53.43	-22.50	39.64	-57.84	70.56	12.72
	1	-20.55	-12.21	30.57	-17.24	30.27	-32.76	43.60	10.83
	2	-23.13	-52.08	64.27	-18.62	31.74	-75.21	77.39	2.18
	3	-26.94	-31.88	51.37	-19.25	33.53	-58.82	65.64	6.83
ERG9	4	-27.71	-53.40	75.25	-20.09	34.97	-81.11	90.13	9.02
	1	-28.71	-0.57	16.56	-20.33	37.38	-29.28	33.62	4.33
	2	-28.27	-1.14	18.14	-19.79	36.53	-29.41	34.88	5.48
ERG7	3	-30.86	-11.06	24.91	-21.82	38.54	-41.92	41.64	-0.28
	1	-36.78	-4.75	43.79	-23.75	42.79	-41.53	62.83	21.30
ERG26	1	-33.12	-17.26	41.29	-22.81	40.49	-50.39	58.97	8.58
	2	-27.95	-20.97	43.87	-19.62	34.94	-48.91	59.19	10.28
ERG27	1	-38.29	-27.29	49.63	-24.63	40.87	-65.58	65.87	0.28
	2	-36.12	-20.64	44.97	-24.28	41.15	-56.76	61.84	5.08
	3	-39.05	-29.18	56.46	-24.53	40.58	-68.23	72.51	4.28

ERG6	1	-28.05	-9.03	23.65	-18.68	31.75	-37.08	36.72	-0.36
	2	-20.62	-9.84	21.29	-14.70	26.58	-30.47	33.17	2.70
	3	-26.21	-26.76	41.56	-18.61	32.38	-52.97	55.33	2.36
ERG5	1	-31.34	-12.11	26.95	-21.63	40.55	-43.46	45.88	2.42
	2	-34.22	-10.87	30.57	-22.75	42.16	-45.09	49.98	4.89
KRE6	1	-37.89	-33.46	68.45	-24.26	41.66	-71.35	85.85	14.49
	2	-31.43	-35.26	99.54	-22.30	39.32	-66.69	116.56	49.87
XOG1	1	-39.26	-20.05	53.35	-24.39	41.52	-59.31	70.48	11.17
	2	-34.57	-5.15	82.08	-22.03	40.38	-39.71	100.43	60.72
	3	-35.79	9.90	72.77	-23.46	42.06	-25.89	91.38	65.48
BHSD	1	-26.95	-30.81	67.23	-19.52	33.62	-57.77	81.32	23.56
	2	-25.19	-21.24	43.99	-18.26	30.51	-46.43	56.24	9.82
CWH41	1	-29.51	-2.96	44.11	-21.60	38.02	-32.47	60.54	28.07
SKN2	1	-33.00	-20.04	39.91	-22.92	39.51	-53.04	56.50	3.46
BGL22	1	-28.57	-48.50	105.18	-21.31	35.39	-77.07	119.27	42.20
	2	-28.88	-5.52	27.90	-21.56	36.34	-34.40	42.67	8.27
PHR1	1	-28.85	-14.19	35.74	-19.39	35.03	-43.04	51.38	8.33
	2	-27.41	-10.78	37.24	-19.08	34.81	-38.20	52.98	14.78
PHR3	1	-22.27	-1.02	16.25	-15.62	30.73	-23.29	31.36	8.06
PGA4	1	-23.19	-21.99	56.13	-16.50	29.13	-45.17	68.75	23.58
	2	-24.29	40.21	68.29	-15.97	30.17	15.92	82.49	98.40
PGA5	1	-24.19	-9.79	28.11	-17.27	31.93	-33.98	42.77	8.79
	2	-24.53	-11.82	33.08	-17.10	32.92	-36.36	48.90	12.54
RHO1	1	-38.11	-22.32	41.87	-24.08	39.44	-60.42	57.22	-3.20
	2	-37.99	-32.82	50.73	-24.91	40.72	-70.81	66.54	-4.27
	3	-30.83	-16.01	36.22	-21.24	35.52	-46.84	50.50	3.65
	4	-31.34	-25.10	38.54	-21.42	36.31	-56.44	53.44	-3.00
HSP90	1	-28.15	-19.54	34.50	-20.98	36.59	-47.69	50.11	2.42
	2	-29.40	-12.21	29.99	-20.02	35.69	-41.61	45.66	4.05
PKC1	1	-29.94	-10.81	40.02	-21.29	37.82	-40.75	56.55	15.80
	2	-30.84	-14.18	53.34	-22.04	37.63	-45.02	68.93	23.91
	3	-32.76	-21.37	51.43	-23.12	39.61	-54.13	67.92	13.79