



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



DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Estudo antifúngico de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a
espécies de *Candida***

Jeremias Justo Emídio

João pessoa – PB

2023



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



Jeremias Justo Emídio

Estudo antifúngico de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a espécies de *Candida*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, como requisito obrigatório de conclusão do Mestrado, para obtenção do título de Mestre em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Área de Concentração: FARMACOQUÍMICA.

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

João pessoa-PB

2023

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

E53e Emídio, Jeremias Justo.
Estudo antifúngico de derivados benzoxazóis e
benzotiazóis frente a espécies de Candida / Jeremias
Justo Emídio. - João Pessoa, 2023.
123 f. : il.

Orientação: Jeremias Justo Emídio.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCS.

1. Agentes contra Candida. 2. Benzoxazóis. 3.
Atividade antimicrobiana. 4. Ácido cinâmico. I. Emídio,
Jeremias Justo. II. Título.

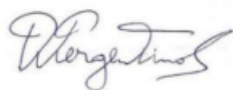
UFPB/BC CDU 615.282.84(043)

Jeremias Justo Emídio

**Estudo antifúngico de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a
espécies de *Candida***

Aprovada em 07/06/2023

Banca examinadora



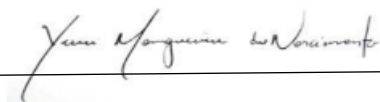
Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

Presidente da Banca -UFPB



Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues

(Examinador externo)



Prof. Dr. Yuri Manguiera do Nascimento

(Examinador interno)

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família, por sempre me apoiar nos momentos mais difíceis, especialmente a minha mãe e ao meu pai *in memoriam*, irmãos, primos(as) e tios(as) por todos os ensinamentos e incentivos, bem como aos meus amigos pelo apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me guiar nas decisões e me mostrar o caminho rumo ao meu propósito.

Aos meus pais Maria José e Ulisses *in memorian* pela minha educação, apoio e ensinamentos.

Aos irmãos, Rosivânia, Rosimere, Roserlândia, José, Rivanildo, Manoel, João Paulo, Geneilton, Jefferson e Maria Gêssica, por todo apoio, incentivo e confiança.

Aos meus sobrinhos, Olívia, Tamirys, Tassiano, Esdras, Alyne, Henrique, Everton, Emerson, Rennan, Thauane, Laís e Ravi, pela existência, convívio e cordialidade.

A todos os familiares, avós *in memorian*, primos e tios pela existência e ensinamentos.

Aos meus amigos, pelo companheirismo durante essa jornada, conquistas e fracassos, que me incentivaram e contribuíram para o enfrentamento de cada etapa.

Ao meu orientador, Dr. Damião Pergentino de Sousa, pelo acolhimento durante meu ingresso no Laboratório de Química Farmacêutica, por todos os ensinamentos, e sobretudo pela paciência durante a condução das atividades.

Aos amigos do Laboratório de Química Farmacêutica, especialmente a Carlos, Joice e Fernando com os quais estive presente a maior parte do tempo, Allana Brunna, Lázaro, Marianna, Mayara, Anna Emanuela, Vitória e Camila obrigado pela companhia, contribuição e ajuda durante a realização das atividades no laboratório.

A todos os professores, que contribuíram para minha formação desde o fundamental até a graduação e pós-graduação, obrigado pelos ensinamentos e orientações.

Aos técnicos do LMCA, Marcelo e Evandro pelo apoio nas análises dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C . Ao técnico do Lacon, Saulo Tarso pelas análises de IV.

Ao Professor Dr. Ricardo Dias de Castro e David Henrique Xavier Barbosa do Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (LAFECC) por terem realizado os testes antifúngicos destinados ao projeto.

Agradeço à CAPES pelo apoio financeiro e a UFPB pelo apoio institucional e a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste projeto

*“Porque se chamava moço
Também se chamava estrada
Viagem de ventania*

[...]

*Porque se chamavam homens
Também se chamavam sonhos
E sonhos não envelhecem...”*

RESUMO

EMÍDIO, Jeremias Justo. **Estudo antifúngico de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a espécies de *Candida***. 125p. Dissertação de mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – 2023.

Nos últimos anos houve um aumento na incidência das doenças decorrentes de infecção fúngica, prevalecendo atualmente como importante fator de morbidade e mortalidade em humanos. A resistência fúngica à terapia farmacológica tem sido constatada em várias espécies, com destaque para o gênero *Candida*. Dessa forma, a busca por novos candidatos a fármacos é importante para o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo preparar e avaliar a atividade farmacológica de treze derivados benzoxazóis e benzotiazóis através de estudos *in vitro*, com a perspectiva de obter compostos biologicamente ativos e investigar parâmetros químicos relevantes para a bioatividade. Os compostos foram preparados por meio do acoplamento descarboxilativo de derivados do ácido cinâmico com um reagente acoplador e foram estruturalmente caracterizados por técnicas espectroscópicas de Infravermelho, Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio e Carbono Treze e Espectrometria de Massas de Alta Resolução. Dentre os produtos obtidos, seis compostos são inéditos. Em seguida, realizou-se os ensaios antifúngicos via a determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM). Em adição, investigou-se o mecanismo de ação (sorbitol e ergosterol) frente à *C. albicans*, no qual evidenciou-se que a ação antifúngica ocorre tendo como alvo a membrana plasmática. A razão CFM/CIM determinou que os compostos **3**, **6** e **7** possuem atividade fungistática ($CFM/CIM \geq 4$), já os demais compostos exercem atividade fungicida ($CFM/CIM < 4$) para as espécies avaliadas. Todos os compostos apresentaram atividade nas concentrações testadas (1000 a 7,81 µg/mL). O 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (**1**) apresentou bioatividade forte contra *C. krusei* com CIM de 69,9 µM (15,6 µg/mL), moderada frente a *C. albicans* e fraca contra *C. tropicalis*, com CIM de 279,9 µM (62,6 µg/mL) e 559,8 µM (125,0 µg/mL), respectivamente. O 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (**2**) por sua vez demonstrou bioatividade moderada com CIM igual a 250,0 µM (62,5 µg/mL) contra *C. krusei* e apresentou fraca atividade contra *C. albicans* e *C. tropicalis* com CIM de 1036,9 µM (250,0 µg/mL). A análise da relação estrutura-atividade dos compostos **1-5**, todos com uma metila ligada ao carbono 5 do núcleo benzoxazóis, evidenciou que a inserção de grupos substituintes no anel benzílico reduz a potência farmacológica. Os benzotiazóis **6-9**, sem substituição no anel benzotiazol, e os benzoxazóis **10-13**, com um átomo de cloro ligado ao carbono 5 do núcleo benzoxazol, também exibiram bioatividade variando de muito fraca a fraca, independentemente das substituições no anel benzílico. De forma geral, os compostos bioativos podem representar um importante ponto de partida no planejamento futuro de novos candidatos a fármacos antifúngicos.

Palavras-chave: Ácido Cinâmico, benzoxazóis, Atividade Antimicrobiana.

ABSTRACT

EMÍDIO, Jeremias Justo. **Antifungal study of benzoxazole and benzothiazole derivatives against *Candida* species**. 125p. Master's thesis in Bioactive Natural and Synthetic Products - Center for Health Sciences, Federal University of Paraíba, João Pessoa – 2023.

In recent years there has been an increase in the incidence of diseases resulting from fungal infection, currently prevailing as an important factor of morbidity and mortality in humans. Fungal resistance to pharmacological therapy has been observed in several species, especially in the genus *Candida*. Thus, the search for new drug candidates is important for the development of more effective drugs. Therefore, the present study aimed to prepare and evaluate the pharmacological activity of thirteen benzoxazole and benzothiazole derivatives through *in vitro* studies, with the perspective of obtaining biologically active compounds and investigating chemical parameters relevant to bioactivity. The compounds were prepared by means of the decarboxylation coupling of cinnamic acid derivatives with a coupler reagent and were structurally characterized by spectroscopic techniques of Infrared, Nuclear Magnetic Resonance of Hydrogen and Carbon Thirteen and High Resolution Mass Spectrometry. Among the products obtained, six compounds are unprecedented. Subsequently, the antifungal assays were performed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum fungicide concentration (MFC). In addition, the mechanism of action (sorbitol and ergosterol) against *C. albicans* was investigated, in which it was evidenced that the antifungal action occurs targeting the plasma membrane. The CFM/MIC ratio determined that compounds **3**, **6** and **7** have fungistatic activity (CFM/MIC 4), while the other compounds exert fungicidal activity (CFM/MIC 4) $\geq$ for the species evaluated. All compounds showed activity at the tested concentrations (1000 to 7.81 $\mu\text{g/mL}$). 2-benzyl-5-methylbenzo[d]xazole (**1**) showed strong bioactivity against *C. krusei* with MIC of 69.9 μM (15.6 $\mu\text{g/mL}$), moderate against *C. albicans* and weak against *C. tropicalis*, with MIC of 279.9 μM (62.6 $\mu\text{g/mL}$) and 559.8 μM (125.0 $\mu\text{g/mL}$), respectively. The 2-(2-fluorobenzyl)-5-methylbenzo[d]xazole (**2**) in turn showed moderate bioactivity with MIC equal to 250.0 μM (62.5 $\mu\text{g/mL}$) against *C. krusei* and showed weak activity against *C. albicans* and *C. tropicalis* with MIC of 1036.9 μM (250.0 $\mu\text{g/mL}$). The analysis of the structure-activity relationship of compounds **1-5**, all with a methyl bound to carbon 5 of the benzoxazole nucleus, showed that the insertion of substituent groups in the benzyl ring reduces the pharmacological potency. Benzoazoles **6-9**, with no substitution in the benzothiazole ring, and benzoxazoles **10-13**, with a chlorine atom attached to carbon 5 of the benzoxazole nucleus, also exhibited bioactivity ranging from very weak to weak, regardless of the substitutions in the benzyl ring. In general, bioactive compounds may represent an important starting point in the future planning of new antifungal drug candidates.

Keywords: Cinnamic Acid, Benzoxazoles, Antimicrobial Activity.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1: Reações de síntese de benzotiazóis..	31
Esquema 2: Reações de síntese de benzoxazóis.....	32
Esquema 3: Representação geral da síntese dos benzotiazóis e benzoxazóis.	34
Esquema 4: Mecanismo reacional proposto.....	35
Esquema 5: Planejamento das etapas do estudo.....	37
Esquema 6: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-aminotiofenol e ácidos cinâmicos.....	39
Esquema 7: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos.....	39
Esquema 8: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos.....	40
Esquema 9: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-metilfenol e ácidos cinâmicos.....	69
Esquema 10: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-aminotiofenol e ácidos cinâmicos.....	86
Esquema 11: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos.	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estruturas químicas das principais classes de antifúngicos disponíveis para uso clínico.	25
Figura 2: Fármacos derivados de produtos naturais com relevância terapêutica..	27
Figura 3: Estrutura química do ácido cinâmico.	28
Figura 4: Núcleo estrutural comum aos derivados benzoxazóis e benzotiazóis sintetizados, onde R corresponde ao O ou S, respectivamente.	29
Figura 5: Fármacos com núcleo benzoxazol.	30
Figura 6: Estrutura química dos benzoxazóis e benzotiazóis preparados.	38
Figura 7: Estrutura química do composto 1 e núcleo estrutural dos benzoxazóis 1-5 . .	55
Figura 8: Núcleo estrutural comum aos benzotiazóis 6-9	57
Figura 9: Núcleo estrutural comum aos benzoxazóis 10-13	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados físico-químicos e experimentais dos produtos obtidos	41
Tabela 2: Dados da espectroscopia no infravermelho – estiramentos (V) dos compostos inéditos em cm^{-1}	43
Tabela 3: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os compostos inéditos (2, 5 e 8).	45
Tabela 4: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os compostos inéditos (10, 11 e 13).	46
Tabela 5: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δC) para os compostos inéditos (2, 5, 8, 10, 11 e 13).	47
Tabela 6: Resultado da análise de espectrometria de massas de alta resolução para os compostos inéditos (2, 5, 8, 10,11 e 13).	48
Tabela 7: Parâmetros estabelecidos para a classificação da bioatividade dos compostos sintetizados de acordo com os valores da CIM	49
Tabela 8: CIM, CFM e CIM/CFM dos derivados sintéticos e nistatina frente à <i>Candida</i> spp. A CIM e a CFM foram expressas em $\mu\text{g/mL}$ (μM).	51
Tabela 9: Valores da CIM dos compostos 1 e 2 e nistatina na ausência e presença do ergosterol exógeno (1.008.mM) contra cepa de <i>C. albicans</i> ATCC 60193 expressos em $\mu\text{g/mL}$ (μM).	61
Tabela 10: Valores da CIM dos compostos 1 e 2 e caspofungina na ausência e presença do sorbitol (0.8 M) contra cepa de <i>C. albicans</i> ATCC 60193 expressos em $\mu\text{g/mL}$ (μM)	63

LISTA DE ESPECTROS

Figura 1: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1)	70
Figura 2: Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).	71
Figura 3: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).	71
Figura 4: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).	72
Figura 5: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(2-fluorobenzil) -5-metilbenzo[d]xazol (2)	73
Figura 6: Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).	74
Figura 7: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).	74
Figura 8: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).	75
Figura 9: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).	75
FIGURA 10: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).	76
Figura 11: Figura: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]oxazol (2).	76
Figura 12: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).	77
Figura 13: Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).	78
Figura 14: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).	78
Figura 15: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).	79

Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 5-metil-2-(4-metilbenzil)benzo[d]xazol (3).....	79
Figura 17: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (4).	80
Figura 18: Espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (4).	81
Figura 19: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (4).....	81
Figura 20: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (4).....	82
Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (04).	82
Figura 22: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).....	83
Figura 23: Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).	84
Figura 24: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).	84
Figura 25: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).	85
Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).	85
Figura 27: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).....	86
Figura 28: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6)	88
Figura 29: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).	88
Figura 30: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).	89
Figura 31: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).	89
Espectro 32: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 5-metil-2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).	90

Figura 33: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).	91
Figura 34: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).	91
Figura 35: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).	92
Figura 36: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).	92
Figura 37: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).	93
Figura 38: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	94
Figura 39: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	94
Figura 40: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	95
Figura 41: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	95
Figura 42: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	96
Figura 43: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).	96
Figura 44: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).	97
Figura 45: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).	98
Figura 46: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).	98
Figura 47: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).	99
Figura 48: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).	99
Figura 49: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (10).	101

Figura 50: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (10)	101
Figura 51: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(10).	102
Figura 52: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(10).	102
Figura 53: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(10).	103
Figura 54: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) de 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (10).	103
Figura 55: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (10).	104
Figura 56: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11)	105
Figura 57: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11)	105
Figura 58: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11).	106
Figura 59: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11).	106
Figura 60: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11)	107
Espectro 61: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11).	107
Figura 62: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)	108
Figura 63: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)	109
Figura 64: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)	109
Figura 65: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)	110
Figura 66: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)	110

Figura 67: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol (13)	111
Figura 68: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13)	112
Figura 69: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13).....	112
Figura 70: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13)	113
Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13)	113
Figura 72: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(benzo[d][1,3] dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13).....	114

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AcOH- Ácido acético

AcOEt- Acetato de etila

ASD - Agar Sabouraud Dextrose

APT- *Attached Proton Test*

ATR- Reflectância Total Atenuada

CBS - Central Bureau de Culturas Fúngicas

CC- Cromatografia em Coluna

CCDA- Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CDCl₃- Clorofórmio deuterado

CFM- Concentração Fungicida Mínima

CI₅₀- Concentração capaz de inibir o crescimento de 50% das cepas dos fungos

CIM- Concentração Inibitória Mínima

CLSI- Clinical and Laboratory Standards Institute

d- Dubleto

dd- Duplo dubleto

ddd- Dubleto de dubleto de dubleto

DMSO- Dimetilsulfóxido

Hex = hexano

Hz- Hertz

IV- Infravermelho

J- Constante de Acoplamento

m/z- Razão massa carga

m- Multiplete

Me- Metila

MeO- Metoxila

MHz- Megahertz

mL- Mililitro

ppm- Partes por milhão

REA- Relação Estrutura-Atividade

R_f- Fator de Retenção

RMN de ¹³C- Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN de ¹H- Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

s- Simpleto

sl- Simpleto largo

t- Tripleto

δ- Deslocamento químico em ppm

Sumário

1. INTRODUÇÃO	20
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1. Considerações gerais sobre os fungos	21
2.2. Considerações gerais sobre o gênero <i>Candida</i> e candidíase.....	22
2.3. Terapia antifúngica e resistência microbiana.....	23
2.4. Produtos naturais como fonte de fármacos	26
2.5. Considerações gerais sobre o ácido cinâmico e seus derivados	27
2.6. Propriedades gerais e relevância industrial do benzoxazóis e benzotiazóis	29
2.7. Potencial terapêutico dos benzoxazóis e análogos.....	33
2.8. Metodologia de síntese dos benzoxazóis e benzotiazóis	33
2.9. Relação entre estrutura química e atividade biológica	35
3. OBJETIVOS.....	36
3.1. Objetivo geral.....	36
3.2. Objetivos específicos	36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1. Planejamento do estudo	36
4.2. Etapa química	38
4.2.1. Preparo dos derivados benzoxazóis e benzotiazóis.....	38
4.3. Análise espectroscópica dos benzoxazóis e benzotiazóis.....	42
4.3.1. Espectroscopia no Infravermelho.....	42
4.3.2. Análise de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C	44
4.3.3. Espectrometria de massas dos compostos inéditos.....	48
5. Etapa biológica.....	48
5.1. Análise da atividade antifúngica dos derivados benzoxazóis e benzotiazóis	48
5.2. Relação estrutura atividade biológica dos benzoxazóis e benzotiazóis	55
5.3. Mecanismo de ação dos compostos com melhor atividade frente à <i>C. albicans</i> ATCC 60193.....	60

6. CONCLUSÕES.....	64
7. PARTE EXPERIMENTAL QUÍMICA	64
7.1. Materiais e métodos	64
7.2. Extração e métodos cromatográficos	65
7.3. Métodos espectroscópicos	65
7.3.1. Ressonância Magnética Nuclear	65
7.3.2. Espectroscopia de Infravermelho	66
7.4. Ponto de Fusão	66
8. PARTE EXPERIMENTAL – BIOLÓGICA.....	66
8.1. Ambiente de trabalho	66
8.2. Substâncias, matérias e métodos.....	66
8.3. Preparo do inóculo	66
8.4. Análise da atividade antifúngica	67
8.5. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)	67
8.6. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)	68
8.7. Determinação do mecanismo de ação.....	68
8.7.1. Ensaio do sorbitol.....	68
8.7.2. Ensaio do ergosterol	68
9. Preparo dos benzoxazóis e benzotiazóis	69
9.1. Preparação dos benzoxazóis 1-5	69
9.2. Dados espectroscópicos dos benzoxazóis 1-5	70
9.3. Preparação dos benzotiazóis 6-9	86
9.4. Dados espectroscópicos dos benzotiazóis 6-9	87
9.5. Preparação dos benzoxazóis 10-13	100
9.6. Dados espectroscópicos dos benzoxazóis 10-13	100
10. REFERÊNCIAS	115

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos observa-se um aumento na incidência das doenças decorrentes de infecção fúngica, prevalecendo atualmente como importante fator de morbidade e mortalidade (BERKOW e LOCKHART, 2017). Estima-se que cerca de 1,7 bilhão de indivíduos em todo o mundo sejam acometidos por alguma infecção fúngica (PERFECT, 2017; CHUDZIK, *et al.*, 2015; WHALEY, *et al.*, 2017). Cabe salientar que diferentes espécies de fungos podem estar presentes de forma comensal nas mais variadas regiões do corpo, como pele e mucosas no geral (CHANYACHAILERT *et al.*, 2019). No entanto, em condições de desequilíbrio do sistema imunológico e microbiota do indivíduo os fungos podem adotar a condição de patógenos oportunistas, ocasionando, portanto, uma variedade de infecções, sejam locais ou sistêmicas (BHATTACHARJEE, 2016; BASMACIYAN *et al.*, 2019).

Nesse sentido, o gênero *Candida* spp. representa um grupo de patógenos oportunistas, que se destacam como principais agentes responsáveis por infecções nosocomiais, ocupando o quarto lugar entre todas as infecções adquiridas em ambientes hospitalares (CHUDZIK, *et al.*, 2015; WHALEY, *et al.*, 2017). O tratamento farmacológico das doenças fúngicas envolve uma variedade de fármacos, sendo a escolha do tratamento inerente as condições de saúde do paciente e a características intrínsecas da infecção. Os antifúngicos mais utilizados atualmente pertencem as classes dos poliênicos, equinocandinas e principalmente os derivados azólicos (CHUDZIK, *et al.*, 2015; WHALEY, *et al.*, 2017; LIMA *et al.*, 2019).

No entanto, em virtude de variados fatores, como o uso rotineiro desses fármacos na clínica, observa-se com maior frequência a resistência dos fungos ao tratamento farmacológico (WHALEY, *et al.*, 2017; BERKOW e LOCKHART, 2017). Dessa forma, é necessária a busca por novos agentes químicos com atividade antifúngicos e que esses sejam seguros e eficazes no contexto da aplicação clínica (BAIOTTO *et al.*, 2023).

Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo preparar e avaliar a atividade farmacológica de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a espécies de *Candida* com a perspectiva de obter compostos biologicamente ativos e investigar parâmetros químicos relevantes para a bioatividade.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Considerações gerais sobre os fungos

Os fungos são organismos de vida livre, unicelulares ou pluricelulares, os primeiros denominados leveduriformes e os últimos filamentosos, heterótrofos e sua reprodução pode ser sexuada ou assexuada (BERKOW e LOCKHART, 2017; SANTOS *et al.*, 2018). Acredita-se que o número de espécies fúngicas existente esteja entre 1,5 e 5,1 milhões, por consequência representam o segundo maior grupo de organismos eucarióticos no planeta (STAJICH *et al.*, 2009).

Assim sendo, estão extensivamente distribuídos na natureza, logo, é possível encontrá-los no ar, no solo, em águas e colonizando outros seres vivos como animais e plantas (RAJA *et al.*, 2017; BOGAS *et al.* 2022). Desempenham papel importante para a manutenção do equilíbrio nos ecossistemas terrestres, uma vez que junto às bactérias são os principais decompositores da matéria orgânica, portanto, exercem uma função ecológica central no ciclo do carbono e -no processamento de outros nutrientes (RAJA *et al.*, 2017).

Além disso, algumas espécies são fundamentais para a sobrevivência de outros organismos com os quais convivem em relação de mutualismo. Entretanto, há espécies que são nocivas para plantas e animais, como os humanos, acarretando danos ao organismo infectado e podendo levá-lo à morte (CHUDZIK, *et al.*, 2015). Na condição de patógenos geralmente se comportam como oportunistas, todavia, nos últimos anos houve um aumento significativo na ocorrência de infecções fúngicas não só em pacientes hospitalizados ou imunocomprometidos, mas também em indivíduos que apresentam boa condição de saúde (BASMACIYAN *et al.*, 2019). Diferentes estudos atribuem esse acontecimento ao surgimento de cepas resistentes à terapêutica antifúngica disponível (CHUDZIK, *et al.*, 2015).

Cabe aqui salientar que são entidades de metabolismo extremamente versátil, sendo capazes produzir substâncias e catalisar reações químicas diversas. O homem por sua vez, desde a antiguidade, faz uso dessas propriedades para atender a diversas finalidades, econômicas e industriais (BOGAS *et al.* 2022). Assim, através da utilização de linhagens fúngicas específicas pode-se sintetizar peptídeos, vitaminas, enzimas, ácidos orgânicos (cítrico e láctico), antibióticos (penicilina), bebidas destiladas (MONTEIRO e SILVA, 2009; ORLANDELLI ET *et al.*, 2012).

A título de exemplo, cabe citar a levedura *Saccharomyces cerevisiae* que através da fermentação é responsável pela produção de bebidas como cerveja e vinho, e pão. É importante destacar também a importância dos fungos na produção de antibióticos, tais como o *Penicillium brevicompactum*, organismo a partir do qual foi descoberta a penicilina por Alexander Fleming em 1956 e *Acremonium chrysogenum*, responsável pelo ponta pé inicial na descoberta das cefalosporinas. Graças a esses organismos ocorreu uma revolução na área da antibioticoterapia (BAIÃO, 2020; LIMA: TREVISAN, 2021).

2.2.Considerações gerais sobre o gênero *Candida* e candidíase

O gênero *Candida* spp. é composto por fungos unicelulares ou pluricelulares, aqueles denominados leveduriformes e esses filamentosos, pertencentes ao Reino Fungi; são organismos eucariotos heterótrofos e sua reprodução pode ser sexuada ou assexuada (SANTOS *et al.*, 2018). Este gênero é composto por diversas espécies, sendo que algumas delas podem compor a microbiota humana (BERKOW e LOCKHART, 2017; SANTOS *et al.*, 2018).

Na microbiota humana, podem estar presentes de forma comensal nas mais variadas regiões do corpo, como epiderme, genitálias e mucosas no geral (BASMACIYAN *et al.*, 2019; DA NÓBREGA ALVES *et al.*, 2020). Frequentemente, assumem a condição de patógenos oportunistas, principalmente em condições de desequilíbrio na microbiota do indivíduo acometido. Em se tratando de pacientes imunocomprometidos a infecção pode ser grave e ocasionar a morte (BHATTACHARJEE, 2016; BASMACIYAN *et al.*, 2019).

A candidíase, termo de cunho genérico utilizado para descrever um conjunto de doenças causadas por *Candida* spp., condiz a uma série de infecções que acomete diferentes regiões anatômicas, como pele, mucosa oral, unhas, ouvidos, genitálias e de forma mais grave a circulação sistêmica (BERKOW e LOCKHART, 2017). As espécies de maior importância clínica, devido a prevalência de infecção em humanos são: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei*. Dentre essas espécies a *C. albicans* é que merece maior atenção devido sua maior incidência e importância clínica (LAHKAR *et al.*, 2017; JEFFERY-SMITH *et al.*, 2018).

O tratamento farmacológico da candidíase envolve uma variedade de fármacos, sendo a escolha do tratamento inerente as condições de saúde do paciente e a

características intrínsecas à infecção (CHUDZIK, *et al.*, 2015; BERKOW e LOCKHART, 2017). Os antifúngicos mais utilizados atualmente pertencem a classes dos poliênicos, equinocandinas e principalmente os compostos derivados azólicos (CHUDZIK, *et al.*, 2015; BERKOW e LOCKHART, 2017; SANTOS *et al.*, 2018; CAMPOS, *et al.*, 2020; DA ROCHA *et al.*, 2021).

Em virtude de variados fatores, como o uso rotineiro desses fármacos na clínica, observa-se com maior frequência a resistência de fungos do gênero *Candida* ao tratamento farmacológico, como algumas cepas de *Candida auris* resistentes aos azólicos e equinocandinas (BERKOW e LOCKHART, 2017; DU *et al.*, 2020). Dessa forma, é necessária a busca por novos agentes com atividade antifúngica e que esses sejam seguros e eficazes no contexto da aplicação clínica (BERKOW e LOCKHART, 2017; FUENTEFRÍA *et al.*, 2018).

2.3.Terapia antifúngica e resistência microbiana

Tendo em vista a grande quantidade de micoses humanas com variados níveis de morbidade e mortalidade, desde micose superficial até sistêmica, sabe-se que em algumas situações as consequências de uma infecção podem ser drásticas para o indivíduo acometido (ANN CHAI: DENING e WARN, 2010). Destarte, visando um bom prognóstico do paciente, são fundamentais que o diagnóstico e tratamento aconteçam de forma precoce (DA ROCHA *et al.*, 2021). Além disso, o conhecimento epidemiológico relacionado às infecções fúngicas, junto a condições geográficas, socioeconômicas e o entendimento do mecanismo de ação dos antifúngicos são determinantes para a escolha da terapia correta (SILVA: SANCHES: BAUKEN, 2022).

Os fármacos que compõem a terapia antifúngica estão distribuídos em diferentes classes, dentre as principais pode-se mencionar: poliênicos (anfotericina B e nistatina), azóis, e equinocandinas (DENNING; BROMLEY, 2015; REZENDE *et al.*, 2017). Estão presente na composição de medicamentos que são administrados através de diferentes vias de administração, como intravenosa, oral e cutânea a depender do tipo de infecção e região anatômica acometida (PORTO *et al.*, 2021; SILVA: SANCHES: BAUKEN, 2022).

Os poliênicos são fármacos que possuem um anel lactônico macrolídeo em sua estrutura química. Os representantes mais conhecidos do grupo são a anfotericina B e a

nistatina (BENNET, 2006). A atividade farmacológica desses compostos é atribuída a presença de ligações duplas conjugadas no anel macrolídeo e ao elevado número de hidroxilas presente na molécula (BENNET, 2006; DENNING; BROMLEY, 2015). Esse sistema interage com o ergosterol na membrana da célula fúngica e forma poros que alteram a permeabilidade da membrana, ocasionando perda de proteínas, carboidratos e íons, resultando na morte celular. Geralmente são empregados no combate a infecções causadas por fungos leveduriformes, como a candidíase (BENNET, 2006; REZENDE *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2021).

Os azóis se dividem em dois grupos, imidazóis e triazólicos, são antifúngicos de largo espectro que atuam inibindo a enzima C-14- α -desmetilase, dessa forma interrompem a síntese de ergosterol na membrana celular (DENNING; BROMLEY, 2015; FERNANDES *et al.*, 2021). Devido ao seu mecanismo de ação provocam alterações na fluidez e permeabilidade da membrana citoplasmática, dificultando a captação de nutrientes, inibindo e, conseqüentemente, desencadeando a inibição do crescimento fúngico, logo, são fungistáticos (BENNET, 2006; REZENDE *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2021; BHATTACHARYA; SAE-TIA; FRIES, 2020).

Os imidazóis foram utilizados experimentalmente em 1967 e atualmente estão disponíveis para uso sistêmico ou tópico. Miconazol, clotrimazol e cetoconazol são os componentes do grupo (BERKOW e LOCKHART, 2017; DU *et al.*, 2020). No grupo dos triazólicos o fluconazol e o itraconazol apresentam largo espectro de atividade e toxicidade reduzida, outros componentes do grupo são: cetoconazol, voriconazol, posaconazol e ravuconazol (BENNET, 2006; REZENDE *et al.*, 2017; FERNANDES *et al.*, 2021). Os antifúngicos azóis são amplamente utilizados na clínica no tratamento de micoses superficiais, mucocutâneas e infecções sistêmicas, ocasionadas por leveduras ou fungos filamentosos, com destaque para o fluconazol utilizado no tratamento de criptococose meníngea, devido à sua alta penetração na barreira hematoencefálica (FERNANDES *et al.*, 2021; FRIES, 2020; OK *et al.*, 2020).

Por fim, as equinocandinas, fármacos fungicidas, correspondem a lipopeptídeos semissintéticos, sua estrutura química apresenta hexapeptídeos cíclicos nos quais está ligada uma cadeia lateral de ácido graxo ((DENNING; BROMLEY, 2015; FERNANDES *et al.*, 2021). Essa classe inibe a síntese de β -1,3-glucana sintase, um componente da parede celular, por consequência, causa rupturas na célula fúngica e desequilíbrio osmótico no microrganismo (DENNING; BROMLEY, 2015). Portanto, altera a

distribuição de nutrientes, proteínas e carboidratos, visto que esses processos estão ligados à parede celular, todo esse conjunto de acontecimentos conduz à morte fúngica (MARTINEZROSSI; PERES; ROSSI, 2008). Entre os principais representantes desse grupo estão: caspofungina, anidulafungina e micafungina. Apresentam atividade contra leveduras e fungos filamentosos (BENNET, 2006; REZENDE *et al.*, 2017; GHANNOUM, 2019; FERNANDES *et al.*, 2021).

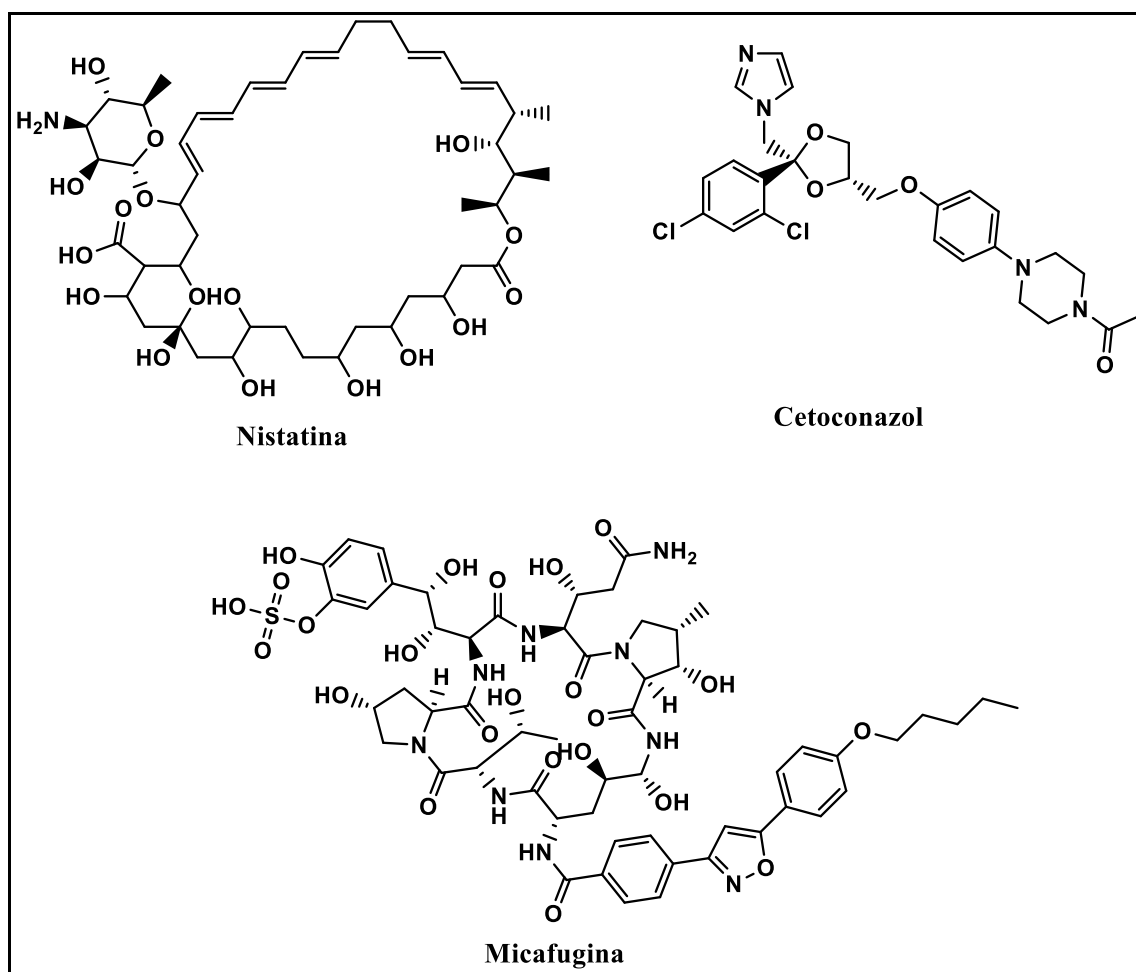


Figura 1: Estruturas químicas das principais classes de antifúngicos disponíveis para uso clínico. **Fonte:** O autor.

Nas últimas décadas, observa-se um aumento da resistência fúngica à terapia farmacológica, esse evento pode ser explicado pelo uso desenfreado de antifúngicos na área clínica e sobretudo ao uso irracional (SANTOS *et al.*, 2009; DU *et al.*, 2020). Diferentes autores atrelam a resistência a um conjunto de fatores inerentes ao metabolismo dos fungos, como: redução da captação do fármaco; modificação ou degradação metabólica dos fármacos; aumento do efluxo pelo bombeamento ativo do antifúngico (MARTINEZROSSI; PERES; ROSSI, 2008; BERKOW e LOCKHART,

2017; FUENTEFRÍA *et al.*, 2018). Portanto, faz-se necessária a busca por novos fármacos com atividade antifúngicos que apresentem baixa toxicidade e sejam eficazes no contexto da aplicação clínica (SILVA; SANCHES; BAUKEN, 2022).

2.4. Produtos naturais como fonte de fármacos

Desde os tempos longínquos os produtos naturais são utilizados para o tratamento e cura de diversas patologias. Há relatos da utilização de ingredientes naturais para fins medicinais desde aproximadamente 2.500 a.C. (antes de cristo) (NEWMAN e CRAGG, 2020). Todavia, o advento de fármacos sintéticos só ocorreu no século XIX, com o preparo do hidrato de cloral (1832), mesmo assim, os produtos sintéticos ganharam destaque apenas após a segunda guerra mundial (1939-1945). Além do mais, apesar de todo o avanço, nos dias de hoje mais de 50% dos fármacos disponíveis são derivados ou inspirados em produtos naturais (NEWMAN e CRAGG, 2020).

Sabe-se que os produtos naturais podem ser oriundos de quatro fontes principais: plantas, animais, organismos marinhos e microrganismos. No entanto, por razões históricas e disponibilidade, as plantas se sobressaíram em diferentes culturas e localidades, pois representavam a principal, quando não a única, alternativa para o tratamento das mais variadas enfermidades (DE MOURA *et al.*, 2020; MEDEIROS *et al.*, 2023).

Quanto aos produtos de origem natural, sabe-se que possuem uma enorme variabilidade química e estrutural devido às flutuações metabólicas necessária à adaptação a diversas situações de estresse ambiental (NEWMAN e CRAGG, 2020). Por esse motivo, permanecem como importante fonte de novos compostos farmacologicamente ativos (CANSIAN *et al.*, 2021).

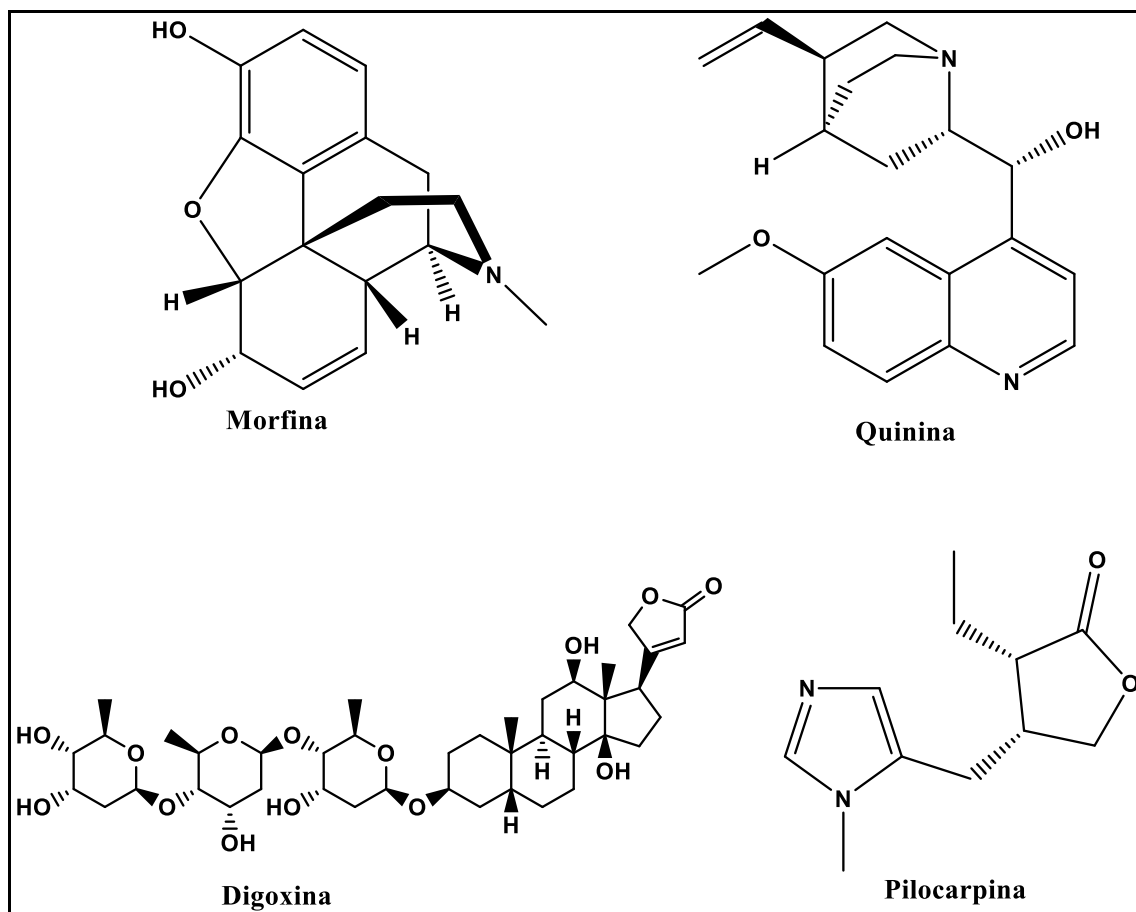


Figura 2: Fármacos derivados de produtos naturais com relevância terapêutica. **Fonte:** Adaptado de MUSHTAQ *et al.*, 2018.

Nesse cenário, os fenilpropanoides despontam como uma classe de produtos naturais altamente promissora na busca por novos fármacos (DO VALE *et al.*, 2021). São amplamente distribuídos no reino vegetal, formados a partir da via biossintética do ácido chiquímico (MEDEIROS *et al.*, 2023).

A classe é constituída por compostos formados pela união de um grupo fenila a uma cadeia lateral composta por três carbonos, C6-C3 (CNA'ANI *et al.*, 2017). Desse modo, são moléculas comumente lipofílicas de baixo peso molecular, também encontradas em óleos essenciais de diversas plantas. Mediante a via biossintética mencionada, o aminoácido aromático fenilalanina é o precursor dessa classe química (CNA'ANI *et al.*, 2017; KOEDUKA *et al.*, 2021).

2.5. Considerações gerais sobre o ácido cinâmico e seus derivados

O ácido cinâmico (Figura 3), é um ácido carboxílico com anel aromático pertencente ao grupo dos fenilpropanoides, também denominado de ácido 3-fenil-2-propenoico, pode ser encontrado em uma infinidade de espécies vegetais, principalmente em *Cinnamomum zeilanicum* (canela), razão pela qual lhe foi atribuído o nome cinâmico (FRANÇA *et al.*, 2021; DO VALE *et al.*, 2021).

Na natureza esse metabólito, encontrado majoritariamente na forma *trans*, é fisiologicamente relacionado aos hormônios vegetais do grupo das auxinas, consequentemente, auxilia no crescimento e diferenciação celular vegetal (RUWIZHI e ADERIBIGBE, 2020). Outrossim, alguns de seus derivados são responsáveis pela proteção da planta contra fungos, bactérias e insetos (PEPERIDOU *et al.*, 2017; PŁOWUSZYŃSKA e GLISZCZYŃSKA, 2021).

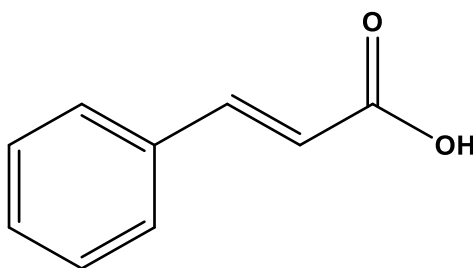


Figura 3: Estrutura química do ácido cinâmico.

Na atualidade a comunidade científica e o setor industrial farmacêutico investem em estudos para investigar as propriedades terapêuticas do ácido cinâmico (FRANÇA *et al.*, 2021; DO VALE *et al.*, 2021). Esses trabalhos são impulsionados por um conjunto de atividade farmacológica atribuídas a substância com baixo grau toxicidade para os organismos vivos (Gunia-Krzyżak *et al.*, 2018). Dentre as quais destacam-se as atividades anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, antibacteriana e antifúngica (JANELA, 2018; DO VALE *et al.*, 2021).

No entanto, o que mais chama atenção é a atividade inibitória de derivados do ácido cinâmico frente a algumas linhagens de células neoplásicas mamárias (MCF-7) e prostáticas (PC-3) induzindo apoptose (Gunia-Krzyżak *et al.*, 2018; FRANÇA *et al.*, 2021; FENG *et al.*, 2022). Diferentes autores afirmam que essas propriedades farmacológicas também estão presentes em alguns produtos naturais relacionados ou derivados do ácido cinâmico, tais como o ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido clorogênico

e ácido *p*-cumárico (Gunia-Krzyżak *et al.*, 2018; Zeng & Lai, 2019; FRANÇA *et al.*, 2021; FENG *et al.*, 2022).

2.6. Propriedades gerais e relevância industrial do benzoxazóis e benzotiazóis

Quimicamente são compostos orgânicos caracterizados pela presença de um sistema bicíclico heteroaromático. Os benzotiazóis são formados através da fusão de um anel 1,3-tiazol a um anel benzênico, enquanto os benzoxazóis têm sua estrutura composta por um anel oxazólico fundido a um anel benzênico (PAL *et al.*, 2018; LIAO *et al.*, 2018). Dessa forma, a única diferença estrutural entre as duas classes de compostos é a substituição de um átomo de oxigênio por um átomo de enxofre no anel oxazólico, formando o anel 1,3-tiazol (PAL *et al.*, 2018; LIAO *et al.*, 2018). Conforme ilustrado na Figura 4 abaixo.

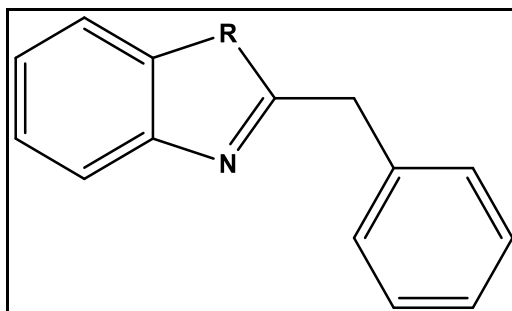


Figura 4: Núcleo estrutural comum aos derivados benzoxazóis e benzotiazóis sintetizados, onde R corresponde ao O ou S, respectivamente.

Ao longo dos anos, esses dois grupos de substâncias têm sido objeto de estudo de diversos pesquisadores, assim, em decorrência desse esforço possuem uma infinidade de aplicações nos diferentes seguimentos da indústria química e farmacêutica (LUONGO *et al.*, 2016; KIM *et al.*, 2017).

No âmbito da indústria química são empregados na produção de corantes, polímeros e agroquímicos (CHIKHALE, *et al.*, 2017). Cabe destacar aqui os 2-hidroxibenzotiazóis, 2-aminobenzotiazóis, 2-metilbenzotiazóis e 2-mercaptobenzotiazóis. Esses produtos são utilizados como matéria-prima para a produção de borracha, couro, papel, biocidas, inibidores de corrosão, e tantas outras (AVAGYAN *et al.*, 2015; KLOEPFER *et al.*, 2005; LUONGO *et al.*, 2016). No campo da indústria farmacêutica vêm ganhando cada vez mais relevância, pois são detentores de diversas atividades biológicas, como por exemplo antineoplásica, anti-inflamatória, antimicrobiana e tantas outras (O'Donnell *et al.*, 2010:

CHIKHALE, *et al.*, 2017 : KIM *et al.*, 2017). Dito isso, sabe-se que atualmente fármacos derivados da classe dos benzoxazóis estão disponíveis para uso clínico (Figura 5), a exemplo do flunoxaprofeno e benoxaprofeno (anti-inflamatórios não esteroidais), calcimicina (antibiótico) e boxazomicina B (antibacteriano) (LUO, ZHANG e GAO, 2018; KAKKAR *et al.*, 2018).

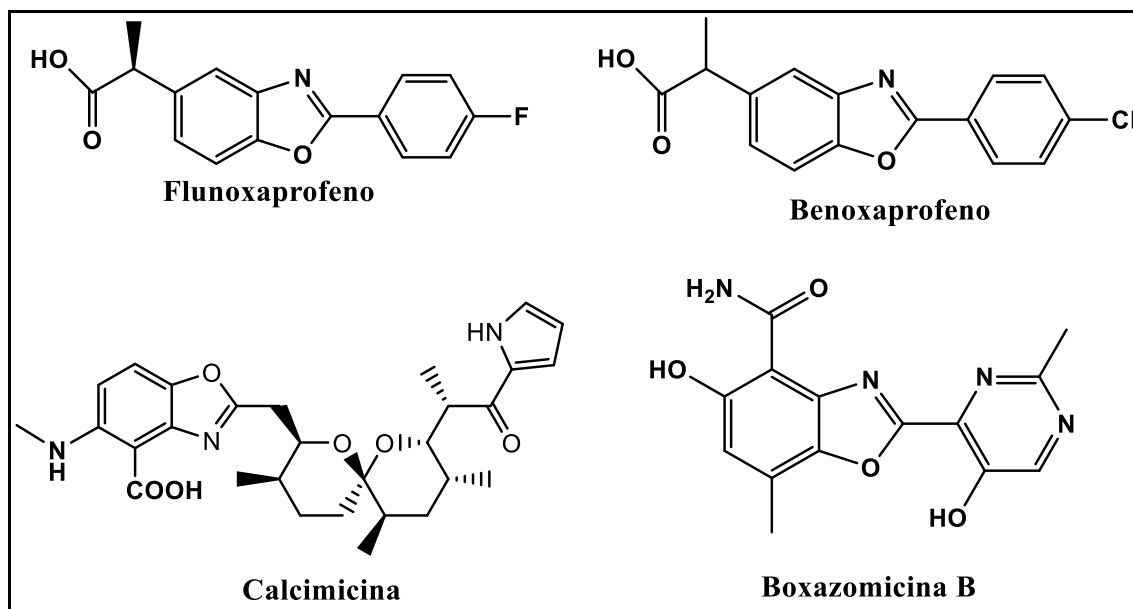
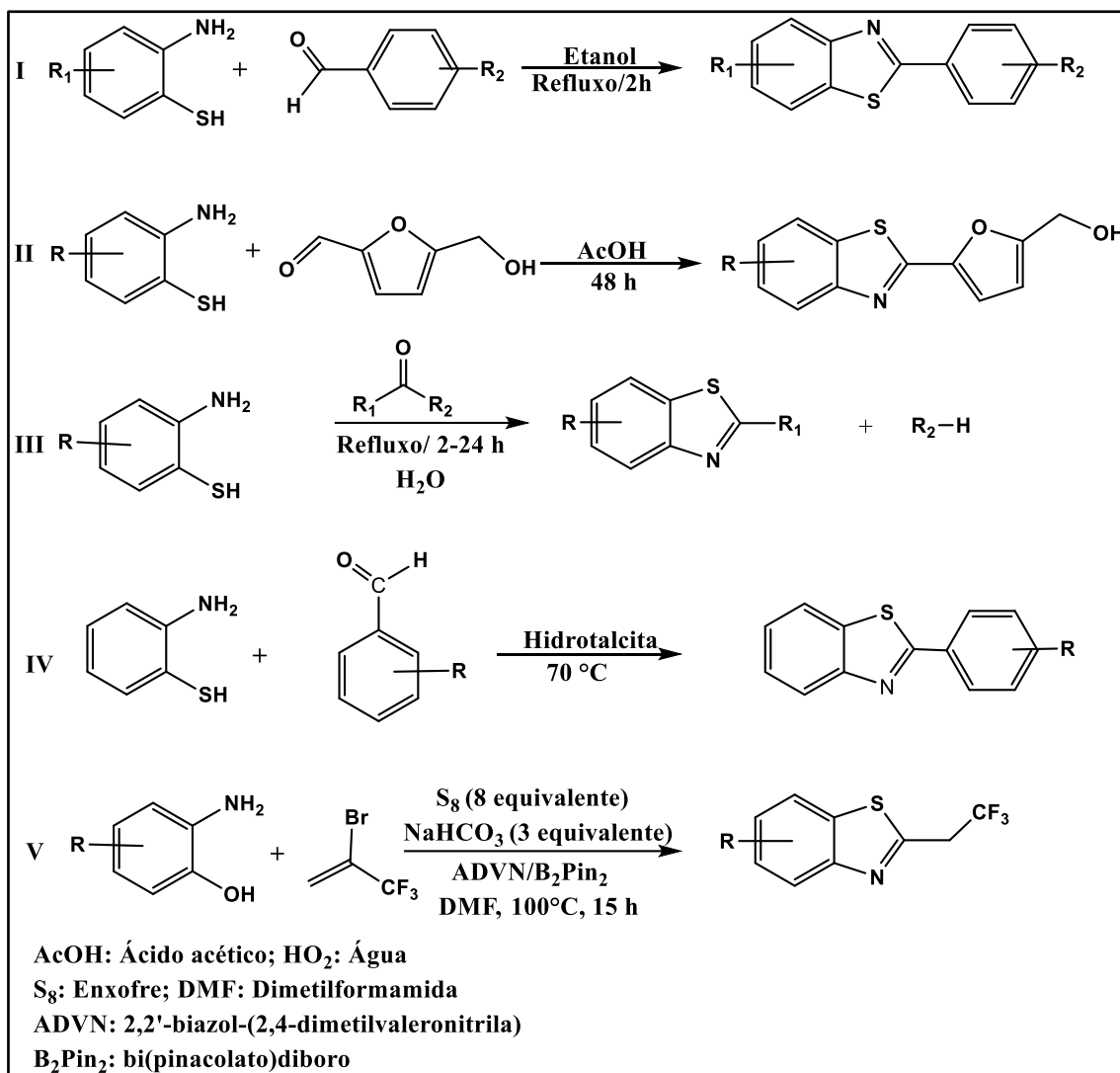


Figura 5: Fármacos com núcleo benzoxazol. **Fonte:** Adaptada de LUO; ZHANG; GAO, 2018; KAKKAR *et al.*, 2018).

Atualmente, em decorrência dos avanços voltados à área de síntese orgânica e química medicinal, estão disponíveis muitos métodos para a síntese de derivados benzoxazóis e benzotiazóis. Nessa perspectiva, investimentos são realizados para o desenvolvimento reagentes com menor periculosidade e impacto ambiental (PRAJAPATI *et al.*, 2014).

Desta forma, há vários métodos que podem ser utilizados na síntese de benzotiazóis, tais como as que empregam reações de condensação. Nesse âmbito, há a condensação de *orto*-aminotiofenol com aldeídos (**I**) (PRAJAPATI *et al.*, 2014), condensação de hidroximetilfurfural e *orto*-aminobenzenotiol na presença de ácido acético (AcOH) (**II**) (PRAJAPATI *et al.*, 2014), condensação de *orto*-aminobenzenotióis substituídos e cetonas em refluxo (**III**) (PRAJAPATI *et al.*, 2014), reação de 2-aminotiofenol e 2-aminofenóis com aldeídos na presença de hidrotalcita (**IV**) (SAHU, 2017), síntese de 2-(2,2,2-trifluoroetil)benzotiazóis pela reação de *orto*-aminofenóis e 2-bromo-3,3,3-trifluoropropeno na presença de enxofre elementar (**V**) (LI *et al.*, 2019),

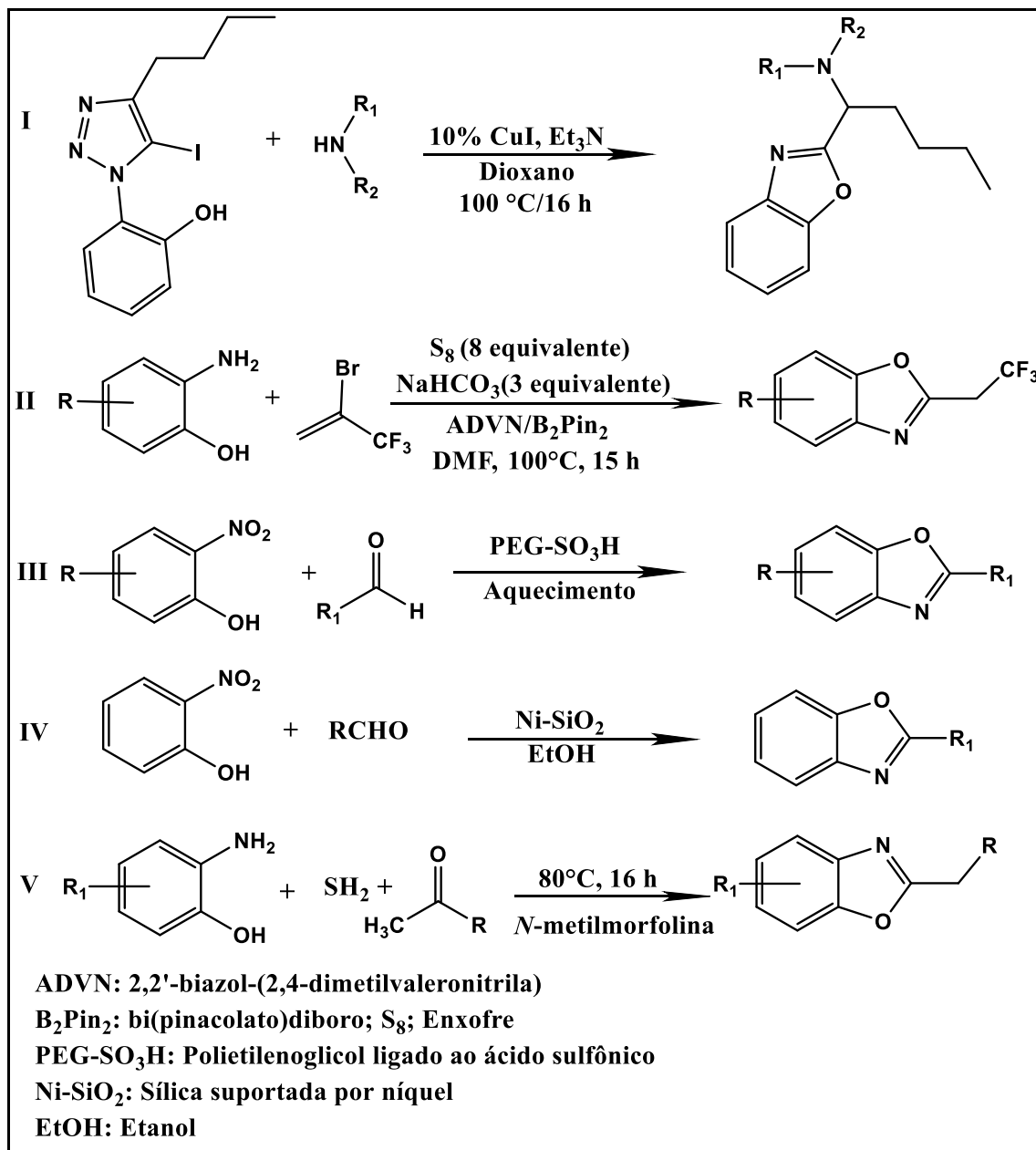
conforme no Esquema 1, entre tantos outros métodos sintéticos modernos disponíveis na literatura.



Esquema 1: Reações de síntese de benzotiazóis. **Fonte:** Adaptado de PRAJAPATI et al., 2014; SAHU, 2017; NGUYEN e RETAILLEAU, 2017 e LI et al., 2019.

Assim como para os benzotiazóis, também estão disponíveis uma grande quantidade de metodologias voltadas para a síntese de benzoxazóis. A título de exemplo cabe aqui citar: transformação em cascata induzida por anulação de 5-iodo-1,2,3-triazóis em 2-(1-aminoalquil) benzoxazóis (**I**) (KOTOVSHCHIKOV *et al.*, 2018), síntese de 2-(2,2,2-trifluoroetil)benzoxazóis pela reação de *orto*-aminofenóis e 2-bromo-3,3,3-trifluoropropeno na presença de enxofre elementar (**II**) (LI *et al.*, 2019), síntese de derivados benzoxazóis usando a atividade catalítica de polietilenoglicol ligado ao ácido sulfônico (PEG-SO₃H) (**III**) (CHIKHALE *et al.*, 2017), síntese de derivados benzoxazóis catalisada por sílica suportada em níquel (**IV**) (MADDILA ET AL., 2012), acoplamento de rearranjo oxidativo promovido por enxofre elementar entre *orto*-aminofenóis e cetonas

(V) (NGUYEN e RETAILLEAU, 2017), conforme ilustrado no Esquema 2. Neste estudo os derivados benzoxazóis e benzotiazóis foram preparados seguindo a mesma metodologia, denominada síntese mediada por enxofre elementar via acoplamento descarboxilativo de 2-hidróxi/mercapto/amino-anilinas com ácidos cinâmicos, que é uma abordagem de baixo custo e segura, além de não utilizar reagentes de elevado poder oxidante. Essa metodologia foi proposta por Guntreddi e colaboradores (2016).



Esquema 2: Reações de síntese de benzoxazóis. **Fonte:** KOTOVSHCHIKOV et al., 2018; LI et al., 2019; CHIKHALE et al., 2017; MADDILA et al., 2012 e NGUYEN e RETAILLEAU, 2017.

2.7. Potencial terapêutico dos benzoxazóis e análogos

Em virtude da escassez de alternativas terapêuticas eficazes e isentas de toxicidade para o tratamento das mais variadas doenças, diversos trabalhos foram desenvolvidos com a finalidade de investigar a aplicação clínica de derivados benzoxazóis e/ou benzotiazóis no contexto das ciências médicas e farmacêuticas. Assim, graças a esse esforço, pesquisas recentes atribuem diversas atividades biológicas a essas classes de compostos (LUO *et al.*, 2018; (KAUR *et al.*, 2018).

De acordo com essa perspectiva, dados da literatura relatam que derivados benzoxazóis apresentaram notável atividade farmacológica. Entre as mais proeminentes, pode-se mencionar a atividade antitumoral frente a células leucêmicas humanas (HL-60) (OKSUZOGLUET *et al.*, 2017), atividade antibacteriana frente à *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (MISHRA *et al.*, 2019), inibição seletiva da ciclooxygenase 2 (KAUR *et al.*, 2018), inibição da ativação de mastócitos via lipopolissacarídeo (CHO *et al.*, 2018) e atividade antiparkinsoniana via inibição seletiva e reversível da monoaminoxidase B (NAM *et al.*, 2017).

Nesse âmbito, estudos recentes evidenciam que derivados benzotiazóis também se apresentam como candidatos promissores na busca por novos fármacos, visto que essas substâncias demonstraram uma variedade de atividade biológica em estudos experimentais (SONWANE *et al.*, 2008; MISHRA *et al.*, 2019). Dentre as atividades que mais despertam interesse atualmente, destacam-se a antitumoral (IRFAN *et al.*, 2020), antifúngica (LUO *et al.*, 2018), antibacteriana (MISHRA *et al.*, 2019), antiviral (AKHTAR *et al.* 2008), antileishmania e anti-inflamatória (SONWANE *et al.*, 2008).

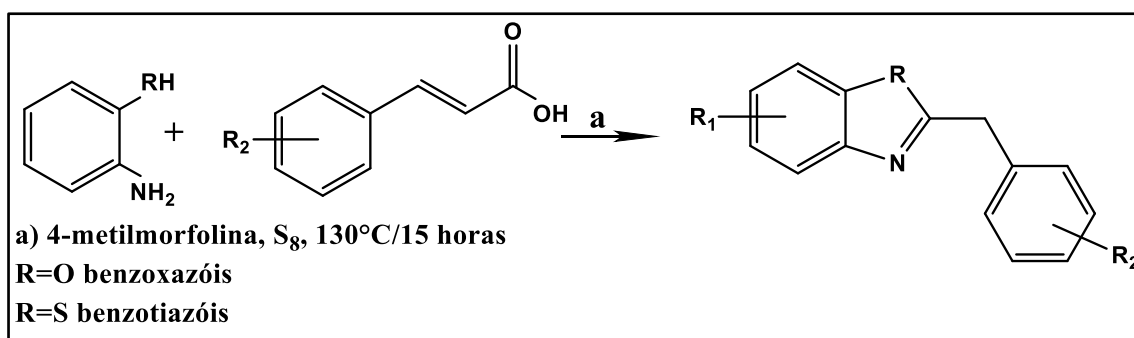
2.8. Metodologia de síntese dos benzoxazóis e benzotiazóis

O presente estudo aborda uma proposta inovadora para a síntese de benzoxazóis e benzotiazóis, sendo essa metodologia fácil, prática e segura, uma vez que não utiliza agentes oxidantes fortes e nem sais metálicos comumente utilizados em outras abordagens (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

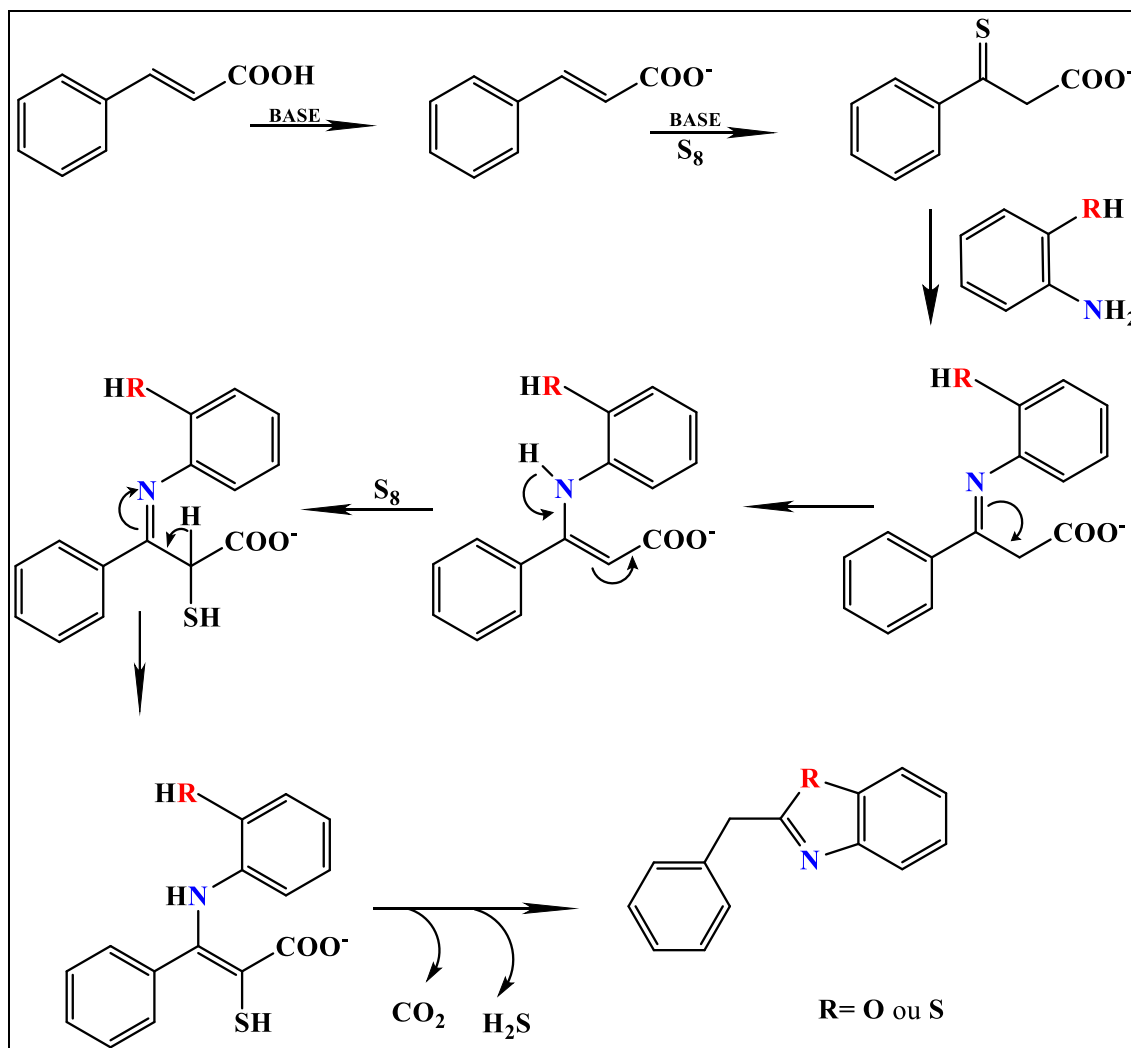
Desse modo, os compostos são preparados por meio do acoplamento descarboxilativo de derivados do ácido cinâmico com um reagente acoplador. Na reação os agentes acopladores utilizados são: 2-amino-4-metilfenol, 2-amiotiofenol e 4-cloro-2-aminofenol (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

Cabe frisar que as reações acontecem em meio alcalino, no qual a 4-metilmorfolina foi empregada como solvente. Essa substância apresenta em sua estrutura química a função amina e, portanto, é capaz de ser protonada no meio reacional, funcionando como base.

No que tange ao meio e a composição reacional, a obtenção dos benzoxazóis e benzotiazóis ocorre com a adição dos reagentes a um tubo pressurização de 4 mL, empregando-se, além do derivado do ácido cinâmico e agente acoplador, a 4-metilmorfolina como solvente e o enxofre elementar como catalizador. A mistura reacional permanece sob agitação magnética e aquecimento em banho de óleo (130° C), durante 15 horas (GUNTREDDI *et al.*, 2016). Conforme ilustrado no esquema abaixo (Esquema 3).



Esquema 3: Representação geral da síntese dos benzotiazóis e benzoxazóis. **Fonte:** adaptado de GUNTREDDI *et al.*, 2016.



Esquema 4: Mecanismo reacional proposto. **Fonte:** Adaptado de GUNTREDDI *et al.*, 2016.

2.9. Relação entre estrutura química e atividade biológica

Na contemporaneidade diversas abordagens são continuamente empregadas na elaboração dos estudos de relação estrutura-atividade (REA). Nesse contexto diferentes ferramentas exploram a afinidade e seletividade dos compostos com alvos biológicos selecionados, assim, são validados diferentes parâmetros e propriedades, como: farmacocinética de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (SANTOS *et al.*, 2021; DA COSTA *et al.*, 2022).

Neste âmbito, procura-se estabelecer os efeitos que a estrutura química de um determinado composto (ligante) pode provocar ao interagir com estruturas biológicas de um determinado modelo em estudo, geralmente receptores farmacológicos, como enzimas, canais iônicos, ácidos nucleicos, dentre outros. Sabe-se que esse tipo de estudo

desempenha um papel muito importante no desenvolvimento de novos fármacos e na formulação de medicamentos (SANTOS *et al.*, 2021; DA COSTA *et al.*, 2022).

Assim, quando se trabalha com uma coleção de moléculas estruturalmente relacionadas, busca-se compreender melhor os efeitos que modificações na estrutura química dos compostos repercutem na atividade biológica. Nessas circunstâncias, são estudados os efeitos da inserção de diferentes grupos substituintes em variados sítios moleculares, com isso são moduladas características físico-químicas como solubilidade, hidrofilicidade e lipofilicidade. Tudo isso com o objetivo de aumentar o efeito farmacológico e de reduzir a toxicidade (SILVEIRA, CARVALHO e MATOS, 2021; DO NASCIMENTO *et al.*, 2021).

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Preparar e avaliar a atividade antimicrobiana de uma coleção de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente à *Candida* spp.

3.2. Objetivos específicos

- Preparar uma coleção de derivados benzoxazóis e benzotiazóis;
- Avaliar a atividade biológica dos compostos frente a cepas de *Candida* spp.;
- Traçar uma relação estrutura-atividade dos benzoxazóis e benzotiazóis preparados;
- Definir características químico-estruturais para o desenvolvimento de moléculas com melhor perfil farmacológico.

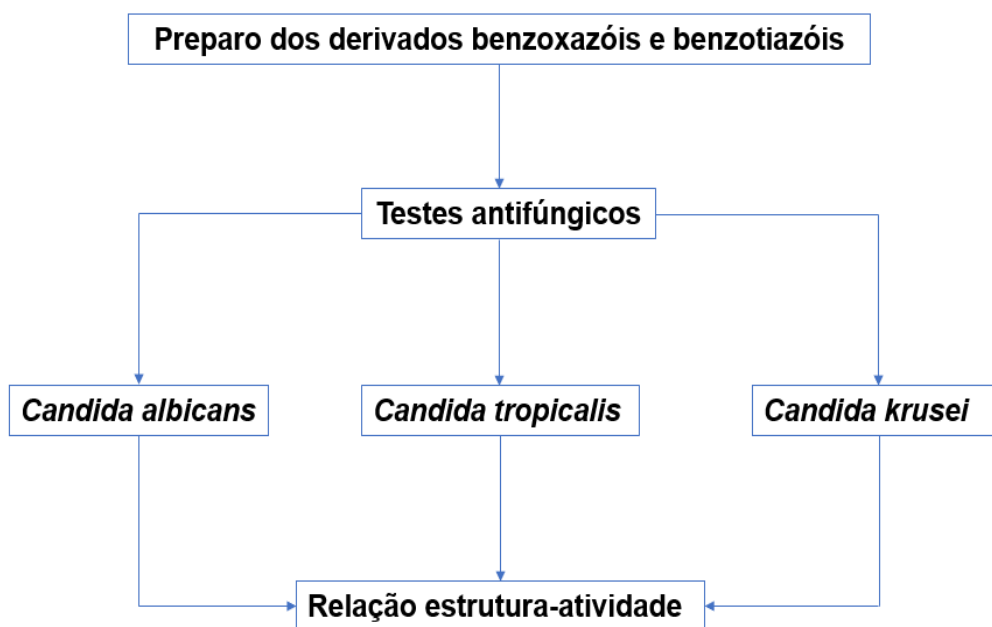
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Planejamento do estudo

No presente estudo, preparou-se uma coleção de derivados benzoxazóis e benzotiazóis a partir de derivados do ácido cinâmico e derivados. A estrutura química dos compostos foi confirmada pelo uso das técnicas de Espectroscopia no Infravermelho (IV),

Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Carbono Treze (RMN de ^{13}C) e Espectrometria de Massas, além de dados disponíveis na literatura científica.

Após a confirmação estrutural, os derivados sintéticos foram submetidos a avaliação antifúngica frente às cepas de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Uma análise de REA dos compostos foi realizada para identificar características químicas importantes para a atividade biológica, conforme resumido no Esquema 5 abaixo.



Esquema 5: Planejamento das etapas do estudo.

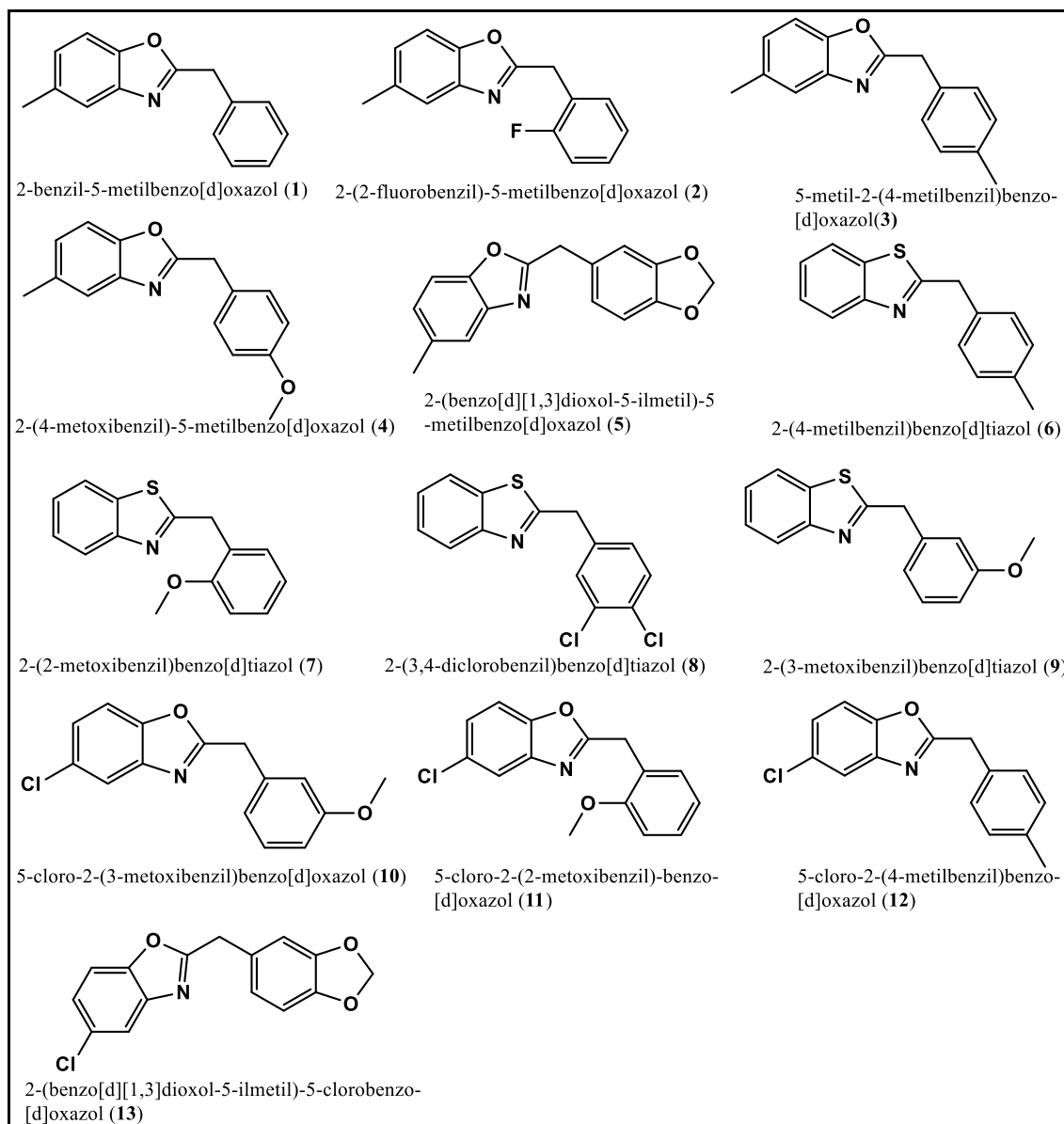


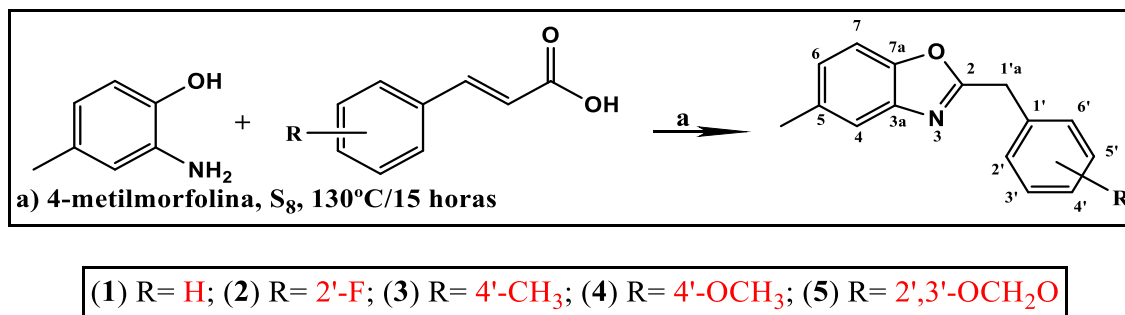
Figura 6: Estrutura química dos benzoxazóis e benzotiazóis preparados. **Fonte:** O autor.

4.2. Etapa química

4.2.1. Preparo dos derivados benzoxazóis e benzotiazóis

Todos os compostos foram preparados de acordo com a seguinte metodologia: acoplamento descarboxilativo mediado por enxofre elementar de 2-amino-4-metilfenol (1-5), 2-aminotiofenol (6-9) e 2-amino-4-clorofenol (10-13) com derivados do ácido cinâmico. A síntese ocorreu em tubo pressurização, no qual a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e aquecimento em banho de óleo (130° C) durante 15 horas (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

Os primeiros benzoxazóis (**1-5**) foram obtidos por intermédio do acoplamento desboxilativo de derivados do ácido cinâmico com 2-amino-4-metilfenol. Os derivados do ácido cinâmico utilizados foram: o próprio ácido cinâmico, ácido 2-fluorocinâmico, ácido 4-metilcinâmico, ácido 4-metoxicinâmico e ácido 3,4-metilenodioxicinâmico, conforme o Esquema 6.

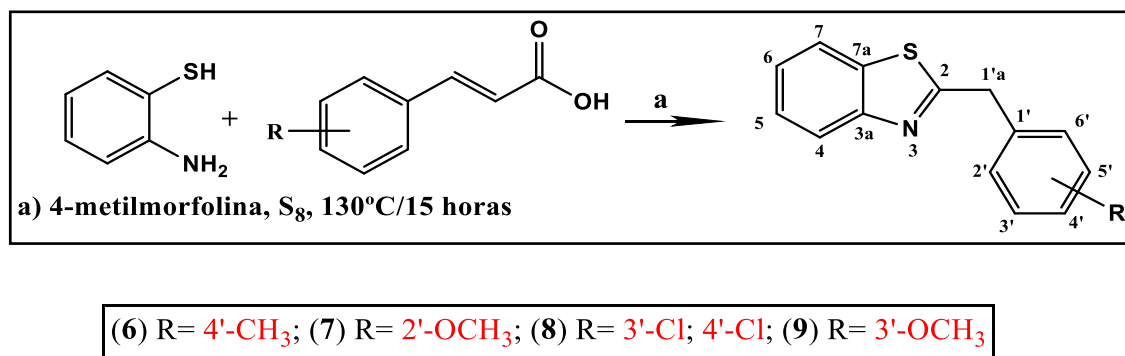


Esquema 6: Reação de acoplamento desboxilativo utilizando 2-aminotiofenol e ácidos cinâmicos.

Fonte: O autor.

Assim, foram obtidos os seguintes benzoxazóis: 2-benzil-5-metilbenzo[d]oxazol (**1**), 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]oxazol (**2**), 5-metil-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (**3**), 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]oxazol (**4**) e 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (**5**). Os rendimentos variaram entre 7,35% e 26,34%.

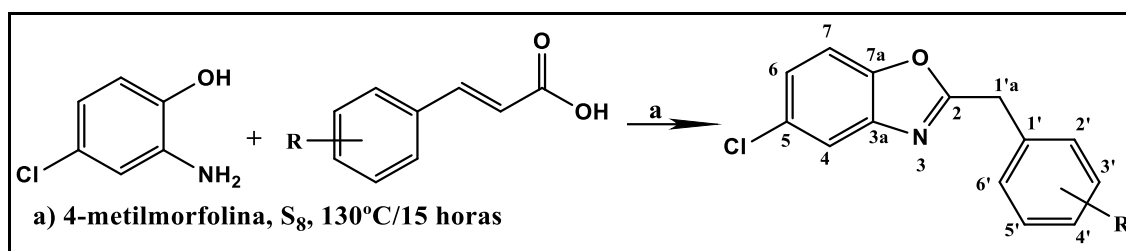
Na obtenção dos benzotiazóis (**6-9**) utilizou-se o 2-aminotiofenol como agente acoplador e os seguintes derivados do ácido cinâmico como material de partida: ácido 4-metilcinâmico, ácido 2-metoxicinâmico, ácido 3,4-diclorocinâmico e ácido 3-metoxicinâmico, conforme o Esquema 7.



Esquema 7: Reação de acoplamento desboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos. **Fonte:** O autor.

Dessa forma foram obtidos os seguintes compostos: 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6), 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7), 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8) e 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9). As reações apresentaram rendimento entre 15,83 e 29,85%.

Os derivados benzoxazóis (10-13) foram preparados utilizando como material de partida o 2-amino-4-clorofenol e os seguintes derivados do ácido cinâmico: ácido 3-metoxicinâmico, ácido 2-metoxicinâmico, ácido 4-metilcinâmico e ácido 3,4-metilenodioxicinâmico, conforme o Esquema 8 abaixo.

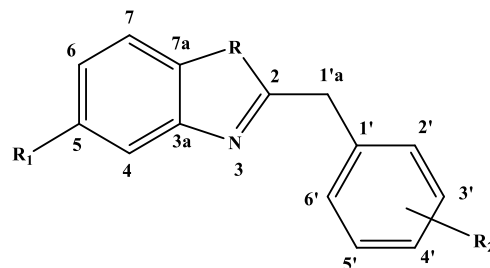


(10) R= 3'-OCH₃; (11) R= 2'-OCH₃; (12) R= 4'-CH₃; (13) R= 3',4'-OCH₂O

Esquema 8: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos. **Fonte:** O autor.

Na presente etapa, foram obtidos os seguintes benzoxazóis: 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (10), 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11), 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12) e 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol (13). Os rendimentos reacionais ficaram entre 7,47 e 21,48 %.

Após o preparo e purificação, aos compostos foram atribuídos parâmetros físico-químicos, reacionais e observacionais, como ponto de fusão, fator de retenção, rendimento reacional e aspecto, conforme a Tabela 1.

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

(1) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = H	(8) R= S; R ₁ = H; R ₂ = 3'-Cl, 4'-Cl
(2) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 2'-F	(9) R= S; R ₁ = H; R ₂ = 3'-OCH ₃
(3) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 4'-CH ₃	(10) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 3'-OCH ₃
(4) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 4'-OCH ₃	(11) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 2'-OCH ₃
(5) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 3',4'-OCH ₂ O	(12) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 4'-CH ₃
(6) R= S; R ₁ = H; R ₂ = 4'-CH ₃	(13) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 3',4'-OCH ₂ O
(7) R= S; R ₁ = H; R ₂ = 2'-OCH ₃	

Composto	Fórmula Molecular	Massa Molar (g/mol)	Tempo de Reação (h)	Purificação em Coluna (Hex:AcOEt)	Massa (mg)	Rendimento (%)	Aspecto	Hex:AcOEt R _f (cm)	Ponto de Fusão (°C)
1	C ₁₅ H ₁₃ NO	223,27	15	98:2	55,30	10,16	Sólido amorfo marrom	9:1 (0,61)	49,5-51,0
2	C ₁₅ H ₁₂ FNO	241,09	15	98:2	46,50	7,94	Sólido amorfo amarelo	9:1 (0,44)	92-93
3	C ₁₆ H ₁₅ NO	237,12	15	98:2	41,90	7,35	Líquido amarelo	9:1 (0,57)	-
4	C ₁₆ H ₁₅ NO ₂	253,11	15	98:2	63,60	10,33	Óleo laranja	9:1 (0,42)	-
5	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃	267,09	15	98:2	171,20	26,34	Sólido amorfo marrom	9:1 (0,29)	68-69
6	C ₁₅ H ₁₃ NS	239,08	15	98:2	98,40	15,83	Sólido amorfo vermelho	9:1 (0,42)	46-47
7	C ₁₅ H ₁₃ NOS	255,07	15	98:2	164,10	24,75	Óleo amarelo	9:1 (0,38)	-
8	C ₁₄ H ₉ Cl ₂ NS	292,98	15	98:2	196,20	25,82	Sólido amorfo amarelo	9:1 (0,45)	53-54
9	C ₁₅ H ₁₃ NOS	255,07	15	98:2	198,00	29,85	Óleo vermelho	9:1 (0,41)	-
10	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂	273,06	15	98:2	122,50	21,48	Sólido amorfo amarelo	9:1 (0,50)	51-52
11	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂	273,06	15	98:2	77,90	13,66	Óleo amarelo	9:1 (0,66)	-
12	C ₁₅ H ₁₂ ClNO	257,06	15	98:2	59,10	11,03	Sólido amorfo amarelo	9:1 (0,46)	52-54
13	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₃	287,03	15	98:2	44,80	7,47	Sólido amorfo amarelo	9:1 (0,44)	77-88

Fonte: O autor.

4.3. Análise espectroscópica dos benzoxazóis e benzotiazóis

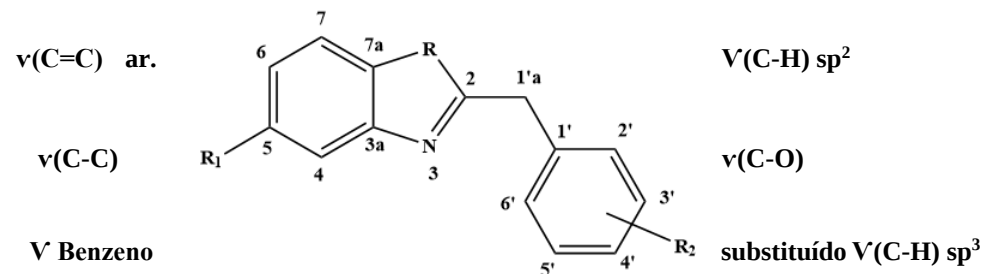
A confirmação estrutural dos compostos foi estabelecida por meio das técnicas de Espectroscopia no Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Carbono Treze (RMN de ^{13}C).

4.3.1. Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia no infravermelho (IV) foi empregada para auxiliar na identificação das estruturas dos compostos preparados, indicando os grupos funcionais presentes na estrutura química dos compostos.

Na análise dos espectros observou-se a presença de bandas e estiramentos norteadores, logo, esse conjunto de informações tornou possível a identificação dos compostos quando confrontado com os espectros de ressonância magnética nuclear de carbono (^{13}C) e hidrogênio (^1H), e comparados aos dados disponíveis na literatura científica.

Dentre os sinais observados nos espectros (Tabela 2) pode-se observar: bandas de absorção entre 2850 e 3000 cm^{-1} referente ao estiramento C-H sp^3 ; também estão presentes bandas entre 3000 e 3150 cm^{-1} atribuídas ao estiramento C-H de carbonos sp^2 . Nota-se também bandas aos pares nas proximidades de 1600 e 1400 cm^{-1} que são referentes ao estiramento C=C dos anéis aromáticos, ao passo que absorções intensas e estreitas entre 1300 cm^{-1} e 1150 cm^{-1} estão relacionadas à presença da ligação C-C. Em adição, houve bandas entre 1150 e 1050 relacionadas a ligação C-O, finalmente, bandas de absorção em torno de 800, 700 e 600 são referentes aos estiramentos de anéis aromáticos substituídos.

Tabela 2: Dados da espectroscopia no infravermelho – estiramentos (V) dos compostos inéditos em cm^{-1} 

(2) R= O; $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2 = 2'\text{-F}$
 (5) R= O; $R_1 = \text{CH}_3$; $R_2 = 3',4'\text{-OCH}_2\text{O}$
 (8) R= S; $R_1 = \text{H}$; $R_2 = 3'\text{-Cl}, 4'\text{-Cl}$

(10) R= O; $R_1 = \text{Cl}$; $R_2 = 3'\text{-OCH}_3$
 (11) R= O; $R_1 = \text{Cl}$; $R_2 = 2'\text{-OCH}_3$
 (13) R= O; $R_1 = \text{Cl}$; $R_2 = 3',4'\text{-OCH}_2\text{O}$

Composto	$V(\text{C-H}) \text{sp}^2$	$V(\text{C-H}) \text{sp}^3$	$v(\text{C}=\text{C})$ ar.	$v(\text{C-C})$	$v(\text{C-O})$	V Benzeno substituído
2	3066	2967	1535, 1455	1227	1092	753
5	3062	2923	1564, 1486	1243	1117	802, 673, 619
8	3055	2909	1469, 1556	1230	-	758, 631
10	3001	2938	1490, 1451	1256	1147	800, 687
11	3011	2924	1493, 1450	1245	1111	749
13	3101	2900	1441, 1498	1240	1139	802, 703, 619

Fonte: O autor.

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

Por meio da análise dos dados de RMN de ^1H (Tabelas 3 e 4) e de ^{13}C obtidos (Tabela 6) referentes aos compostos pode-se confirmar a estrutura dos benzoxazóis e benzotiazóis preparados. A presença dos deslocamentos químicos e multiplicidade dos sinais em regiões características do espectro evidenciam que ocorreu a formação dos produtos, visto que se observa uma boa correlação entre as integrais e o número hidrogênios presente nos compostos.

Dentre os sinais característicos pode-se mencionar: um simpleto com deslocamento químico em torno de 4,20 ppm (**H-1'a**) com integral igual a dois no espectro de RMN ^1H presente em todos os compostos. Os benzoxazóis (**1 a 5**; **10 a 13**) apresentam como sinais característicos: um duplo duplete, dubleto ou um multiplete entre 7,66 e 7,64 ppm (**H-4**), um duplo duplete ou multiplete entre 7,29 e 7,26 ppm (**H-6**) e um duplete ou multiplete ente 7,40 e 7,37 ppm (**H-7**). Enquanto os benzotiazóis (**6 a 9**) possuem como sinais comuns quatro duplo duplete de dubletos relacionados a presença do anel benzotiazol não substituído. Esses sinais ocorram em deslocamento químicos entre 7,81 e 7,77 ppm (**H-7**), 8,02 e 7,98 ppm (**H-4**), 7,48 e 7,42 ppm (**H-5**) e 7,36 e 7,33 ppm (**H-6**). Contudo, em algumas ocasiões esses sinais se apresentaram como multipletos.

Por meio da interpretação dos espectros de RMN de ^{13}C , é possível observar a presença de alguns sinais com deslocamento químico característico, que são referentes aos núcleos benzoxazol e benzotiazol. Em relação aos benzoxazóis (**1 a 5** e **10 a 13**) pode-se mencionar deslocamentos químicos de carbonos próximo a: 265,00 (**C-2**), 149,00 (**C-7a**), 141,00 (**C-3a**); 134,00 (**C-5**), 119,00 (**C-4**), 125,00 (**C-6**), 109,00 (**C-7**) e 35,00 (**C-1a**). No que tange aos benzotiazóis (**6 a 9**), nota-se sinais em comum próximos a: 171,00 (**C-2**), 153,00 (**C-3a**), 137,00 (**C-7a**), 126,00 (**C-7**), 124,00 (**C-5**), 121,00 (**C-4**) e 122,00 (**C-6**).

É importante salientar que nos espectros de RMN de carbono treze foi observada a concordância entre a quantidade de sinais e o número de átomos de carbonos na respectiva estrutura química. Por fim, para auxiliar na atribuição dos picos recorreu-se a consultas na literatura e ao uso de softwares específicos, como o ChemDraw e MestReNova.

Tabela 3: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os compostos inéditos (2, 5 e 8).

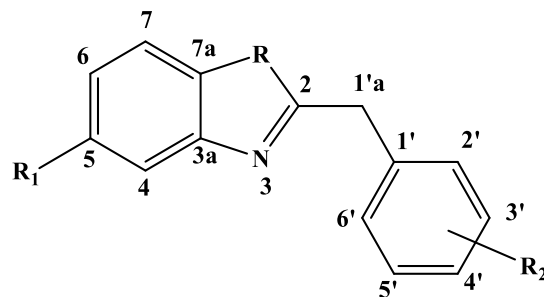
Composto 2		Composto 5		Composto 8	
Carbonos	δH (ppm)	Carbonos	δH (ppm)	Carbonos	δH (ppm)
1'a	4,30 (s, 2H)	1'a	4,15 (s, 2H)	1'a	4,38 (s, 2H)
2	-	2	-	2	-
3a	-	3a	-	3a	-
4	7,47-7,45 (m, 1H)	4	7,46-7,45 (m, 1H)	4	8,00 (ddd, $J = 8,20$; 1,20 e 0,76 Hz, 1H)
5	-	5	-	5	7,46 (ddd, $J = 8,32$; 8,16 e 1,24 Hz, 1H)
6	7,13-7,07 (m, 4H)	6	7,09 (dd, $J = 8,00$ e 0,50 Hz, 1H)	6	7,36 (ddd, $J = 8,08$; 7,20 e 1,24 Hz, 1H)
7	7,34 (d, $J = 8,00$ Hz, 1H)	7	7,33 (d, $J = 8$ Hz, 1H)	7	7,81 (ddd, $J = 8,08$; 2,40 e 0,72 Hz, 1H)
7a	-	7a	-	7a	-
1'	-	1'	-	1'	-
2'	-	2'	6,86 (d, $J = 1,50$ Hz, 1H)	2'	7,46 (d, $J = 2,40$; 1H)
3'	7,29-7,25 (m, 1H)	3'	-	3'	-
4'	7,13-7,07 (m, 4H)	4'	-	4'	-
5'	7,13-7,07 (m, 4H)	5'	6,77 (d, $J = 8,00$ Hz, 1H)	5'	7,41 (d, $J = 8,32$ Hz, H5'; 1H)
6'	7,13-7,07 (m, 4H)	6'	6,82 (dd, $J = 8,00$ e 1,50 Hz, 1H)	6'	7,20 (dd, $J = 8,16$ e 2,08 Hz, 1H)
5-Me	2,45 (s, 3H)	5-Me	2,44 (s, 3H)		
		3',4'-OCH ₂ O	5,93 (s, 2H)		

Fonte: O autor.

Tabela 4: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^1H (δH) para os compostos inéditos (**10**, **11** e **13**)

Composto 10		Composto 11		Composto 13	
Carbonos	δH (ppm)	Carbonos	δH (ppm)	Carbonos	δH (ppm)
1'a	4,28 (s, 2H)	1'a	4,23 (s, 2H)	1'a	4,17 (s, 2H)
2	-	2	-	2	-
3a	-	3a	-	3a	-
4	7,65 (d, $J = 2,00$ Hz, 1H)	4	7,66 (d, $J = 2,00$ Hz, 1H)	4	7,66 (dd, $J = 2,40$ e $0,80$ Hz, 1H)
5	-	5	-	5	-
6	7,31 – 7,22 (m, 3H)	6	-	6	7,27 (dd, $J = 8,80$ e $2,40$ Hz, 1H)
7	7,36 (d, $J = 8,80$ Hz, 1H)	7	7,38 (d, $J = 8,50$ Hz, 1H)	7	7,38 (dd, $J = 8,80$ e $0,80$ Hz, 1H)
7a	-	7a	-	7a	-
1'	-	1'	-	1'	-
2'	6,97-6,92 (m, 1H)	2	-	2'	6,85 (dd, $J = 1,60$ e $0,40$ Hz, 1H)
3'	-	3'	6,90-6,89 (m, $\text{H}3'$, 1H)	3'	-
4'	6,91 (d, $J = 8,00$ Hz, 1H)	4'	7,28–7,24 (m, 2H)	4'	-
5'	7,31 – 7,22 (m, 3H)	5'	6,95-6,93 (m, $\text{H}5'$, 1H)	5'	6,78 (dd, $J = 8,40$ e $0,40$ Hz, 1H)
6'	7,31 – 7,22 (m, 3H)	6'	6,83 (ddd, $J = 8,50$; $2,50$ e $1,00\text{Hz}$, 1H)	6'	6,83-6,80 (m, 1H)
3'-MeO	3,81 (s, 3H)	2'-MeO	3,80 (s, 3H)	OCH ₂ O	5,94 (s, 2H)

Fonte: O autor.

Tabela 5: Assinalamento dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C (δC) para os compostos inéditos (2, 5, 8, 10, 11 e 13)

(2) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 2'-F	(10) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 3'-OCH ₃
(5) R= O; R ₁ = CH ₃ ; R ₂ = 3',4'-OCH ₂ O	(11) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 2'-OCH ₃
(8) R= S; R ₁ = H; R ₂ = 3'-Cl, 4'-Cl	(13) R= O; R ₁ = Cl; R ₂ = 3',4'-OCH ₂ O

Composto	2	5	8	10	11	13
Carbano	δC	δC	δC	δC	δC	δC
1'a	28,49	35,09	39,59	29,74	35,40	35,08
2	164,43	165,47	169,17	167,34	166,68	166,90
3a	141,63	141,64	153,35	142,82	142,61	142,64
4	119,93	119,88	121,72	120,88	120,01	120,04
5	134, 19	134,14	125,28	129,66	135,93	129,89
6	125,96	125,89	123,07	124,85	125,19	125,20
7a	149,40	149,40	137,33	149,70	149,78	149,77
7	109,99	109,94	126,34	110,93	111,36	109,58
1'	122,25	128,58	135,66	129,08	129,87	128,03
2'	162,00	109,58	131,16	119,08	160,07	111,33
3'	115,69	148,07	132,95	157,52	113,03	148,19
4'	129,36	146,98	131,68	111,25	121,45	147,18
5'	124,49	108,62	130,87	130,62	114,91	108,71
6'	131,24	122,28	128,60	123,14	130,04	122,37
R1	21,57	21,56	-	-	-	-
R2	-	101,22	-	55,70	55,39	101,31

Fonte: O autor.

4.3.3. Espectrometria de massas dos compostos inéditos

Os espectros de massas dos compostos inéditos na literatura foram obtidos por meio de análise no espectrômetro de massas de alta resolução com ionização por MALDI (Matrix-assisted laser desorption/ionization). Dessa forma, a partir da análise da razão massa carga (m/z) do pico do íon molecular protonado foi possível identificar os benzoxazóis e benzotiazóis inéditos.

Tabela 6: Resultado da análise de espectrometria de massas de alta resolução para os compostos inéditos (2, 5, 8, 10, 11 e 13).

Composto	Fórmula molecular	Pico do íon molecular protonado	Massa teórica calculada	Massa experimental
2	C ₁₅ H ₁₂ FNO	[M+ H] ⁺	242,0975	242,0991
5	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃	[M+ H] ⁺	268,0968	268,0995
8	C ₁₄ H ₉ Cl ₂ NS	[M+ H] ⁺	293,9905	293,9934
10	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂	[M+ H] ⁺	274,0629	274,0660
11	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₂	[M+ H] ⁺	274,0629	274,0655
13	C ₁₅ H ₁₂ ClNO ₃	[M+ H] ⁺	288,0421	288,0452

Fonte: Elaborada pelo autor.

5. Etapa biológica

5.1. Análise da atividade antifúngica dos derivados benzoxazóis e benzotiazóis

Os benzoxazóis e benzotiazóis (1-13) foram submetidos a ensaios de avaliação da atividade biológica antimicrobiana. Com essa finalidade, realizou-se a avaliação do potencial antifúngico por meio da técnica de microdiluição em placas de 96 visando determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e concentração fungicida mínima (CFM) frente às cepas de *C. albicans* ATCC 60193, *C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258.

A CIM nada mais é do que a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico, sendo estabelecida por meio da técnica de microdiluição descrita pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008). Enquanto a CFM é definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico em meio sólido. A razão CFM/CIM foi utilizada para prever se as substâncias têm atividade fungistática ($CFM/CIM \geq 4$) ou fungicida ($CFM/CIM < 4$) (SIDDIQUI *et al.*, 2013; ALVES *et al.*, 2021).

No presente estudo, a classificação da atividade antifúngica dos compostos foi estabelecida mediante os critérios estabelecidos por Alves e colaboradores (2021), esses autores propuseram uma classificação que serve de parâmetro para identificar novos compostos com atividade antifúngica e determinar os níveis de atividade antimicrobiana, o

que superou a falta de classificação para a atividade contra *Candida* spp., conforme demonstrado na Tabela 6 abaixo.

Tabela 7: Parâmetros estabelecidos para a classificação da bioatividade dos compostos sintetizados de acordo com os valores da CIM

Faixa da CIM	Intensidade da atividade antifúngica	Pontuação
<3,515 µg/mL	Bioatividade muito forte	+++++
3,516-25 µg/mL	Bioatividade forte	++++
26-100 µg/mL	Bioatividade moderada	+++
101-500 µg/mL	Bioatividade fraca	++
501-2000 µg/mL	Bioatividade muito fraca	+
>2000	Sem bioatividade	-

Fonte: Adaptada de ALVES *et al.*, 2021.

Ao examinar os resultados da atividade antifúngica disponíveis na Tabela 7 e confrontá-los como os parâmetros preconizados por Alves e colaboradores (2021), Tabela 6, percebe-se que alguns compostos apresentaram notável atividade, com destaque para **1** e **2**. Assim, consoante os critérios estabelecidos o composto **1** apresentou forte atividade antifúngica para *C. krusei* com CIM de 69,9 µM (15,6 µg/mL), apresentou também atividade moderada contra as cepas de *C. albicans*, CIM de 279,9 µM (62,5 µg/mL), e atividade fraca contra *C. tropicalis* com valor da CIM de 559,8 µM (125,0 µg/mL). O composto **2** por sua vez apresentou ação inibitória moderada contra as cepas de *C. krusei* com CIM de 259,2 µM (62,5 µg/mL), e fraca potência antifúngica contra *C. albicans* e *C. tropicalis* com CIM de 1036,9 µM (250 µg/mL) para as duas cepas avaliadas. Os demais compostos apresentaram atividade antifúngica que variou de fraca a muito fraca contra as cepas de *Candida* spp. testadas.

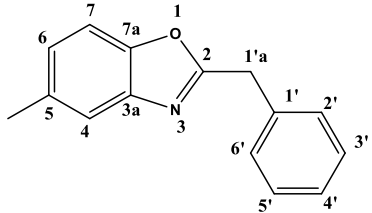
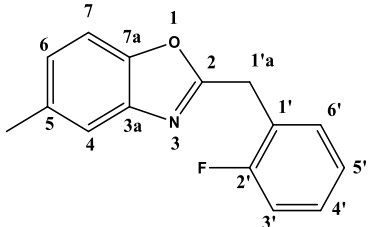
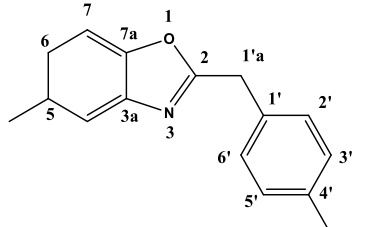
Os valores da razão CFM/CIM sugeriram que os compostos **3**, **6** e **7** possuem atividade fungistática (CFM/CIM ≥4), já os demais compostos exercem atividade fungicida (CFM/CIM <4) para as espécies avaliadas. Este perfil antimicrobiano também foi apresentado pela nistatina, controle positivo, avaliada em concentrações que variaram de 51,8 a 0,8 µM.

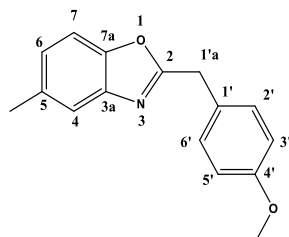
Como citado anteriormente, além de **1** e **2**, os demais compostos apresentaram atividade antifúngica que variou de fraca a muito fraca frente as cepas testadas, embora com valores da CIM menores em relação a algumas cepas. Os dados referentes à cepa de *C. krusei*, uma das que os compostos apresentaram menor CIM, corroboram com essa afirmação, com valores de CIM: (**3**) 1054,3 µM (250,0 µg/mL), (**5**) 468,0 µM (125,0 µg/mL), (**6**) 522,8 µM (125,0 µg/mL), (**7**) 490,0 µM (125,0 µg/mL), (**8**) 426,6 µM (125,0 µg/mL), (**9**) 490,0 µM (125,0

$\mu\text{g/mL}$), **(10)** 457,7 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$), **(11)** 457,7 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$), **(12)** 972,5 μM (250 $\mu\text{g/mL}$) e **(13)** 1741,9 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$). Dessa forma, em conformidade com os critérios estabelecidos por Alves e colaboradores (2021) esses compostos apresentaram atividade fraca contra as cepas de *C. krusei*.

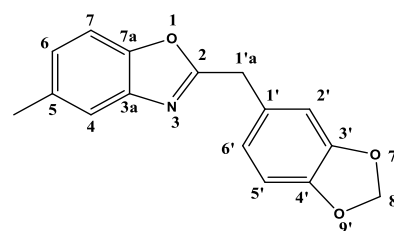
Cabe ainda citar os compostos **5** e **13** que assim como para *C. krusei* apresentaram atividade contra cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*. Sendo que o composto **5** apresentou CIM de 1872,2 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) e o composto **13** 1741,9 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$), valores referentes às duas espécies, logo apresentam atividade fraca frente às cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*. Além disso, os compostos **6** e **11** apresentaram atividade fraca contra cepas de *C. albicans* com CIM de 2091,3 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) e 915,5, μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente.

Tabela 8: CIM, CFM e CIM/CFM dos derivados sintéticos e nistatina frente à *Candida* spp. A CIM e a CFM foram expressas em µg/mL (µM).

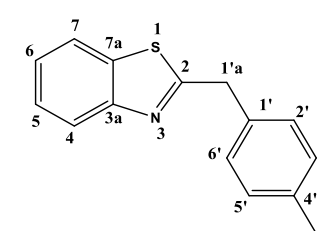
Composto									
	(1)	(2)	(3)						
Cepas	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
<i>C. albicans</i>	62,5 (279,9)	62,5 (279,9)	1	250,0 (1036,9)	500,0 (2073,9)	2	1000,0 (4217,2)	1000,0 (4217,2)	1
<i>C. tropicallis</i>	125,0 (559,8)	125,0 (559,8)	1	250,0 (1036,9)	500,0 (2073,9)	2	1000,0 (4217,2)	1000,0 (4217,2)	1
<i>C. krusei</i>	15,6 (69,9)	31,2 (139,9)	1	62,5 (259,2)	62,5 (259,2)	1	250,0 (1054,3)	1000,0 (4217,2)	4



(4)



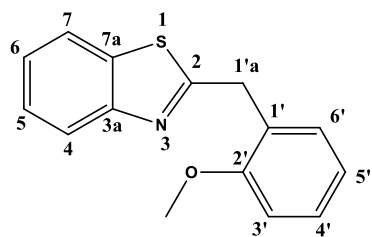
(5)



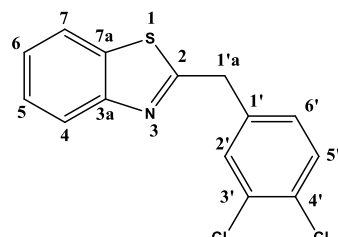
(6)

Cepas	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
<i>C. albicans</i>	1000,0 (3950,8)	1000,0 (3950,8)	1	500,0 (1872)	500,0 (1872)	1	500,0 (2091,3)	1000,0 (4182,7)	2
<i>C. tropicallis</i>	1000,0 (3950,8)	1000,0 (3950,8)	1	500,0 (1872)	1000,0 (3744)	2	1000,0 (4182,7)	1000,0 (4182,7)	1
<i>C. krusei</i>	1000,0 (3950,8)	1000,0 (3950,8)	1	125,0 (468)	225,0 (468)	2	125,0 (522,8)	500,0 (2091,3)	4

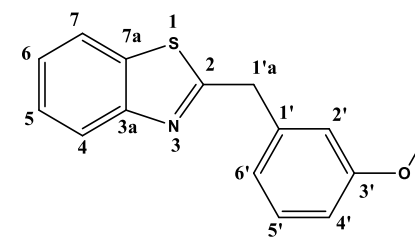
Composto



(7)

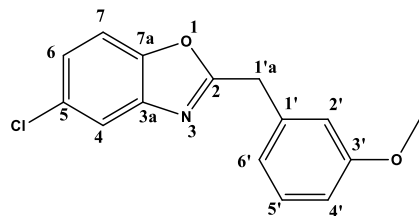


(8)



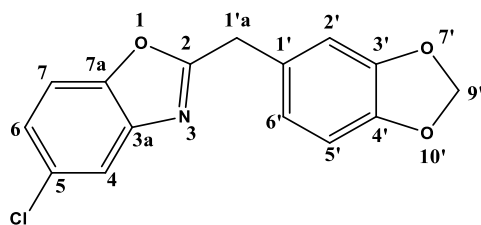
(9)

Cepas	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM	CIM	CFM	CFM/CIM
<i>C. albicans</i>	500,0 (1960,2)	1000,0 (3920)	2	1000,0 (3413,2)	1000,0 ((3413,2)	1	1000,0 (3920,4)	1000,0 (3920,4)	1
<i>C. tropicallis</i>	1000,0 (3920)	1000,0 (3920)	1	1000,0 ((3413,2)	1000,0 ((3413,2)	1	1000,0 (3920,4)	1000,0 (3920,4)	1
<i>C. krusei</i>	125,0 (490)	500,0 (1960,2)	4	125,0 (426,6)	125,0 (426,6)	1	125,0 (490)	125,0 (490)	1



The chemical structure shows a benzimidazole core substituted with a 4-chlorophenyl group. The benzimidazole ring is numbered 1 through 7, and the phenyl ring is numbered 1' through 4'.

(12)



Nistatina

<i>C. albicans</i>	500,0 (1741,9)	500,0 (1741,9)	1	0,75 (0,80)	0,75 (0,80)	1
<i>C. tropicallis</i>	500,0 (1741,9)	1000,0 (3483,9)	2	0,75 (0,80)	0,75 (0,80)	1
<i>C. krusei</i>	500,0 (1741,9)	1000,0 (3483,9)	2	0,75 (0,80)	0,75 (0,80)	1

Fonte: O autor

5.2. Relação estrutura atividade biológica dos benzoxazóis e benzotiazóis

Desta forma, sabendo-se que o ácido cinâmico possui atividade antifúngica descrita na literatura, foi avaliada as características químicas que podem influenciar na atividade farmacológica dos compostos, visto que a coleção de substâncias preparadas é estruturalmente relacionada e são derivados do ácido cinâmico. Desse modo, os resultados do presente estudo podem servir de referência para o desenvolvimento de novos protótipos antifúngicos com melhor perfil de atividade biológica.

De acordo com os resultados dos ensaios de atividade antifúngica presentes na Tabela 6, o composto **1**, obtido a partir do ácido cinâmico, apresentou o melhor perfil farmacológico contra as cepas testadas. Por essa razão, adotou-se, o composto **1** como referência para a análise da relação estrutura atividade da coleção de compostos.

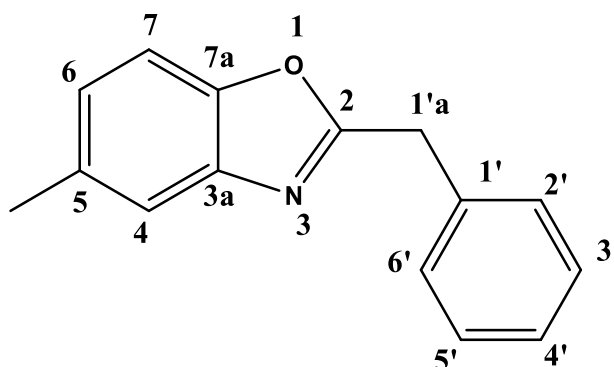


Figura 7: Estrutura química do composto **1** e núcleo estrutural dos benzoxazóis 1-5.

O composto **1**, com um grupo substituinte metila no carbono 5 do núcleo benzoxazol, substituição comum aos compostos **2** a **4**, e sem grupos substituintes no anel fenílico, como citado anteriormente, apresentou forte atividade antifúngica para *C. krusei* com CIM de 69,9 μ M/ (15,6 μ g/mL), atividade moderada contra as cepas de *C. albicans*, CIM de 279,9 μ M (62,5 μ g/mL), e atividade fraca contra *C. tropicalis* com valor da CIM de 559,8 μ M (125,0 μ g/mL).

O composto **2**, preparado a partir do ácido 2-fluorcinâmico, apresenta como substituinte um átomo de flúor na posição 2' do anel benzílico, devido a elevada eletronegatividade, esse átomo atua como um retirador de elétrons do anel aromático. A presença deste substituinte resultou em menor potência farmacológica, quando comparado ao composto **1**, e teve atividade moderada para *C. krusei* com CIM igual 259,2 μ M (62,5 μ g/mL) e atividade fraca

para *C. albicans* e *C. tropicalis*, com CIM igual a 1036,9 μM (250,0 $\mu\text{g/mL}$) para as duas espécies.

Os compostos **3** e **4** possuem grupos substituintes na posição 4' do anel benzílico, sendo que o primeiro apresenta uma metila e o segundo uma metoxila na mesma posição. O composto **5**, também benzoxazol, possui como substituinte o grupo metilenodióxi entre os carbonos 3' e 4' do anel benzílico. Os grupos substituintes presentes nessas três moléculas têm como característica comum o fato de atuarem como doadores de elétrons para o anel aromático ao qual estão ligados. Em relação a atividade farmacológica contra as cepas testadas, houve uma redução da atividade quando se compara os valores da CIM do composto **1**. Embora os compostos **3** e **5** tenham apresentado atividade fraca contra cepa de *C. krusei*, com valores da CIM igual a 1054,3 μM (250,0 $\mu\text{g/mL}$) e 468,0 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$) respectivamente. O composto **5** também apresentou atividade fraca com CIM de 1872,2 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) para *C. albicans* e *C. tropicalis* (ALVES *et al.*, 2021).

Dessa forma é possível afirmar que a inserção de grupos substituintes em diferentes posições do anel benzílico reduz a potência farmacológica dos benzoxazóis (**1-5**). É importante salientar que não há outras substituições no núcleo benzoxazóis, apenas a metila no carbono 5 que está presente em todos os compostos. Assim, a redução da atividade biológica dos compostos pode estar relacionada aos efeitos químicos dos grupos substituinte, que podem alterar a afinidade dos compostos com o sítio alvo, seja por meio de mudanças nas interações químicas, alterações de lipofilicidade ou efeitos espaciais que possivelmente modulam a interação entre o composto e o sítio receptivo.

Observando-se os resultados da Tabela 6, nota-se que os benzotiazóis **6-9** apresentaram menor potência antifúngica quando comparados ao composto **1**, um benzoxazol. Os benzotiazóis **6-9** exibiram atividade fraca contra as cepas de *C. krusei*, com CIM de 522,8 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$), 490 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$), 426,6 (125,0 $\mu\text{g/mL}$), e 490 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$) dos compostos **6**, **7**, **8** e **9**, respectivamente. Desta forma, os resultados mostram que a presença dos grupos substituintes em diferentes posições do anel fenílico não influenciou na potência farmacológica frente às cepas de *C. krusei*, uma vez que os valores da CIM são muito próximos para as diferentes cepas, independentemente do composto testado. Apresentaram ainda bioatividade que variou de muito fraca, compostos **8** e **9**, a fraca, compostos **6** e **7**, contra as cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*.

Os compostos **6** e **7**, quando comparados com os demais benzotiazóis, apresentaram melhor atividade contra cepas de *C. albicans*, com CIM de 2091,3 μ M (500,0 μ g/mL) e 1960,2 μ M (500,0 μ g/mL) respectivamente, considerando que o composto **8** apresentou CIM de 3413,2 μ M (1000 μ g/mL) e o composto **9** com CIM de 3920,4 μ M (1000 μ g/mL). O composto **6** possui uma metoxila ligada ao carbono 2' do anel benzílico, enquanto o composto **7** apresentam como grupo substituinte uma metila no carbono 4' do mesmo anel aromático. Ambos os substituintes funcionam como doadores de elétrons. Em contrapartida, o composto **8** possui como substituintes dois átomos de cloro ligados aos carbonos 3' e 4' do anel fenílico. São átomos que exercem um efeito retirador de elétrons no anel aromático. O composto **9** tem uma metoxila ligada ao carbono 3' do anel fenólico e atua como doador de densidade eletrônica.

Sendo assim, os substituintes presentes nos compostos **8** e **9**, podem ter contribuído para a redução da potência farmacológica contra as cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*, seja em virtude de mudanças na interação entre os compostos e o sítio receptivo, seja pelo impacto nas características bioquímicas, lipofílicas e/ou espaciais, visto que os substituintes aumentam o volume molecular ou modula as características dimensionais.

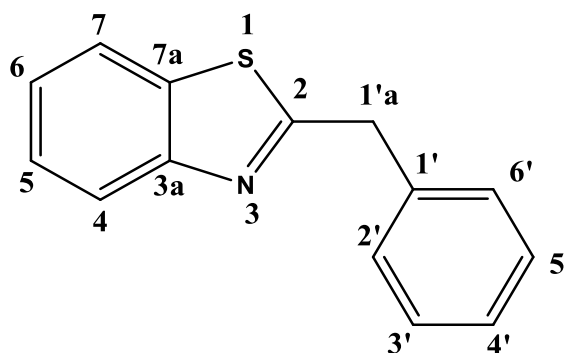


Figura 8: Núcleo estrutural comum aos benzotiazóis **6-9**.

A segunda coleção benzoxazóis (**10-13**) também apresentou baixa potência farmacológica contra as cepas de *Candida* spp. quando comparada por meio dos valores da CIM do composto **1**. De acordo com os dados as Tabela 6 os compostos **10** e **12** apresentaram bioatividade muito fraca contra *C. albicans* e *C. tropicalis*, com CIM do composto **10** de 3662,1 μ M (1000,0 μ g/mL) e do composto **12** de 3890,1 μ M (1000,0 μ g/mL), valores referentes as duas cepas. No entanto, para *C. krusei* a CIM dos compostos **10** e **12** foi de 457,7 μ M (125,0 μ g/mL) e 972,5 (125,0 μ g/mL) respectivamente, logo possuem bioatividade fraca

contra essa cepa. Os compostos **11** e **13** apresentaram bioatividade fraca contra todas as cepas testadas, sendo o primeiro com CIM de 915,5 μM (250,0 $\mu\text{g/mL}$) para *C. albicans*, 1831,0 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) para *C. tropicalis* e 457,7 0 μM (125,0 $\mu\text{g/mL}$) para *C. krusei*, enquanto o segundo compostos apresentou CIM de 1741,9 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) para as cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei*.

Dessa maneira a redução da atividade antifúngica dos compostos (**10-13**) pode ser atribuída em parte a presença de um átomo de cloro ligado ao carbono 5 do núcleo benzotiazol (Figura 10). Esse átomo por pertencer ao grupo dos halogênios e, por conseguinte, exerce efeito retirador de elétrons sobre o núcleo benzoxazol, em decorrência de sua alta eletronegatividade que lhe permite atrair a nuvem eletrônica do anel aromático para si. Ao passo que os benzoxazóis **1** e **2**, compostos com maior potência, apresentam como substituinte uma metila no carbono 5, logo, esse grupo é capaz de doar densidade eletrônica ao núcleo benzoxazol, ao contrário do átomo de cloro.

Dentre os benzoxazóis **10-13**, o composto **11** apresentou a maior potência farmacológica contra as cepas de *C. albicans* em relação aos demais, com CIM de 915,5 μM (250,0 $\mu\text{g/mL}$) e, se mostrou mais potente do que os compostos **10** e **12** contra *C. tropicalis* com CIM de 1831,0 5 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$). Essa característica pode estar relacionada a presença do grupo metoxila no carbono 2' do anel benzílico, enquanto no composto **10** o mesmo grupo está localizado no carbono 3'. Esse grupo é capaz de doar elétrons para o anel aromático, efeito contrário ao átomo de cloro presente no carbono 5. Por fim, o composto **13**, quando comparado aos compostos **10** e **12** por meio dos valores da CIM, demonstrou melhor atividade contras *C. albicans* e *C. tropicalis* com CIM de 1741,9 μM (500,0 $\mu\text{g/mL}$) o que pode ser atribuído a presença do grupo metilenodióxi nos carbonos 3' e 4' do anel benzílico.

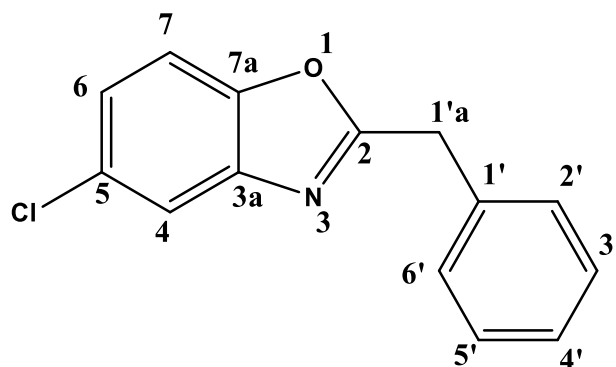


Figura 9: Núcleo estrutural comum aos benzoxazóis **10-13**.

A análise da atividade antifúngica de derivados benzoxazóis e benzotiazóis é objeto de estudo de diversos grupos de pesquisa na atualidade. Com a finalidade de potencializar a atividade antifúngica, Carvalho e colaboradores (2017) prepararam uma coleção de derivados benzoxazóis por meio da união do anel do eugenol e o núcleo benzoxazol. Com isso, obtiveram quatro produtos com atividade fungistática em concentrações entre 321 e 380 μM . Esses compostos foram aproximadamente cinco vezes mais potentes que o eugenol. Nesse estudo, três benzoxazóis mostraram atividades fungistática contra *C. albicans* com valores de concentração inibitória 50% (CI_{50}) de 380, 331 e 321 μM . Enquanto o crescimento de *C. glabrata* foi inibido por dois compostos com CI_{50} de 332 e 338 μM , também se observou a inibição do crescimento de *C. krusei* por dois compostos com CI_{50} de 332 e 321 μM . Dessa forma, esses resultados demonstram o potencial dos benzoxazóis contra cepas de *C. krusei*, nas quais tem sido observada resistente a terapia antifúngica em algumas cepas (CARVALHO *et al*, 2017).

Corroborando com o presente estudo, Padalkar e colaboradores (2014) demonstraram por meio de testes *in vitro* que os compostos contendo o núcleo benzoxazol possuem melhor atividade antifúngica do que os compostos com núcleo benzotiazol. No referido trabalho foram sintetizados benzoxazol e benzotiazol a partir do cloreto cianúrico e esses compostos tiveram suas atividades testadas frente a cepas de *C. albicans* e *Aspergillus niger*.

Embora trabalhando com espécies fúngicas diferentes, LUO e colaboradores (2018) obtiveram resultados que convergem para os resultados obtidos no presente estudo. Os autores analisaram a atividade antifúngica de uma coleção de derivados benzoxazóis e benzotiazóis frente a cepas de fungos patogênicos: *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium solani*, *Alternaria solani*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Valsa mali*, *Magnaporthe oryzae*, e *Botrytis cinerea*. Os resultados obtidos evidenciam que os

benzoxazóis têm maior potência antifúngica do que benzotiazóis nas espécies testadas. Foi possível verificar ainda que a inserção de substituintes no anel aromático não benzoxazólico não potencializou a atividade dos compostos. Portanto, esses dados vão ao encontro dos resultados obtidos no presente estudo, considerando que os compostos de melhor atividade são benzoxazóis e que a inserção de grupos substituintes no anel fenílico não potencializou a atividade dos compostos. Na verdade, observou-se redução da potência biológica.

5.3. Mecanismo de ação dos compostos com melhor atividade frente à *C. albicans* ATCC 60193

Uma vez que os compostos **1** e **2** apresentaram melhor atividade biológica contra as cepas de *Candida* spp., investigou-se o possível mecanismo de ação antifúngico das moléculas. A tabela 7 registra os resultados da atividade das substâncias e do controle positivo quando em contato com as cepas de *C. albicans* ATCC 60193 na ausência e presença do ergosterol exógeno.

A partir da análise dos dados, verifica-se que a CIM dos compostos testados aumentou na presença do ergosterol exógeno. Em resultados mais discriminados, a CIM das moléculas **1** e **2** na ausência do ergosterol exógeno foi, respectivamente, no valor de 279,9 μ M e 1036,9 μ M já na presença do ergosterol exógeno esses valores se elevaram para 4478,8 μ M (**1**) e 4147,8 μ M (**2**).

Desse modo, levando em consideração o aumento pronunciado da CIM na presença do ergosterol exógeno, pode-se sugerir que os compostos **1** e **2** apresentam atividade antifúngica com alvo na membrana plasmática da célula fúngica. Uma vez que substâncias atuantes no ergosterol, que é um componente estrutural da membrana celular fúngica, tendem a ligar-se ao ergosterol exógeno que está presente no meio de cultura. Assim ocorre o redirecionamento de sua atividade do ergosterol da membrana fúngica e, conseqüentemente, haverá uma redução do dano a membrana celular fúngica, por isso, nota-se o aumento da CIM e, por conseguinte, o favorecimento do crescimento fúngico.

Da mesma forma os resultados da nistatina, utilizada como controle positivo, que é um fármaco da classe dos polienos, conhecido por agir na membrana celular fúngica, apresentou a CIM na ausência do ergosterol exógeno de 1,6 μ M, já na presença do ergosterol exógeno o seu valor elevou-se para 51,8 μ M. Indicando, dessa forma, o seu mecanismo de ação via membrana plasmática da célula fúngica.

Tabela 9: Valores da CIM dos compostos **1** e **2** e nistatina na ausência e presença do ergosterol exógeno (1.008.mM) contra cepa de *C. albicans* ATCC 60193 expressos em µg/mL (µM)

1			2			Nistatina		
Concentração µg/mL (µM)	Ausência do ergosterol	Presença do ergosterol	Concentração (µg/mL) (µM)	Ausência do ergosterol	Presença do ergosterol	Concentração (µg/mL) (µM)	Ausência do ergosterol	Presença do ergosterol
1000 (4478,8)	-	-	1000 (4147,8)	-	-	48 (51,8)	-	-
500 (2239,4)	-	+	500 (2073,9)	-	+	24 (25,9)	-	+
250 (1119,7)	-	+	250 (1036,9)	-	+	12 (12,95)	-	+
125 (559,8)	-	+	125 (518,4)	+	+	6 (6,4)	-	+
62,5 (279,9)	-	+	62,5 (259,2)	+	+	3 (3,2)	-	+
31,25 (139,9)	+	+	31,25 (129,6)	+	+	1,5 (1,6)	-	+
15,62 (69,9)	+	+	15,62 (64,8)	+	+	0,75 (0,8)	+	+
7,81 (34,9)	+	+	7,81 (32,4)	+	+	0,37 (0,39)	+	+

Observação: +, crescimento fúngico e -, ausência de crescimento fúngico.

Fonte: O autor

A tabela 8 especifica os resultados dos compostos **1**, **2** e da caspofungina quando em contato com a cepa de *C. albicans* ATCC 60193 na ausência e presença do sorbitol. Observa-se que a CIM das moléculas testadas permaneceu inalterada tanto na ausência como na presença do sorbitol, ou seja, a CIM dos compostos **1** e **2** permaneceu nos valores de 279,9 μM e 1036,9 μM respectivamente para ambos os tratamentos (ausência e presença do sorbitol). Dessa forma, sugere-se que essas substâncias não agem na parede celular fúngica, excluindo-se, então, esse mecanismo das suas possibilidades de alvos.

A caspofungina foi utilizada como controle positivo, fármaco pertencente à classe das equinocandinas, portanto, trata-se de um agente que atua na parede celular fúngica. Sendo assim, o valor da CIM na ausência do sorbitol foi de 0,11 μM , já na presença do sorbitol esse valor aumentou para 1,8 μM , confirmando que o mecanismo de ação desse fármaco é via parede celular fúngica.

Tabela 10: Valores da CIM dos compostos **1** e **2** e caspofungina na ausência e presença do sorbitol (0.8 M) contra cepa de *C. albicans* ATCC 60193 expressos em µg/mL (µM)

1			2			caspofungina		
Concentração µg/mL (µM)	Ausência do sorbitol	Presença do sorbitol	Concentração µg/mL (µM)	Ausência do sorbitol	Presença do sorbitol	Concentração µg/mL (µM)	Ausência do sorbitol	Presença do sorbitol
1000 (4478,8)	-	-	1000 (4147,8)	-	-	4 (3,6)	-	-
500 (2239,4)	-	-	500 (2073,9)	-	-	2 (1,8)	-	-
250 (1119,7)	-	-	250 (1036,9)	-	-	1 (0,9)	-	+
125 (559,8)	-	-	125 (518,4)	+	+	0.5 (0,4)	-	+
62,5 (279,9)	-	-	62,5 (259,2)	+	+	0,25 (0,22)	-	+
31,25 (139,9)	+	+	31,25 (129,6)	+	+	0,125 (0,11)	-	+
15,62 (69,9)	+	+	15,62 (64,8)	+	+	0,062 (0,056)	+	+
7,81 (34,9)	+	+	7,81 (32,4)	+	+	0,031 (0,028)	+	+
Observação: +, crescimento fúngico e -, ausência de crescimento fúngico.								

Fonte: O autor

6. CONCLUSÕES

Os treze (**1–13**) derivados benzoxazóis e benzotiazóis foram preparados em uma única etapa e foram confirmados estruturalmente por meio das técnicas de espectroscopia de infravermelho e por RMN de ^1H e ^{13}C . Dentre os treze compostos preparados seis são inéditos na literatura (**2, 5, 8, 10, 11 e 13**).

Os compostos **1** e **2** tiveram significativa atividade antifúngica. O composto **1** apresentou forte atividade antifúngica para *C. krusei*, ação moderada contra as cepas de *C. albicans*, e atividade fraca contra *C. tropicalis*. O composto **2** por sua vez apresentou atividade moderada contra as cepas de *C. krusei* e atividade fracas contra *C. albicans* e *C. tropicalis*. Os demais compostos apresentaram atividade antifúngica que variou de fraca a muito fraca contra as cepas de *Candida* spp. testadas.

O composto de maior potência farmacológica foi obtido a partir do ácido cinâmico, ao passo que compostos derivados de ácidos cinâmicos com substituições em diferentes posições do anel aromático apresentaram menor potência farmacológica contra as cepas testadas. A razão CFM/CIM demonstrou que os compostos **3, 6 e 7** exibiram atividade fungistática, enquanto os demais possuem atividade fungicida para as espécies testadas. O estudo do mecanismo de ação dos compostos de maior potência farmacológica (**1 e 2**), por meio dos ensaios do sorbitol e ergosterol, evidenciou que os compostos apresentam atividade antifúngica com alvo na membrana plasmática da célula fúngica, descartando-se o mecanismo via parede celular fúngica. Dessa forma, os resultados obtidos evidenciam a necessidade de se realizar novos estudos visando ampliar o conhecimento acerca da atividade antifúngica dessas substâncias.

7. PARTE EXPERIMENTAL QUÍMICA

7.1. Materiais e métodos

Toda a etapa química foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF) do Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

Quanto aos reagentes utilizados para o desenvolvimento do estudo, apresentam grau de pureza adequado e foram obtidos da empresa Sigma Aldrich. No desenvolvimento do projeto, foram utilizados o ácido cinâmico e sete derivados: ácido 4-metilcinâmico, ácido 2-

fluorocinâmico, ácido 4-metoxicinâmico, ácido 3,4-metilenodioxicinâmico, ácido 2-metoxicinâmico, ácido 3,4-diclorocinâmico, ácido 3-metoxicinâmico. Utilizou-se ainda 2-amino-4-metilfenol, 2-aminotiofenol, 2-amino-4-clorofenol, além do fósforo elementar e 4-metilmorfolina.

7.2. Extração e métodos cromatográficos

Durante a corrida cromatográfica todas as frações coletadas foram monitoradas por meio de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), com fases estacionária composta por sílica gel 60 F254 e fase móvel 9:1 hexano/acetato de etila. As placas cromatográficas foram visualizadas com o auxílio da luz ultravioleta no comprimento de onda de 254 nm, para isso utilizou-se o aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58.

7.3. Métodos espectroscópicos

7.3.1. Ressonância Magnética Nuclear

Os compostos foram previamente solubilizados em clorofórmio deuterado (CDCl_3), e em seguida, caracterizados por meio da técnica de ressonância magnética nuclear (RMN de ^1H e RMN de ^{13}C). As análises foram realizadas no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA/UFPB), nos espectrômetros da BRUKER-ASCEND operando a 400 MHz (^1H) e 100 MHz (^{13}C), e Varian-RMN-System operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C).

Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Adotou-se os sinais característicos dos hidrogênios presentes nas frações não deuteradas do clorofórmio ($\delta\text{H} = 7,26$ ppm) como referência para os espectros de RMN de ^1H e os sinais do clorofórmio ($\delta\text{C} = 77,20$ ppm) para os espectros de RMN de ^{13}C . A multiplicidade dos sinais resultantes dos espectros de RMN de ^1H foi expressa de forma convencional: *s* (Simpleto), *d* (dubleto), *dd* (duplo dubleto), *ddd* (duplo dupleto de dubletos) e *m* (multiplete).

Os espectros de RMN de ^{13}C foram analisados mediante a técnica de APT (Attached Proton Test), desse modo, os sinais oriundos de carbonos quaternários e metilênicos se localizam na mesma face do espectro, já os referentes aos carbonos metínicos e metílicos situam-se no lado oposto em relação aos demais.

7.3.2. Espectroscopia de Infravermelho

Os compostos foram caracterizados pela técnica de infravermelho (IV), por meio do método de refletância total atenuada (ATR). Para esse propósito foi empregado o espectrômetro infravermelho modelo IRPrestige-21, SERIAL NO. A21004802459LP, 220/230/240V, 50/60Hz da SHIMADZU CORPORATION. O aparelho mencionado encontra-se Laboratório de Materiais de Combustível (Lacom), localizado no Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN) da UFPB, onde foram realizadas as análises.

7.4. Ponto de Fusão

O ponto de fusão dos compostos foi estipulado utilizando-se placa de aquecimento do aparelho da Microquímica Equipamentos LTDA, modelo MQAPF 302, disponível no Laboratório de Química Farmacêutica (CCS-UFPB). O aparelho opera em temperaturas entre 10-350°C.

8. PARTE EXPERIMENTAL – BIOLÓGICA

8.1. Ambiente de trabalho

Os ensaios antifúngicos foram realizados no Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (LAFECC), do Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

8.2. Substâncias, matérias e métodos

Com a finalidade de determinar a CIM, a CFM e provável mecanismo de ação foram utilizadas as cepas de referência de *Candida* spp. obtidos da American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, EUA): *C. albicans* ATCC 60193, *C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258. Nistatina (controle positivo), DMSO (Dimetilsulfóxido), Tween 80% e ergosterol obtidos da Sigma-Aldrich® Chemical Co. (São Paulo, SP) e o sorbitol (D-sorbitol anidro) do INLAB® (São Paulo, Brasil). O meio de cultura empregado na realização dos ensaios de análise da atividade antifúngica foi o ágar Sabouraud Dextrose (KASVI1, Kasv Imp e Dist de Prod / Laboratorios LTDA, Curitiba, Brasil), preparados consoante as recomendações do fabricante.

8.3. Preparo do inóculo

O ajuste da suspensão leveduriforme ocorreu em caldo RPMI (Roswell Park Memorial Institute médium, Sigma, Darmstadt, Alemanha) com o ajuste da turbidez equivalente a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL, em 530 nm e com absorbância entre 0,08 e 0,13, para as cepas utilizadas (*C. albicans* ATCC 60193, *C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258).

8.4. Análise da atividade antifúngica

Inicialmente realizou-se a triagem dos (1-13) compostos frente às cepas de *Candida* spp. na concentração máxima de 1000 µg/mL e em concentrações inferiores. Para tal objetivo, foram utilizadas placas de microdiluição esterilizadas com 96 poços de fundo chato, que, inicialmente, receberam 100 µL de RPMI. Posteriormente, no primeiro poço de cada coluna foram inseridos 100µL da solução contendo as substâncias em estudo na concentração de 1000 µg/mL, seguido do processo de microdiluição seriado, proporcionando, portanto, concentrações que variaram de 1000 a 7,81 µg/mL.

Por fim, foram adicionados 100µL do inóculo das cepas fúngicas em cada poço. A nistatina foi empregada como controle positivo em concentrações que variaram entre 48 e 0,75µg/mL. As placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C, e os resultados averiguados por meio da observação visual, crescimento, ou não, ausência de crescimento, de agregados celulares no fundo dos poços.

8.5. Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A CIM dos compostos foi estabelecida mediante o uso da técnica de microdiluição em placa de 96 poços com fundo chato, conforme estabelecido pelo CLSI (2008). Desse modo, com o desígnio de desenvolver o ensaio os compostos em estudo e o controle foram diluídos em DMSO e água destilada. Após a diluição distribuiu-se 100 µL do caldo RPMI nos poços das placas.

Em seguida, 100 µL da solução dos compostos foram aplicados em triplicata nos poços distribuídos na primeira linha da placa e então realizou-se uma diluição seriada com razão de 1:2, obtendo-se concentrações entre 1000 µg/mL e 7,81 µg/mL. Posteriormente, foram adicionados 100µL do inóculo das cepas fúngicas em cada poço. Finalmente, as placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C e os resultados aferidos por meio da observação visual, crescimento, ou não, ausência de crescimento, de agregados celulares no fundo dos poços.

A CIM corresponde a menor concentração capaz de inibir visivelmente o crescimento de cepas fúngicas nos poços. A atividade antifúngica dos benzotiazóis e benzoxazóis foi estabelecida de acordo com a metodologia proposta por Alves *et al.* (2021): a) bioatividade muito forte (CIM <3,515 µg/ml); b) bioatividade forte (CIM entre 3,515 e 25 µg/ml); c) bioatividade moderada (CIM entre 26 -100 µg/ml); d) bioatividade fraca (CIM de 101 a 500 µg/ml); e) bioatividade muito fraca (CIM na faixa de 501-2000 µg/ml).

8.6. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

A CFM foi definida após leitura da CIM, para isso frações de 20 µL correspondentes à CIM e duas de suas concentrações múltiplas foram subcultivadas em ágar Sabouraud Dextrose (KASVI1, Kasv Imp e Dist de Prod / Laboratorios LTDA, Curitiba, Brasil). As placas foram incubadas durante 24 h a 35°C para posterior análise dos resultados por meio do método da observação visual do crescimento fúngico no meio de cultura (SIDDIQUI *et al.*, 2013; PEIXOTO *et al.*, 2017).

A CFM nada mais é do que a menor concentração capaz de inibir o crescimento fúngico em meio sólido. Enfim, aferiu-se a razão CFM/CIM para determinar se a substância em questão tem atividade fungistática ($CFM/CIM \geq 4$) ou fungicida ($CFM/CIM < 4$) (SIDDIQUI *et al.*, 2013).

8.7. Determinação do mecanismo de ação

8.7.1. Ensaio do sorbitol

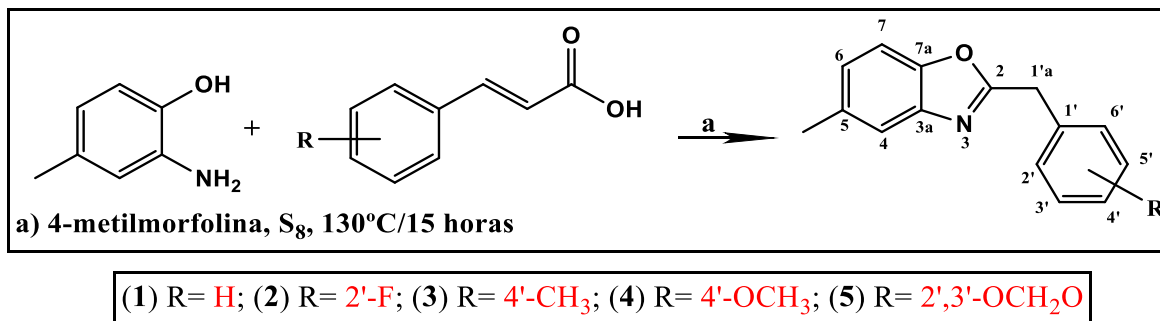
A técnica utilizada para a execução do ensaio é semelhante a microdiluição, diferenciando-se apenas no meio utilizado, no qual será acrescido sorbitol 0.8 M (D-sorbitol anidro) (INLAB, São Paulo, Brasil). O sorbitol é um protetor osmótico que atua na parede celular fúngica, assim, esse teste foi utilizado com o objetivo de comparar os valores da CIM da substância 1 e 2 frente a cepas de *C. albicans* ATCC 60193, *C. tropicalis* ATCC 750 e *C. krusei* ATCC 6258. na ausência e presença do sorbitol 0.8 M. O aumento do valor da CIM na presença do sorbitol indicará que a parede celular é um dos possíveis alvos da substância em estudo (SOUSA *et al.*, 2015; FREIRES *et al.*, 2014). A caspofungina foi utilizada como controle positivo, em virtude de sua ação já conhecida sobre a parede celular (DE SOUSA *et al.*, 2020).

8.7.2. Ensaio do ergosterol

A técnica aplicada nesta etapa do estudo é muito semelhante a microdiluição, diferindo-se somente no meio, no qual será acrescido de ergosterol exógeno (Sigma-Aldrich, São Paulo, Brasil) na concentração de 400 µg/mL. Sabe-se que alguns agentes antifúngicos agem sobre o ergosterol presente membrana plasmática dos fungos, formando complexos e/ou inibindo a biossíntese membranar. Desse modo, o aumento da CIM na presença do ergosterol exógeno indicará uma atividade do agente em estudo sobre a membrana plasmática fúngica (SOUSA *et al.*, 2015). A nistatina foi utilizada como controle positivo, tendo em vista que sua atividade sobre a membrana plasmática já é bem estabelecida na literatura (RANGEL *et al.*, 2019).

9. Preparo dos benzoxazóis e benzotiazóis

9.1. Preparação dos benzoxazóis 1-5



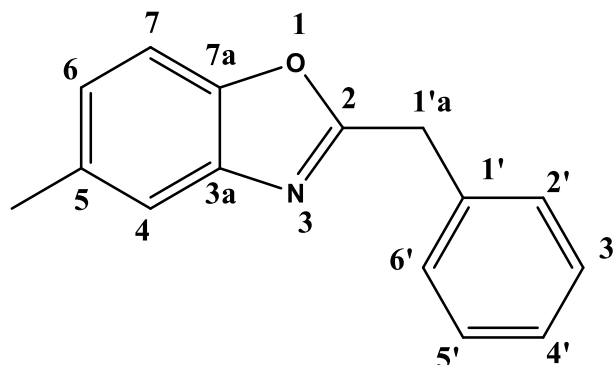
Esquema 9: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-metilfenol e ácidos cinâmicos.

Fonte: O autor.

Em um tubo de pressurização de 4 ml adicionou-se 0,300 g de 2-amino-4-metilfenol (2,43 mmol), 2,43 mmol do ácido cinâmico correspondente, 7,30 mmol de enxofre elementar (0,32 g) e 7,30 mmol de 4-metilmorfolina (0,80 ml). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e aquecimento em banho de óleo (130°C), durante 15 horas. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e submetida à extração líquido-líquido em um funil de separação. Adicionou-se 10 ml água destilada e fez-se a extração com acetato de etila (3x 10 ml). A fase orgânica reunida foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada à pressão reduzida. O produto reacional foi submetido à cromatografia em coluna utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Todas as frações coletadas foram monitoradas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

9.2. Dados espectroscópicos dos benzoxazóis 1-5

Composto 1: 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol



Aspecto: Sólido amorfo marrom;

Rendimento: 10,16%;

Ponto de fusão: 49,5-51,0 °C (ACKERMANN; BARFÜSSER e POSPECH, 2010).

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,61 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,47-7,46 (m, H4; 1H); 7,40 – 7,31 (m, H2', H3', H4', H5', H6' e H7; 6 H); 7,11-7,07 (m, H6; 1H), 4,25 (s, H1'a; 2H); 2,45 (s, 5-Me; 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100 MHz): δ 165,40 (C-2); 149,44 (C-7a); 141,66 (C-3a); 135,05 (C-1'); 134,14 (C-5); 129,12 (C-2' e C-6'); 128,95 (C-3' e C-5'); 127,41 (C-4'); 125,88 (C-6); 119,87 (C-4); 109,96 (C-7); 35,45 (C-1'a); 21,57 (C-5-Me) (GUNTREDDI *et. al.*, 2016).

IV (ATR, cm^{-1}): 3030 (C-H sp^2); 2962, 2921 (C-H sp^3); 1568, 1454 (C=C aromático); 1261 (C-C); 1117 (C-O); 712, 694 (anel aromático monossubstituído).

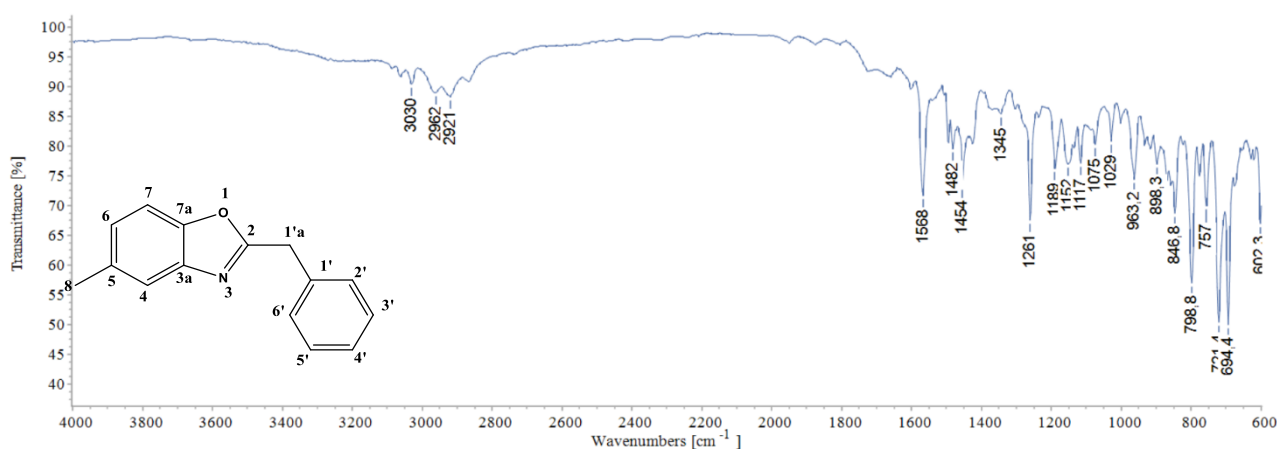


Figura 1: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1)

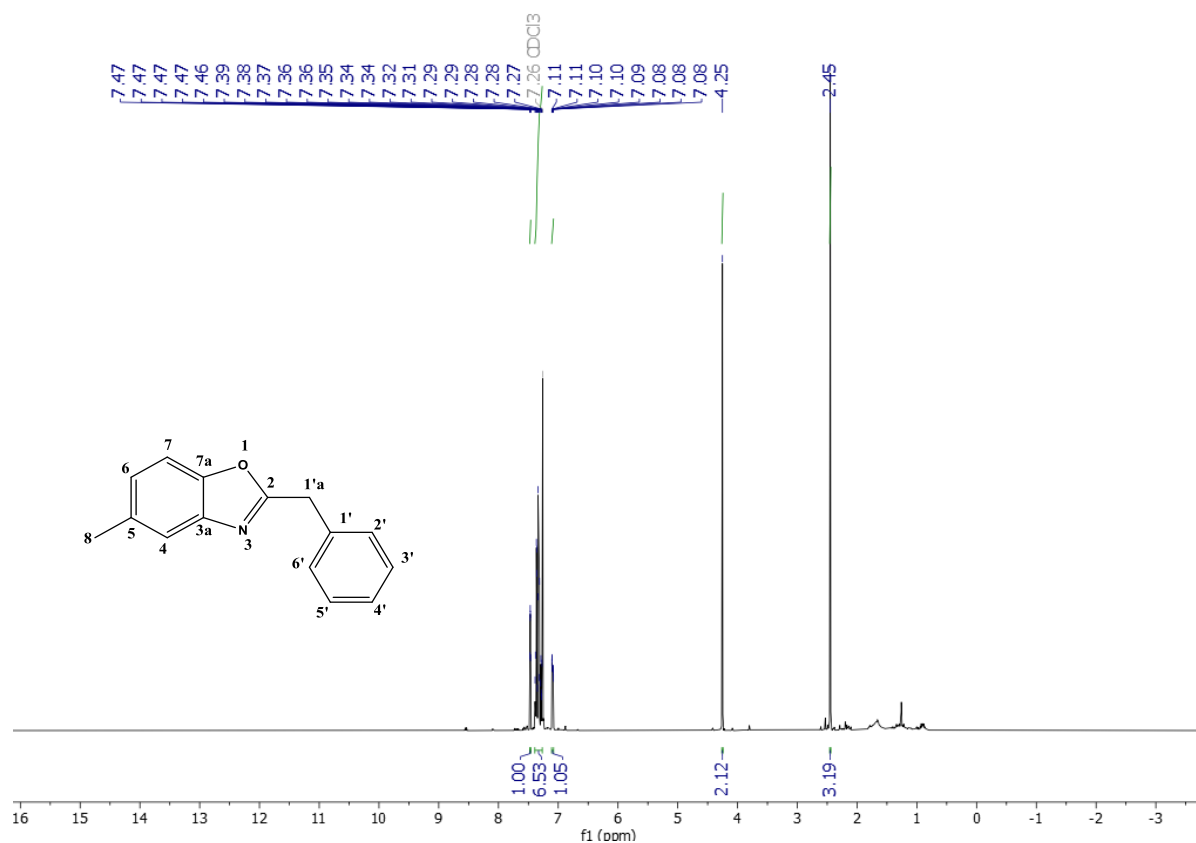


Figura 2: Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).

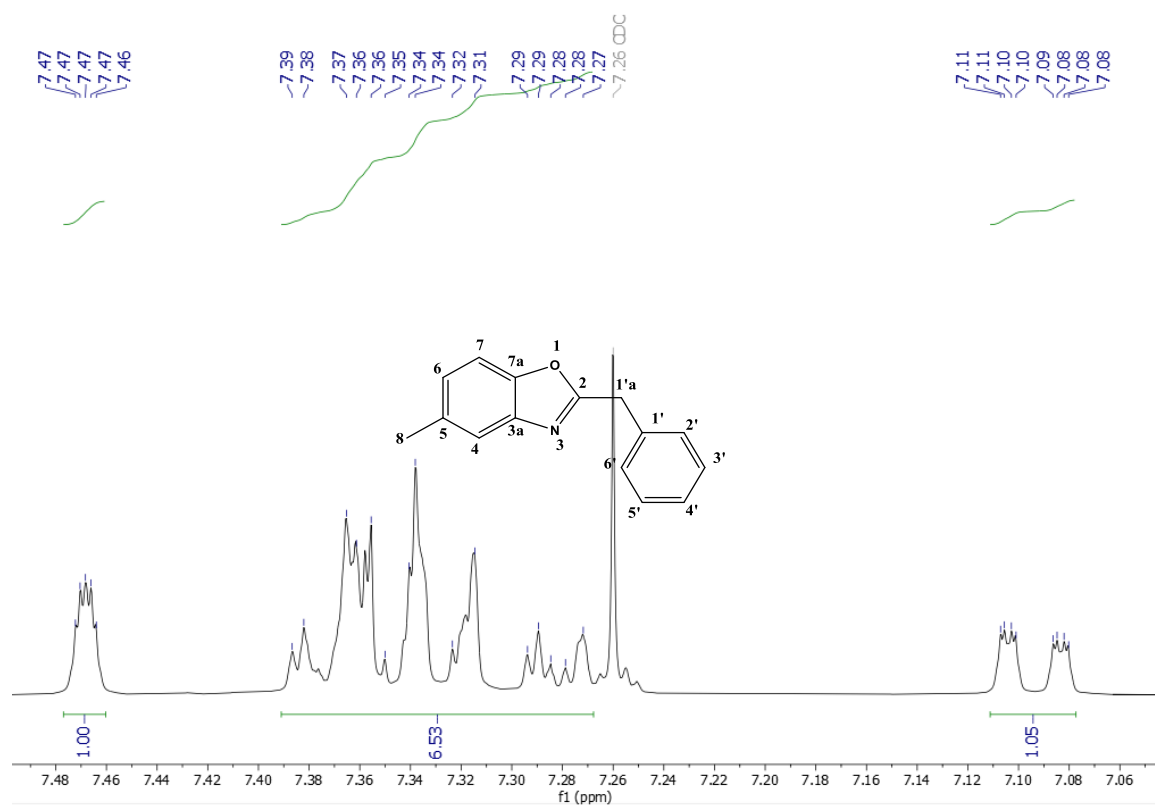


Figura 3: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).

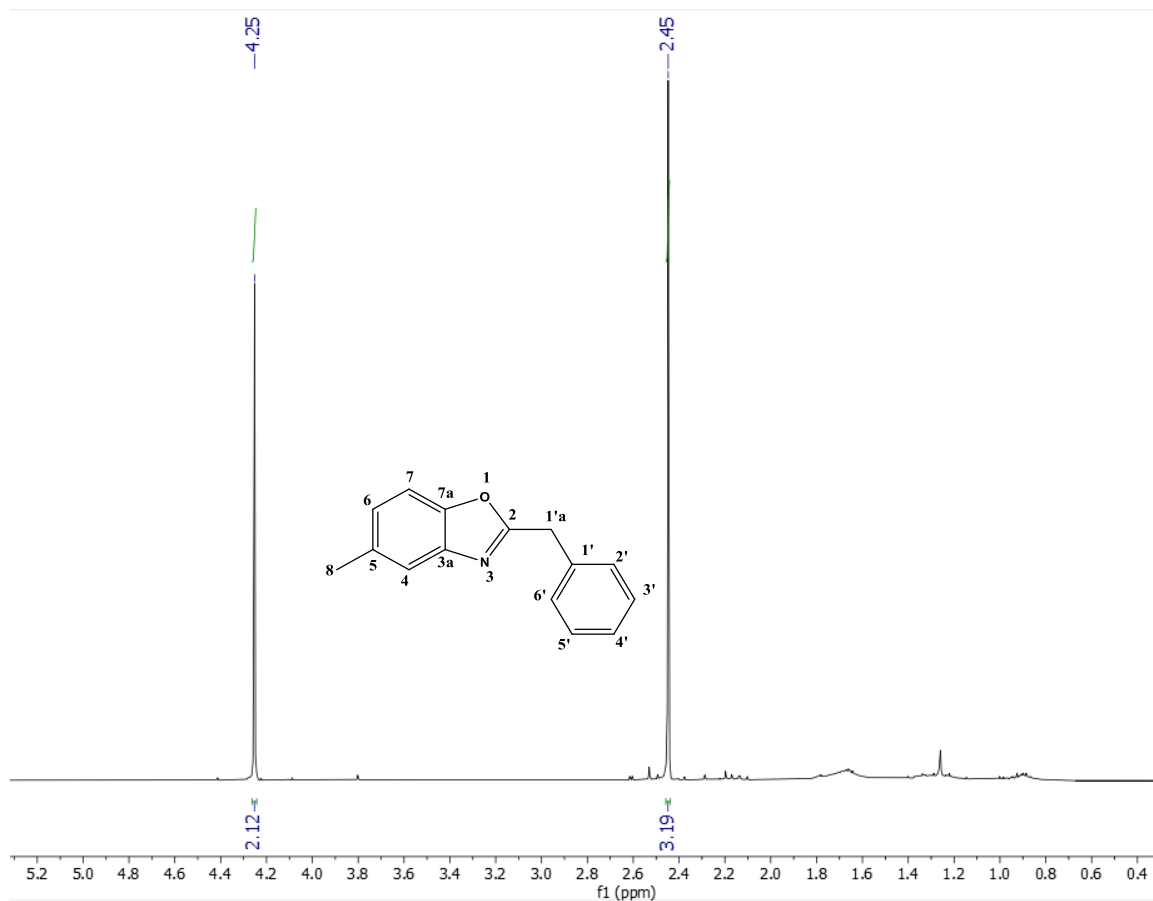


Figura 4: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).

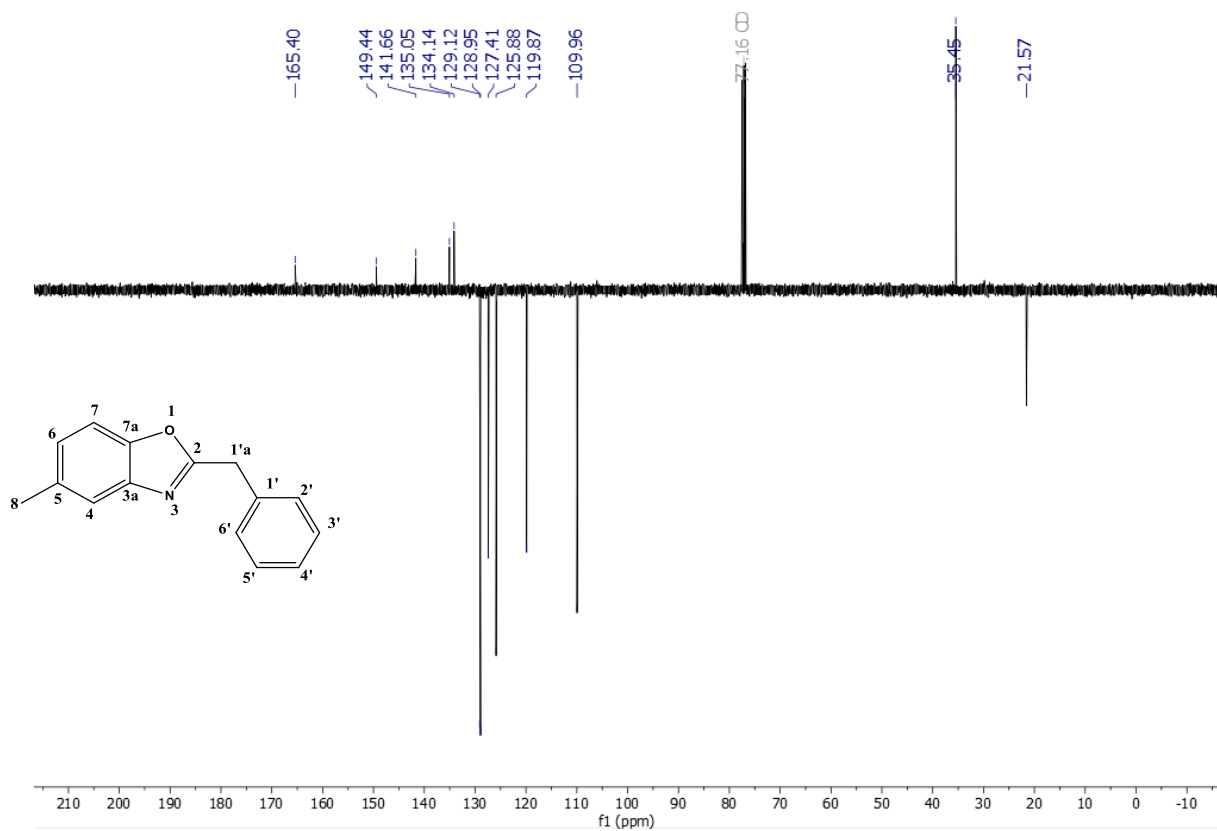
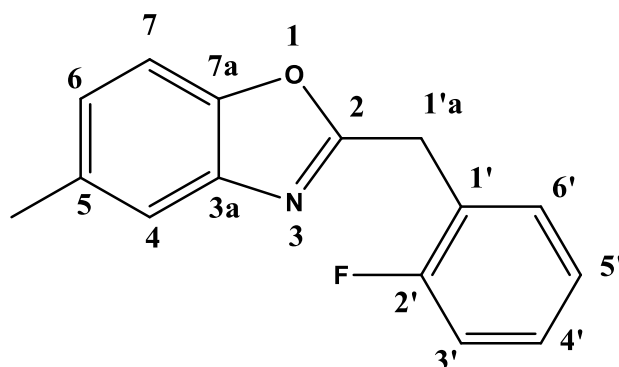


Figura 4: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-benzil-5-metilbenzo[d]xazol (1).

Composto 2: 2-(2-fluorobenzil) -5-metilbenzo[d]xazol

Aspecto: Sólido amorfo amarelo;

Rendimento: 7,94;

Ponto de fusão: 92-93°C;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,44 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,47-7,45 (*m*, H4; 1H); 7,34 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H7 e H4'; 2H); 7,29-7,25 (*m*, H3'; 1H); 7,13-7,07 (*m*, H5', H6 e H6'; 3H); 4,30 (*s*, H1'a; 2H); 2,45 (*s*, 5-Me; 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz): δ 164,43 (C-2); 162,00 (C-2'); 149,40 (C-7a); 141,63 (C-3a); 134,19 (C-5); 131,24 (F-C6'); 131,21 (C-6'); 129,2 (F-C4'); 129,36 (C-4'); 125,96 (C-6); 124,52 (F-C5'); 124,49 (C-5'); 122,31 (F-C1'); 122,25 (C-1'); 119,93 (C-4); 115,69 (C-3'); 115,86 (F-C3'); 109,99 (C-7); 28,49 (C-1'a); 21,57 (C-5-Me).

IV (ATR, cm^{-1}): 3066 (C-H sp^2); 2967 (C-H sp^3); 1535, 1455 (C=C aromático); 1227 (C-C); 1092 (C-O); 753 (anel aromático *orto*-substituído).

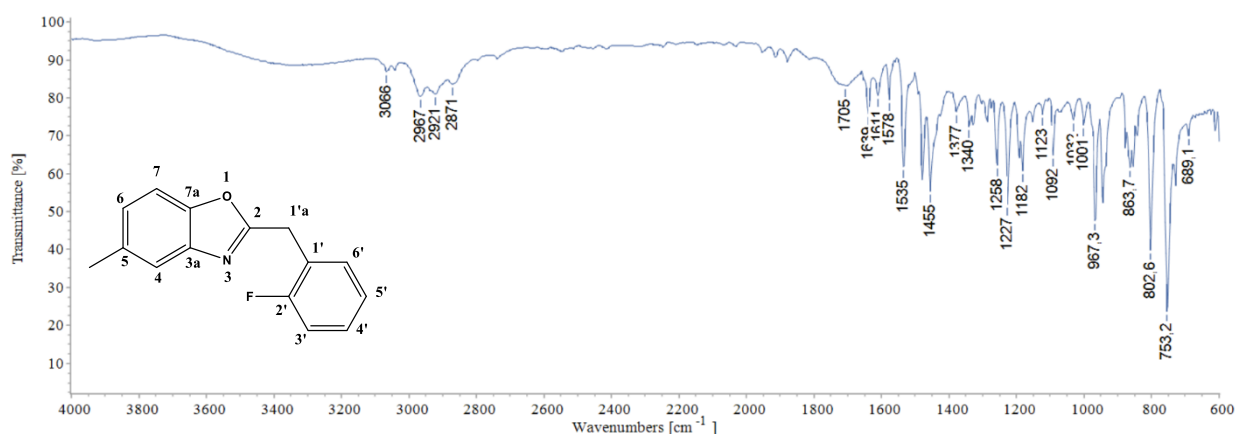


Figura 5: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(2-fluorobenzil) -5-metilbenzo[d]xazol (2)

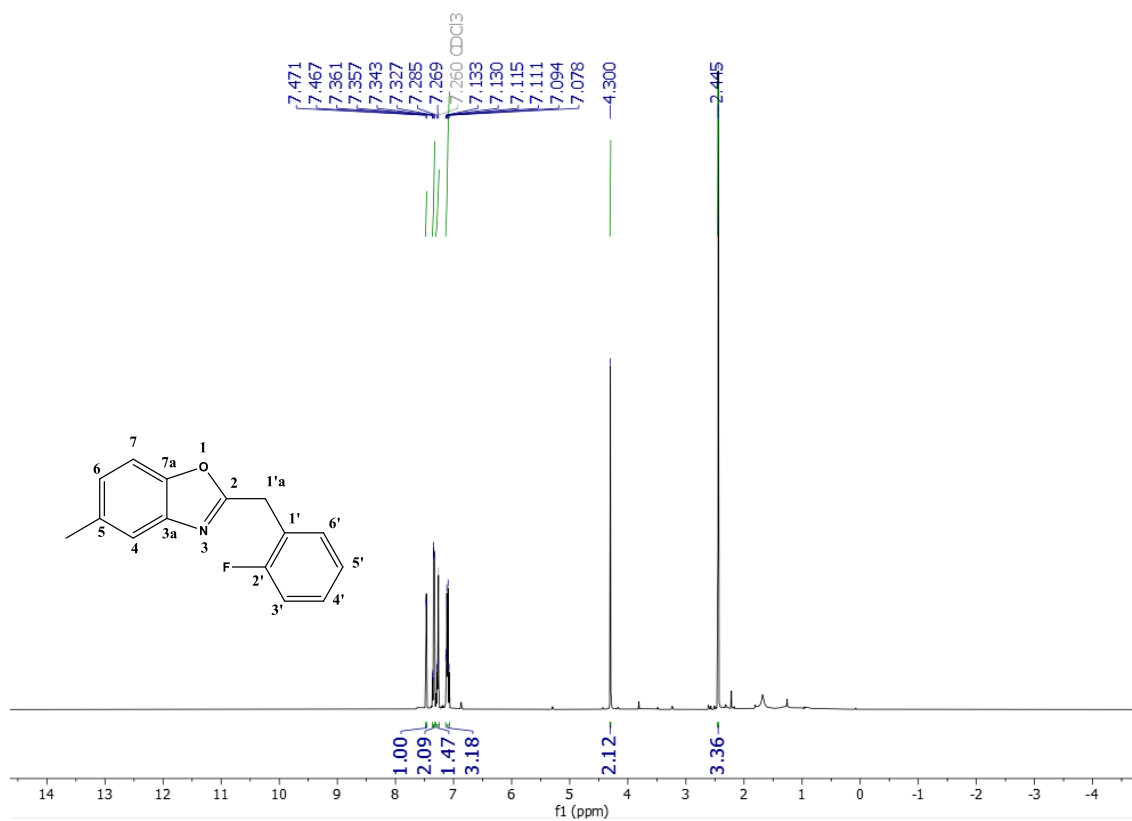


Figura 6: Espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).

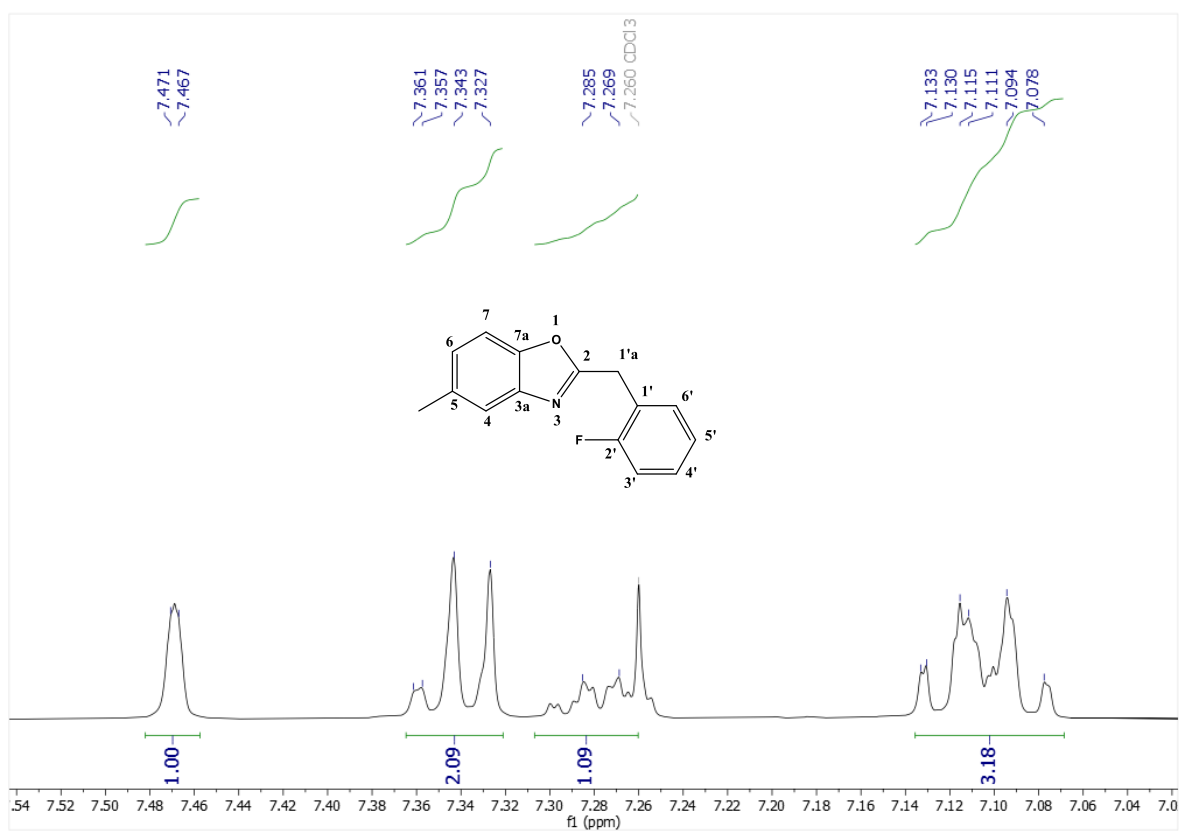


Figura 7: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).

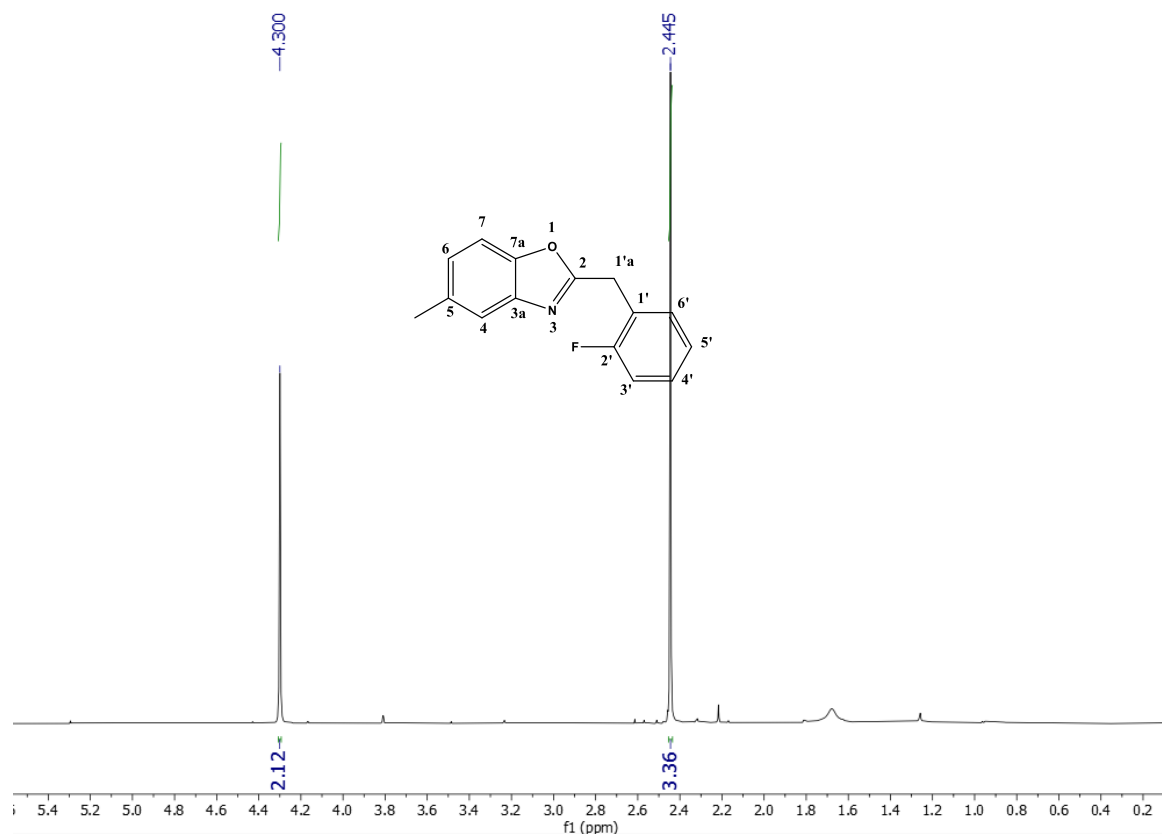


Figura 8: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-(2-fluorobenzil) -5-metilbenzo[d]xazol (2).

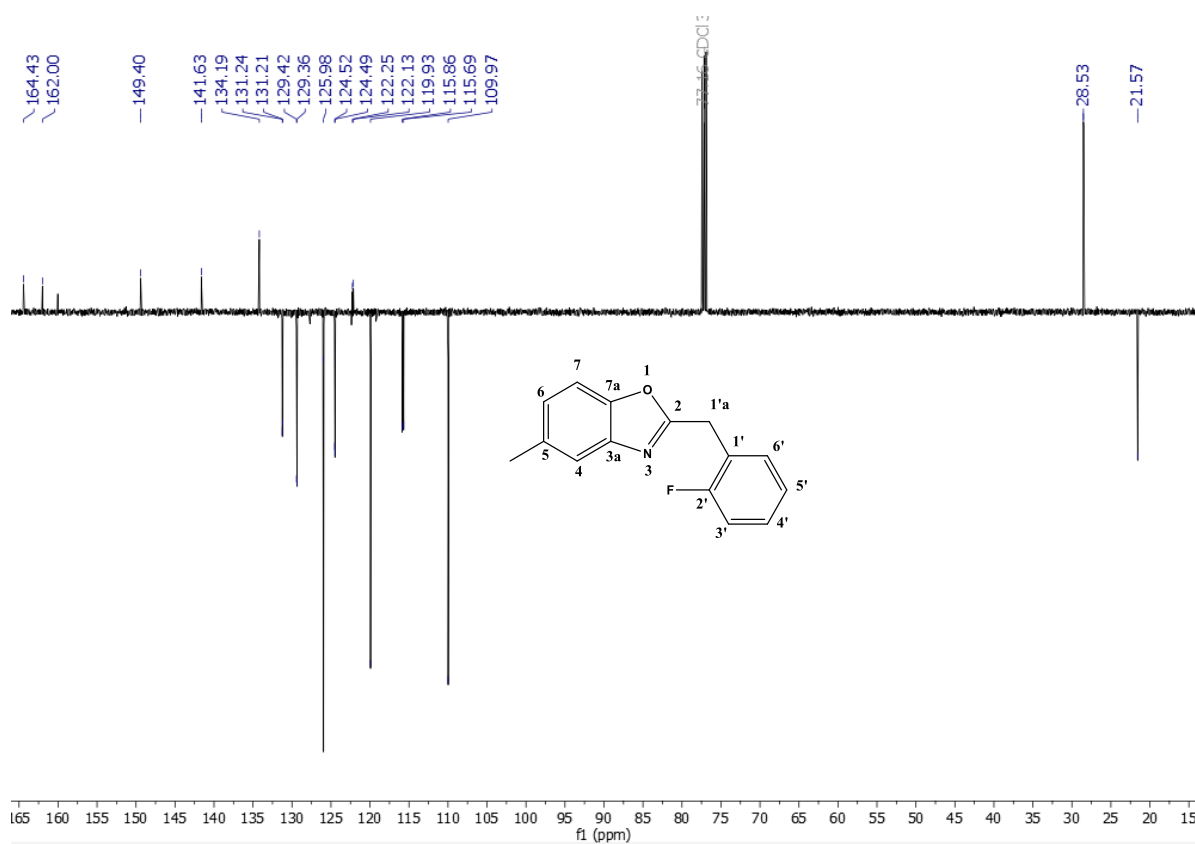


Figura 9: Espectro de RMN de ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (2).

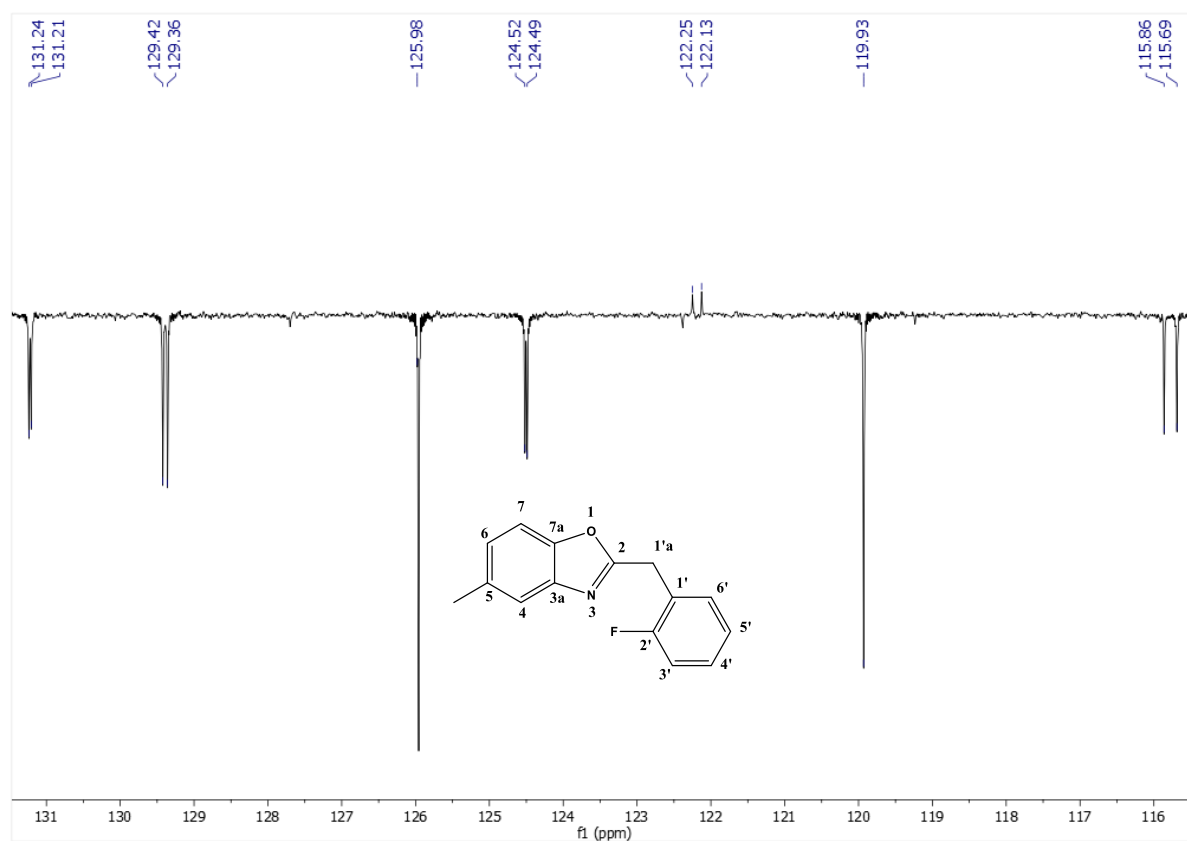


FIGURA 10: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]oxazol (2).

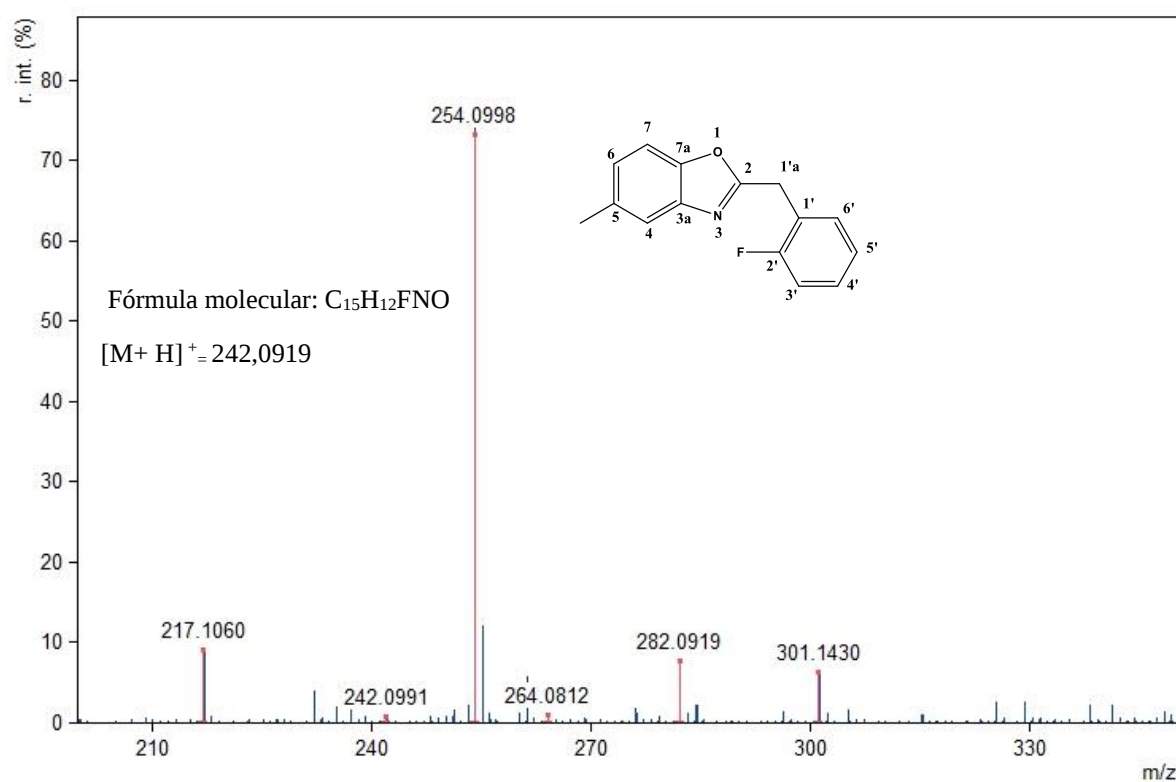
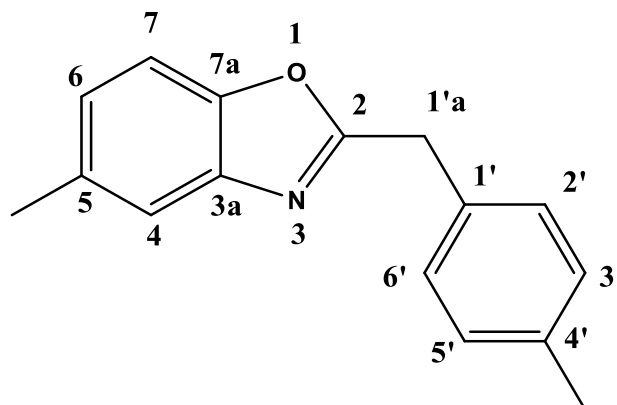


Figura 11: Figura: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(2-fluorobenzil)-5-metilbenzo[d]oxazol (2).

Composto 3: 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol

Aspecto: Líquido amarelo (YIN *et al.*, 2015);

Rendimento: 7,35%;

Ponto de fusão:

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,57 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (CDCl_3 , 500 MHz): δ 7,47 (*sl*, H4; 1H); 7,32 (*d*, $J = 8,5$ Hz, H7; 1H); 7,26 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 2' e 6'; 2H); 7,16 (*d*, $J = 8,0$ Hz, H3' e H5'; 2H); 7,09 (*dd*, $J = 8,5$ e 2,0 Hz, H6; 1H); 4,22 (*s*, H1'a; 2H); 2,45 (*s*, 5-Me; 3H); 2,34 (*s*, 4'-Me; 3H).

RMN ^{13}C (CDCl_3 , 125 MHz): δ 165,64 (C-2); 149,42 (C-7a); 141,68 (C-3a); 137,03 (C-1'); 134,04 (C-5); 131,95 (C-4'); 129,61 (C-2' e C-6'); 128,98 (C-3' e C-5'); 125,78 (C-6); 119,83 (C-4); 109,91 (C-7); 35,03 (C-1'a); 21,45 (5-Me); 21,19 (4'-Me) (YIN *et al.*, 2015).

IV (ATR, cm^{-1}): 3025 (C-H sp^2); 2919 (C-H sp^3); 1569, 1498 (C=C aromático); 2260 (C-C); 1018 (C-O); 794 (anel aromático *para*-substituído).

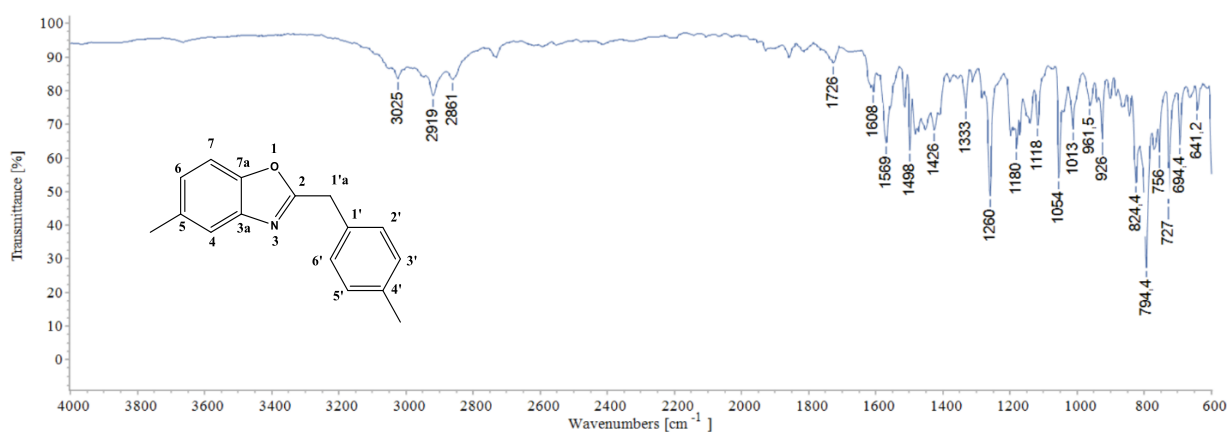


Figura 12: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3)

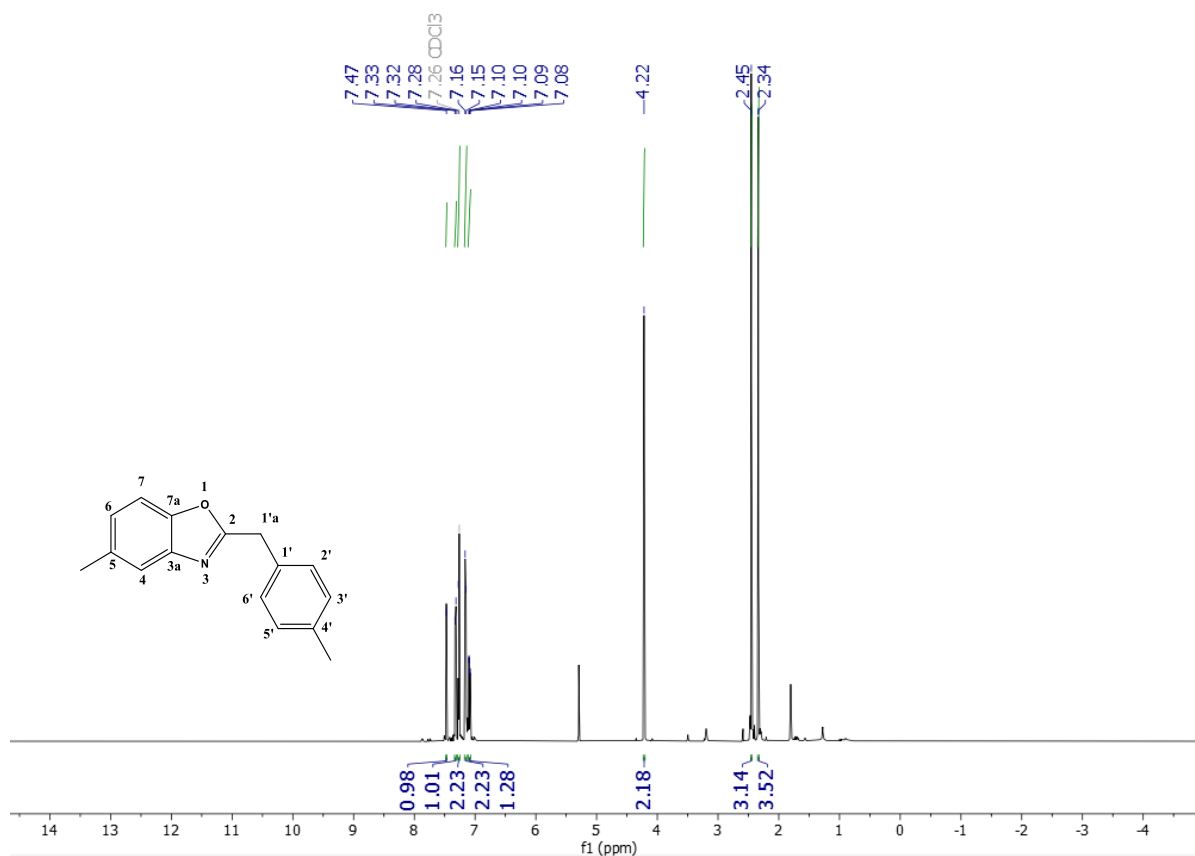


Figura 13: Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).

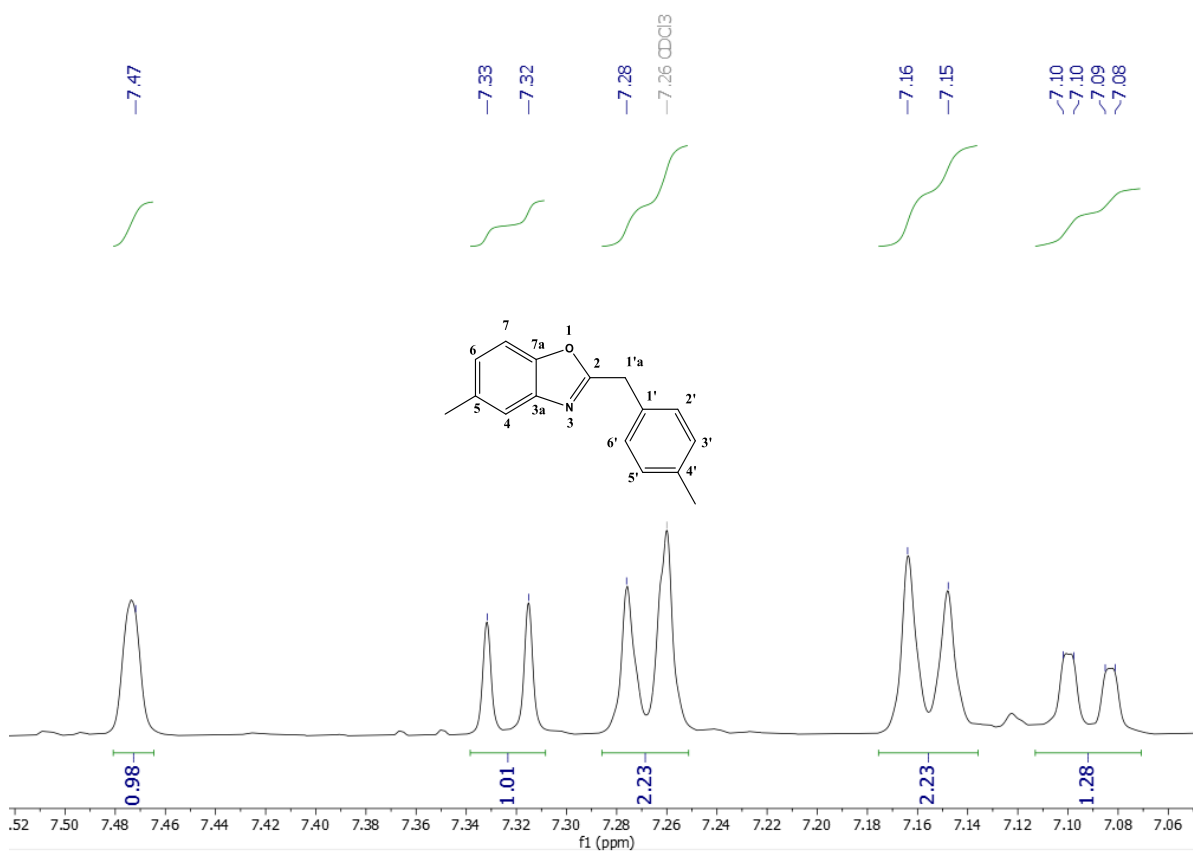


Figura 14: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).

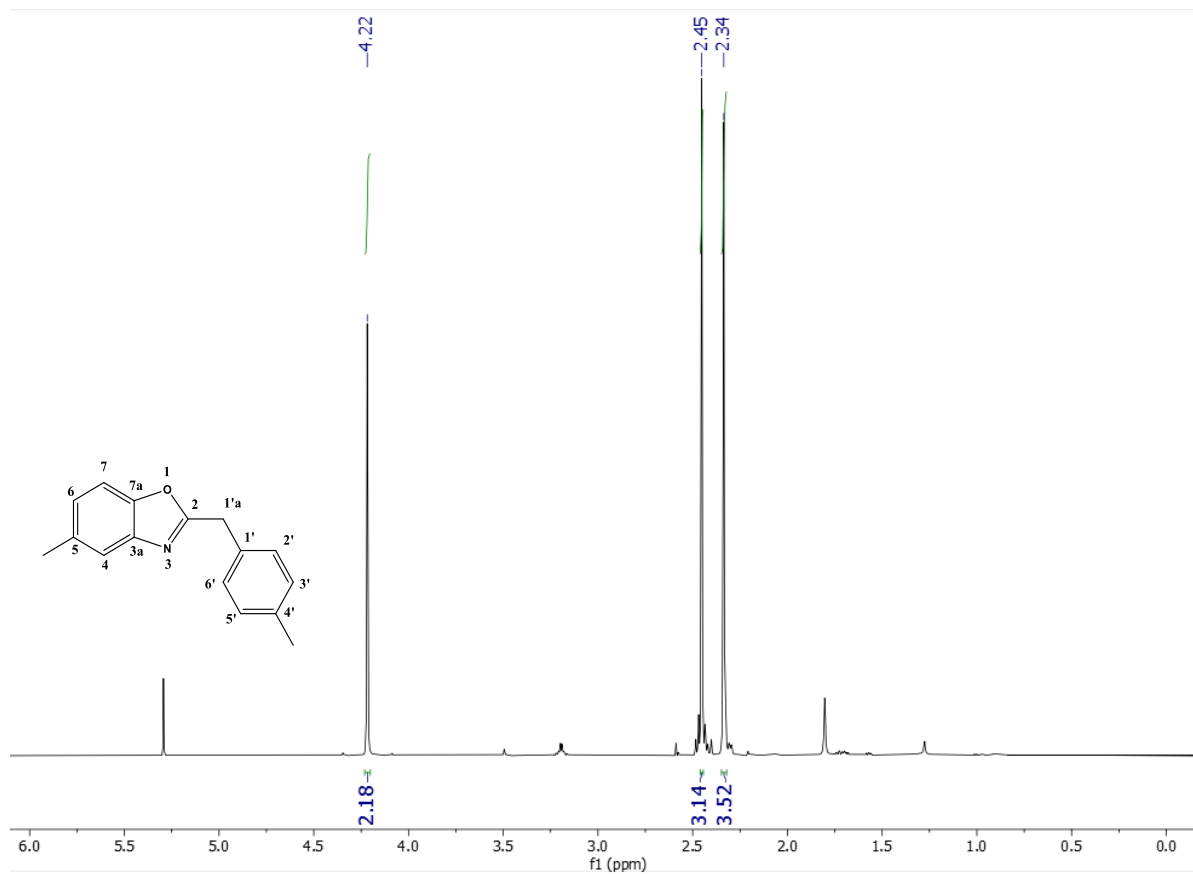


Figura 15: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).

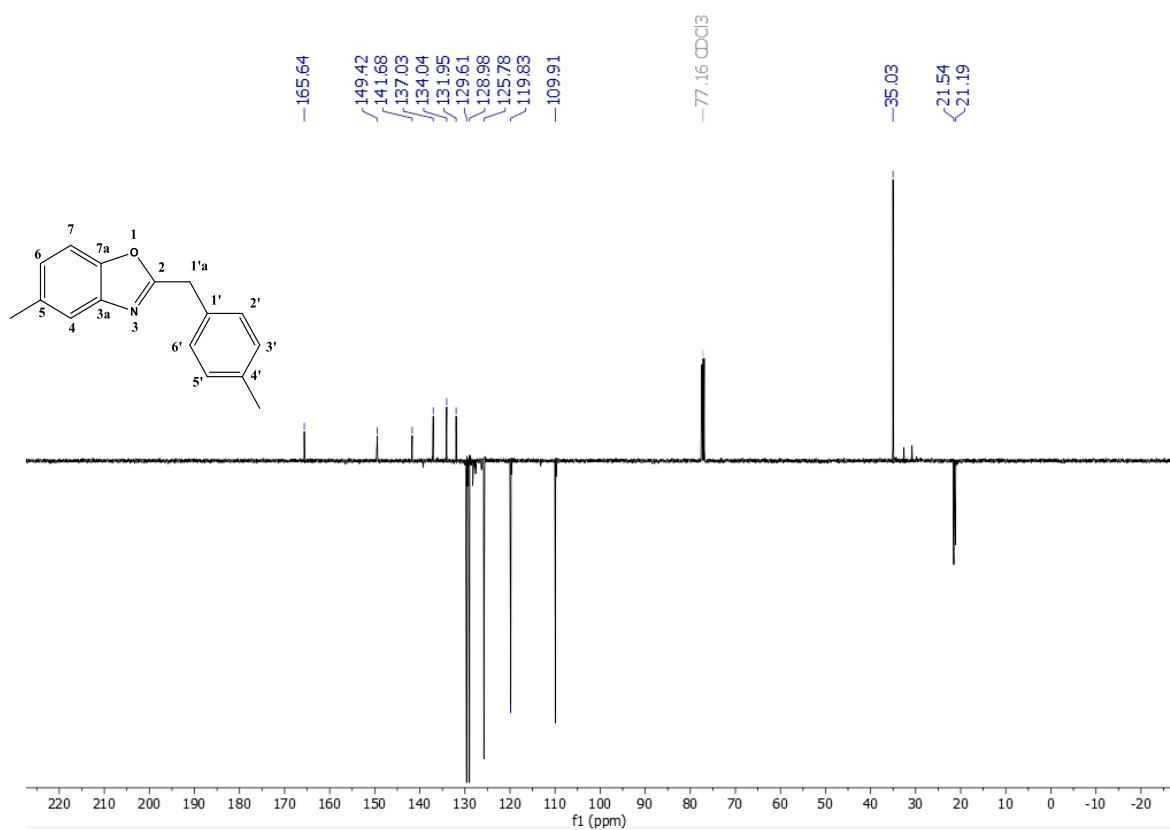
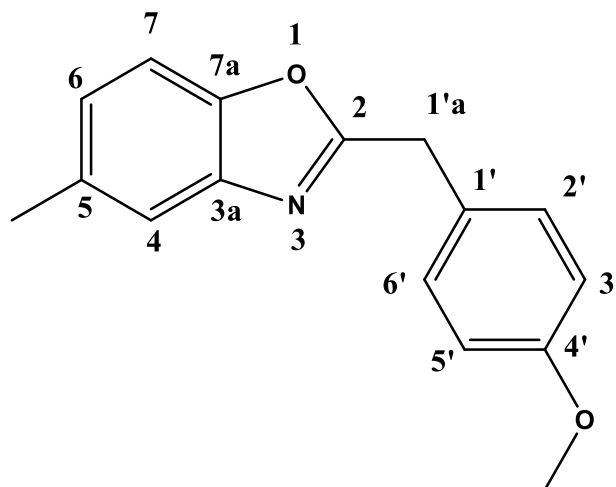


Figura 16: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 5-metil-2-(4-metilbenzil) benzo[d]xazol (3).

Composto 4: 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol

Aspecto: Óleo laranja (NIEDDU e GIACOMELLI, 2013);

Rendimento: 10,33%;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,42 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,46-7,45 (*m*, H₄; 1H); 7,31 (*d*, *J* = 8,40; H₇; 1H); 7,28 (*d*, *J* = 8,80; H_{2'} e H_{6'}; 2H); 7,09 (*dd*, *J* = 8,40 e 2,40 Hz, H₆; 1H); 6,87 (*d*, *J* = 8,80; H_{3'} e H_{5'}; 2H); 4,19 (*s*, H_{1'a}; 2H); 3,79 (*s*, 4'-MeO; 3H); 2,44 (*s*, 5-Me; 3H).

RMN¹³C (CDCl₃, 125 MHz): δ 165,78 (C-2); 158,96 (C-4'); 149,43 (C-7a); 141,70 (C-3a); 134,08 (C-5); 130,18 (C-2', C-6'); 127,07 (C-1'); 125,81 (C-6); 119,86 (C-4); 114,37 (C-3', C-5'); 109,93 (C-7); 55,42 (4'-MeO); 34,61 (C-1'a); 21,57 (5-Me) (NIEDDU e GIACOMELLI, 2013).

IV (ATR, cm⁻¹): 3000 (C-H sp²); 2029 (C-H sp³); 1569, 1511 (C=C aromático); 1246 (C-C); 1140 (C-O); 799,9 (anel aromático *para*-substituído).

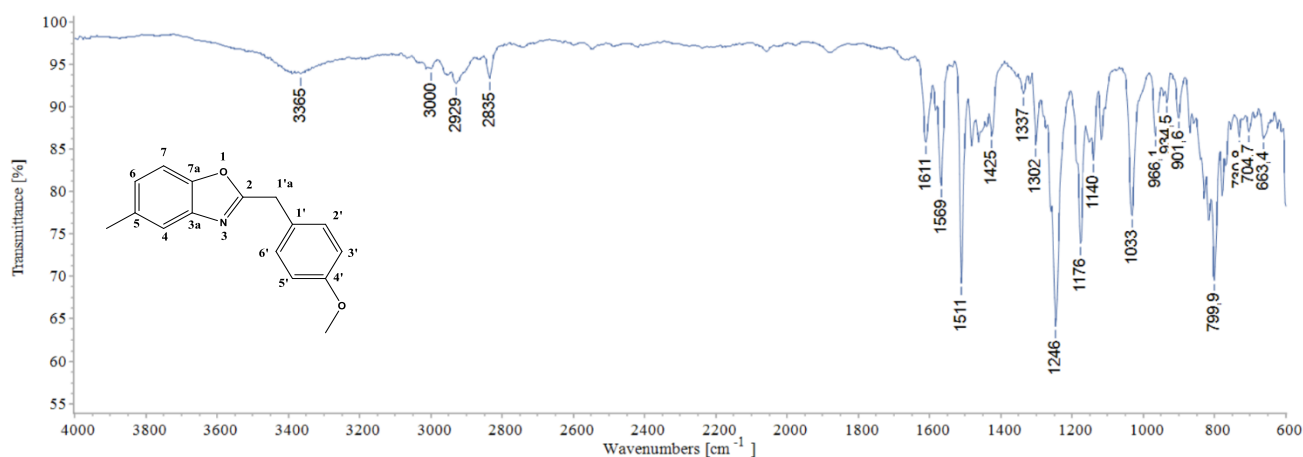


Figura 17: Espectro de Infravermelho (ATR, cm⁻¹) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (4).

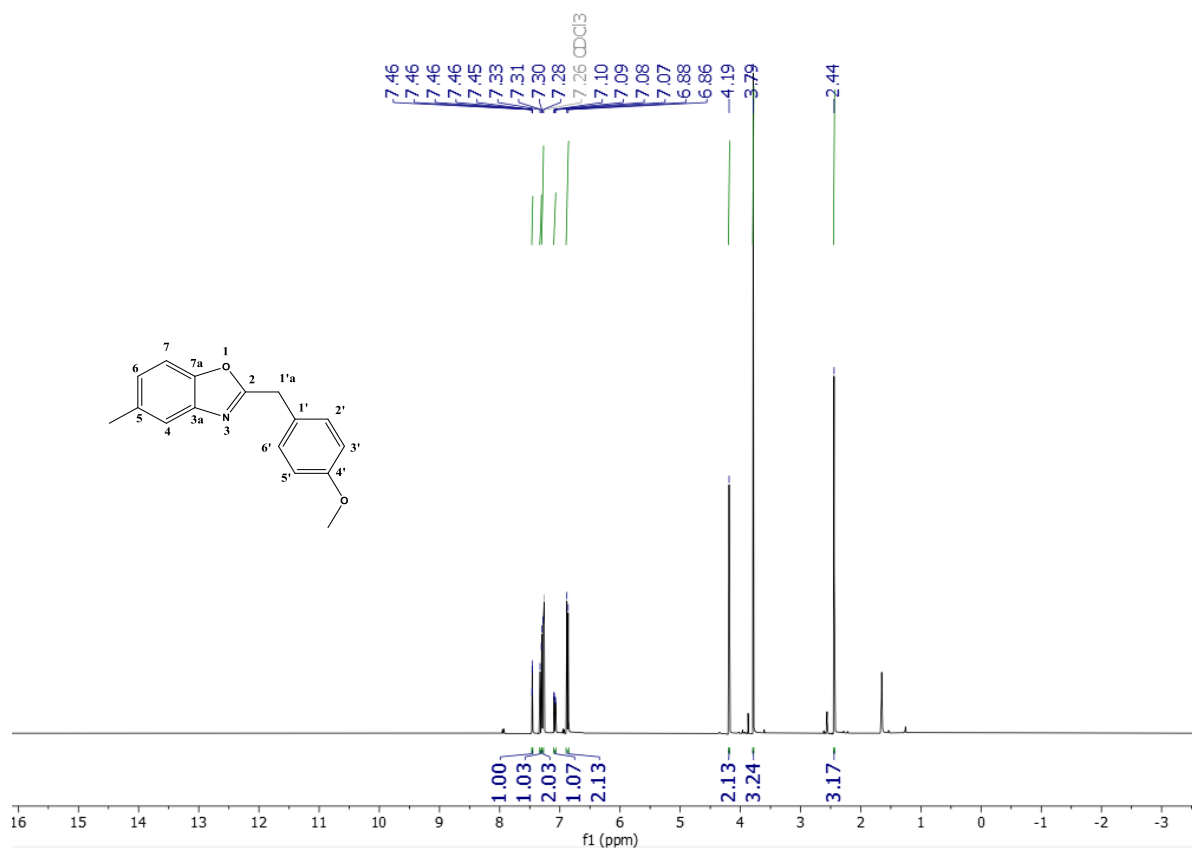


Figura 18: Espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (**4**).

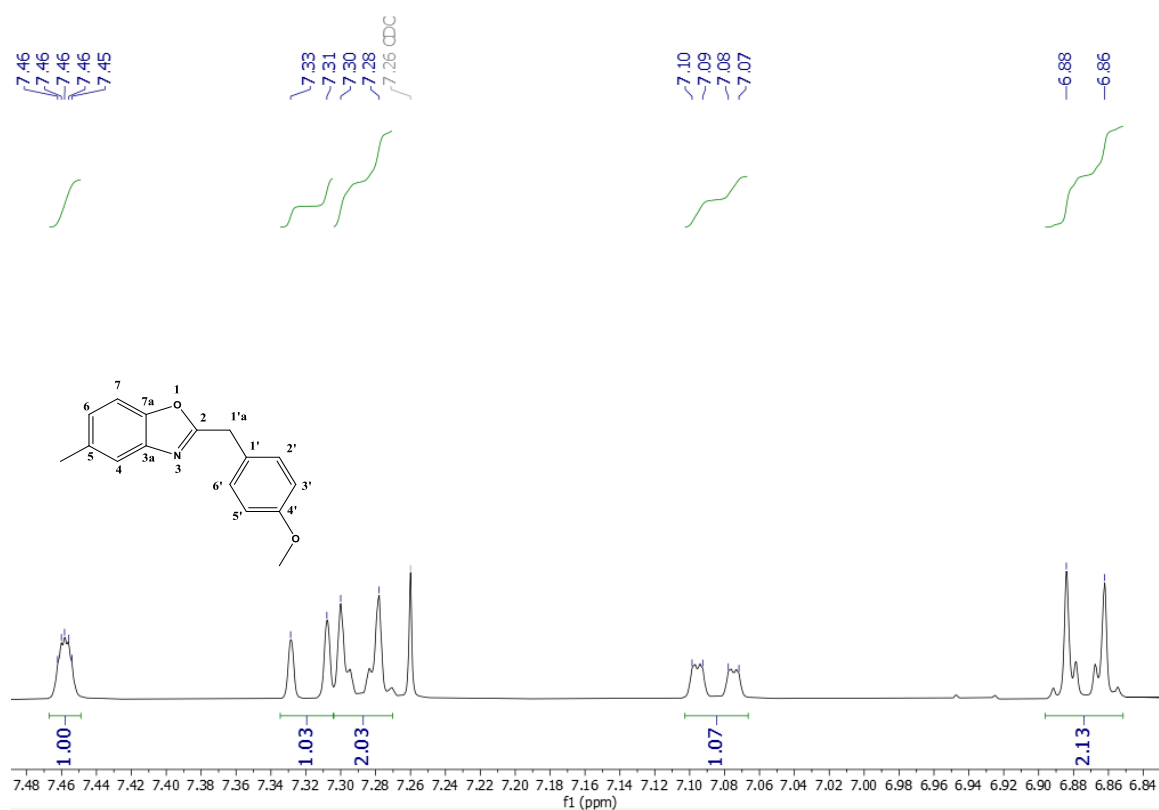


Figura 19: Expansão do espectro de RMN de ¹H (400MHz, CDCl₃) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (**4**).

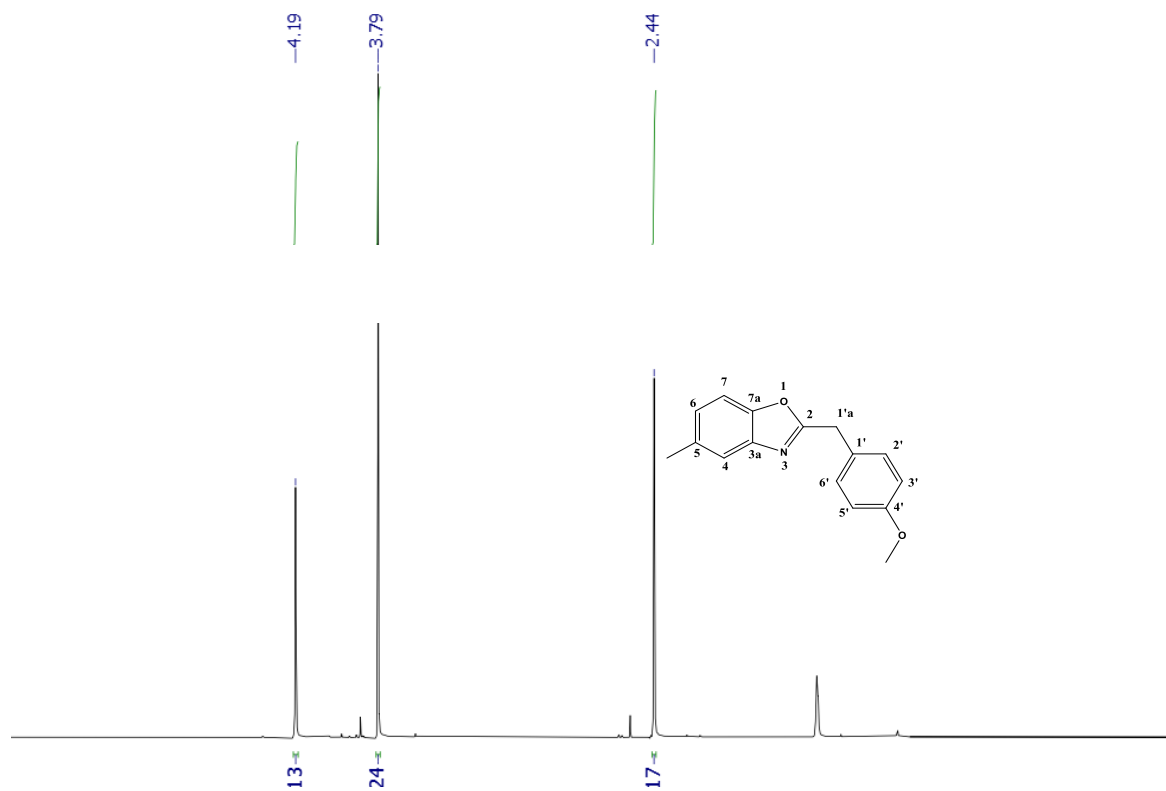


Figura 20: Expansão do espectro de RMN de ^1H (400MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (**4**)

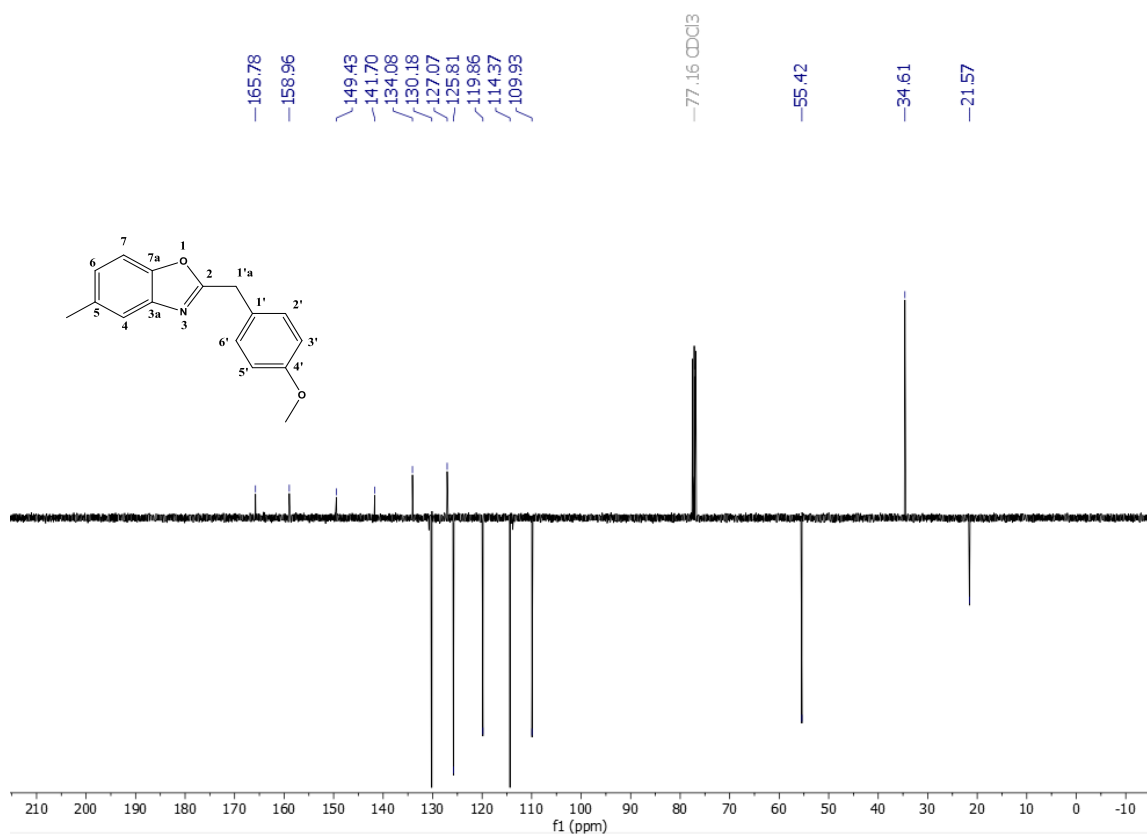
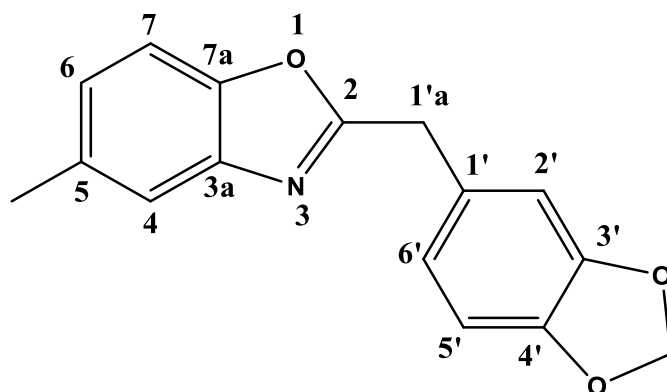


Figura 21: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) do 2-(4-metoxibenzil)-5-metilbenzo[d]xazol (**04**).

Composto 5: 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol

Aspecto: Sólido amorfo marrom;

Rendimento: 26,34;

Ponto de fusão: 68-69°C;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,29 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 7,46-7,45 (*m*, H4; 1H); 7,33 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H7; 1H); 7,09 (*dd*, $J = 8,00$; 0,50 Hz, H6; 1H); 6,86 (*d*, $J = 1,5$ Hz, H2'; 1H); 6,82 (*dd*, $J = 8,00$; 1,5 Hz, H6'; 1H); 6,77 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H5'; 1H); 5,93 (*s*, OCH_2O ; 2H); 4,15 (*s*, H1'a; 2H); 2,44 (*s*, C-5-Me; 3H).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 165,47 (C-2); 149,40 (C-7a); 148,07 (C-3'); 146,98 (C-4'); 141,64 (C-3a); 134,14 (C-5); 128,58 (C-1'); 125,89 (C-6); 122,28 (C-6'); 119,88 (C-4); 109,94 (C-7); 109,58 (C-2'); 108,62 (C-5'); 101,22 (OCH_2O); 35,09 (C-1a'); 21,56 (C-5-Me).

IV (ATR, cm^{-1}): 3062 (C-H sp^3); 2923 (C-H sp^2); 1564, 1486 (C=C aromático); 1243 (C-C); 1117 (C-O); 802, 673, 619 (anel aromático trissubstituído).

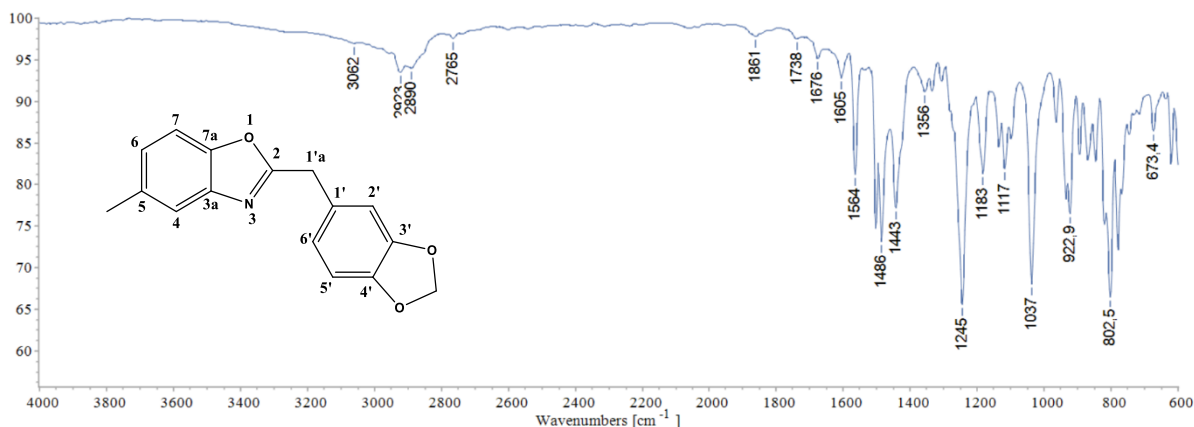


Figura 22: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5)

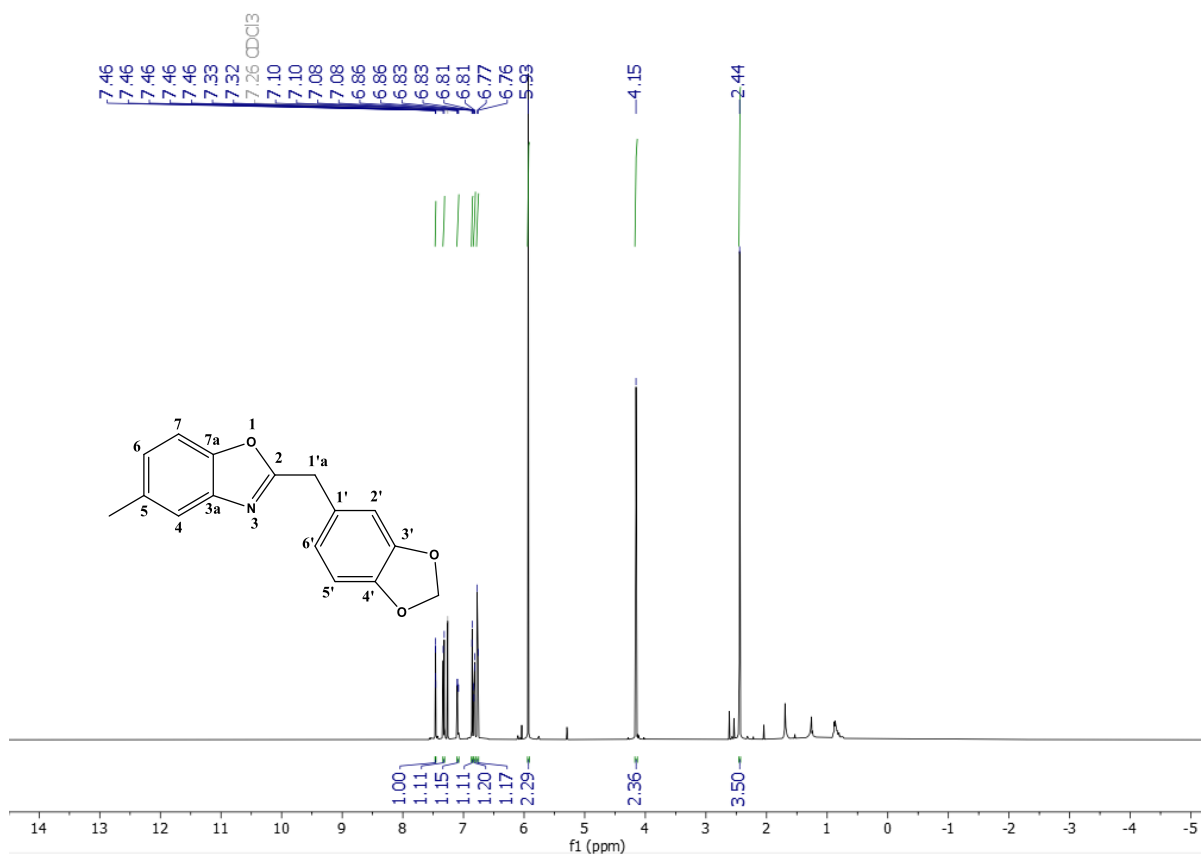


Figura 23: Espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).

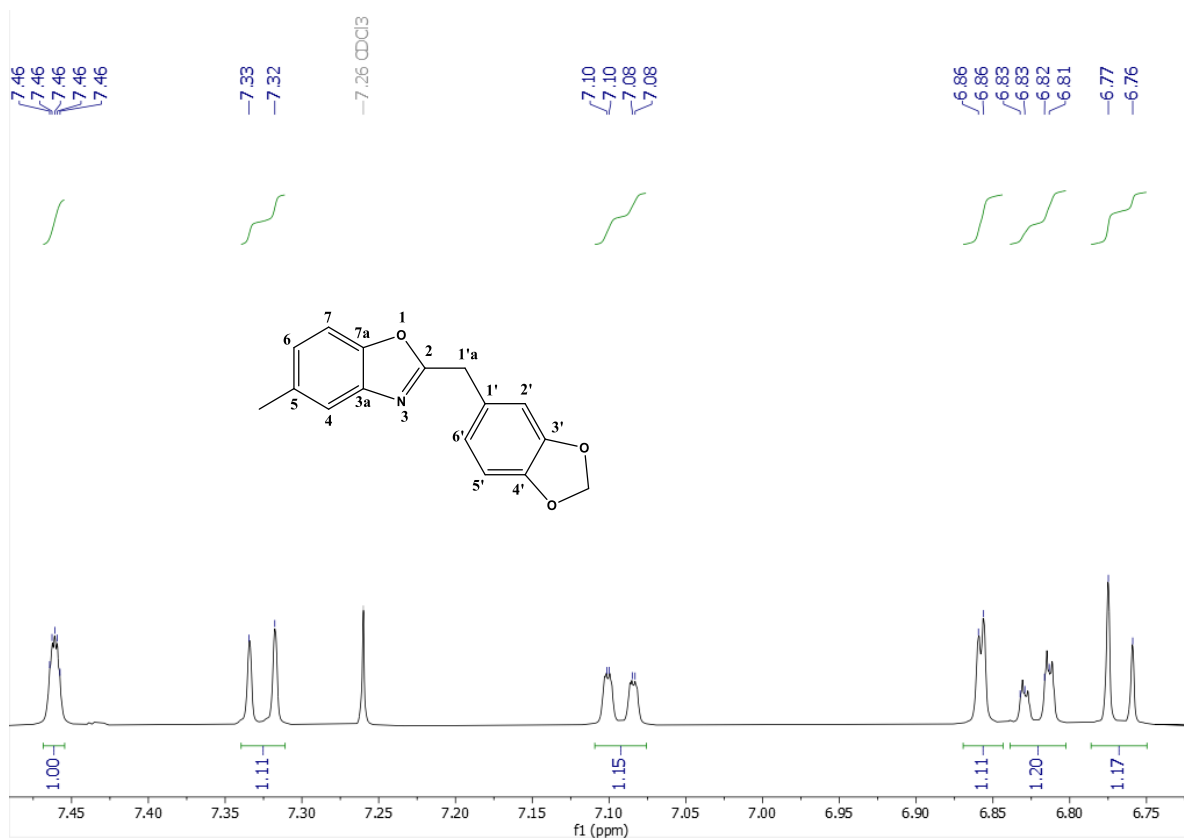


Figura 24: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).

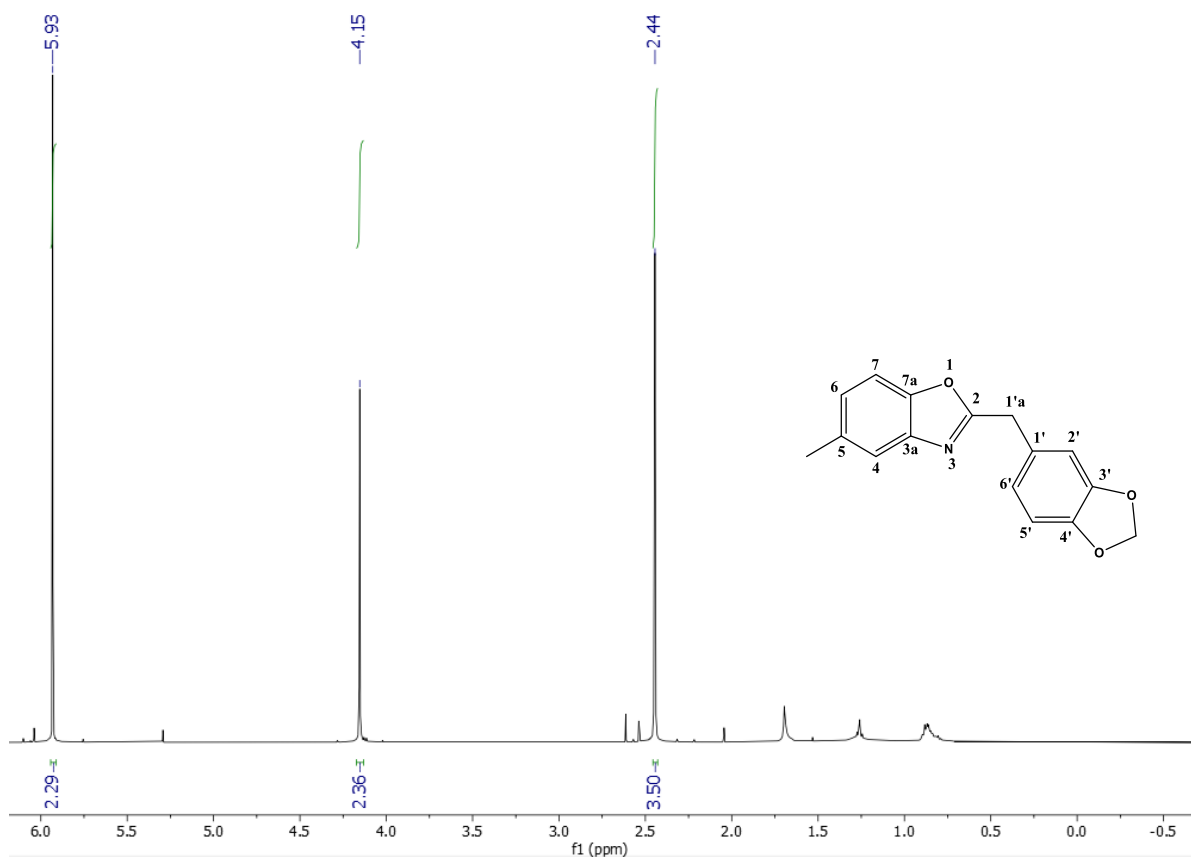


Figura 25: Expansão do espectro de RMN de ^1H (500MHz, CDCl_3) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).

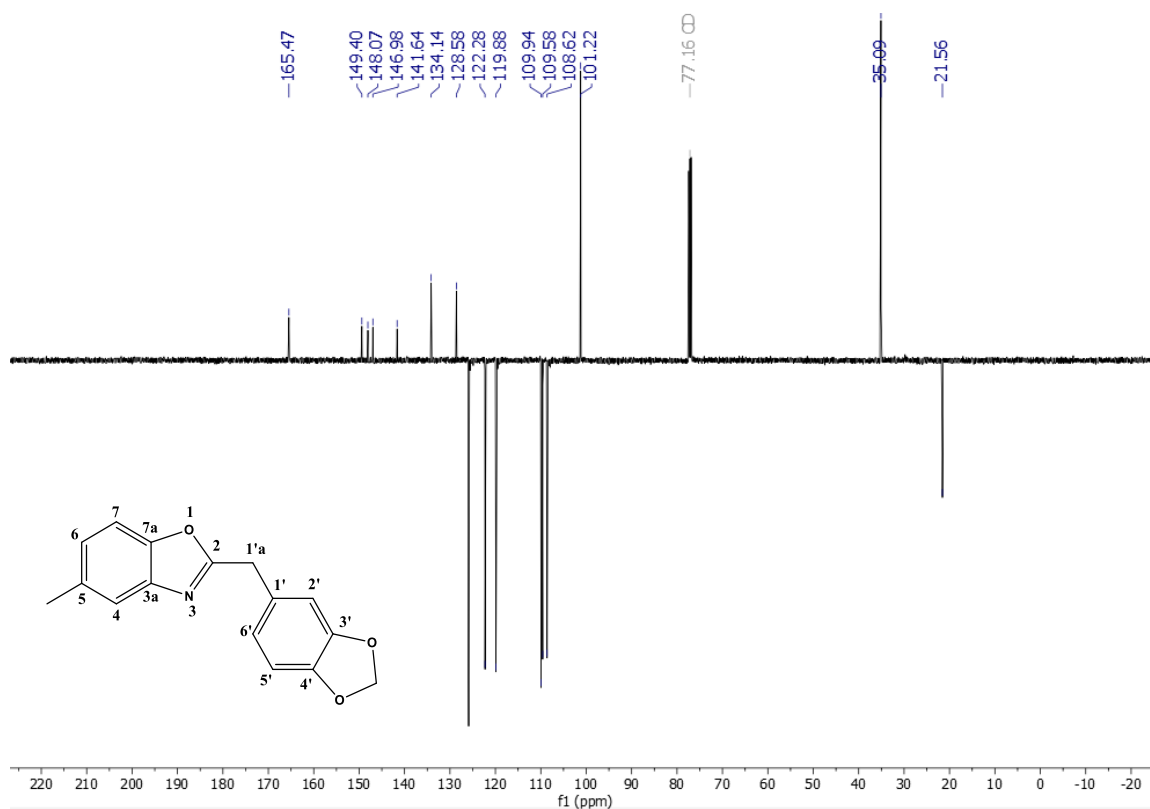


Figura 26: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).

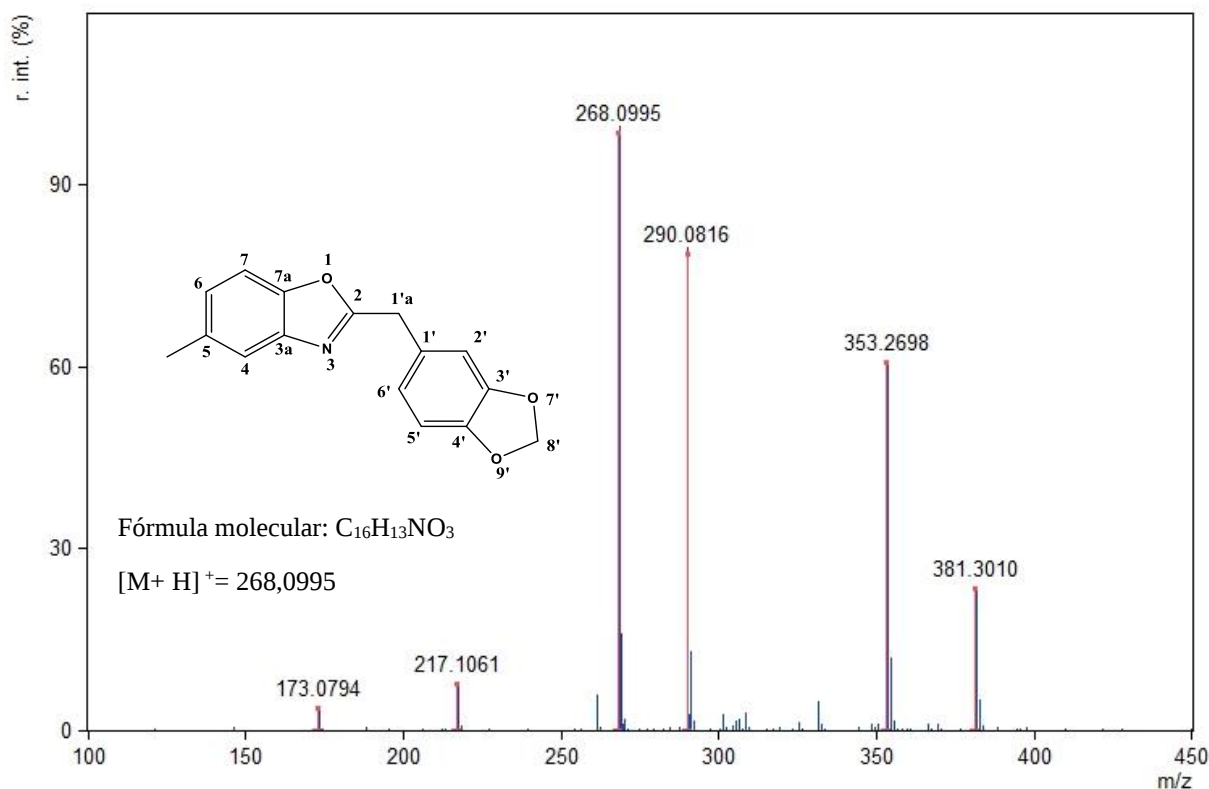
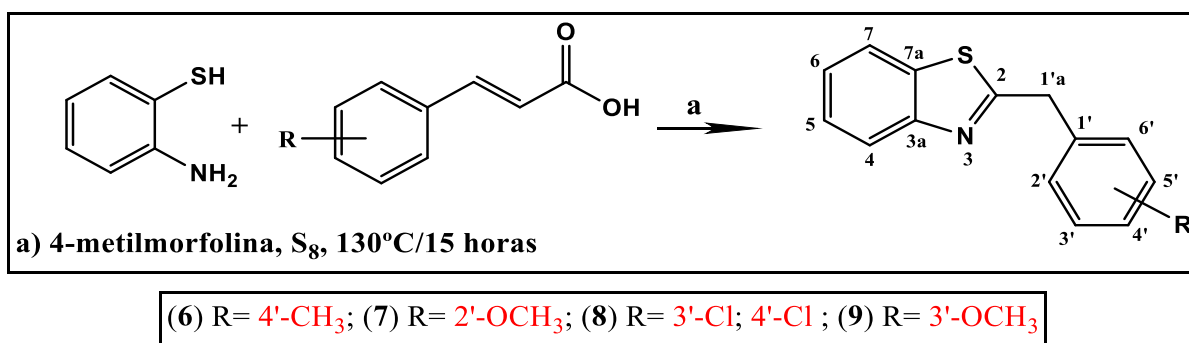


Figura 27: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-metilbenzo[d]oxazol (5).

9.3. Preparação dos benzotiazóis 6-9



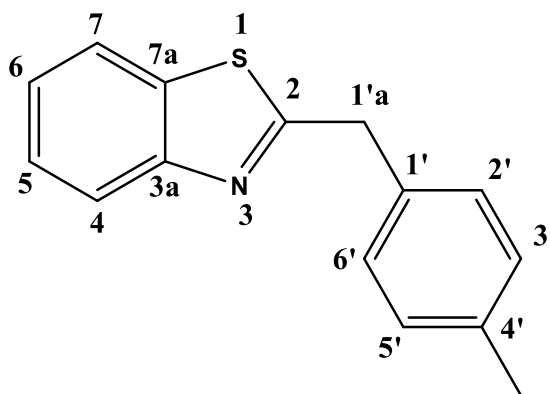
Esquema 10: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-aminotiofenol e ácidos cinâmicos. **Fonte:** O autor.

Em um tubo pressurização de 4 ml adicionou-se 0,30 g de 2-aminotiofenol (2,40 mmol), 2,40 mmol do ácido cinâmico correspondente, 7,20 mmol de enxofre elementar (0,231 g) e 7,20 mmol de 4-metilmorfolina (0,79 ml). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e aquecimento em banho de óleo ($130^\circ C$), durante 15 horas. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e adicionada em um funil de separação contendo 10 ml

água destilada. Fez-se a extração com acetato de etila (3x 10 ml). A fase orgânica reunida foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), filtrada e concentrada à pressão reduzida. O produto reacional foi submetido à cromatografia em coluna (60, ART 7734) eluída com uma mistura de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Todas as frações coletadas foram monitoradas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

9.4. Dados espectroscópicos dos benzotiazóis 6-9

Composto 6: 2-(4-Metilbenzil)benzo[d]tiazol



Aspecto: Sólido amorfo vermelho (Sólido branco, LI; JIN; CAI, 2017);

Rendimento: 15,83 %;

Ponto de fusão: 46-47°C;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,42 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,99 (*ddd*, $J = 8,20, 1,24, 0,60$ Hz, H4; 1H); 7,79 (*ddd*, $J = 7,96, 1,96, 0,60$ Hz, H7; 1H); 7,44 (*ddd*, $J = 8,20, 8,04, 1,24$ Hz, H5; 1H); 7,33 (*ddd*, $J = 8,08, 7,96, 1,20$ Hz, H6; 1H); 7,26 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H2' e H6'; 2H); 7,16 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H3' e H5'; 2H); 4,40 (*s*, H1'a; 2H); 2,35 (*s*, C-4'-Me; 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171,82 (C-2); 153,42 (C-3a); 137,17 (C-7a); 135,82 (C-4'), 134,31 (C-1'); 129,69 (C-2' e C-6'); 129,19 (C-3' e C-5'); 126,05 (C-7); 124,89 (C-5), 122,88 (C-6); 121,64 (C-4); 40,38 (C-1'a); 21,25 (C-4'-Me) (LI; JIN; CAI, 2017).

IV (ATR, cm^{-1}): 3023 (C-H sp^2); 2918 (C-H sp^3); 1512, 1434 (C=C aromático); 1241 (C-O); 726 (anel aromático *para*-substituído).

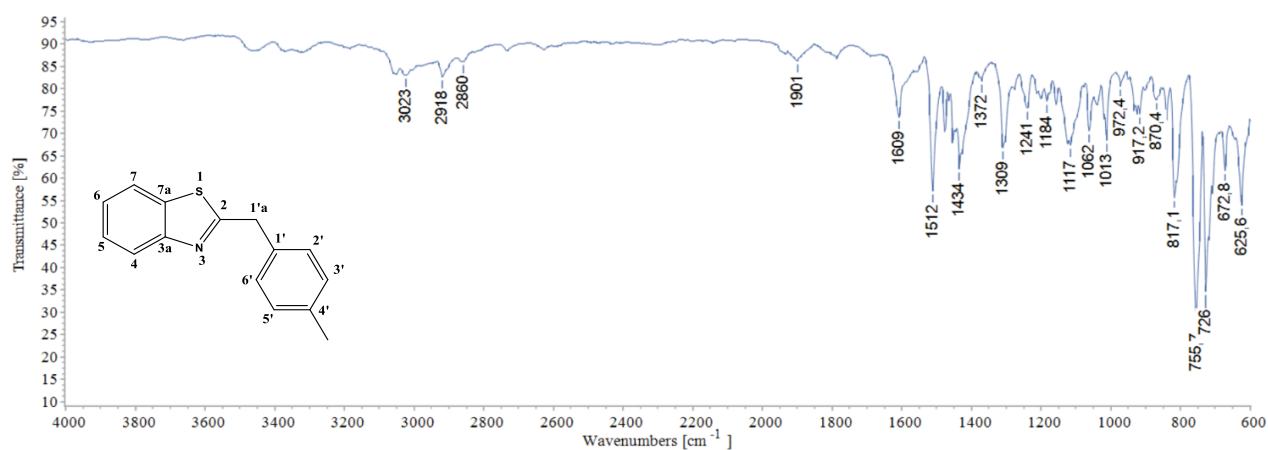


Figura 28: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6)

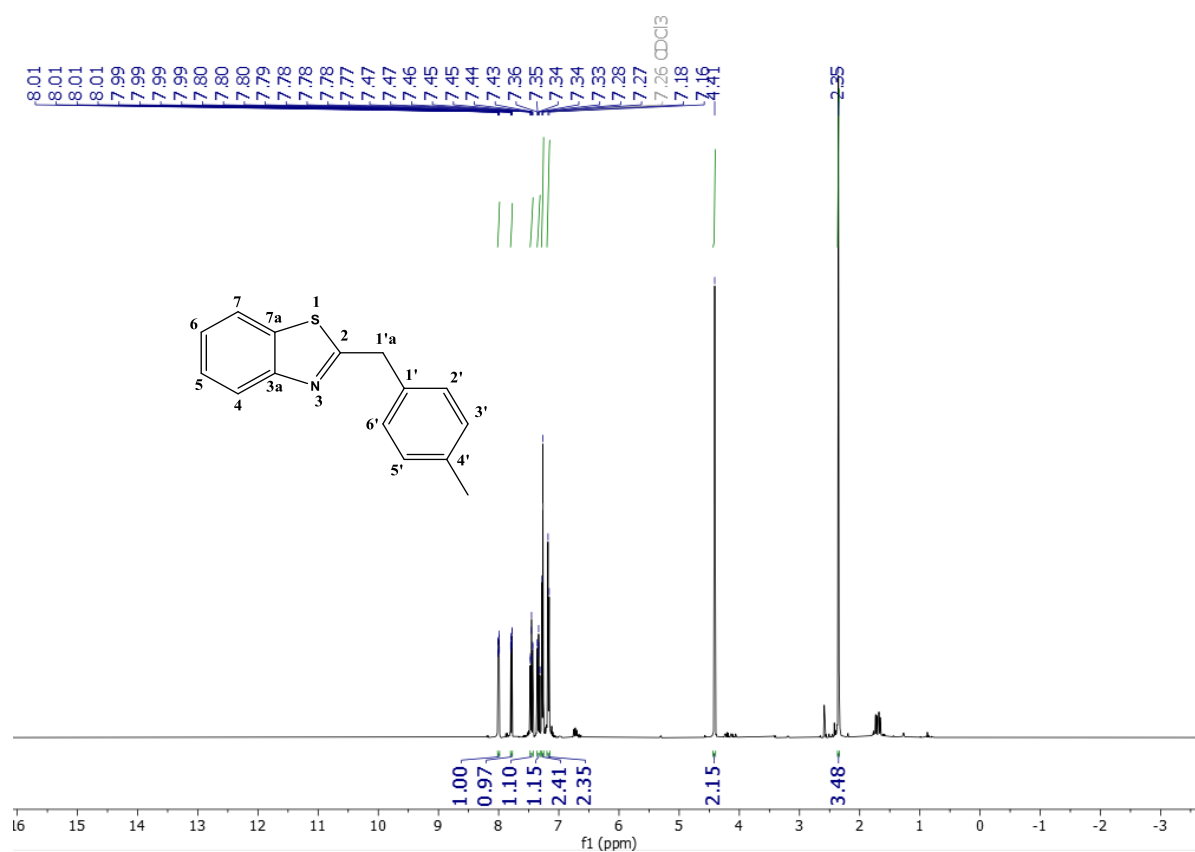


Figura 29: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).

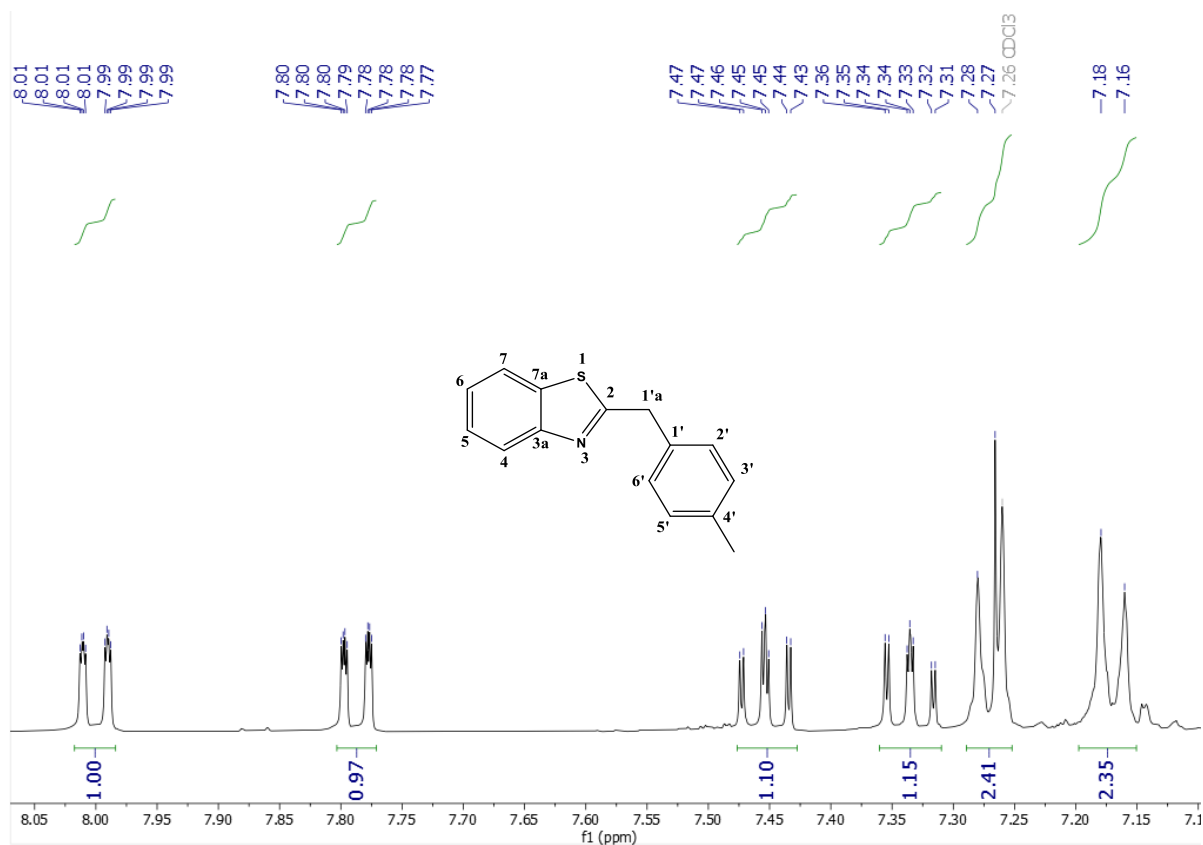


Figura 30: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).

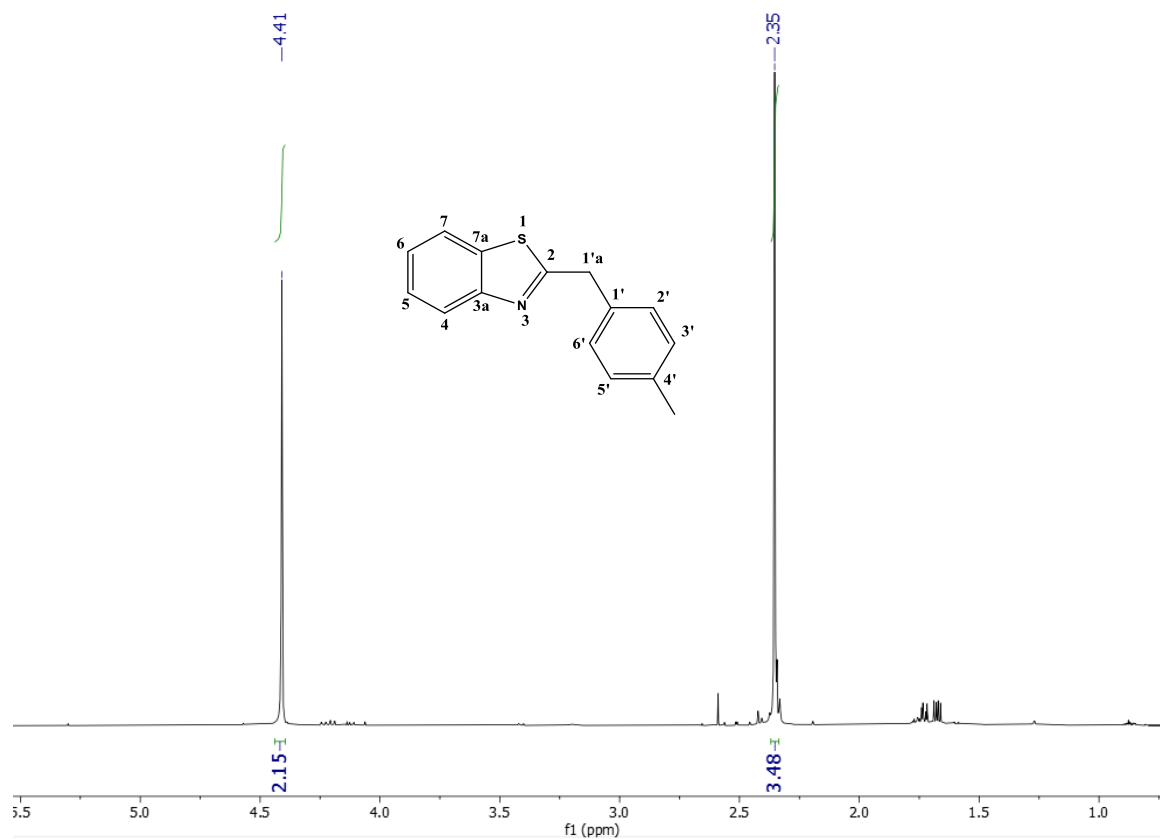
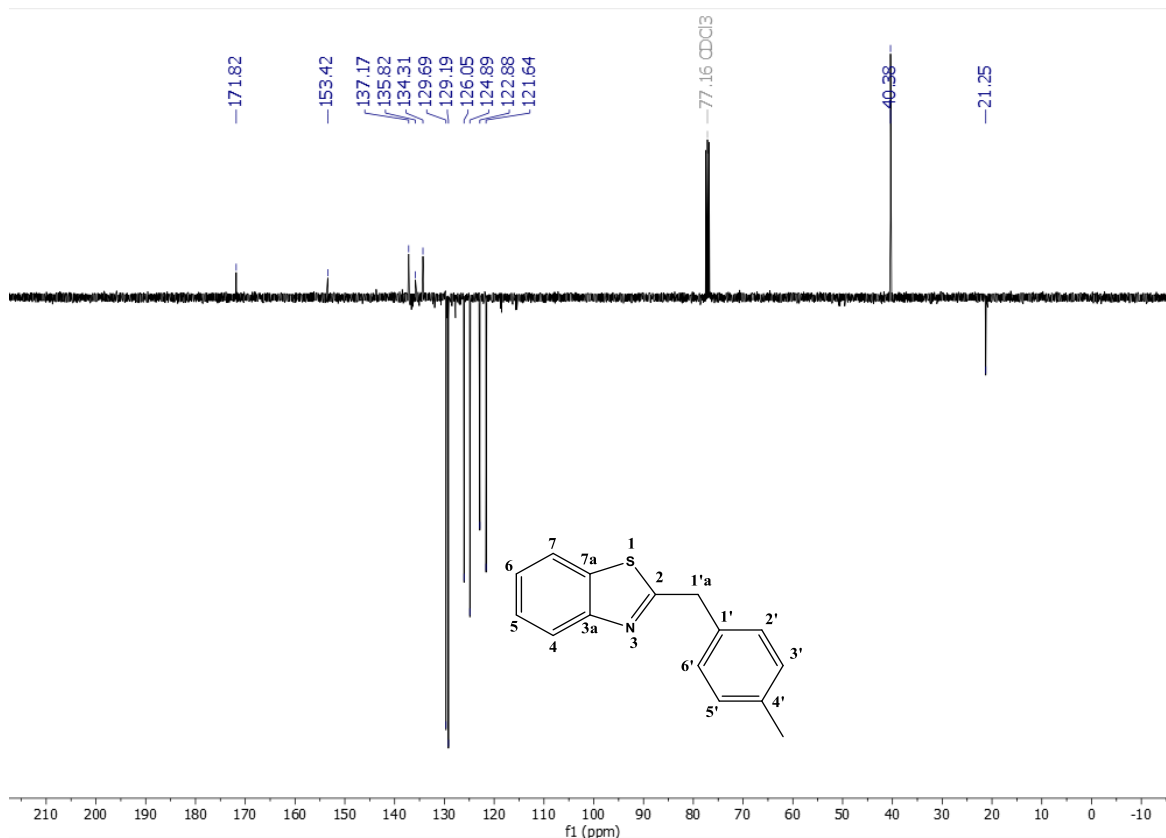
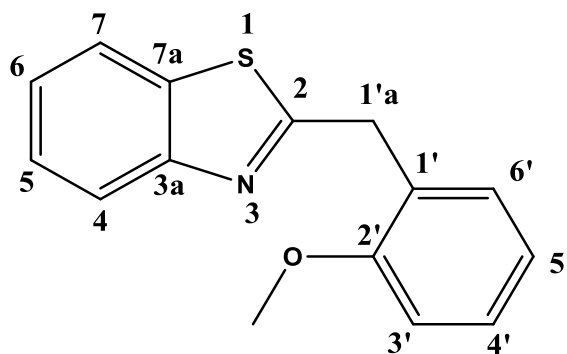


Figura 31: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).



Espectro 32: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 5-metil-2-(4-metilbenzil)benzo[d]tiazol (6).

Composto 7: 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol



Aspecto: Óleo amarelo (HUANG *et al.*, 2018);

Rendimento: 24,75%;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,38 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,98 (*ddd*, $J = 8,20$; 1,20 e 0,60 Hz, H4; 1H); 7,77 (*ddd*, $J = 8,04$; 1,32 e 0,72 Hz, H7; 1H); 7,43 (*ddd*, $J = 8,44$; 8,16 e 1,36 Hz, H5; 1H); 7,33 – 7,27 (*m*,

H6; H4' e H5'; 3H); 6,96 (*dd*, $J = 7,44$ e $1,12$ Hz, H6'; 1H); 6,92 (*dd*, $J = 8,44$ e $1,12$ Hz, H3'; 1H); 4,46 (s, H1'a; 2H); 3,85 (s, C2'-MeO; 3H).

RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3): δ 171,91 (C-2); 157,45 (C-2'); 153,30 (C-3a); 135,81 (C-7a); 130,98 (C-6'), 129,04 (C-4'); 125,88 (C-1'); 125,84 (C-7); 124,66 (C-5); 122,71 (C-6); 121,51 (C-4); 120,87 (C-5'); 110,80 (C-3'); 55,48 (C-2'-MeO); 35,23 (C-1'a) (HUANG et. al., 2018).

IV (ATR, cm^{-1}): 3062 (C-H sp^2); 2937 (C-H sp^3); 1600, 1493 (C=C aromático); 1245 (C-C); 1124 (C-O); 7521,9 (anel aromático ortossustituído).

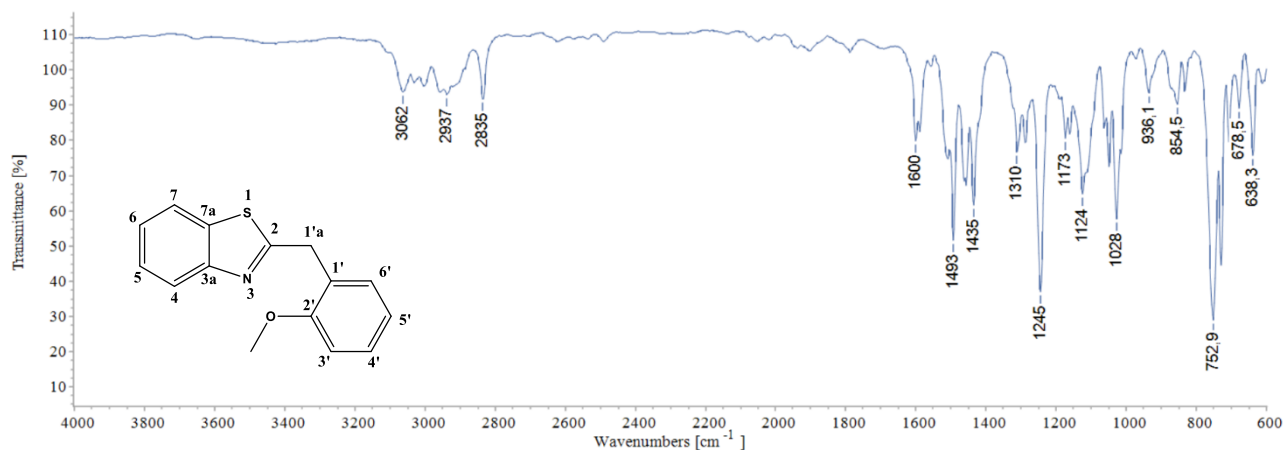


Figura 33: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).

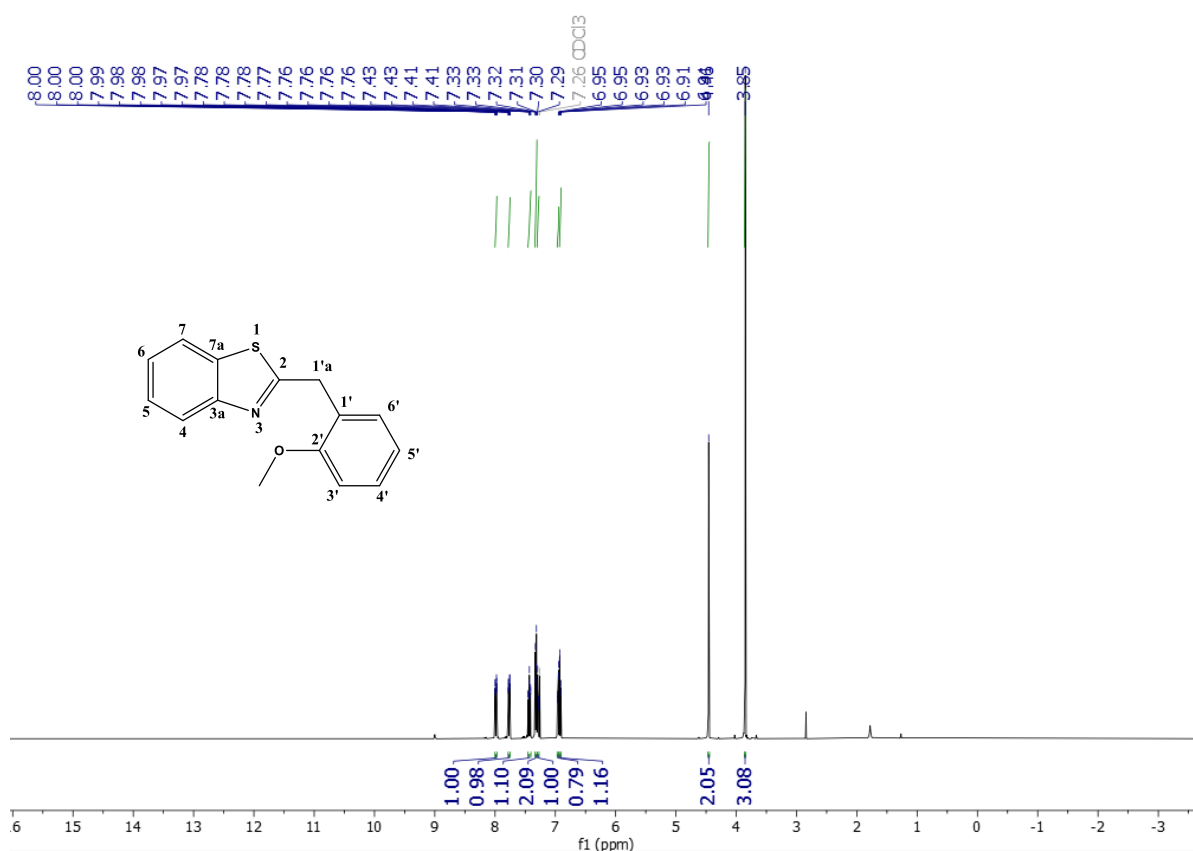


Figura 34: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(2-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).

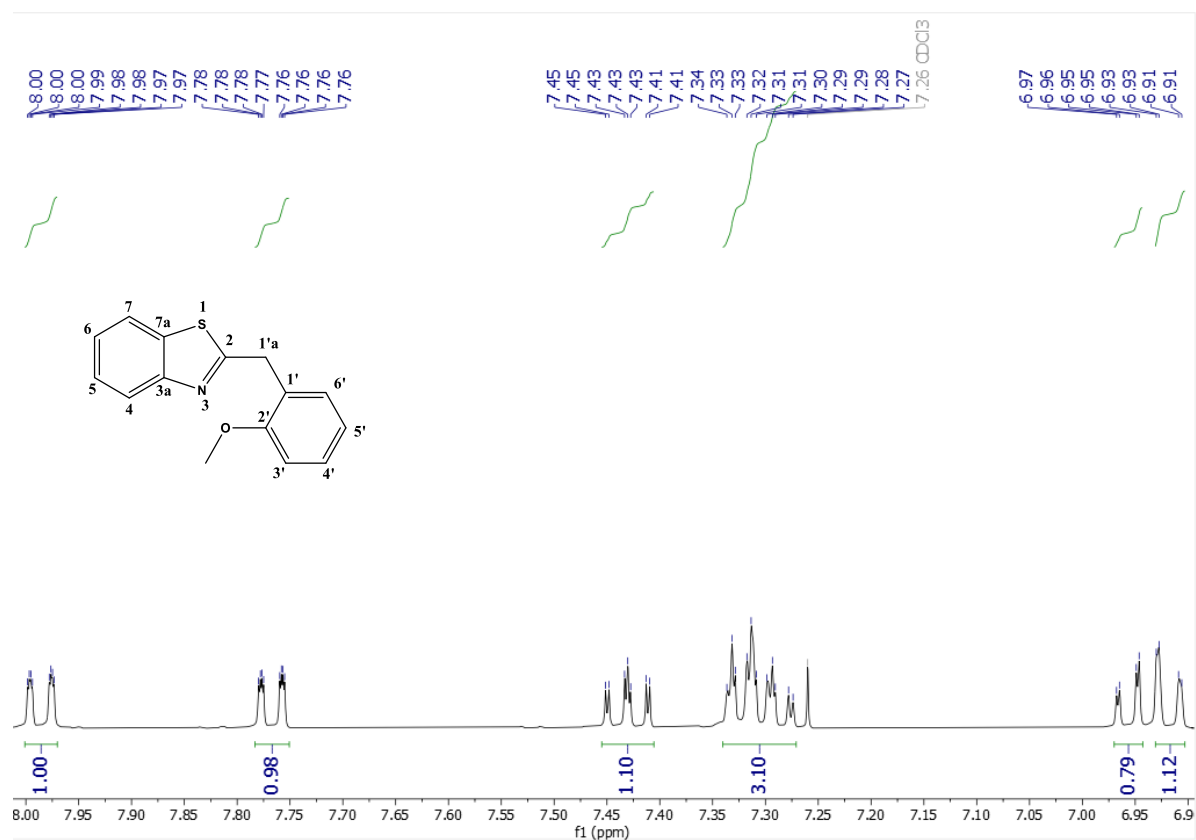


Figura 35: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 2-(2 metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7)

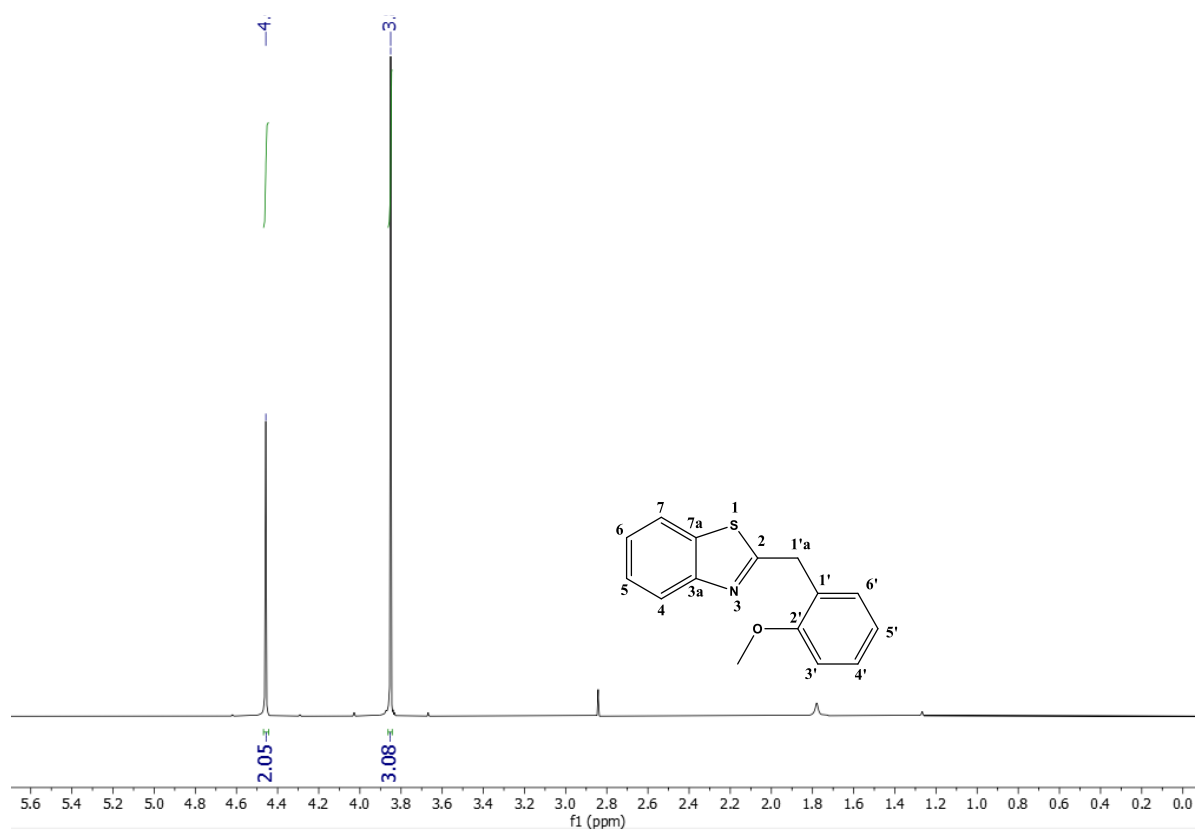


Figura 36: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 2-(2 metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).

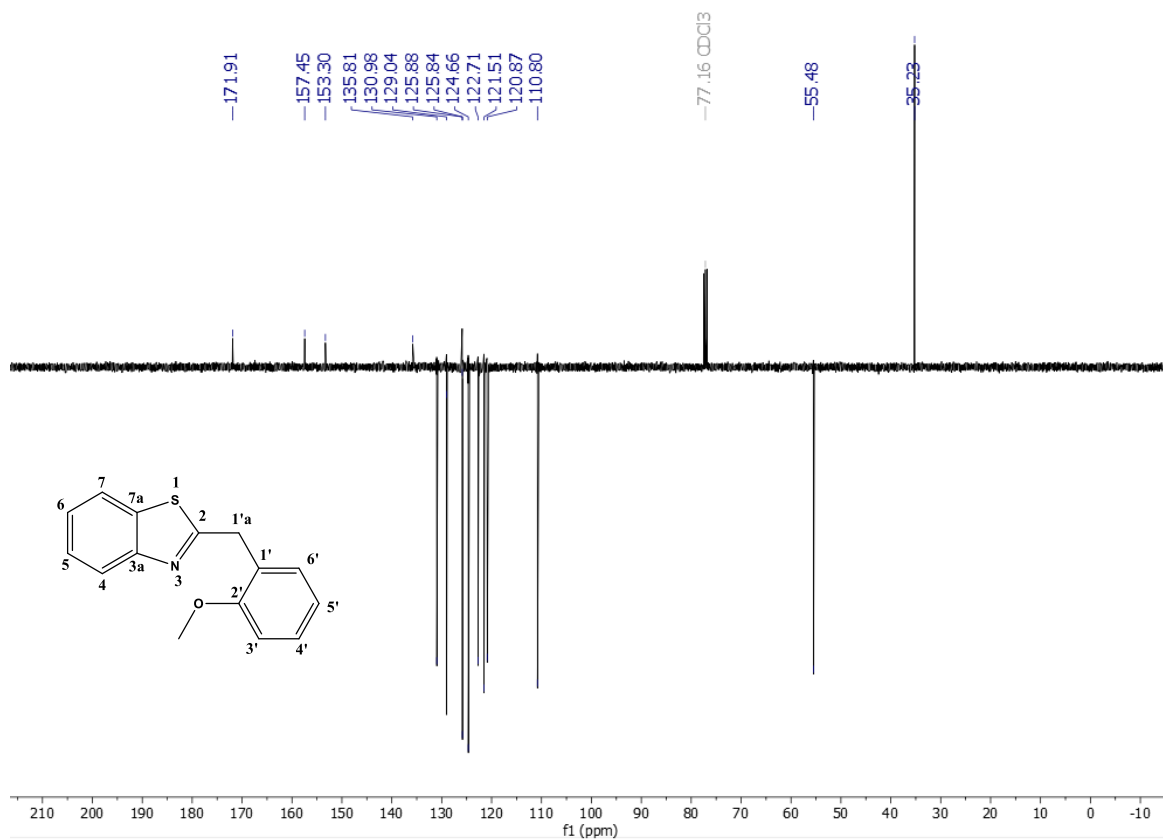
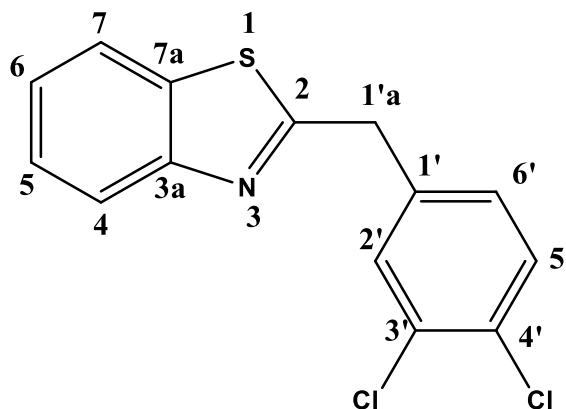


Figura 37: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, CDCl₃) 2-(2 metoxibenzil)benzo[d]tiazol (7).

Composto 8: 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol



Aspecto: sólido amorfo amarelo;

Rendimento: 25,82%;

Ponto de fusão: 53-54°C;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,45 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,00 (ddd, $J = 8,20$; 1,20 e 0,76 Hz, H4; 1H); 7,81 (ddd, $J = 8,08$; 1,36 e 0,72 Hz, H7; 1H); 7,46 (ddd, $J = 8,32$; 8,16; 1,24 Hz, H5; 1H); 7,46 (d, $J = 2,40$ Hz, H2'; 1H); 7,40 (d, $J = 8,32$ Hz, H5'; 1H); 7,36 (ddd, $J = 8,08$; 7,20 e 1,24 Hz, H6; 1H); 7,20 (dd, $J = 8,16$ e 2,08 Hz, H6'; 1H); 4,38 (s, H1'a; 2H).

RMN C^{13} (100 MHz, CDCl_3): δ 169,17 (C-2); 153,35 (C-3a); 137,33 (C-7a); 135,66 (C-1'); 132,95 (C-3'); 131,68 (C-4'); 131,16 (C-2'); 130,87 (C-5'); 128,60 (C-6'); 126,34 (C-7); 125,28 (C-5); 123,07 (C-6); 121,72 (C-4); 39,59 (C-1'a).

IV (ATR, cm^{-1}): 3055 (C-H sp^2); 2909 (C-H sp^3); 1469, 1556 (C=C aromático); 1230 (C-C); 758, 631 (anel aromático trissubstituído).

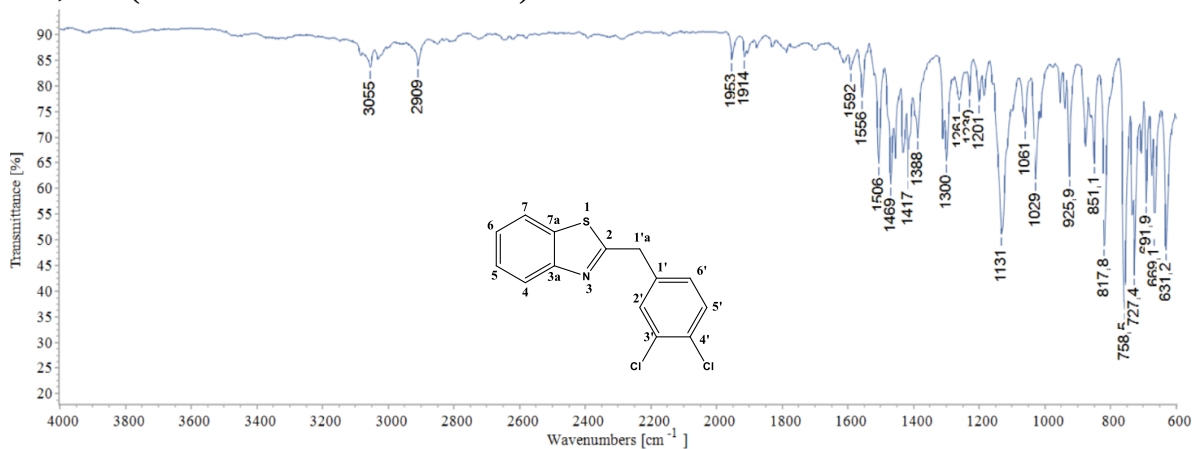


Figura 38: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (**8**)

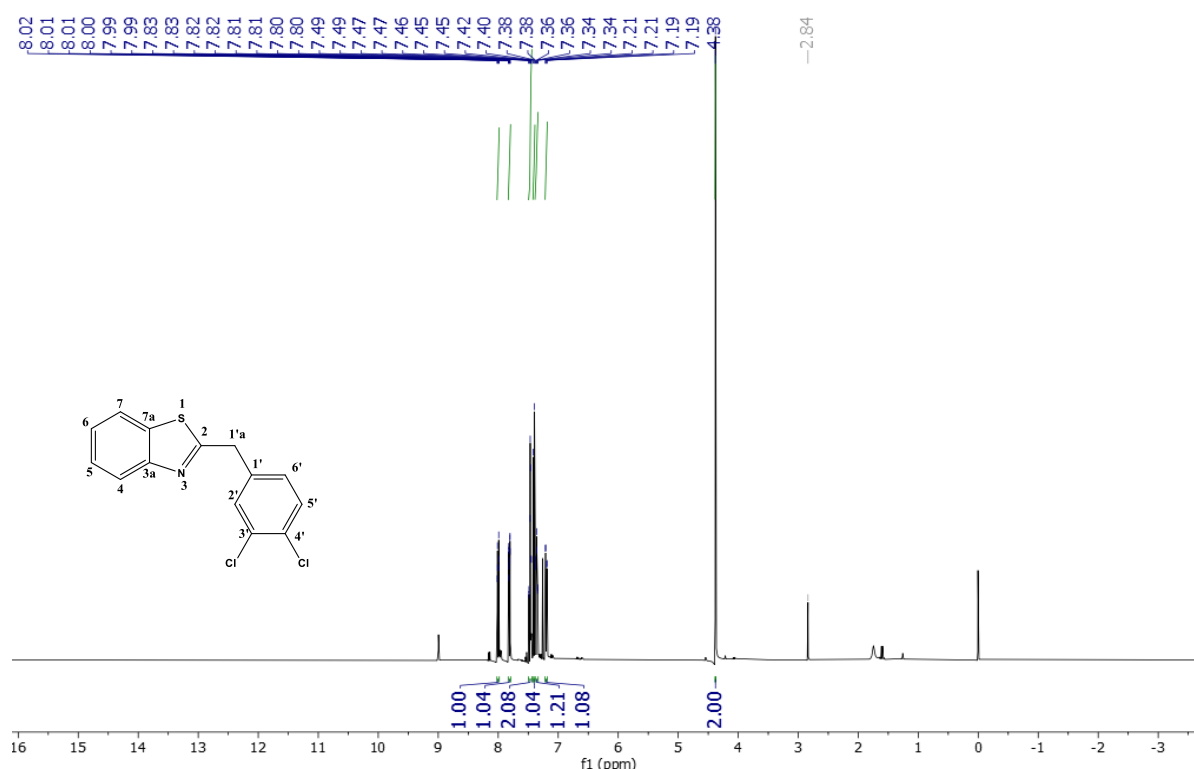


Figura 39: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (**8**).

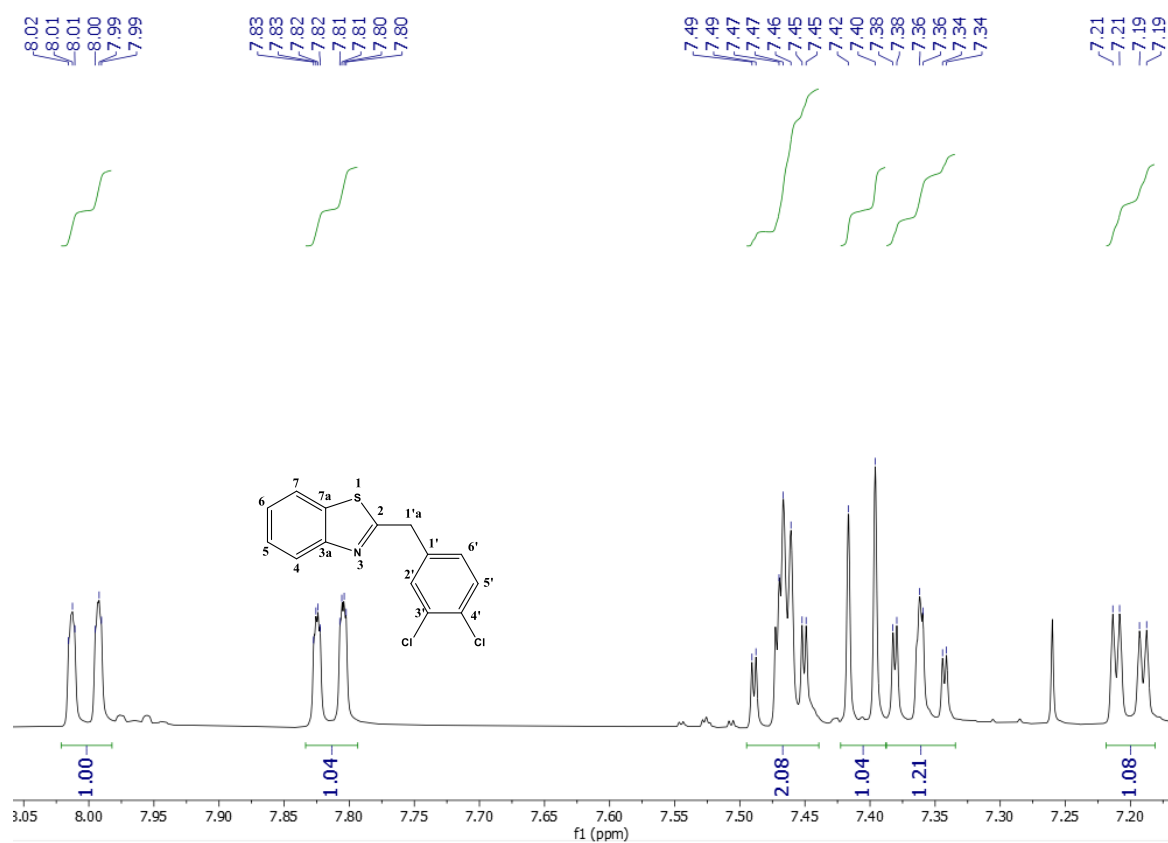


Figura 40: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).

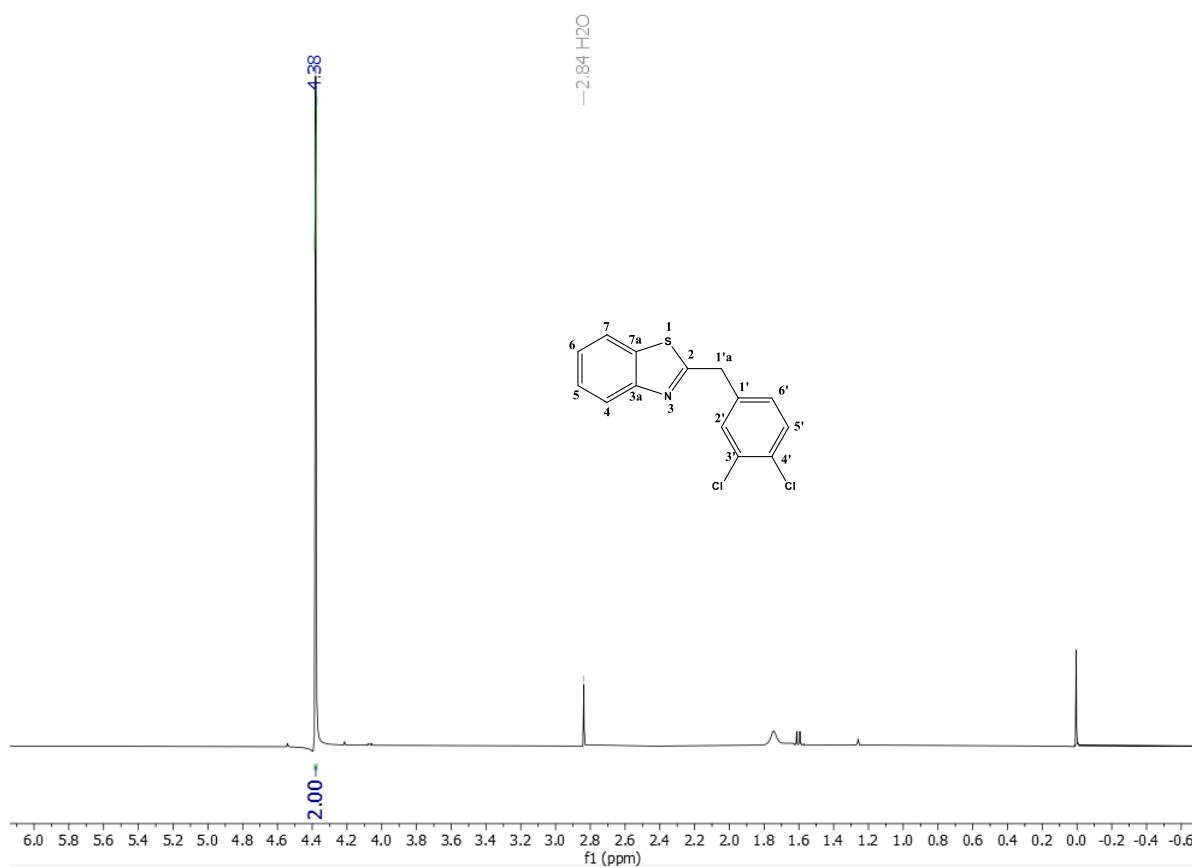


Figura 41: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (8).

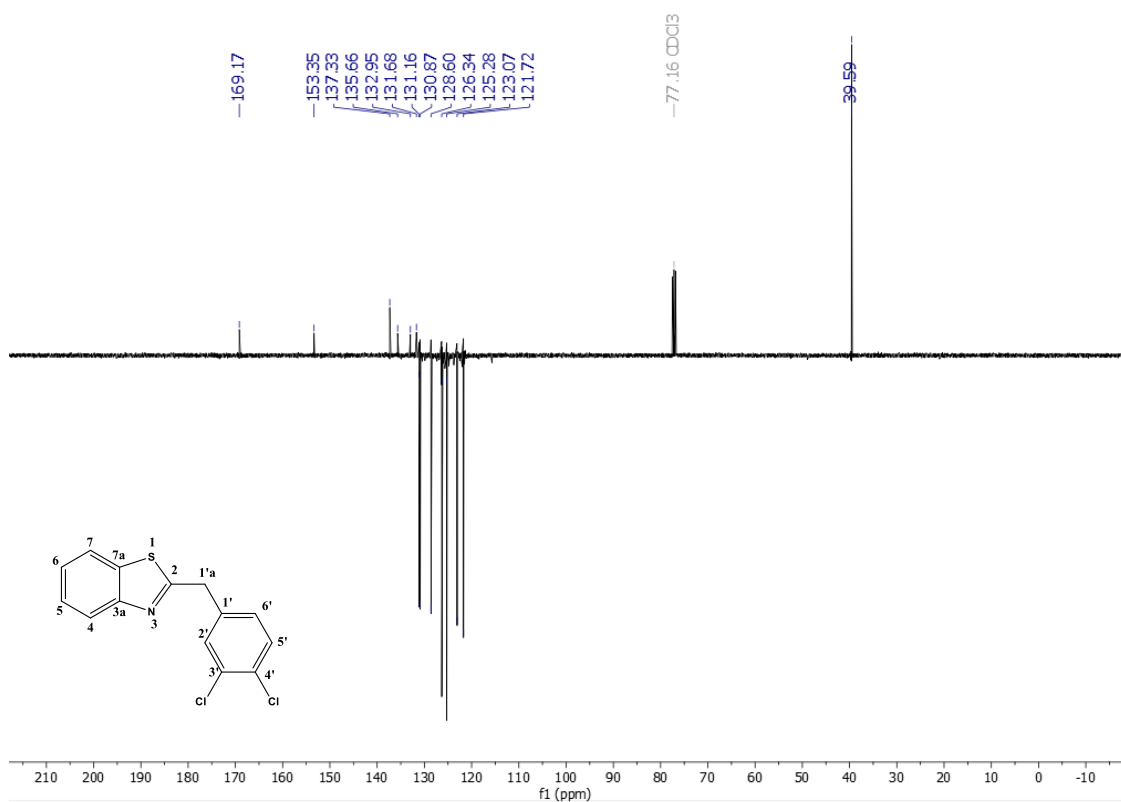


Figura 42: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, CDCl₃) 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (**8**).

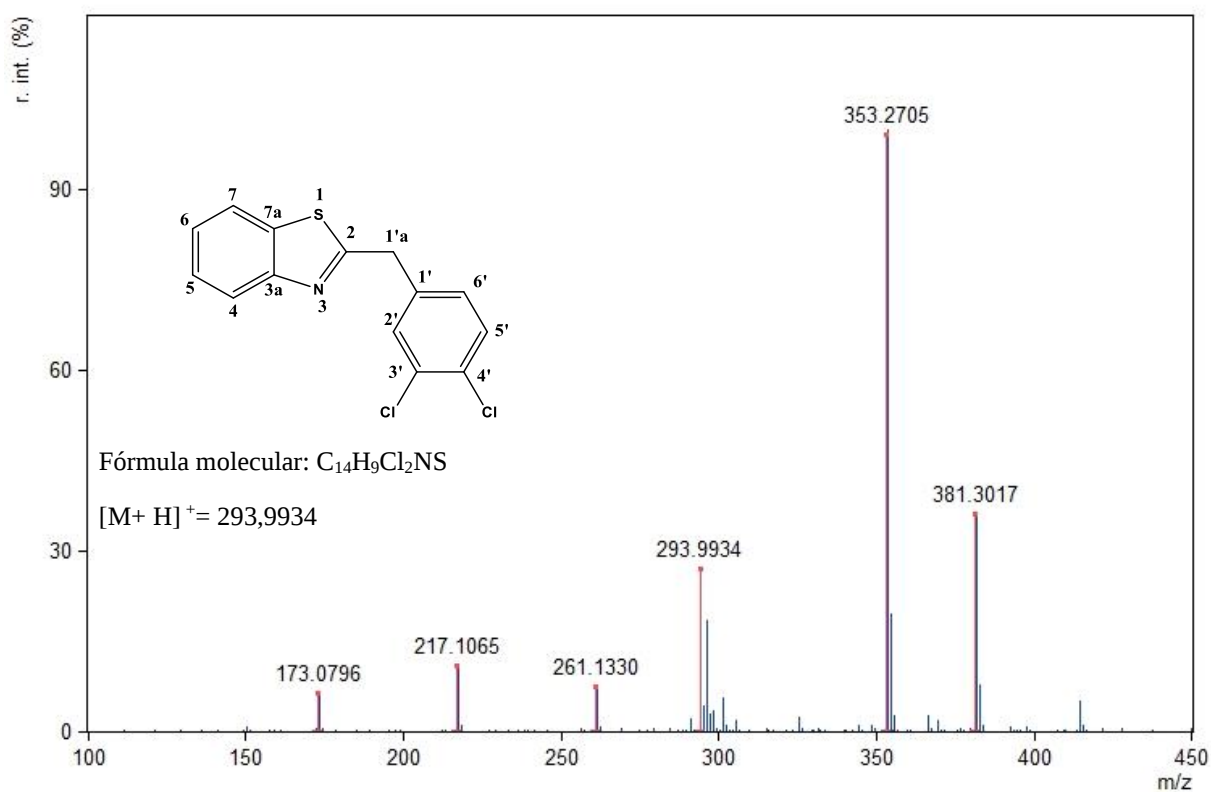
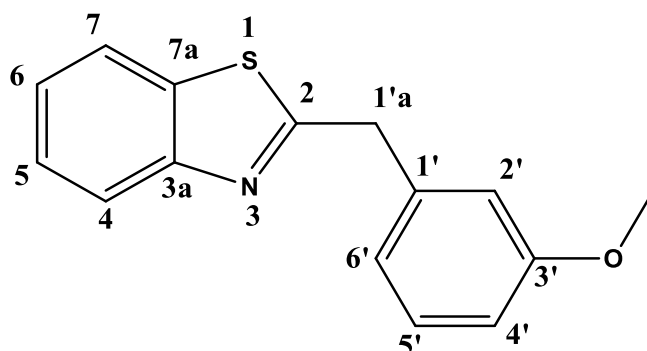


Figura 43: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(3,4-diclorobenzil)benzo[d]tiazol (**8**)

Composto 9: 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol

Aspecto: Óleo vermelho (SUN *et. al.*, 2013);

Rendimento: 29,85%;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,41 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 8,00 (*ddd*, $J = 8,20$; 1,20 e 0,60 Hz, H4; 1H); 7,79 (*ddd*, $J = 7,92$; 1,20 e 0,60 Hz, H7; 1H); 7,45 (*ddd*, $J = 8,08$; 7,32; e 1,32 Hz, H5; 1H); 7,34 (*ddd*, $J = 8,30$; 7,20 e 1,20 Hz, H6; 1H); 7,29-7,24 (*m*, H5'; 1H), δ 6,97-6,94 (*m*, H6'; 1H); 6,92-6,90 (*m*, H2', H2'; 1H), 6,84 (*ddd*, $J = 8,32$; 2,56 e 0,96 Hz, H4'; 1H); 4,41 (*s*, H1'a; 2H); 3,80 (*s*, C-3'-MeO; 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 171,18 (C-2); 160,07 (C-3'); 153,34 (C-3a); 138,76 (C-7a); 135,82 (C-1'); 130,01 (C-5'); 126,10 (C-7); 124,97 (C-5); 122,91 (C-6); 121,66 (C-4); 121,61 (C-6'); 114,95 (C-2'); 112,97 (C-4'); 55,37 (C3'-MeO); 40,79 (C-1'a) (SUN *et. al.*, 2013).

IV (ATR, cm^{-1}): 3057 (C-H sp^2); 2997 (C-H sp^3); 1489, 1433 (C=C aromático); 1257 (C-C); 1149 (C-O); 757, 729, 641 (anel aromático *meta*-substituído).

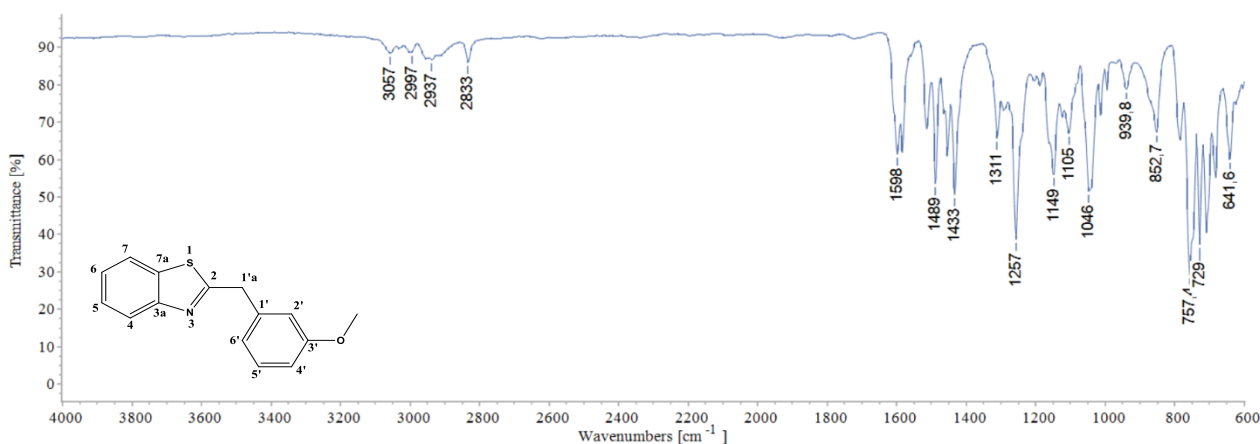


Figura 44: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9)

Chemical structure of 1-methoxy-2-(1,3-benzoxazol-2-yl)benzene is shown above the spectrum. The structure is labeled with atom numbers: 1, 2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7 for the benzoxazole ring and 1', 2', 3', 4', 5', 6' for the benzene ring.

¹H NMR spectrum (CDCl₃) showing peaks from 6.80 to 8.01 ppm. The spectrum displays several multiplets and doublets, with integration values provided below the baseline.

Integration values (from left to right): 1.00, 1.00, 1.04, 1.04, 1.40, 1.01, 1.00, 1.02.

Figura 46: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (**9**).

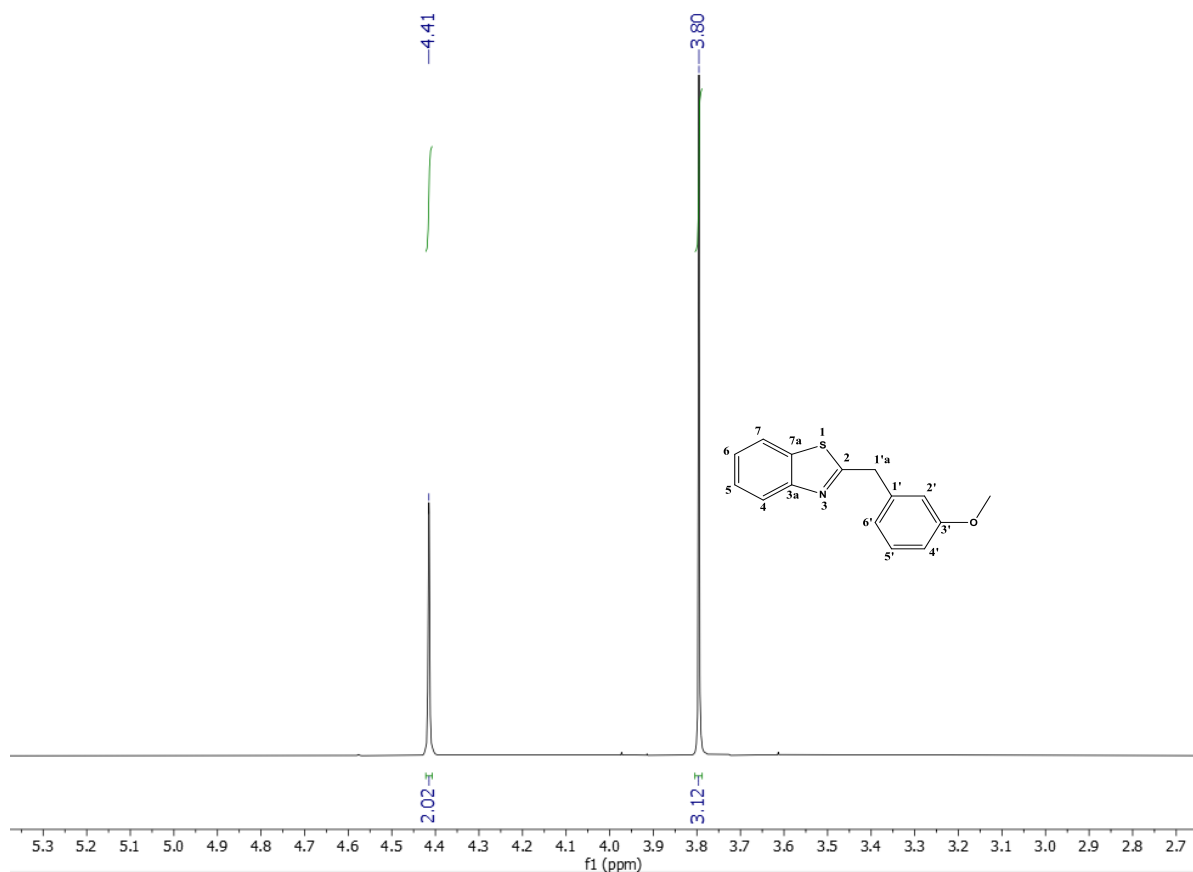


Figura 47: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).

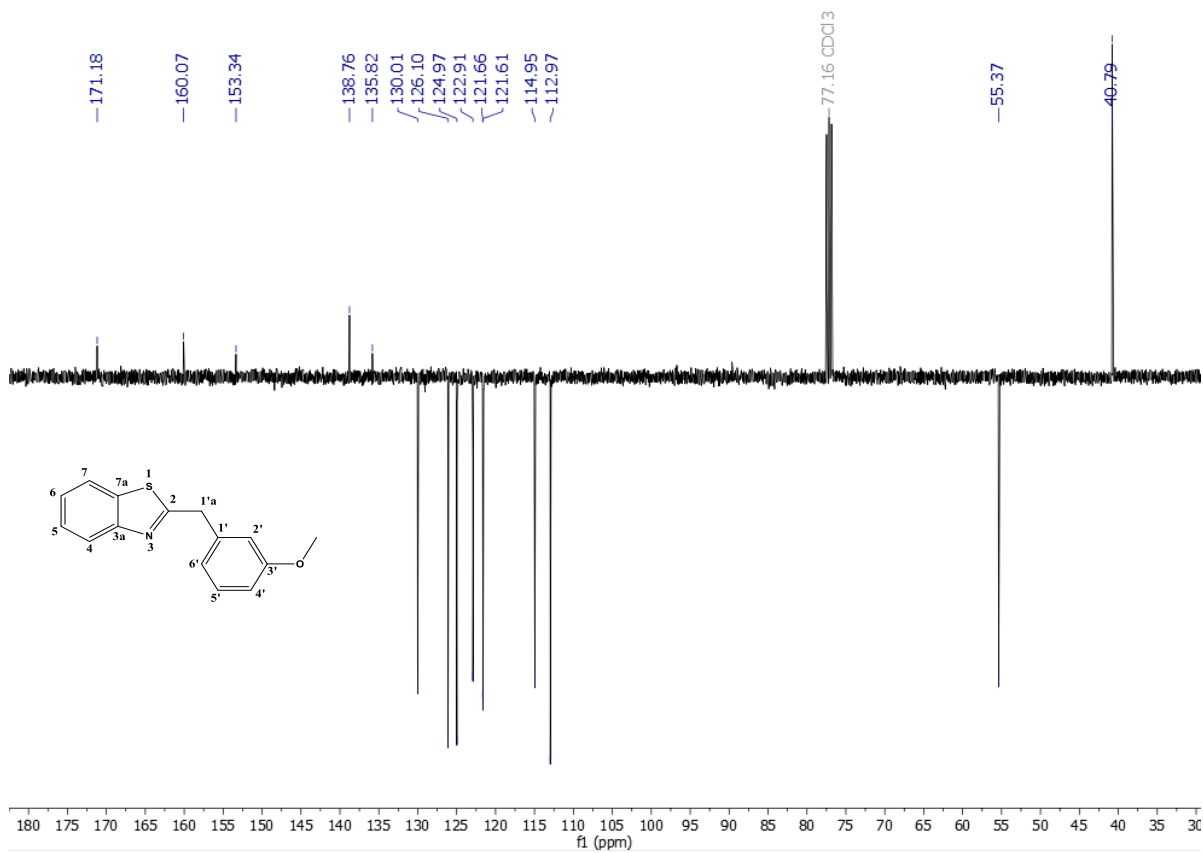
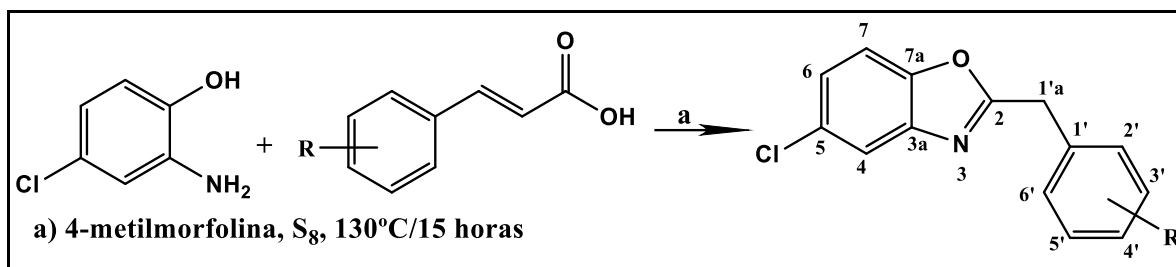


Figura 48: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, CDCl₃) 2-(3-metoxibenzil)benzo[d]tiazol (9).

9.5. Preparação dos benzoxazóis 10-13



(10) R= 3'-OCH₃; (11) R= 2'-OCH₃; (12) R= 4'-CH₃; (13) R= 3',4'-OCH₂O

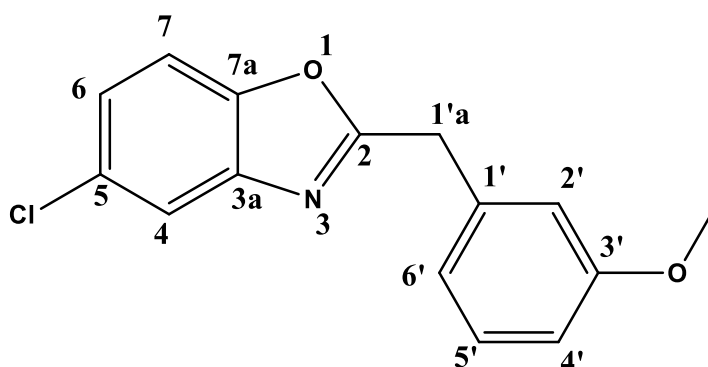
Esquema 11: Reação de acoplamento descarboxilativo utilizando 2-amino-4-clorofenol e ácidos cinâmicos.

Fonte: O autor.

Em um tubo pressurização de 4 ml adicionou-se 0,30 g de 2-amino-4-clorofenol (2,09 mmol), 2,09 mmol do ácido cinâmico correspondente, 6,27 mmol de enxofre elementar (0,20 g) e 6,27 mmol de 4-metilmorfolina (0,68 ml). A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética e aquecimento em banho de óleo (130°C), durante 15 horas. Em seguida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente e submetida à extração em um funil de separação, com 10 ml água destilada e acetato de etila (3x 10 ml). A fase orgânica reunida foi tratada com sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄), filtrada e concentrada à pressão reduzida. O produto reacional foi purificado em cromatografia em coluna utilizando fase estacionária de sílica gel (60, ART 7734 da MERCK) e como fase móvel uma mistura de hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Todas as frações coletadas serão monitoradas através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA) (GUNTREDDI *et al.*, 2016).

9.6. Dados espectroscópicos dos benzoxazóis 10-13

Composto 10: 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol



Aspecto: Sólido amorfo amarelo;

Rendimento: 21,48%;

Ponto de fusão: 51-52°C;

Tempo de reação: 15 horas; **Fator de Retenção:** 0,50 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,65 (*d*, $J = 2,00$ Hz, H4; 1H); 7,36 (*d*, $J = 8,80$ Hz, H7; 1H); 7,31- 7,22 (*m*, H6, H5' e H6'; 3H); 6,97-6,92 (*m*, H2'; 1H); 6,91 (*d*, $J = 8,00$ Hz, H4'; 1H); 4,28 (*s*, H1'a) 2H); 3,81 (*s*, 3'-MeO; 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167,34 (C-2); 157,52 (C-3'); 149,70 (C-7a); 142,82 (C-3a); 130,72 (C-5'); 129,66 (C-5); 129,08 (C-1'); 124,85 (C-6); 123,14 (C-6'); 120,88 (C-4); 119,08 (C-2'); 111,25 (C-4'); 110,93 (C-7); 55,70 (3'-MeO); 29,74 (C-1'a).

IV (cm^{-1}): 3001(C-H sp^2); 2938 (C-H sp^3); 1490, 1451(C=C aromático); 1256 (C-C); 1147 (C-O); 800,762, 687 (anel aromático *meta*-substituído).

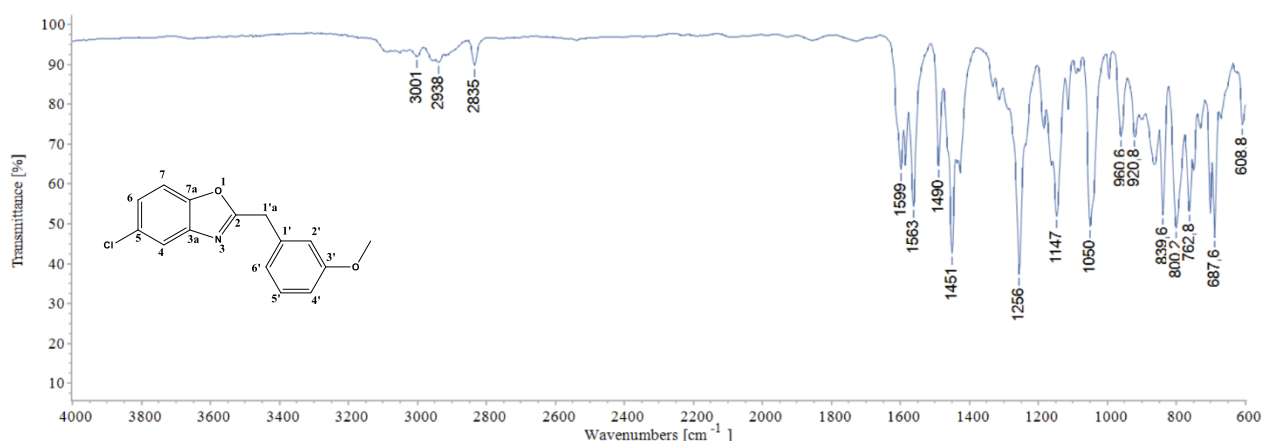


Figura 50: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (**10**)

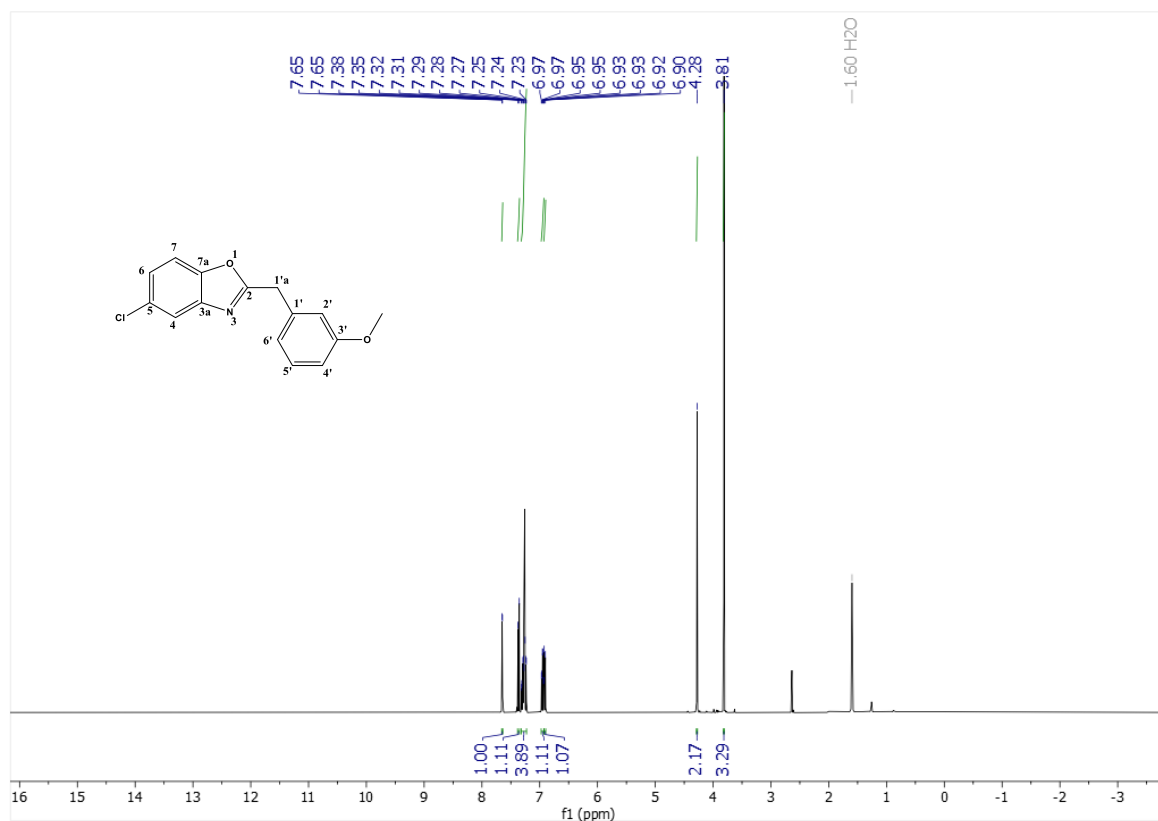


Figura 51: Espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(10).

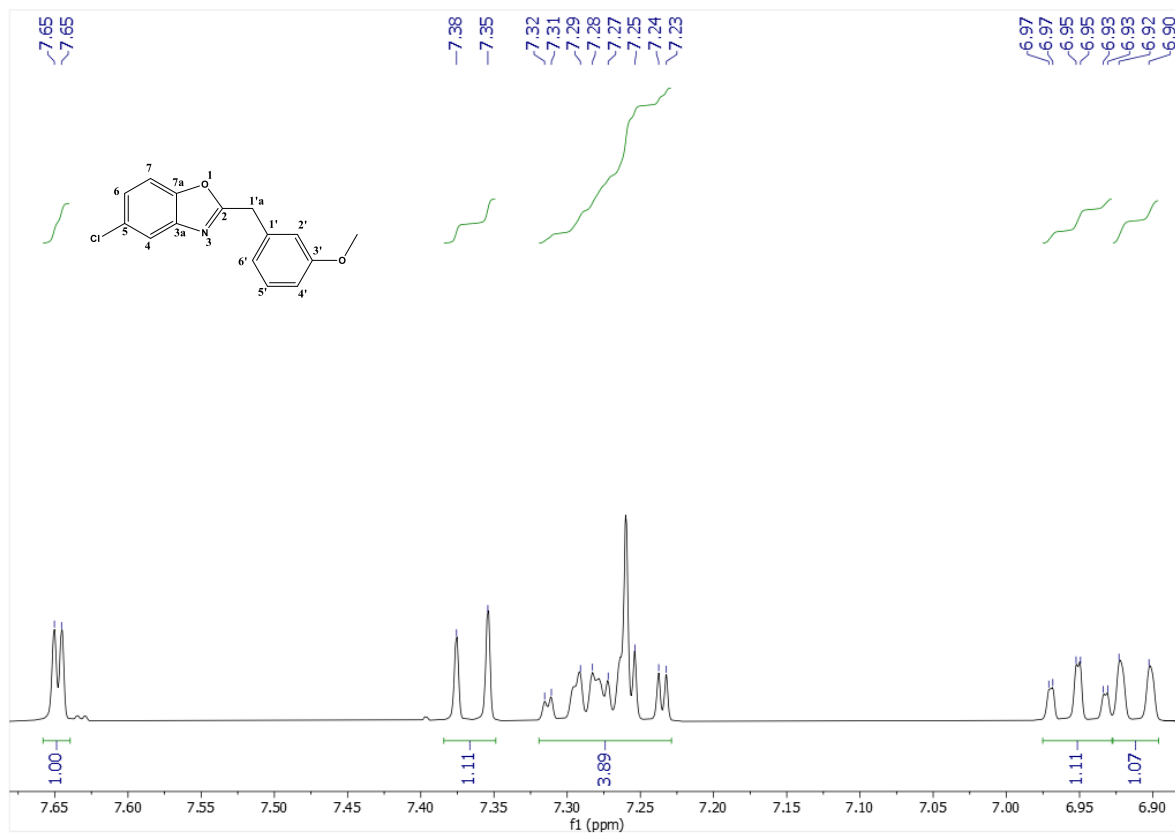


Figura 52: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(10).

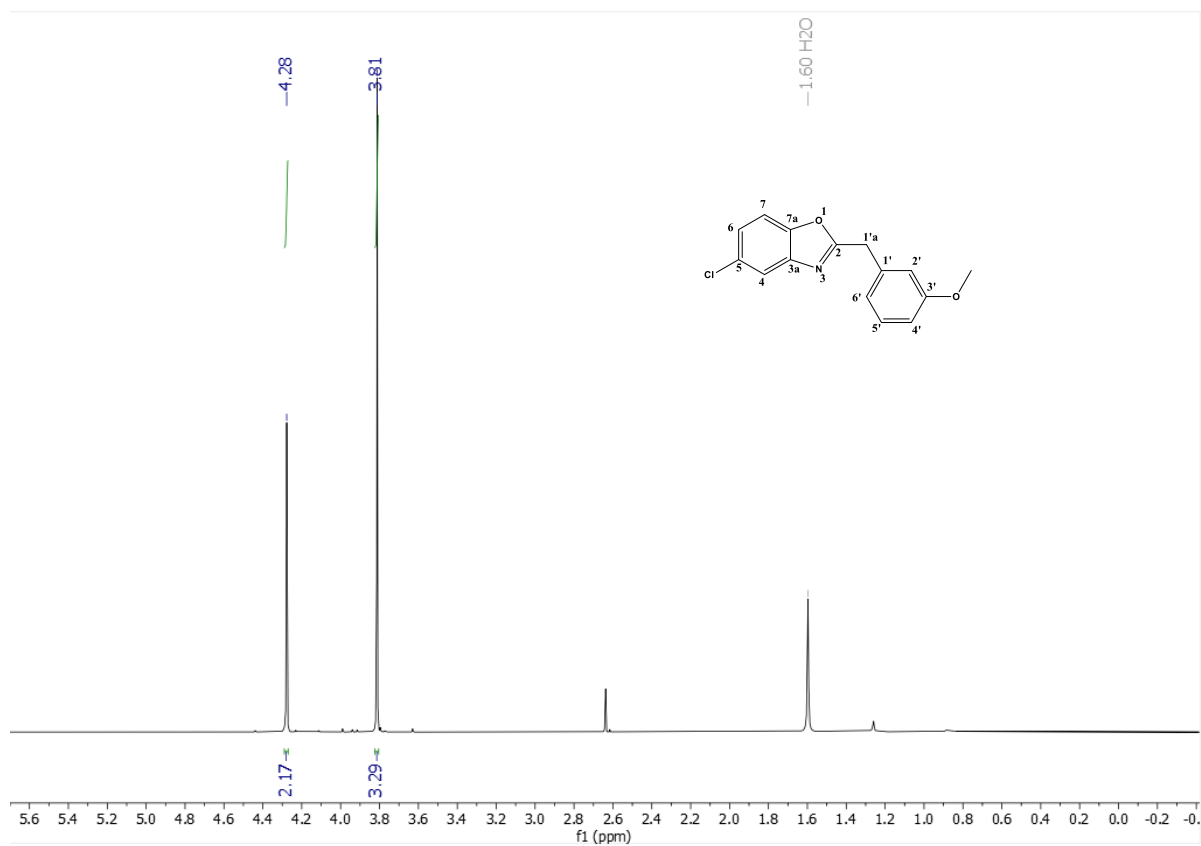


Figura 53: Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol(**10**).

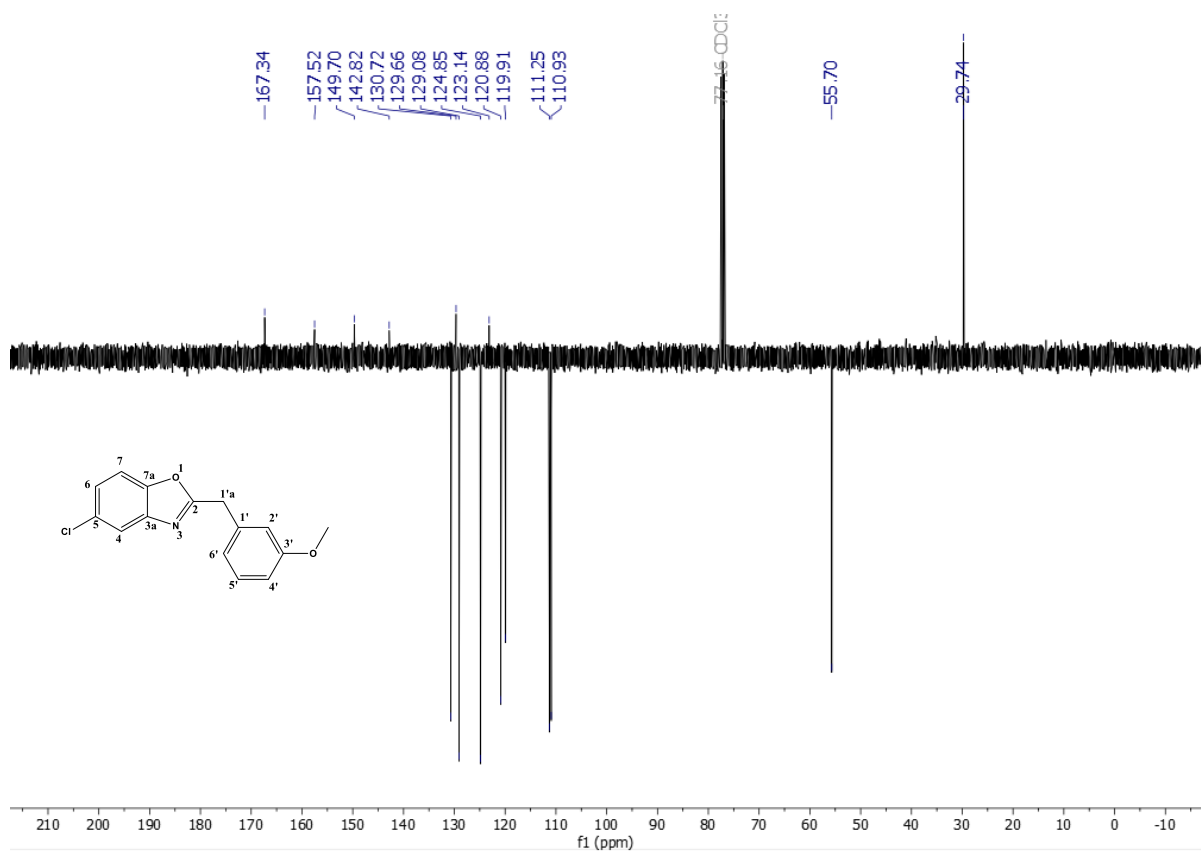


Figura 54: Espectro de RMN de ¹³C-APT (100 MHz, CDCl₃) de 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (**10**).

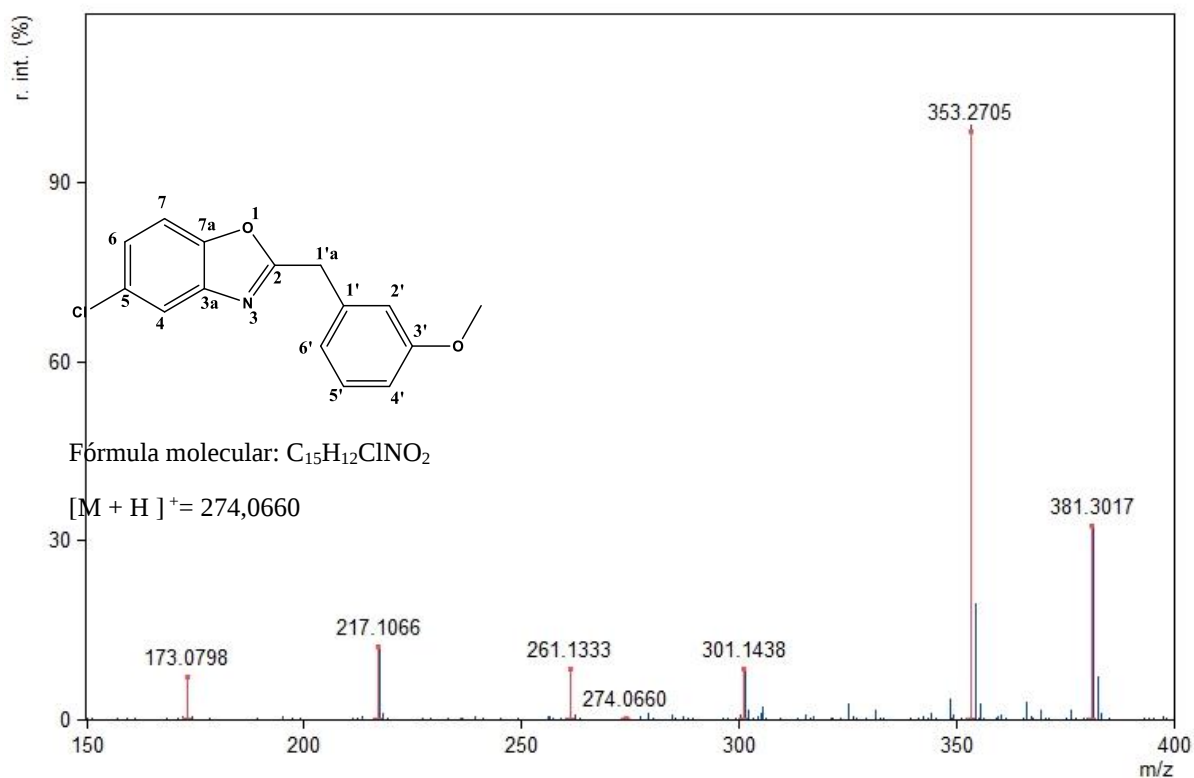
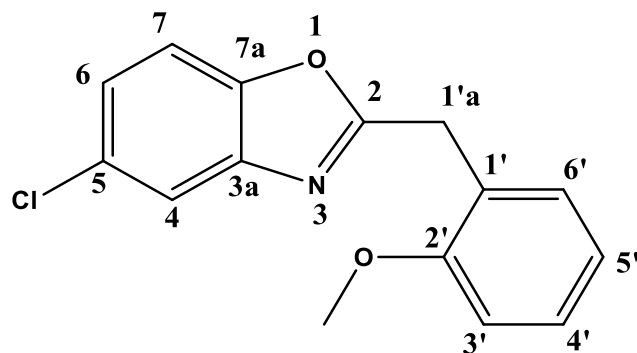


Figura 55: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 5-cloro-2-(3-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (**10**).

Composto 11: 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol



Aspecto: Óleo amarelo;

Rendimento: 13,66%;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,66 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN 1H (500 MHz, $CDCl_3$): δ 7,66 (*d*, $J = 2,00$ Hz, H4; 1H); 7,38 (*d*, $J = 8,50$ Hz, H7; 1H); 7,28–7,24 (*m*, H6 e H4'; 2H); 6,95–6,93 (*m*, H5'; 1H), 6,91–6,89 (*m*, H3'; 1H), 6,83 (*ddd*, $J = 8,50; 2,50; 1,00$ Hz, H6'; 1H); 4,23 (*s*, H1'a; 2H); 3,80 (*s*, C-2'-MeO; 3H).

RMN C¹³ (125 MHz, CDCl₃): δ 166,68 (C-2); 160,07 (C-2'); 149,78 (C-7a); 142,61 (C-3a); 135,93 (C-5) 130,04 (C-6'); 129,87 (C-1'); 125,19 (C-6); 121,45 (C-4'); 120,01 (C-4); 114,91 (C-5'); 113,02 (C-3'); 111,36 (C-7); 55,39 (2'-MeO); 35,40 (C-1a').

IV (ATR, cm⁻¹): 3011 (C-H sp²); 2924 (C-H sp³); 1493, 1450 (C=C aromático); 1245 (C-C); 1111 (C-O); 749 (anel aromático *orto*-substituído).

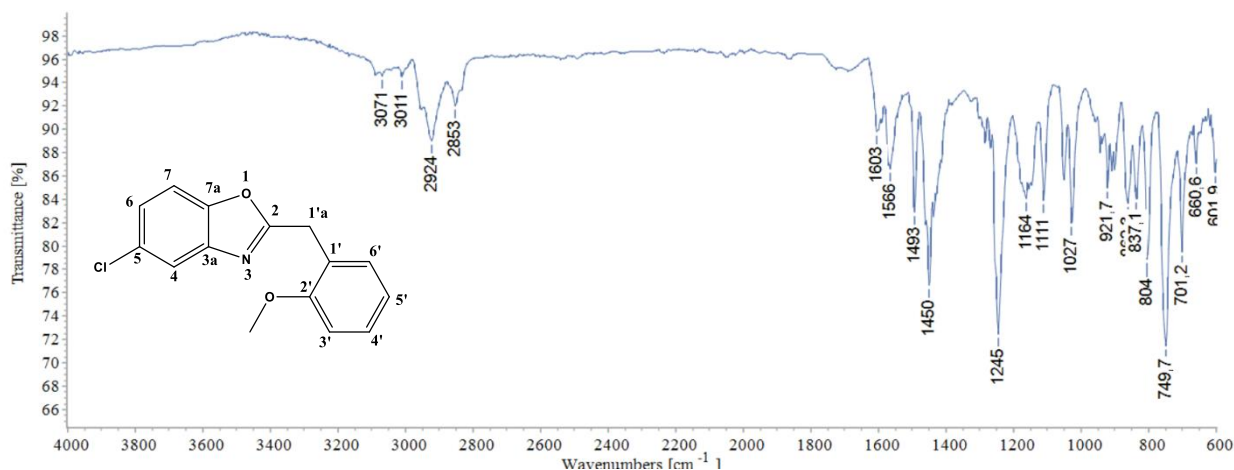


Figura 56: Espectro de Infravermelho (ATR, cm⁻¹) do 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (**11**)

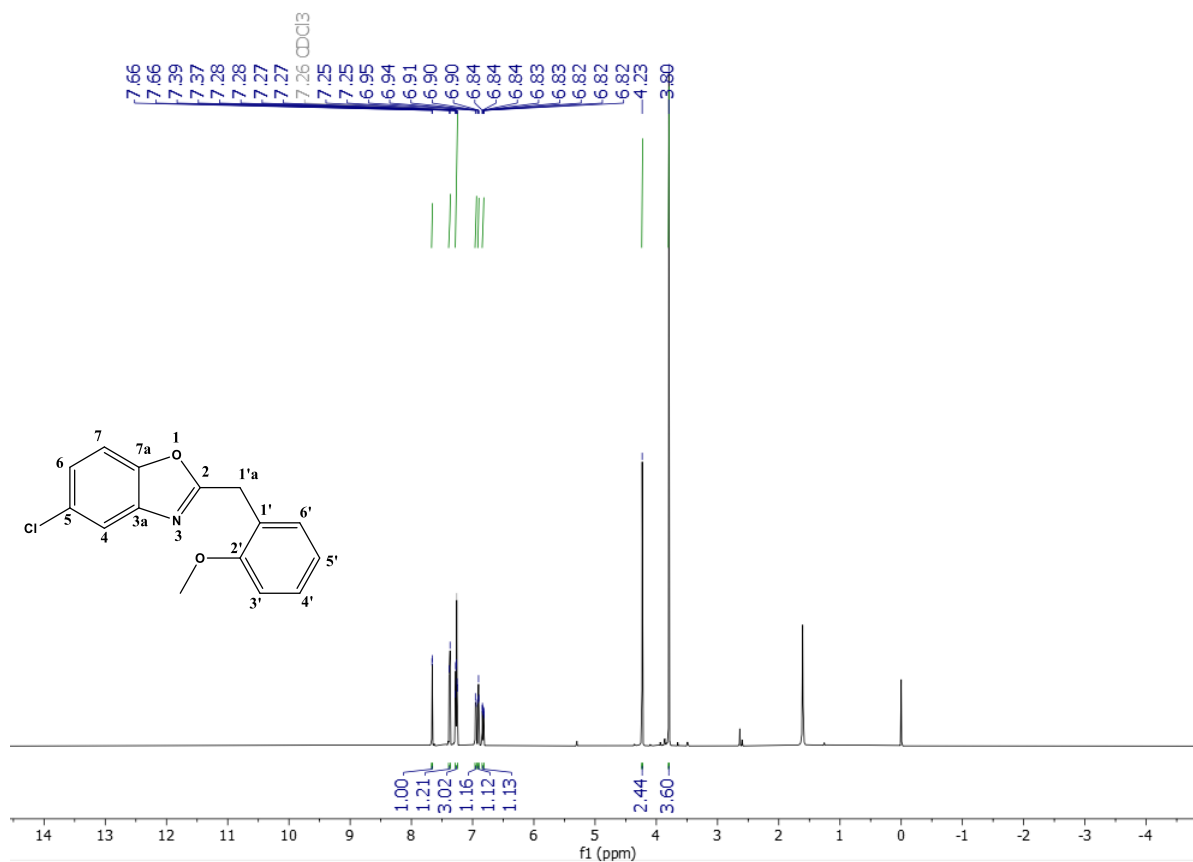


Figura 57: Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (**11**)

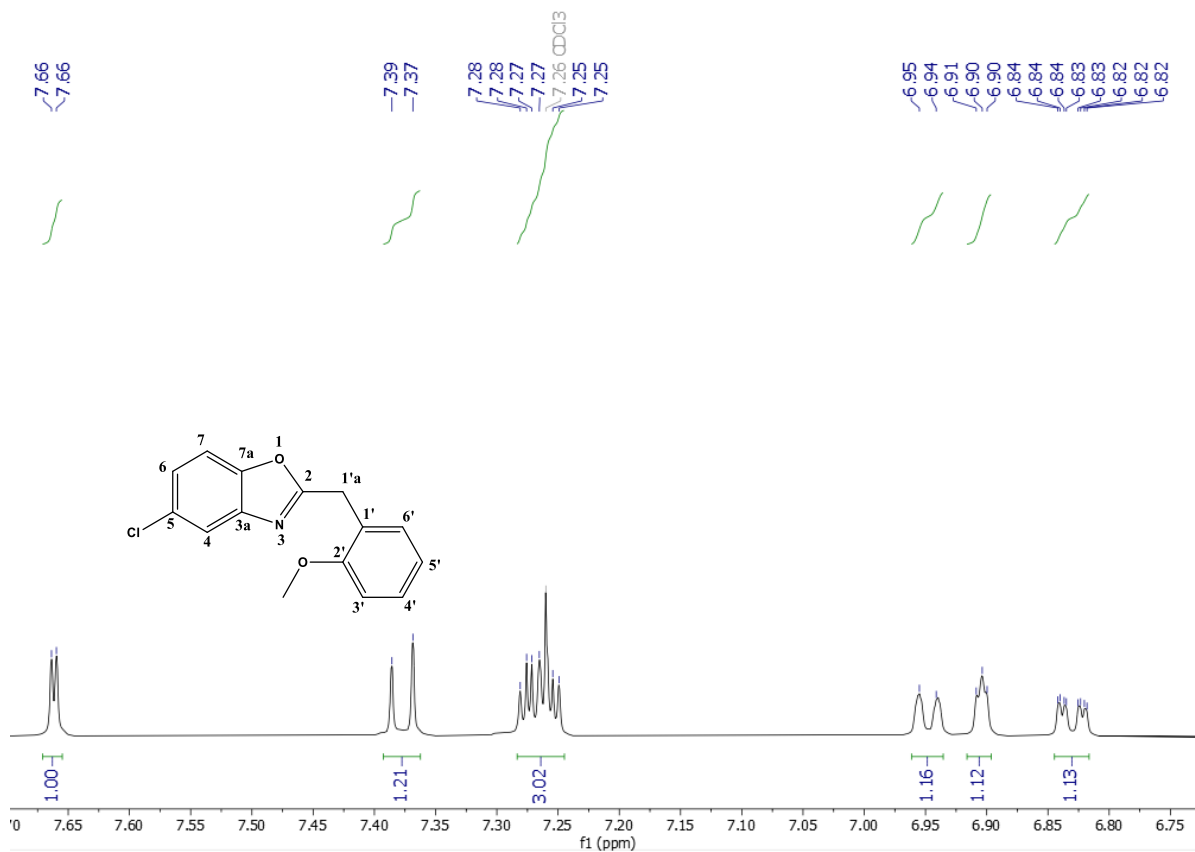


Figura 58: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11).

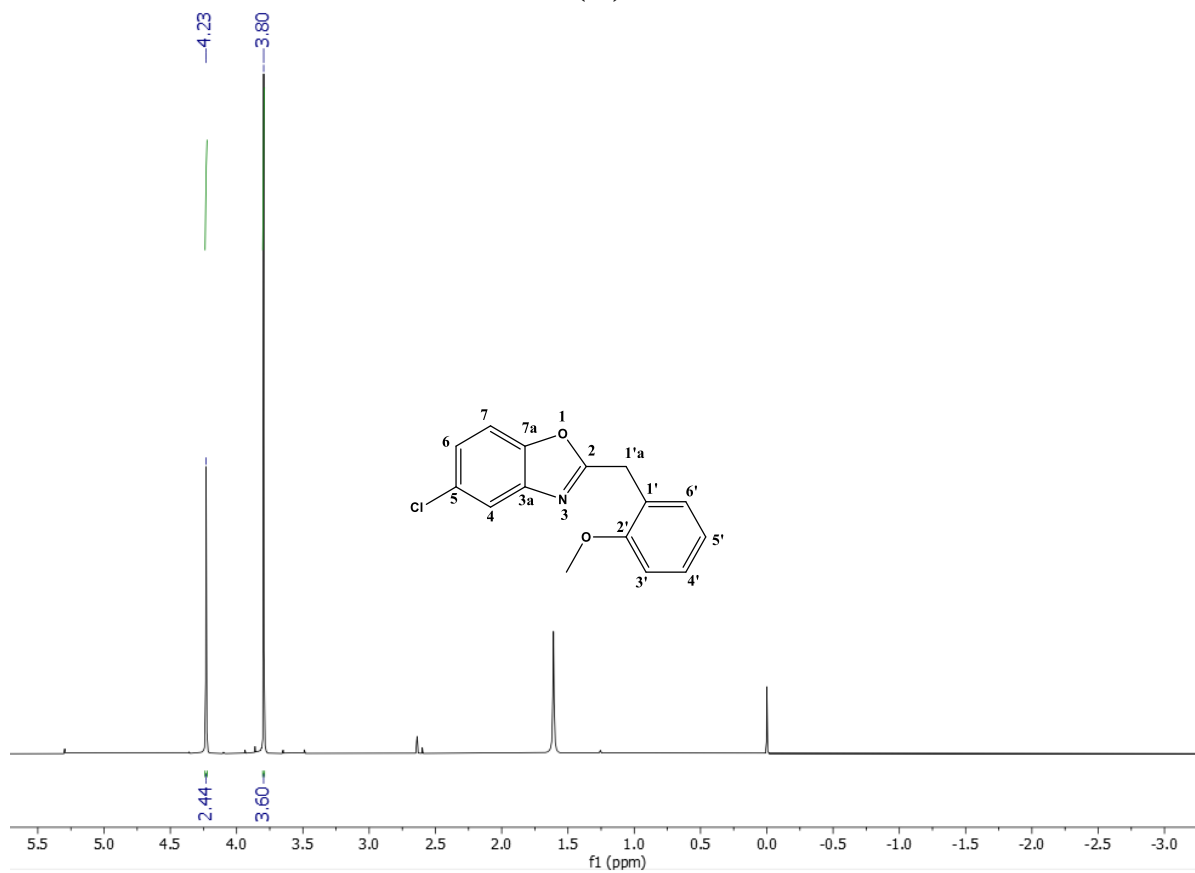


Figura 59: Expansão do espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol (11).

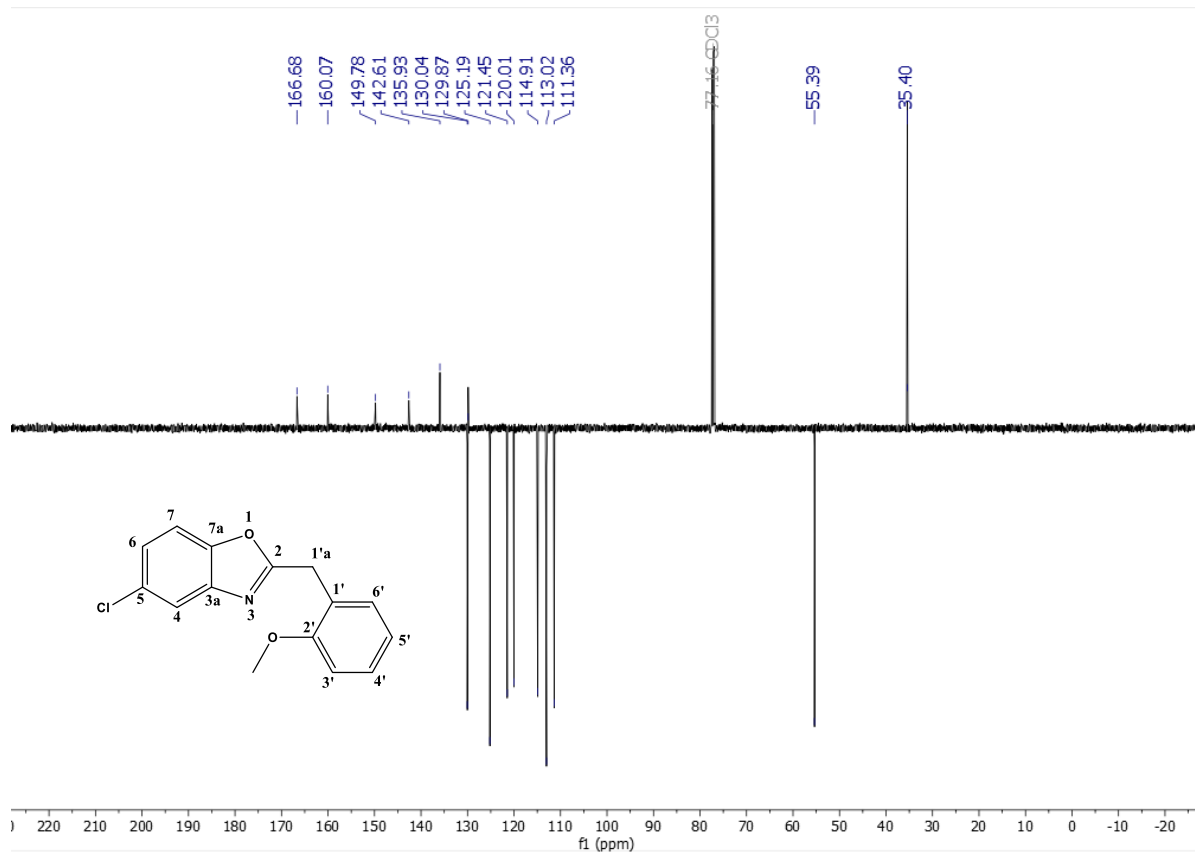
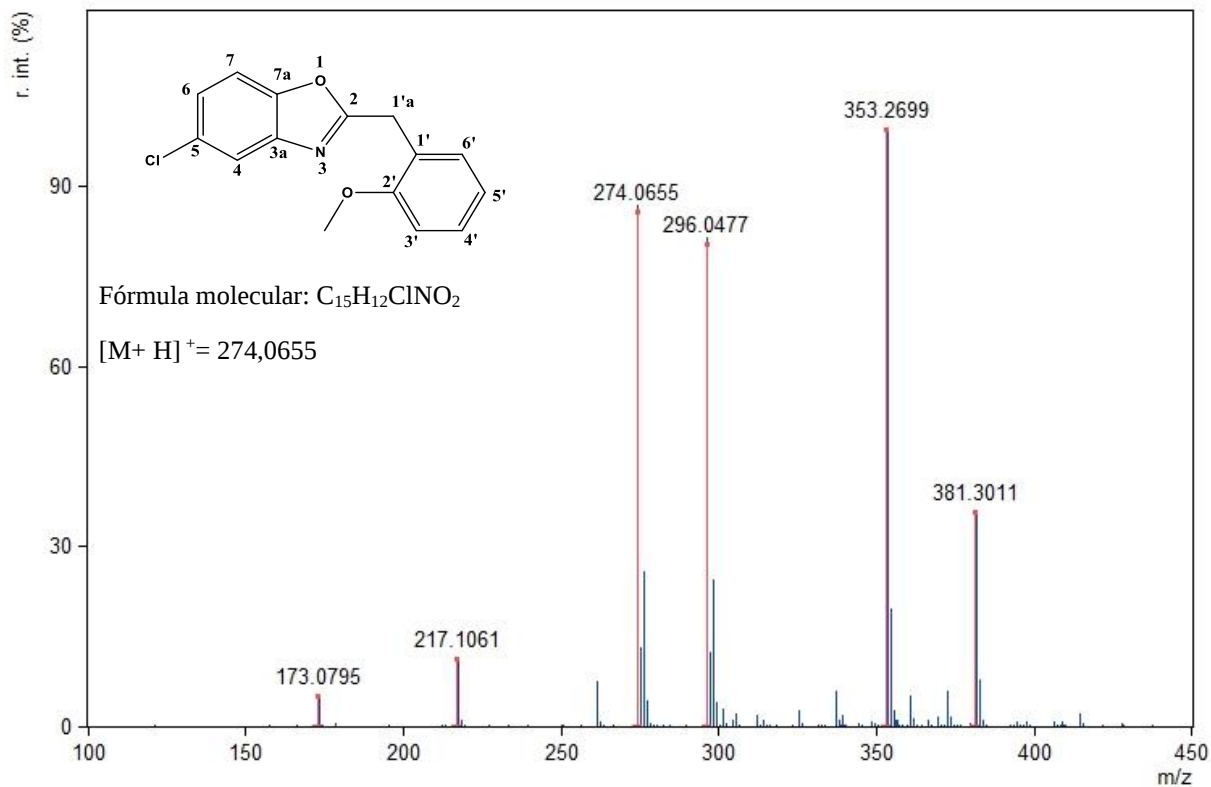


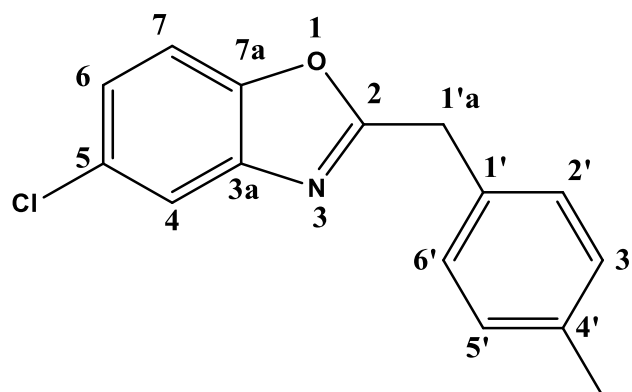
Figura 60: Espectro de RMN de ¹³C-APT (125 MHz, CDCl₃) de 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol

(11)



Espectro 61: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 5-cloro-2-(2-metoxibenzil)benzo[d]oxazol

(11).

Composto 12: 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol

Aspecto: Sólido amorfo amarelo (NIEDDU e GIACOMELLI, 2013);

Rendimento: 11,03%;

Ponto de fusão: 52-54 °C (NIEDDU e GIACOMELLI, 2013);

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,46 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,67 (*d*, $J = 2,00$ Hz, H4;1H); 7,36 (*d*, $J = 8,80$ Hz, H7; 1H); 7,29–7,25 (*m*, H6; 1H); 7,27 (*d*, $J = 7,60$ Hz, H2' e H6'); 7,10 (*d*, $J = 7,60$ Hz, H3' e H5'; 2H); 4,24 (*s*, H1'a; 2H); 2,35 (*s*, 4'-Me; 3H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 167,08 (C-2); 149,78 (C-7a); 142,64 (C-3a); 137,32 (C-4'); 131,43 (C-5); 129,74 (C-2' e C-6'); 129,04 (C-3' e C-5'); 129,79 (C-1'); 125,11 (C-6); 119,98 (C-4); 111,34 (C-7); 35,02 (C-1'a); 21,23 (4'-Me) (NIEDDU e GIACOMELLI, 2013).

IV (ATR, cm^{-1}): 3020 (C-H sp^2); 2922 (C-H sp^3); 1565, 1450 (C=C aromático); 1257 (C-C); 1139 (C-O); 808 (anel aromático *para*-substituído).

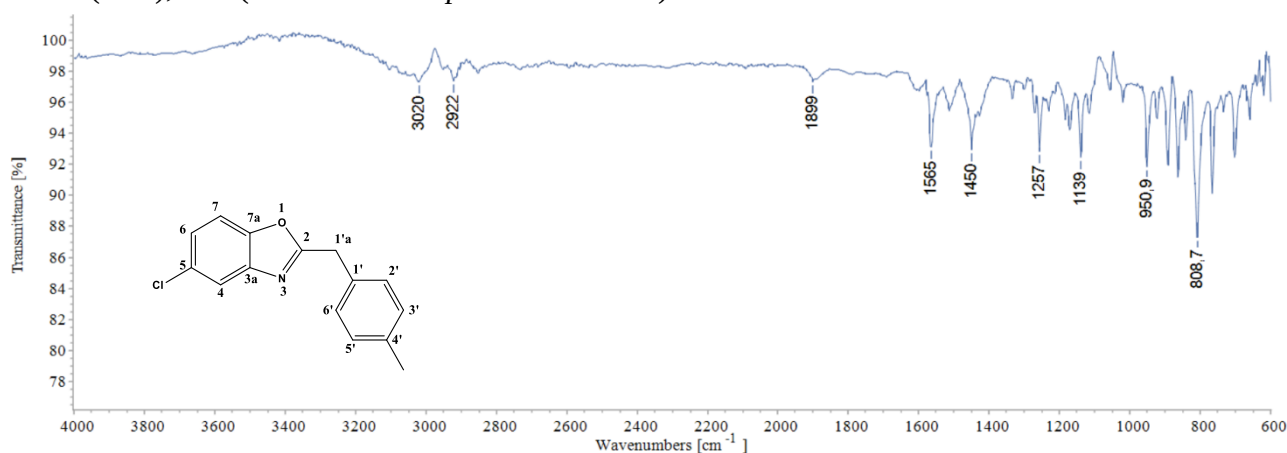


Figura 62: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)

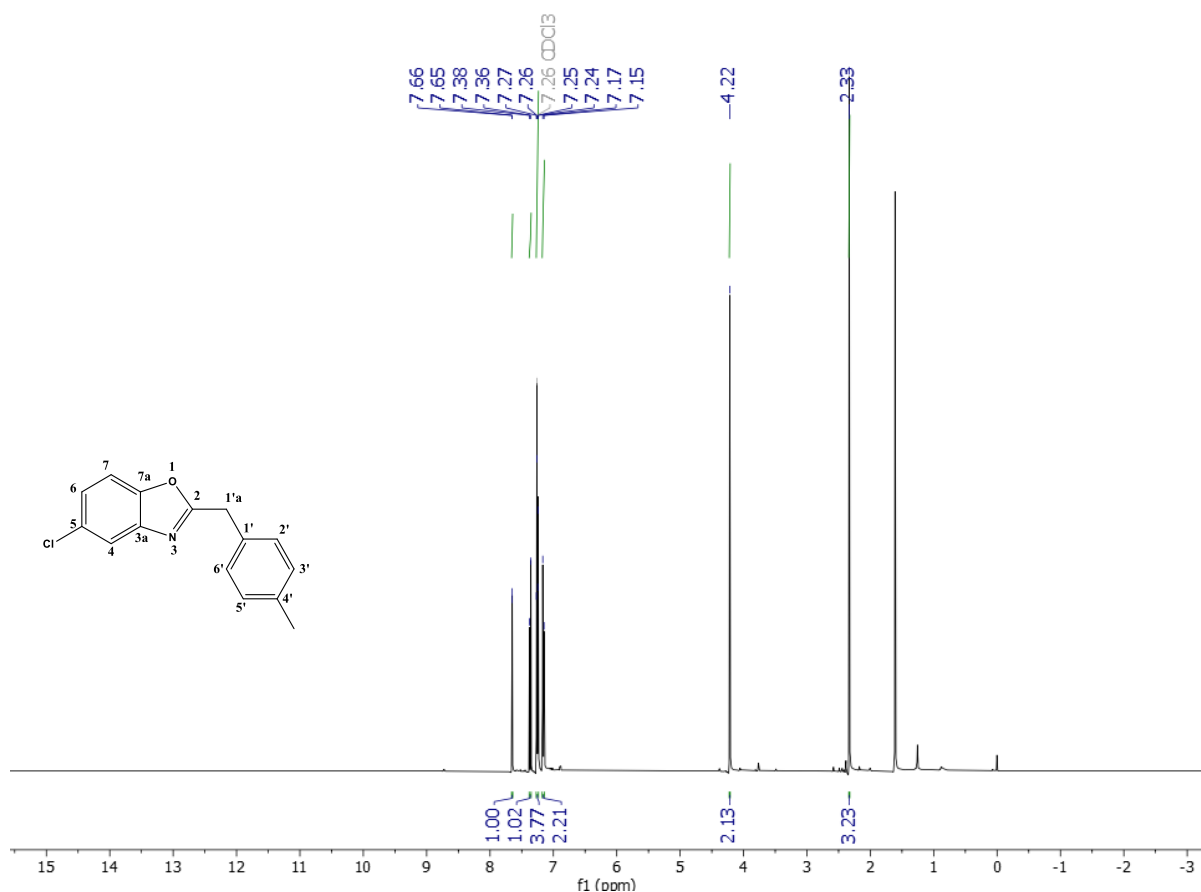


Figura 63: Espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) de 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol (12)

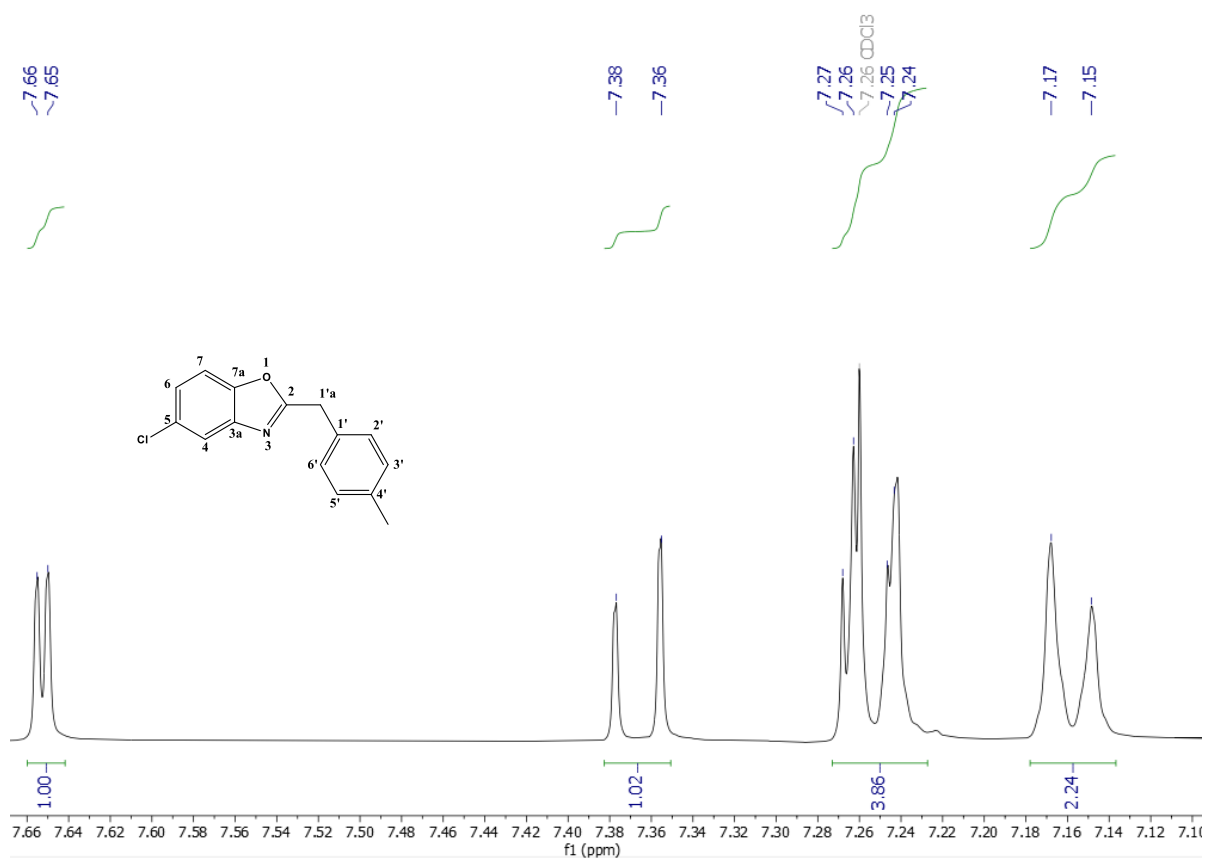


Figura 64: Expansão do espectro de RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol

(12)

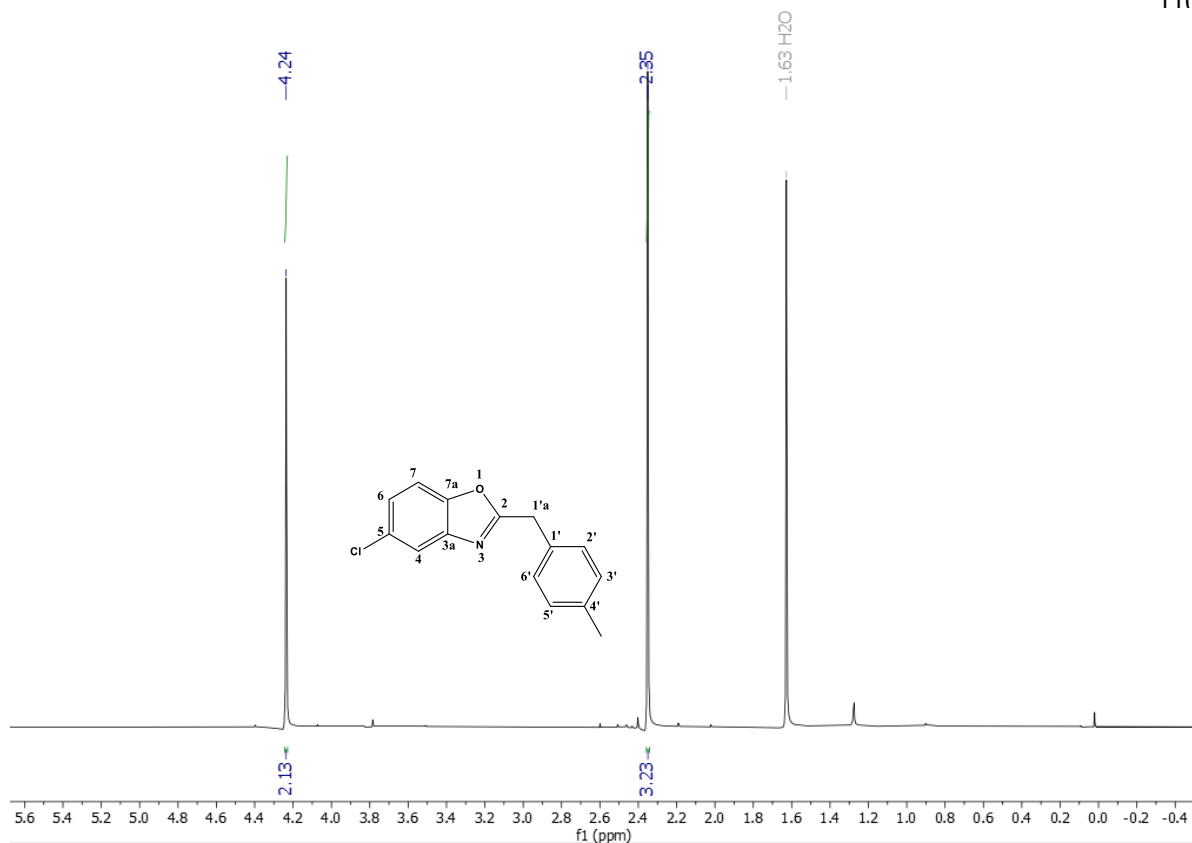


Figura 65: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) de 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol

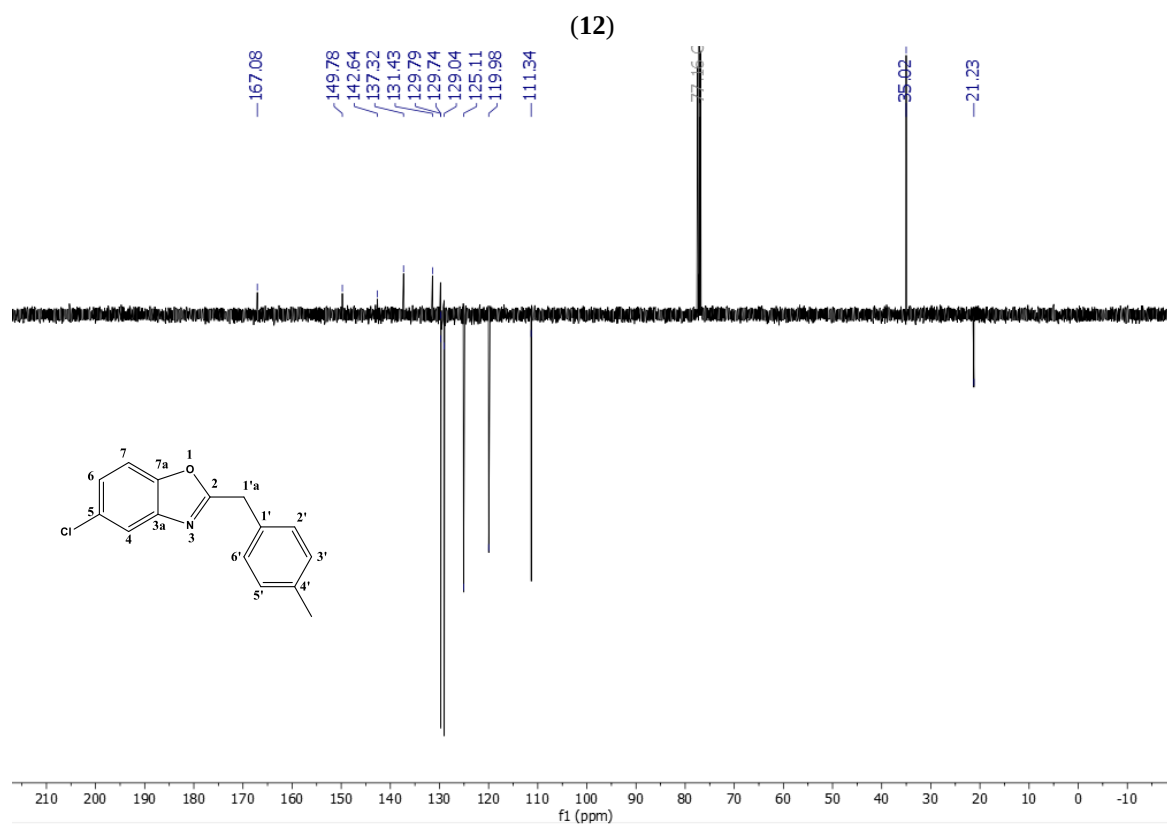
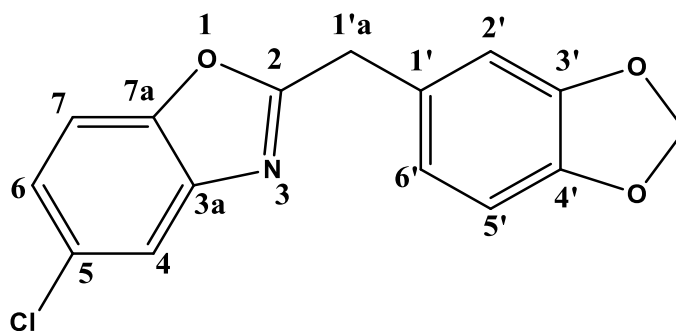


Figura 66: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (125 MHz, CDCl_3) 5-cloro-2-(4-metilbenzil)benzo[d]oxazol

(12)

Composto 13: 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol

Aspecto: Sólido amorfo amarelo;

Rendimento: 7,47%;

Ponto de fusão: 87-88°C;

Tempo de reação: 15 horas;

Fator de Retenção: 0,44 (9:1 Hex:AcOEt)

RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ 7,66 (*dd*, $J = 2,40$ e $0,80$ Hz, H4; 1H); 7,38 (*dd*, $J = 8,80$ e $0,80$ Hz, H7; 1H); 7,27 (*dd*, $J = 8,80$ e $2,40$ Hz, H6; 1H); 6,85 (*dd*, $J = 1,60$; $0,40$ Hz, H2'; 1H); 6,83-6,80 (*m*, 6'; 1H), 6,78 (*dd*, $J = 8,00$; $0,40$ Hz, H5'; 1H); 5,94 (*s*, 3',4'-OCH₂O; 2H); 4,17 (*s*, H1'a; 2H).

RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ 166,90 (C-2); 149,77 (C-7a); 148,19 (C-3'); 147,18 (C-3'); 142,64 (C-3a); 129,89 (C-5); 128,03 (C-1'); 125,20 (C-6); 122,37 (C-6'); 120,04 (C-4); 111,33 (C-2'); 109,58 (C-7); 108,71 (C-5'); 101,31 (3',4'-OCH₂O); 35,08 (C-1'a).

IV (ATR, cm^{-1}): 3101 (C-H sp^2); 2900 (C-H sp^3); 1441, 1498 (C=C aromático); 1240 (C-C); 1139 (C-O); 802, 703, 619 (anel aromático trissubstituído).

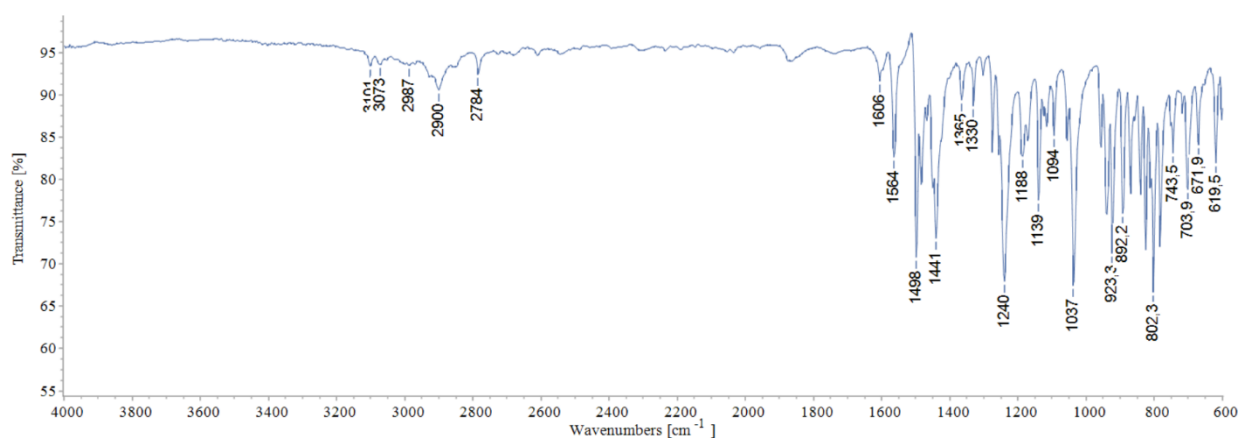


Figura 67: Espectro de Infravermelho (ATR, cm^{-1}) do 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol

(13)

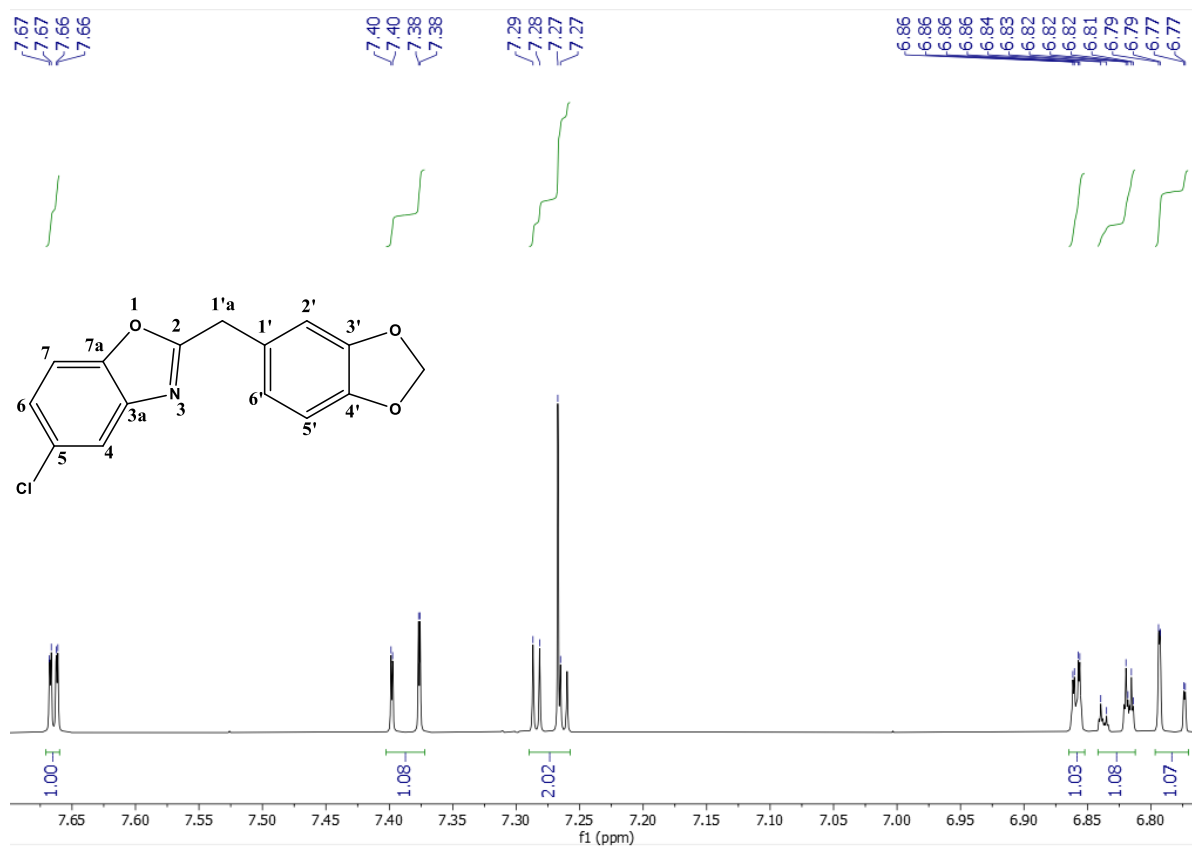
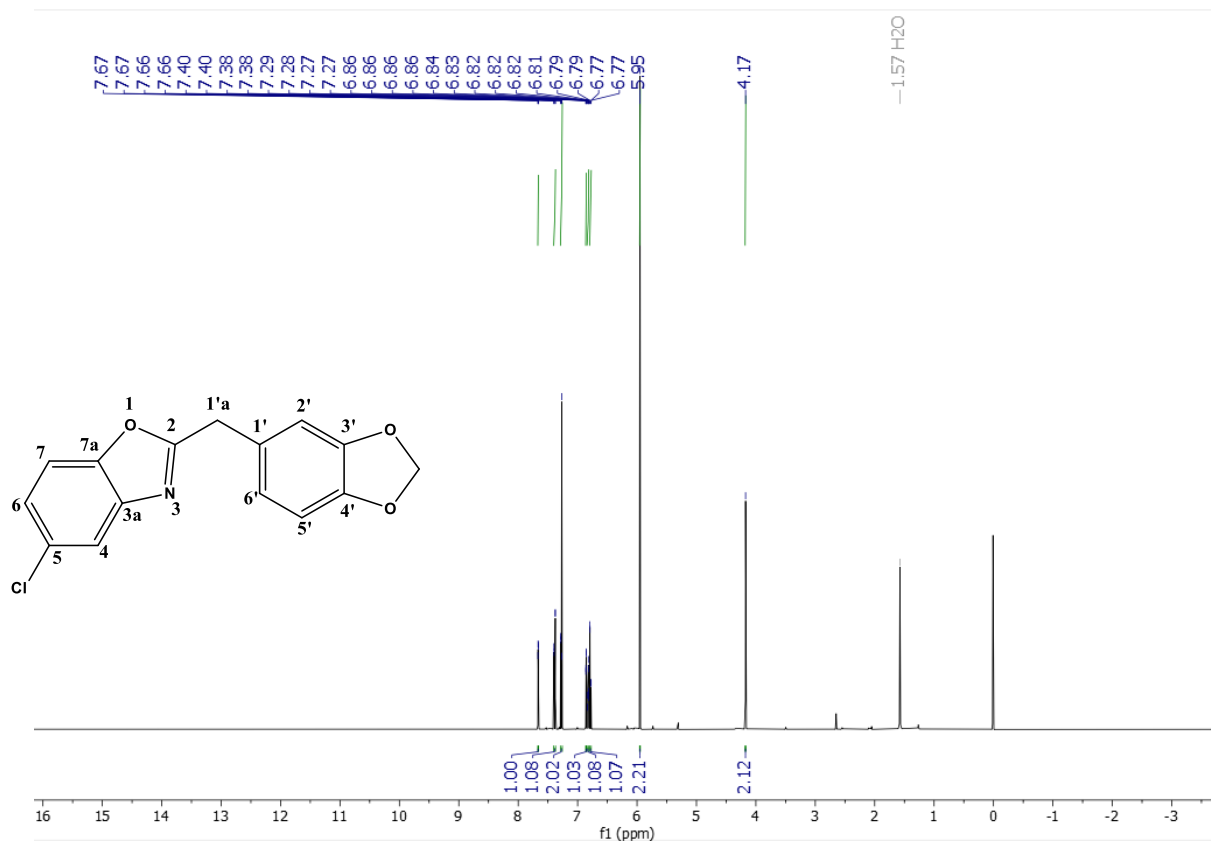




Figura 70: Expansão do espectro de RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3] dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13)

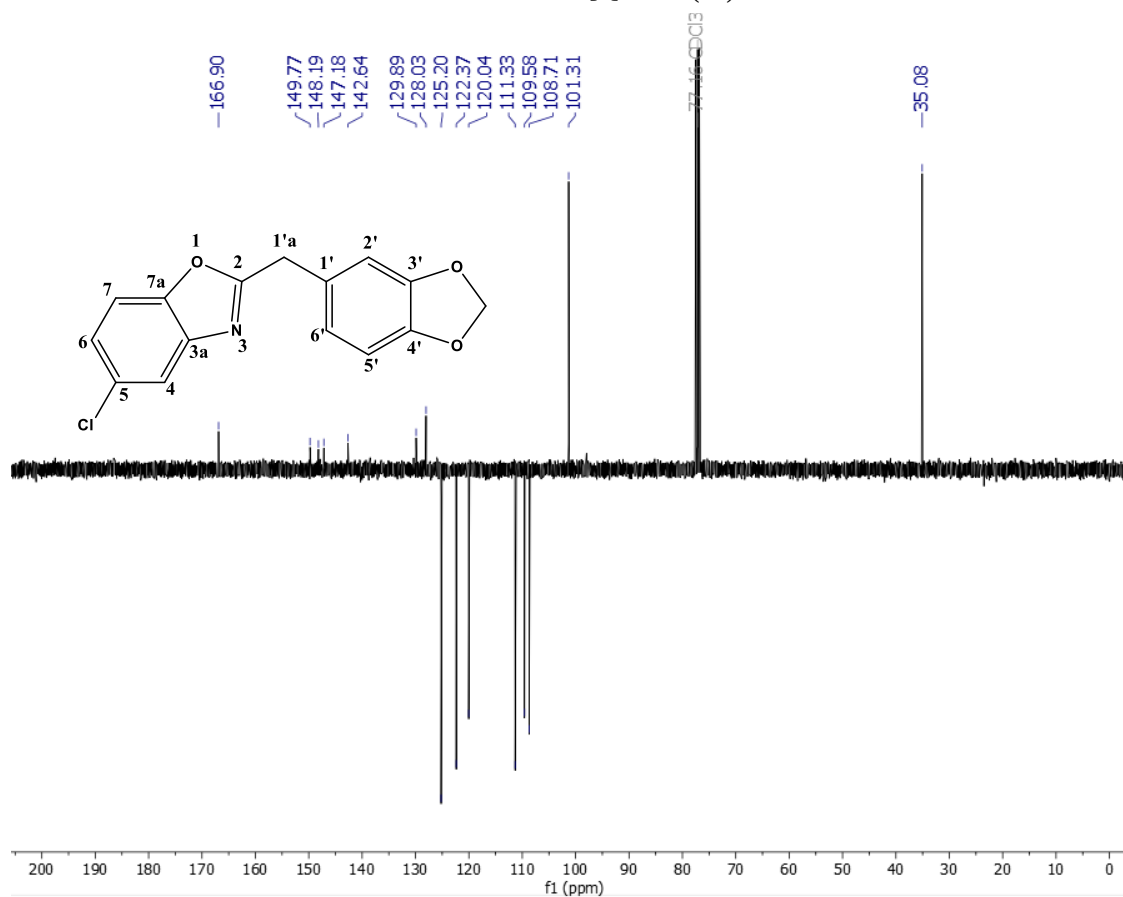


Figura 71: Espectro de RMN de ^{13}C -APT (100 MHz, CDCl_3) 2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(13)

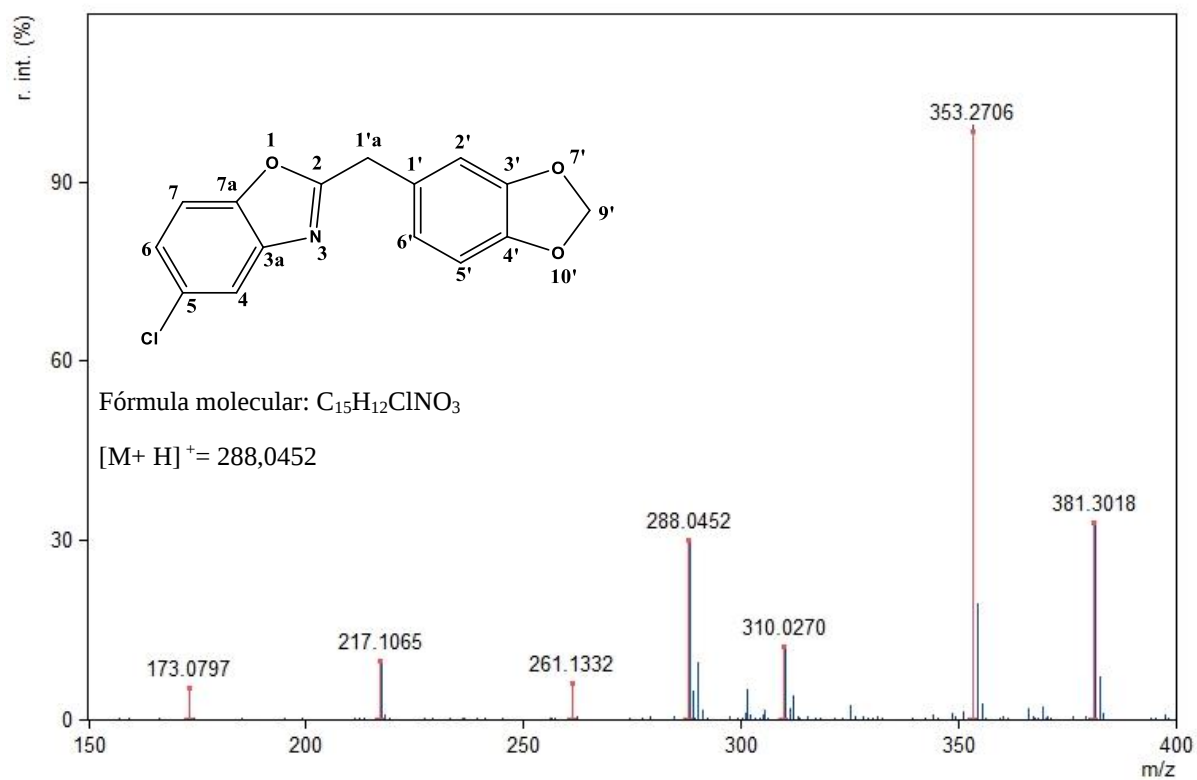


Figura 72: Espectro de massas de alta resolução tipo MALDI de 2-(benzo[d][1,3] dioxol-5-ilmetil)-5-clorobenzo[d]oxazol(**13**).

10. REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, L.; BARFÜSSER, S.; POSPECH, J. Palladium-catalyzed direct arylations, alkenylations, and benzylations through C–H bond cleavages with sulfamates or phosphates as electrophiles. **Organic Letters**, v. 12, n. 4, p. 724-726, 2010.
- AKHTAR, T. *In vitro* antitumor and antiviral activities of new benzothiazole and 1, 3, 4-oxadiazole-2-thione derivatives. **Actapharmaceutica**, v. 58, n. 2, p. 135-149, 2008.
- ALVES, D. D. N.; Ferreira, A. R., Duarte, A. B. S., Melo, A. K. V., de Sousa, D. P., & Castro, R. D. D. Breakpoints for the classification of anti-Candida compounds in antifungal screening. **BioMed Research International**, v. 2021.
- ANN CHAI, L. Y.; DENNING, D. W.; WARN, P. *Candida tropicalis* in human disease. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 36, n. 4, p. 282–298, 30 nov. 2010.
- AVAGYAN, R.; LUONGO, G.; THORSÉN, G.; ÖSTMAN, C. Benzothiazole, benzotriazole, and their derivatives in clothing textiles a potential source of environmental pollutants and human exposure. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 8, p. 5842-5849, 2015.
- BAIÃO, A. L. P. Aspectos atuais da utilização dos fungos para benefício da vida humana. **Tese de Doutorado, Universidade de Lisboa, Faculdade de Farmácia**. 2020.
- BAIOTTO, C. S.; BAIOTTO, L.; BEBER, S. C.; KLEIBERT, K. R.; FELL, A. P.; BABESKI, C. M.; COLET, C. D. F. Efeito antifúngico de óleos essenciais no controle de fitopatógenos em sementes de soja armazenadas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 27, 272-278. 2023.
- BERKOW, E. L.; LOCKHART, S. R. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. **Infection and Drug Resistance**, v. 10, p. 237, 2017.
- BHATTACHARJEE, P. Epidemiology, and antifungal susceptibility of *Candida* species in a tertiary care hospital, Kolkata, India. **Current Medical Mycology**, v. 2, n. 2, 2016
- BHATTACHARYA, S.; SAE-TIA, S.; FRIES, B. C. Candidiasis, and mechanisms of antifungal resistance. **Antibiotics**, v. 9, n. 6, p. 312, 2020.
- BOGAS, A. C.; CRUZ, F. P. N.; LACAVA, P. T.; SOUSA, C. P.; Fungos endofíticos: uma visão geral sobre o potencial biotecnológico e agrônomo. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 84, 2022.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman: As bases farmacológicas da terapêutica. In: **Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 2006. p. 1819-1819.

CANSIAN, R. L. STAUDT, A.; BERNARDI, J. L.; PUTON, B. M. S.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V.; GOMES, A. C. C.; ANDRADE, B. C. O. P.; LEAL, I. C. R.; SIMAS, N. K.; ZENI, J.; JUNGUES, A.; DALLAGO, R. M.; BACKES, G. T.; PAROUL, N. Toxicity and larvicidal activity on *Aedes aegypti* of citronela essential oil submitted to enzymatic esterification. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, 2021.

CARVALHO, L. I. S.; ALVARENGA, D. J.; CARMO, L. C. F. D.; OLIVEIRA, L. G. D.; SILVA, N. C.; DIAS, A. L. T.; COELHO, L. F. L.; SOUZA, T. B.; DIAS, D. F. Antifungal activity of new eugenol-benzoxazole hybrids against *Candida* spp. **Journal of Chemistry**, v. 2017, 2017.

CHANYACHAILERT, P.; LEEYAPHAN, C.; BUNYARATAVEJ, S. Infecções fúngicas cutâneas causadas por dermatófitos e não dermatófitos: uma revisão abrangente atualizada de epidemiologia, apresentações clínicas e testes diagnósticos. *J. Fungi*, 9, 669. <https://doi.org/10.3390/jof9060669>. 2023.

CHIKHALE, R. V. PANT, A. M.; MENGHANI, S. S.; WADIBHASME, P. G.; KHEDEKAR, P. B. Facile and efficient synthesis of benzoxazole derivatives using novel catalytic activity of PEG-SO₃H. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, n. 5, p. 715-725, 2017.

CHO, K. A.; PARK, M.; KIM, Y. H.; CHOO, H. Y. P.; LEE, K. H. Benzoxazole derivatives suppress lipopolysaccharide-induced mast cell activation. Molecular evaluation and docking study of a new series of di-substituted benzoxazol 19 derivatives as selective COX-2 inhibitors and anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 891-902, 2018.

CHUDZIK, B.; KOSELSKI, M.; CZURYŁO, A.; TREBACZ, K.; GAGOŚ, M. A new look at the antibiotic amphotericin B effect on *Candida albicans* plasma membrane permeability and cell viability functions. **European Biophysics Journal**, v. 44, n. 1, p. 77-90, 2015.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Approved Standard – Third Edition. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2008.

CNA'ANI, A.; SHAVIT, R.; RAVID, J.; CALVO, J. A.; SKALITER, O.; MASCI, T.; VAINSTEIN, A. Phenylpropanoid scent compounds in *Petunia x hybrida* are glycosylated and accumulate in vacuoles. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1898, 2017.

DA COSTA, K. C. M.; SILVA, D. J. B.; JÚNIOR, J. M.; BATALINI, C. Avaliação dos potenciais antioxidante e tóxico de amidas aromáticas sintetizadas seguindo a Química Verde. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e58811225913, 2022.

DA NÓBREGA ALVES, D.; MONTEIRO, A. F. M.; ANDRADE, P. N.; LARAZINI, J. G.; ABILÍLIO, G. M. F.; GUERRA, F. Q. S.; SCOTTI, M. T.; SCOTTI, L.; ROSALEN, P. L.; CASTRO, D. D. Docking prediction, antifungal activity, anti-biofilm effects on *Candida* spp., and toxicity against human cells of cinnamaldehyde. **Molecules**, v. 25, n. 24, p. 5969, 2020.

DA ROCHA, W. R. V.; NUNES, L. E.; NEVES, M. L. R.; XIMENES, E. C. P. A.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A. Gênero *Candida*-Fatores de virulência, Epidemiologia, Candidíase e Mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e43910414283-e43910414283, 2021.

DA SILVA, C. D. G.; SANCHES, C. G. S.; CHASSOT, Fr. *Candida* parapsilosis: resistência aos antifúngicos. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 17, p. 1-16, 2022.

DE LARA, A. C.; OLIVEIRA, C. M.; MENDES, V. A.; STOCCO, P.; HEIN, M. M. F.; LISBOA, H. C. F. Avaliação do consumo de produtos naturais por usuários de estratégias de saúde da família do município de Rondonópolis–MT. **Revista UniVap**, v. 25, n. 47, p. 98-109, 2019.

DE MOURA, D. F.; ALBUQUERQUE M. M.; MELO, B. D.; ROCHA, T. A.; SILVA, F. A.; SILVA, G. M.; FONTE, R. D. A. B. A Importância da Biossegurança na Produção e Utilização de Produtos Naturais e Fitoterápicos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 2, p. 7054-7062, 2020.

DE SOUSA, J. P.; MEDEIROS, C. I. S.; OLIVEIRA, P. F.; GUERRA, F. Q. S.; OLIVEIRA FILHO, A. A.; OLIVEIRA, L. E. Estudo do potencial antifúngico e do mecanismo de ação do timol contra cepas de *Candida parapsilosis* resistentes ao fluconazol e a anfotericina B. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 19, n. 3, p. 489-494, 2020.

DENNING, D. W.; BROMLEY, M. J. How to bolster the antifungal pipeline. **Science**, v. 347, n. 6229, p. 1414–1416, 2015.

DO NASCIMENTO, L. M. S.; SANTOS, T. D. J. A.; DA COSTA, J. J. S.; DA COSTA, S. D. Modelagem in silico das propriedades farmacocinéticas de ligantes com atividade antitumoral para Sarcoma 180. In: **Anais Estendidos do XXI Simpósio Brasileiro de Computação Aplicada à Saúde**. SBC, p. 109-114. 2021.

DO VALE, J. A.; RODRIGUES, M. P.; LIMA, Â. M. A.; SANTIAGO, S. S.; ALMEIDA, L. G. D.; ALMEIDA, A. A.; MACHADO, N. M. Synthesis of cinnamic acid ester derivatives with

antiproliferative and antimetastatic activities on murine melanoma cells. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 148, p. 112689, 2022.

DU, H.; BING, J.; HU, T.; ENNIS, C. L, NOBILE, C. J.; HUANG, G. *Candida auris*: Epidemiology, biology, antifungal resistance, and virulence. **PLoS pathogens**, v. 16, n. 10, p. e1008921, 2020.

FENG, L. S.; CHENG, J. B.; SU, W. Q.; LI, H. Z; XIAO, T.; CHEN, D. A.; ZHANG, Z. L. Cinnamic acid hybrids as anticancer agents: A mini review. **Archiv der Pharmazie**, p. e2200052, 2022.

FRANÇA, S. B.; DOS SANTOS, C. P. R.; DE CASTRO, I. B. D.; DA SILVA, J. E. F.; BARROS, M. E. D. S. B.; DA PAZ, L. D. J. Synthesis, applications, and Structure-Activity Relationship (SAR) of cinnamic acid derivatives: a review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 1, p. e 28010111691-e 28010111691, 2021.

FREIRES, I. A.; MURATA, R. M.; FURLETTI, V. F.; SARTORATTO, A.; ALENCAR, S. M. D.; FIGUEIRA, G. M.; RODRIGUES, J. A. O.; DUARTE, M. C. T.; ROSALEN, P. L. *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**, v. 9, n. 6, 2014.

GUNTREDDI, T.; VANJARI, R.; KUMAR, S.; SINGH, R.; SINGH, N.; KUMAR, P.; SINGH, K. N. Elemental sulfur mediated synthesis of benzoxazoles, benzothiazoles and quinoxalines via decarboxylative coupling of 2-hydroxy/mercapto/amino-anilines with cinnamic acids. **RSC Advances**, v. 6, n. 84, p. 81013-81016, 2016.

HUANG, Y.; ZHOU, P.; WU, W.; JIANG, H. Selective construction of 2-substituted benzothiazoles from o-iodoaniline derivatives S8 and N-tosylhydrazones. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 83, n. 4, p. 2460-2466, 2018.

IRFAN, A; BATOOL, F.; NAQVI, S. A. Z.; ISLAM, A.; OSMAN, S. M.; NOCENTINI, A. Benzothiazole derivatives anticâncer agents. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 265-279, 2020.

JANELA, J. L. S. Derivados do ácido cinâmico, contribuição para a investigação dos inibidores das ciclo-oxigenases. **Tese de Doutorado. Universidade de Coimbra**. 2018.

KAKKAR, S.; et al. Benzoxazole derivatives: design, synthesis and biological evaluation. **Chemistry Central Journal**, v. 12, n. 1, p. 1-16, 2018.

KAUR, A.; PATHAK, D. P.; SHARMA, V.; WAKODE, S. Synthesis, biological evaluation and docking study of a new series of di-substituted benzoxazole derivatives as selective COX-

2 inhibitors and anti-inflammatory agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 891-902, 2018.

KIM, D. M.; KAMBOJ, P.; ALAM, O.; AMIR, M. Synthesis of benzoxazole derivatives as interleukin-6 antagonists. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 12, p. 3127-3134, 2017.

KLOEPFER, A.; JEKEL, M.; REEMTSMA, T. Occurrence, sources, and fate of benzothiazoles in municipal wastewater treatment plants. **Environmental Science & Technology**, v. 39, n. 10, p. 3792-3798, 2005.

KOEDUKA, T.; TAKARADA, S.; FUJII, K.; SUGIYAMA, A.; YAZAKI, K.; NISHIHARA, M.; MATSUI, K. Production of raspberry ketone by redirecting the metabolic flux to the phenylpropanoid pathway in tobacco plants. **Metabolic Engineering Communications**, v. 13, p. 180, 2021.

KOTOVSHCHIKOV, Y. N.; TAKARADA, S.; FUJII, K.; SUGIYAMA, A.; YAZAKI, K.; NISHIHARA, M.; MATSUI, K. Annulation-Induced Cascade Transformation of 5-Iodo-1, 2, 3-triazoles to 2-(1-Aminoalkyl) benzoxazoles. **Organic letters**, v. 20, n. 15, p. 4467-4470, 2018.

LI, Z. l.; JIN, L. k.; CAI, C. Efficient synthesis of 2-substituted azoles: radical C–H alkylation of azoles with dicumyl peroxide, methylarenes and cycloalkanes under metal-free condition. **Organic Chemistry Frontiers**, v. 4, n. 10, p. 2039-2043, 2017.

LI, Z.; Dong, J.; Wang, J.; Yang, D. Y.; Weng, Z. Elemental sulfur-promoted one-pot synthesis of 2-(2, 2, 2-trifluoroethyl) benzoxazoles and their derivatives. **Chemical Communications**, v. 55, n. 87, p. 13132-13135, 2019.

LIAO, C.; KIM, U. J.; KANNAN, K. A review of environmental occurrence, fate, exposure, and toxicity of benzothiazoles. **Environmental Science & Technology**, v.52, n. 9, p. 5007-5026, 2018.

Lima, T.M.L. & Trevisan. Processos fermentativos direcionados a produção de antibióticos: uma alternativa a resistência de bactérias. **PubSaude**. 2021.

LIMA, W. G.; ALVES-NASCIMENTO, L. A.; ANDRADE, J. T.; VIEIRA, L.; DE AZAMBUJA, R. R. I. M.; THOME, R. G.; SANTOSO, H. B.; FERRIERA, M. M.; SOARES, A.S. Are the Statins promising antifungal agents against invasive candidiasis. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 111, p. 270-281, 2019.

- LUO, B.; LI, D.; ZHANG, A. L.; GAO, J. M. Synthesis, antifungal activities and molecular docking studies of benzoxazole and benzothiazole derivatives. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2457, 2018.
- LUONGO, G.; AVAGYAN, R.; HONGYU, R.; ÖSTMAN, C. The washout effect during laundry on benzothiazole, benzotriazole, quinoline, and their derivatives in clothing textiles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 3, p. 2537-2548, 2016.
- MARTINEZ-ROSSI, N. M.; PERES, N. T.; ROSI, A. Mecanismos de resistência antifúngica em dermatófitos. **Mycopathologia**, v. 166, p. 369-383, 2008.
- MEDEIROS, M. A. A.; ALVES, M. S.; SANTOS, B.; SILVA, E. V. A.; ARAÚJO, F. S. M.; BEZERRA, M. M. S. L.; SILVA, P. O. A.; RÊGO, V. G. S.; PESSÔA, H. L. F.; OLIVEIRA FILHO, A. A. Avaliação da atividade antibacteriana do trans-anetol contra cepas de *Enterococcus cloacae* e *Enterococcus faecalis* de origem alimentar. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 83, 2023.
- MISHRA, V. R.; GHANAVATKAR, C. W.; MALI, S. N.; QURESHI, S. I.; CHAUDHARI, H. K.; SEKAR, N. Design, synthesis, antimicrobial activity and computational studies of novel azo linked substituted benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole derivatives. **Computational Biology and Chemistry**, v. 78, p. 330-337, 2019.
- MONTEIRO, V. N.; SILVA, R. N. Aplicações industriais da biotecnologia enzimática. **Revista Processos Químicos**, v. 3, n. 5, p. 9-23, 2009.
- MUSHTAQ, S.; ABBASI, B. H.; UZAIR, B.; ABBASI, R. Natural products as reservoirs of novel therapeutic agents. **EXCLI Journal**, v. 17, p. 420, 2018.
- NAM, M. H.; PARK, M.; PARK, H.; KIM, Y.; YOON, S.; SAWANT, V. S.; CHOO, H. Indole-substituted benzothiazoles and benzoxazoles as selective and reversible MAO-B inhibitors for treatment of Parkinson's disease. **ACS Chemical Neuroscience**, v. 8, n. 7, p. 1519-1529, 2017.
- NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.
- NGUYEN, T. B.; RETAILLEAU, P. Elemental sulfur-promoted oxidative rearranging coupling between o-aminophenols and ketones: A synthesis of 2-alkyl benzoxazoles under mild conditions. **Organic letters**, v. 19, n. 14, p. 3887-3890, 2017.
- NIEDDU, G.; GIACOMELLI, G. A microwave assisted synthesis of benzoxazoles from carboxylic acids. **Tetrahedron**, v. 69, n. 2, p. 791-795, 2013.

- O'DONNELL, C. J. Rogers, B. N.; Bronk, B. S.; Bryce, D. K.; Coe, J. W.; Cook, K. K.; ... & Zhang, L. Discovery of 4-(5-methyloxazolo [4, 5-b] pyridin-2-yl) -1, 4-diazabicyclo [3.2. 2] nonane (CP-810,123), a novel $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor agonist for the treatment of cognitive disorders in schizophrenia: synthesis, SAR development, and in vivo efficacy in cognition models. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 53, n. 3, p. 1222-1237, 2010.
- OK, S. M.; HO, D., LYND, T.; AHN, Y. W.; JU, H. M.; JEONG, S. H.; CHEON, K. Candida Infection Associated with Salivary Gland—A Narrative Review. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 1, p. 97, 2020.
- OKSUZOGLU, E. ERTAN-BOLELLI, T.; CAN, H.; TARHAN, M.; OZTURK, K.; YILDIZ, I. Antitumor activities on HL-60 human leukemia cell line, molecular docking, and quantum-chemical calculations of some sulfonamide-benzoxazoles. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 45, n. 7, p. 1388-1396, 2017.
- Orlandelli, R. C.; Specian, V.; Felber, A. C. and Pamphile, J. A. Enzimas de interesse industrial: produção por fungos e aplicações. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, 7(3). 2012.
- PADALKAR, V. S.; GUPTA, V. D.; PHATANGARE, K. R.; PATIL, V. S.; UMAPE, P. G.; SEKAR, N. Synthesis of novel dipodal-benzimidazole, benzoxazole and benzothiazole from cyanuric chloride: Structural, photophysical and antimicrobial studies. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 18, n. 3, p. 262-268, 2014.
- PAL, S.; MANJUNATH, B.; GHORAI, S.; SASMAL, S. Benzoxazole Alkaloids: Occurrence, Chemistry, and Biology. **The Alkaloids: Chemistry and Biology**. Academic Press, p. 71-137, 2018.
- PEPERIDOU, A.; PONTIKI, E.; HADJIPAVLOU-LITINA, D.; VOULGARI, E.; AVGOUSTAKIS, K. Multifunctional cinnamic acid derivatives. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1247, 2017.
- PŁOWUSZYŃSKA, A.; GLISZCZYŃSKA, A. Recent Developments in Therapeutic and Nutraceutical Applications of p-Methoxycinnamic Acid from Plant Origin. **Molecules**, v. 26, n. 13, p. 3827, 2021.
- PORTO, A. S.; DE SOUZA, E. B. A.; PORTO, A. S.; MAJADAS, M. D. F. F.; PORTO, A. S. Estudo clínico e terapêutico das dermatofitose: revisão de literatura. **Revista Multidisciplinar em Saúde**, v. 2, n. 3, p. 1-7, 2021.
- PRAJAPATI, N. P.; VEKARIYA, R. H.; BORAD, M. A.; PATEL, H. D. Recent advances in the synthesis of 2-substituted benzothiazoles: a review. **Rsc Advances**, v. 4, n. 104, p. 60176-60208, 2014.

- RAJA, H. A.; MILLER, A. N.; PEARCE, C. J.; OBERLIES, N. H. Fungal identification using molecular tools: a primer for the natural products research community. **Journal of Natural Products**, v. 80, n. 3, p. 756-770, 2017.
- RANGEL, M. DE L.; DE MEDEIROS VANDERLEI, J. M. T., DE QUEIROZ V. A. C.; DOS SANTOS, T. K. G. L.; DE CARVALHO, F. G.; CASTRO, R. D. Ação antifúngica da cloramina em cepa de candida albicans. **Revista Campo do Saber**, v. 4, n. 5, 2019.
- REZENDE, C.; SEGURA, R.; RIVA, S. B. M.; CASTRO, V. D. C. O. Mecanismos de ação dos antifúngicos. **Revista Unifev: Ciência & Tecnologia**, v. 2, p. 316, 2017.
- RUWIZHI, N.; ADERIBIGBE, B. A. Cinnamic acid derivatives and their biological efficacy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 16, p. 5712, 2020.
- SAHU, P. K. A green approach to the synthesis of a nano catalyst and the role of basicity, calcination, catalytic activity and aging in the green synthesis of 2-aryl bezimidazoles, benzothiazoles and benzoxazoles. **RSC advances**, v. 7, n. 67, p. 42000-42012, 2017.
- SANTOS, G. C.; RODRIGUES, J. L.; SOUZA, J. R. D.; SILVA-FILHO, L. C. D.; DA SILVA, B. H. A química por trás dos medicamentos distribuídos pelo programa farmácia popular no brasil: rotas sintéticas, relação estrutura-atividade e perspectivas futuras. **Química Nova**, v. 44, p. 1280-1299, 2021.
- SIDDIQUI, Z. N.; FAROOQ, F.; MUSTHAF, T. M.; AHMAD, A.; KHAN, A. U. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives. **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, n. 2, p. 237-243, 2013.
- SILVEIRA, E. R.; CARVALHO, J. C. S & MATOS, T. M. Da planta ao fármaco: uma abordagem fitoquímica. **Laboratório de Fisiologia Vegetal**, p. 166, 2021.
- SONWANE, S. K.; SRIVASTAVA, S. D.; SRIVASTAVA, S. K. Synthesis and biological significance of 4-oxothiazolidenes and 5-arylidene of 2-mercaptobenzothiazole. **J. Ind. Council. Chem.**, v. 25, p. 15-19, 2008.
- SOUSA, J. P. D.; COSTA, A., LEITE, M.; GUERRA, F.; SILVA, V.; MENEZES, C., ... & LIMA, E. Antifungal activity of citral by disruption of ergosterol biosynthesis in fluconazole resistant Candida tropicalis. **International Journal of Tropical Disease & Health**, p. 1–11, 2015.
- STAJICH, J. E.; BERBEE, M. L.; BLACKWELL, M.; HIBBETT, D. S.; JAMES, T. Y.; SPATAFORA, J. W. AND TAYLOR, J. W. Primer-the fungi. **Current Biology: CB**, 19(18), p.R840. 2009.

- SUN, Y.; et al. Copper-catalyzed synthesis of substituted benzothiazoles via condensation of 2-aminobenzenethiols with nitriles. **Organic Letters**, v. 15, n. 7, p. 1598-1601, 2013.
- WHALEY, Sarah G.; et al. Azole antifungal resistance in *Candida albicans* and emerging non-*albicans* *Candida* species. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 2173, 2017.
- YILDIZ, I. Antitumor activities on HL-60 human leukemia cell line, molecular docking, and quantum-chemical calculations of some sulfonamide benzoxazoles. **Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology**, v. 45, n. 7, p. 1388-1396, 2017.
- YIN, S. C.; ZHOU, Q.; ZHAO, X. Y.; SHAO, L. X. N-Heterocyclic Carbene-Palladium (II)-1-Methylimidazole Complex Catalyzed Direct C-H Bond Arylation of Benzo[b]furans with Aryl Chlorides. **J Org Chem**. 2015.
- ZENG, Wen-Wen; LAI, Lih-Shiuh. Multiple-physiological benefits of bird's nest fern (*Asplenium australasicum*) frond extract for dermatological applications. **Natural Product Research**, v. 33, n. 5, p. 736-741, 2019.