



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUTOS NATURAIS E
SINTÉTICOS BIOATIVOS**

TESE DE DOUTORADO

**Explorando o potencial antifúngico e antiparasitário de salicilatos e
salicinamidas**

ANA JÚLIA DE MORAIS SANTOS OLIVEIRA

João Pessoa - PB

UFPB - 2023

ANA JÚLIA DE MORAIS SANTOS OLIVEIRA

**Explorando o potencial antifúngico e antiparasitário de salicilatos
e salicinamidas**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para posteriormente obtenção do título de Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de Concentração: Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

João Pessoa - PB

UFPB – 2023

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

O48e Oliveira, Ana Júlia de Moraes Santos.
Explorando o potencial antifúngico e antiparasitário
de salicilatos e salicinamidas / Ana Júlia de Moraes
Santos Oliveira. - João Pessoa, 2023.
215 f. : il.

Orientação: Damião Pergentino de Sousa.
Tese (Doutorado) - UFPB/CCS.

1. Farmacoquímica. 2. Parasitologia. 3. Antifúngico.
4. Ácido salicílico. 5. Infecções por candida. I.
Sousa, Damião Pergentino de. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615.01(043)

ANA JÚLIA DE MORAIS SANTOS OLIVEIRA

Explorando o potencial antifúngico e antiparasitário de salicilatos e salicinas

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal da Paraíba como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos.

Tese aprovada em:

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa
(Universidade Federal da Paraíba)

Documento assinado digitalmente

gov.br

ANTONIA MARIA DAS GRACAS LOPES CITC

Data: 14/08/2023 15:28:42-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof(a). Dra. Antônia Maria das Graças Lopes Citó
(Universidade Federal do Piauí)

Documento assinado digitalmente

gov.br

BARBARA VIVIANA DE OLIVEIRA SANTOS

Data: 15/08/2023 09:23:18-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof(a). Dra. Barbara Viviana De Oliveira Santos
(Universidade Federal da Paraíba)



Prof. Dr. Sócrates Golzio dos Santos
(Universidade Federal da Paraíba)



Prof. Dr. Abrahão Alves de Oliveira Filho
(Universidade Federal de Campina Grande)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida, força e paciência, foi com sua ajuda que consegui chegar até aqui.

Ao meu esposo Danilo Rangel por todo companheirismo, amor, paciência e doação. Tenho certeza que ter seu apoio e companhia tornou o caminho mais leve, Te amo!

Aos meus pais por todo amor, ensinamento, apoio e aconselhamentos dados. Obrigada por sempre estarem do meu lado, mesmo estando longe. As minhas irmãs Júlia e Juliana por cada palavra de incentivo e amor. Aos meus sobrinhos lindos por todo amor e carinho. Aos familiares que de alguma forma contribuíram durante a minha jornada.

Aos meus sogros por todo acolhimento e atenção. Sempre que precisei eles estavam prontos a me ajudar.

A minha amiga desde a graduação até hoje no doutorado Rayanne Hellen por toda amizade, dificuldades e vitórias compartilhadas, ter sua amizade foi essencial na minha caminhada estudantil e profissional. Espero continuarmos amigas até a velhice. A minha amiga Alana Rodrigues por todas as conversas, desabafos e vitórias compartilhadas durante toda a caminhada do doutorado, você é muito especial.

Ao meu orientador Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa por todos os ensinamentos e incentivos que contribuíram muito para a minha formação acadêmica e pela oportunidade e espaço para executar esse projeto.

A todos os amigos do Laboratório de Química Farmacêutica da UFPB, Marianna, Susianny, Mayara, Allana Brunna, Lázaro, Carlos, Joice, Severino, Anna Emanuella, Jeremias, pelo convívio diário durante a execução dos nossos projetos e por todas as orientações, apoio e amizade.

Ao Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises do IPEFARM da UFPB pela realização das análises de RMN de ^{13}C e ^1H , e espectrometria de massa; à Rayanne e Raquel, do Laboratório Analítico Multiusuário (CCS-UFPB) que realizaram as análises de Infravermelho. Ao Centro de Espectrometria de Massas de Biomoléculas (CEMBIO) do Centro de Ciências da Saúde (CCS/UFRJ) pelas análises de espectrometria de massa.

Ao Prof. Dr. Ricardo dias de Castro (UFPB) e sua equipe, em especial, Danielle pela realização dos ensaios antifúngicos e toda disponibilidade e orientação relacionada aos testes. A professora Dr. Sara Maria Robledo e sua equipe pela realização dos ensaios de citotoxicidade e antiparasitário na Universidade de Antioquia (Medellín, Colombia). A todos os professores que contribuíram da minha formação acadêmica, aos professores do programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, por todos os ensinamentos.

Aos professores formadores da banca examinadora da tese de doutorado por todas as contribuições. A Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pelo apoio institucional e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

RESUMO

As doenças negligenciadas afetam quase dois bilhões de pessoas no mundo, sendo o Brasil um dos países mais acometidos devido a elevada prevalência destas patologias. Em adição, as infecções por *Candida* é motivo de preocupação devido ao aumento da resistência microbiana aos antifúngicos. Portanto, é imprescindível a busca por novos candidatos a fármacos para o tratamento destas infecções. O presente estudo apresentou o objetivo de preparar e avaliar a atividade antiparasitária e antifúngica de uma coleção de derivados do ácido salicílico. A coleção de vinte e cinco compostos derivados do ácido salicílico foram preparados através de reação de esterificação de Fischer, reação de Mitsunobu, reação de substituição nucleofílica com haleto de alquila e reação de Schotten-Baumann, obtendo-se seis produtos inéditos. As estruturas dos derivados sintéticos foram caracterizadas por espectroscopia de infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C , DEPT 135 e espectrometria de massas de alta resolução. Os compostos foram submetidos à avaliação biológica frente a espécies do gênero *Candida* e doze derivados avaliados in vitro contra *Leishmania braziliensis*, *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum*. Na investigação da atividade antifúngica utilizou-se o método de microdiluição em caldo para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) e verificação do provável mecanismo de ação antifúngico do composto com melhor bioatividade. O composto com melhor perfil antifúngico foi o *N*-cicloexil-2-hidroxi-benzamida (**15**) com CIM de 125 $\mu\text{g/mL}$ frente a *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* CBS 5602 e *C. krusei* CBS 573; e CIM = 250 $\mu\text{g/mL}$ contra *C. tropicalis* CBS 94, sugerindo que salicinamida com anel alifático de seis membros pode potencializar essa bioatividade. No estudo do modo de ação em membrana ou parede celular fúngica de **15**, observou-se que o composto não interage diretamente com o ergosterol presente na membrana plasmática ou com a parede celular fúngica, o que evidencia que seu mecanismo de ação seja através de outros alvos biológicos. Enquanto a análise in silico sugeriu um mecanismo de ação antifúngico multialvo. A atividade citotóxica dos doze compostos foi avaliada pela viabilidade da linhagem celular promonocítica humana U-937 (ATCC CRL-1593.2TM) via o método de MTT. O ensaio tripanocida, leishmanicida e antiplasmódico foi realizado frente às formas epimastigotas de *T. cruzi*, em amastigotas intracelulares de *L. braziliensis* e culturas assincronizadas de *P. falciparum* 3D7, respectivamente, com determinação da EC_{50} dos compostos. Em geral, os compostos avaliados apresentaram valores de LC_{50} elevados no ensaio de citotoxicidade e baixa atividade antiparasitária. Os dados demonstrados neste estudo podem ser utilizados em futuras pesquisas no desenvolvimento de produtos com potencial bioatividade antiparasitária e antifúngica.

Palavras-chave: ácido salicílico, parasitologia, antifúngico, modelagem molecular.

ABSTRACT

Neglected diseases affect almost two billion people in the world, with Brazil being one of the most affected countries due to the high prevalence of these pathologies. In addition, *Candida* infections are a cause for concern due to increased microbial resistance to antifungals. Therefore, it is essential to search for new drug candidates for the treatment of these infections. The present study aimed to prepare and evaluate the antiparasitic and antifungal activity of a collection of salicylic acid derivatives. The collection of twenty-five compounds derived from salicylic acid were prepared using the Fischer esterification reaction, Mitsunobu reaction, nucleophilic substitution reaction with alkyl halide and Schotten-Baumann reaction, obtaining six new products. The structures of the synthetic derivatives were characterized by infrared spectroscopy, ^1H and ^{13}C NMR, DEPT 135 and high resolution mass spectrometry. The compounds were subjected to biological evaluation against species of the genus *Candida* and twelve derivatives evaluated in vitro against *Leishmania braziliensis*, *Trypanosoma cruzi* and *Plasmodium falciparum*. To investigate the antifungal activity, the broth microdilution method was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and verify the probable mechanism of antifungal action of the compound with the best bioactivity. The compound with the best antifungal profile was *N*-cyclohexyl-2-hydroxybenzamide (**15**) with an MIC of 125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ against *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* CBS 5602 and *C. krusei* CBS 573; and MIC = 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ against *C. tropicalis* CBS 94, suggesting that salicylamide with a six-membered aliphatic ring can enhance this bioactivity. In the study of the mode of action on the membrane or fungal cell wall of **15**, it was observed that the compound does not interact directly with the ergosterol present in the plasma membrane or with the fungal cell wall, which shows that its mechanism of action is through other biological targets. While in silico analysis suggested a multi-target antifungal mechanism of action. The cytotoxic activity of the twelve compounds was evaluated by the viability of the human promonocytic cell line U-937 (ATCC CRL-1593.2TM) via the MTT method. The trypanocidal, leishmanicidal and antiplasmodial assay was carried out against the epimastigote forms of *T. cruzi*, in intracellular amastigotes of *L. braziliensis* and asynchronous cultures of *P. falciparum* 3D7, respectively, with determination of the EC_{50} of the compounds. In general, the compounds evaluated showed high LC_{50} values in the cytotoxicity assay and low antiparasitic activity. The data demonstrated in this study can be used in future research into the development of products with potential antiparasitic and antifungal bioactivity.

Keywords: salicylic acid, parasitology, antifungal, molecular docking.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fármacos que possuem o grupo funcional éster.	34
Figura 2. Estruturas químicas do AHS e AS.	42
Figura 3. Estrutura química geral das nitrosalicilamidas.	42
Figura 4. Estruturas químicas do AS, PGA e derivados de 3-7.	44
Figura 5. Estruturas químicas dos derivados 4i e 9i.	45
Figura 6. Estruturas químicas dos derivados 5a, 5b e 5c com atividade antifúngica frente espécies de <i>Candida</i>	46
Figura 7. Estrutura química do derivado com melhor perfil leishmanicida.	46
Figura 8. Estrutura química do ácido acetilsalicílico.	47
Figura 9. Estruturas químicas dos metabólitos do fungo filamentoso <i>Geosmithia langdonii</i> com atividade leishmanicida.	48
Figura 10. Estruturas dos compostos 4-isopropil salicilaldeído e ácido 4-isopropilsalicílico.	49
Figura 11. Estrutura química do ácido S-farnesiltiosalicílico.	52
Figura 12. Estruturas químicas de compostos isolados de <i>Viola websteri</i>	53
Figura 13. Estruturas químicas dos salicilatos 1-13, 24 e 25.	56
Figura 14. Estruturas químicas das salicinamidas 14-23.	57
Figura 15. Energias livres previstas de ligação do composto 15 aos seus alvos potenciais.	86
Figura 16. Modos de ligação previstos do composto 15 ao sítio alostérico de IDP2 (a), CYP1 (b) e CEK1 (c). O ligante é representado como bolas e bastões laranja nas figuras dos complexos. Todos os átomos são representados nos diagramas de interação apenas para os resíduos que formam ligações de hidrogênio com o composto. Os resíduos marcados são aqueles que interagem com o composto em pelo menos 40% dos instantâneos empregados para cálculos de MM-PBSA.	88
Figura 17. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de metila (1).	140
Figura 18. Espectro de RMN ^1H de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 400 MHz)...	140

Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 400 MHz).	141
Figura 20. Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 100 MHz). 141	141
Figura 21. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Salicilato de etila (2).	142
Figura 22. Espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 400 MHz).	142
Figura 23. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 400 MHz).	143
Figura 24. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 400 MHz).	143
Figura 25. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 400 MHz).	144
Figura 26. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 100 MHz). ...	144
Figura 27. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de salicilato de propila (3)....	145
Figura 28. Espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz). 145	145
Figura 29. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz).	146
Figura 30. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz).	146
Figura 31. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz).	147
Figura 32. Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 100 MHz).147	147
Figura 33. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Salicilato de isopropila (4).	148
Figura 34. Espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (4), (CDCl_3 , 400 MHz).	148
Figura 35. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (4), (CDCl_3 , 400 MHz).....	149
Figura 36. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (4), (CDCl_3 , 400 MHz).....	149

Figura 37. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (4), (CDCl ₃ , 400 MHz).....	150
Figura 38. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de isopropila (4), (CDCl ₃ , 100 MHz).	150
Figura 39. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de Salicilato de butila (5)....	151
Figura 40. Espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 400 MHz)...	151
Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 400 MHz).	152
Figura 42. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 400 MHz).	152
Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 400 MHz).	153
Figura 44. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 400 MHz).	153
Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de butila (5), (CDCl ₃ , 100 MHz).	154
Figura 46. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de salicilato de isoamila (6)..	154
Figura 47. Espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 400 MHz).	155
Figura 48. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 400 MHz).	155
Figura 49. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 400 MHz).	156
Figura 50. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 400 MHz).	156
Figura 51. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 400 MHz).	157
Figura 52. Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de isoamila (6), (CDCl ₃ , 100 MHz).	157
Figura 53. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de salicilato de benzila (7)...	158

Figura 54. Espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 400 MHz).	158
Figura 55. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 400 MHz).	159
Figura 56. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 400 MHz).	159
Figura 57. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 400 MHz).	160
Figura 58. Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 100 MHz).	160
Figura 59. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 100 MHz).	161
Figura 60. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de salicilato de 4-metilbenzila (8).	161
Figura 61. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI do salicilato de 4-metilbenzila (8).	162
Figura 62. Espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 500 MHz).	162
Figura 63. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 500 MHz).	163
Figura 64. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 500 MHz).	163
Figura 65. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 500 MHz).	164
Figura 66. Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 125 MHz).	164
Figura 67. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metilbenzila (8), (CDCl_3 , 125 MHz).	165
Figura 68. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de salicilato de 4-isopropilbenzila (9).	165

Figura 69. Espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-isopropilbenzila (9), (CDCl₃, 500 MHz).	166
Figura 70. Expansão de espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-isopropilbenzila (9), (CDCl₃, 500 MHz).	166
Figura 71. Expansão de espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-isopropilbenzila (9), (CDCl₃, 500 MHz).	167
Figura 72. Espectro de RMN ¹³C de salicilato de 4-isopropilbenzila (9), (CDCl₃, 125 MHz).	167
Figura 73. Expansão do espectro de RMN ¹³C de salicilato de 4-isopropilbenzila (9), (CDCl₃, 125 MHz).	168
Figura 74. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de salicilato de 4-nitrobenzila (10).	168
Figura 75. Espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-nitrobenzila (10), (CDCl₃, 500 MHz).	169
Figura 76. Expansão do espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-nitrobenzila (10), (CDCl₃, 500 MHz).	169
Figura 77. Expansão do espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-nitrobenzila (10), (CDCl₃, 500 MHz).	170
Figura 78. Espectro de RMN ¹³C de salicilato de 4-nitrobenzila (10), (CDCl₃, 125 MHz).	170
Figura 79. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Salicilato de 3-metoxibenzila (11).	171
Figura 80. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de Salicilato de 3-metoxibenzila (11).	171
Figura 81. Espectro de RMN ¹H de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (500 MHz, CDCl₃).	172
Figura 82. Expansão do espectro de RMN ¹H de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (500 MHz, CDCl₃).	172
Figura 83. Expansão do espectro de RMN ¹H de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (500 MHz, CDCl₃).	173

Figura 84. Expansão do espectro de RMN ¹H de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (500 MHz, CDCl₃).....	173
Figura 85. Espectro de RMN ¹³C de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (125 MHz, CDCl₃).....	174
Figura 86. Expansão do espectro de RMN ¹³C de Salicilato de 3-metoxibenzila (11), (125 MHz, CDCl₃).....	174
Figura 87. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de salicilato de 4-metoxibenzila (12).	175
Figura 88. Espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 400 MHz).	175
Figura 89. Expansão do espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 400 MHz).....	176
Figura 90. Expansão do espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 400 MHz).....	176
Figura 91. Expansão do espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 400 MHz).....	177
Figura 92. Espectro de RMN ¹³C de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 100 MHz).	177
Figura 93. Expansão do espectro de RMN ¹³C de salicilato de 4-metoxibenzila (12), (CDCl₃, 100 MHz).....	178
Figura 94. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Salicilato de 4-clorobenzila (13).	178
Figura 95. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de Salicilato de 4-clorobenzila (13).	179
Figura 96. Espectro de RMN ¹H de Salicilato de 4-clorobenzila (13), (400 MHz, CDCl₃).....	179
Figura 97. Expansão de espectro de RMN ¹H de Salicilato de 4-clorobenzila (13) (400 MHz, CDCl₃).....	180
Figura 98. Expansão de espectro de RMN ¹H de Salicilato de 4-clorobenzila (13), (400 MHz, CDCl₃).....	180

Figura 99. Expansão de espectro de RMN ^1H de Salicilato de 4-clorobenzila (13), (400 MHz, CDCl_3).....	181
Figura 100. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 4-clorobenzila (13), (100 MHz, CDCl_3).....	181
Figura 101. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 4-clorobenzila (13), (100 MHz, CDCl_3).....	182
Figura 102. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de <i>N</i> -isobutil-2-hidroxibenzamida (14).	182
Figura 103. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -isobutil-2-hidroxibenzamida (14), (CDCl_3 , 400 MHz).	183
Figura 104. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -isobutil-2-hidroxibenzamida (14), (CDCl_3 , 400 MHz).	183
Figura 105. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -isobutil-2-hidroxibenzamida (14), (CDCl_3 , 400 MHz).	184
Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -isobutil-2-hidroxibenzamida (14), (CDCl_3 , 100 MHz).	184
Figura 107. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de <i>N</i> -cicloexil-2-hidroxibenzamida (15).	185
Figura 108. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -cicloexil-2-hidroxibenzamida (15), (CDCl_3 , 400 MHz).	185
Figura 109. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -cicloexil-2-hidroxibenzamida (15), (CDCl_3 , 400 MHz).	186
Figura 110. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -cicloexil-2-hidroxibenzamida (15), (CDCl_3 , 400 MHz).	186
Figura 111. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -cicloexil-2-hidroxibenzamida (15), (CDCl_3 , 100 MHz).	187
Figura 112. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de <i>N</i> -benzil-2-hidroxibenzamida (16).	187
Figura 113. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -benzil-2-hidroxibenzamida (16), (400 MHz, CDCl_3).....	188

Figura 114. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -benzil-2-hidroxi-benzamida (16), (400 MHz, CDCl_3).....	188
Figura 115. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -benzil-2-hidroxi-benzamida (16), (400 MHz, CDCl_3).....	189
Figura 116. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -benzil-2-hidroxi-benzamida (16), (100 MHz, CDCl_3).....	189
Figura 117. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17).	190
Figura 118. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo MALDI-TOF de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17).	190
Figura 119. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17), (CDCl_3 , 500 MHz).....	191
Figura 120. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17), (CDCl_3 , 500 MHz)	191
Figura 121. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17), (CDCl_3 , 500 MHz).....	192
Figura 122. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi-benzamida (17), (CDCl_3 , 125 MHz).....	192
Figura 123. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18).	193
Figura 124. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18), (400 MHz, CDCl_3).....	193
Figura 125. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18), (400 MHz, CDCl_3).....	194
Figura 126. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18), (400 MHz, CDCl_3).....	194
Figura 127. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18), (100 MHz, CDCl_3).....	195
Figura 128. Espectro de DEPT 135 de <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (18), (125 MHz, CDCl_3).....	195

Figura 129. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (19).	196
Figura 130. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (19), (400 MHz, CDCl_3).	196
Figura 131. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (19), (400 MHz, CDCl_3).	197
Figura 132. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (19), (400 MHz, CDCl_3).	197
Figura 133. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (19), (100 MHz, CDCl_3).	198
Figura 134. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (20).	198
Figura 135. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (20).	199
Figura 136. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxi-benzamida (20), (CDCl_3 , 400 MHz).	199
Figura 137. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxi-benzamida (20), (CDCl_3 , 400 MHz).	200
Figura 138. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxi-benzamida (20), (CDCl_3 , 400 MHz).	200
Figura 139. Expansão de espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxi-benzamida (20), (CDCl_3 , 400 MHz).	201
Figura 140. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxi-benzamida (20), (CDCl_3 , 100 MHz).	201
Figura 141. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (21).	202
Figura 142. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (21), (400 MHz, CDCl_3).	202
Figura 143. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (21), (400 MHz, CDCl_3).	203

Figura 144. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxibenzamida (21), (400 MHz, CDCl_3).....	203
Figura 145. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxibenzamida (21), (100 MHz, CDCl_3).....	204
Figura 146. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22).	204
Figura 147. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22), (400 MHz, CDCl_3).....	205
Figura 148. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22), (400 MHz, CDCl_3).....	205
Figura 149. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22), (400 MHz, CDCl_3).....	206
Figura 150. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22), (100 MHz, CDCl_3).....	206
Figura 151. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (22), (100 MHz, CDCl_3).....	207
Figura 152. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23).	207
Figura 153. Espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23), (500 MHz, CDCl_3).....	208
Figura 154. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23), (500 MHz, CDCl_3).....	208
Figura 155. Expansão do espectro de RMN ^1H de <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23), (500 MHz, CDCl_3).....	209
Figura 156. Espectro de RMN ^{13}C de <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23), (125 MHz, CDCl_3).....	209
Figura 157. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Benzoato de 2-propoxi de Metila (24).	210
Figura 158. Espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (24), (400 MHz, CDCl_3).....	210

Figura 159. Expansão do espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (24), (400 MHz, CDCl₃).	211
Figura 160. Expansão do espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (24), (400 MHz, CDCl₃).	211
Figura 161. Espectro de RMN ¹³C de Benzoato de 2-propoxi de Metila (24), (100 MHz, CDCl₃).	212
Figura 162. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25).	212
Figura 163. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo MALDI-TOF de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25).	213
Figura 164. Espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25), (400 MHz, CDCl₃).	213
Figura 165. Expansão do espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25), (400 MHz, CDCl₃).	214
Figura 166. Expansão do espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25), (400 MHz, CDCl₃).	214
Figura 167. Espectro de RMN ¹³C de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25), (100 MHz, CDCl₃).	215

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados reacionais dos derivados do ácido salicílico 1-25.....	62
Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (8 e 11).....	69
Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (13 e 17).....	70
Tabela 4. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (20 e 25).....	71
Tabela 5. Dados espectrométricos de massas de alta resolução dos compostos 8, 11, 13, 17, 20 e 25.	72
Tabela 6. Citotoxicidade e avaliação leishmanicida dos compostos 1, 3, 6-10, 12, 14, 15, 17 e 20.	76
Tabela 7. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do AS e derivados 1-25 contra <i>Candida</i> spp. Os valores CIM e CFM são expressos em $\mu\text{g/mL}$ e μM . Os valores de CFM são expressos em μM . ..	81
Tabela 8. Efeito do ergosterol exógeno (1,008 mM) na CIM do composto 15 e nistatina contra <i>C. albicans</i> ATCC 90028. Valores expressos em μM	83
Tabela 9. Valores de CIM do composto 15 e caspofungina na ausência e presença de sorbitol (0,8 M) contra cepas de <i>C. albicans</i> ATCC 90028. Os valores são expressos em μM	83
Tabela 10. Alvos potenciais do composto 15 em <i>C. albicans</i>	85

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Mecanismo de obtenção do cloreto ácido utilizando o Cloreto de tionila (SOCl ₂).....	33
Esquema 2. Mecanismo de obtenção de amida através da reação de Schotten-Baumann.	34
Esquema 3. Reações para síntese de ésteres. (a) Esterificação de Fischer; (b) Esterificação com haletos; (c) Reação de Mitsunobu; (d) Reação de Steglich.....	35
Esquema 4. Mecanismo da esterificação de Fischer.....	36
Esquema 5. Mecanismo da reação de Mitsunobu para a preparação de ésteres....	38
Esquema 6. Mecanismo da reação de <i>O</i> -alquilação.....	39
Esquema 7. Mecanismo da reação de <i>O</i> -acilação.	40
Esquema 8. Planejamento das etapas do estudo.....	55
Esquema 9. Reação de obtenção dos derivados 1-6.....	58
Esquema 10. Reação de obtenção dos derivados 7–13.	59
Esquema 11. Reação de obtenção do derivado 24.	60
Esquema 12. Reação de obtenção do derivado 25.	60
Esquema 13. Reações de obtenção dos derivados 14–23.....	61
Esquema 14. Reação de obtenção dos compostos 1-6.....	93
Esquema 15. Reação de obtenção dos compostos 7-13.....	97
Esquema 16. Reações de obtenção dos compostos 14-23.	102
Esquema 17. Reação de obtenção do composto 24.	107
Esquema 18. Reação de obtenção do composto 25.	109

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS.

ACT: Artemisinina

AcOEt: Acetato de etila

APT: *Attached Proton Test*

AS: Ácido salicílico

CC: Cromatografia em coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CFM: Concentração Fungicida Mínima

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CNCA: Candida não - *C. albicans*

CQ: Cloroquina

DEPT 135: Distortionless Enhancement Polarization Transfer

DIAD: diisopropil azodicarboxilato

DM: Docking molecular

DTN: Doenças tropicais negligenciadas

EC₅₀: Concentração efetiva de 50%

HRMS (FT-ICR): High Resolution Mass Spectrometry (Fourier-transform ion cyclotron resonance)

Hz: Hertz

IS: Índice de Seletividade

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

LC₅₀: concentração letal de 50%

LV: Leishmaniose visceral

MHz: Megahertz

MM-PBSA: Molecular mechanics/Poisson–Boltzmann surface area

NADPH: Fosfato de dinucleótido de nicotinamida e adenina

OMS: Organização mundial de saúde

P.F.: Ponto de fusão

ppm: Partes por milhão

QSAR: Relação estrutura-atividade quantitativa

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

S_N2: Substituição nucleofílica bimolecular

t.a.: Temperatura ambiente

UV: Ultravioleta

μM: Micromolar

δ: Deslocamento químico em ppm

s: Simpleto

sl: Simpleto largo

d: Duplete

dl: Duplete largo

dd: Duplo duplete

dt: Duplete de triplete

ddd: Duplete de duplete de duplete

t: Triplete

tl: Triplete largo

td: Triplete de duplete

q: Quarteto

quint: Quinteto

sex: Sexteto

sept: Septeto

m: Multiplete

SUMÁRIO

RESUMO.....	IV
ABSTRACT	V
LISTA DE FIGURAS.....	VI
LISTA DE TABELAS	XVII
LISTA DE ESQUEMAS	XVIII
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS, FÓRMULAS E SÍMBOLOS.	XIX
SUMÁRIO.....	XXI
1. INTRODUÇÃO	25
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	28
2.1. GÊNERO <i>CANDIDA</i>	28
2.2. GÊNERO <i>LEISHMANIA</i>	29
2.3. DOENÇA DE CHAGAS	30
2.4. <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i>	31
2.5. PROPRIEDADES DOS ÁCIDOS FENÓLICOS	32
2.6. REAÇÕES DE AMIDAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO PARA OBTENÇÃO DE DERIVADOS SALICÍLICOS	32
2.7. MODELAGEM MOLECULAR NO ESTUDO DE FÁRMACOS	40
3. REVISÃO DA LITERATURA DAS ATIVIDADES ANTIFÚNGICA, TRIPANOCIDA, LEISHMANICIDA E ANTIPLASMÓDICA DO ÁCIDO SALICÍLICO E SEUS DERIVADOS	41
3.1. DERIVADOS SALICÍLICOS COM ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	41
3.2. DERIVADOS SALICÍLICOS COM ATIVIDADE LEISHMANICIDA	46
3.3. DERIVADOS SALICÍLICOS COM ATIVIDADE FRENTE A <i>T. CRUZI</i>	49
3.4. DERIVADOS SALICÍLICOS COM ATIVIDADE FRENTE <i>PLASMODIUM SP.</i>	51
4. OBJETIVOS	54
4.1. GERAIS.....	54
4.2. ESPECÍFICOS.....	54
5. PLANEJAMENTO DO ESTUDO	55

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
6.1. ETAPA DE PREPARAÇÃO DOS DERIVADOS 1-25.....	56
6.2. ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DOS DERIVADOS DO ÁCIDO SALICÍLICO.....	63
6.2.1. Interpretação dos espectros na região do infravermelho dos compostos derivados do ácido salicílico 1-25	63
6.2.2. Interpretação dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C dos derivados obtidos.....	64
6.2.3. Interpretação dos espectros de massas dos compostos 8, 11, 13, 17, 20 e 25.....	71
6.2.4. Avaliação da atividade antiparasitária.....	72
6.2.4.1. Atividade citotóxica contra macrófagos U-937	73
6.2.4.2. Atividade leishmanicida in vitro	73
6.2.4.3. Atividade tripanocida in vitro.....	74
6.2.4.4. Atividade antiplasmódica in vitro	75
6.2.5 Avaliação da atividade antifúngica dos derivados 1-25	78
6.2.5.1. Verificação do modo de ação sobre parede e membrana celular fúngica	82
6.2.6. Modelagem Molecular.....	83
7.0. CONCLUSÕES.....	90
8.0. PARTE EXPERIMENTAL	91
8.1. MATERIAIS E MÉTODOS UTILIZADOS.....	91
8.1.2. Métodos cromatográficos.....	91
8.1.3. Análises espectroscópicas.....	91
8.1.3.1. Ressonância Magnética Nuclear.....	91
8.1.3.2. Infravermelho.....	92
8.1.3.3. Espectrometria de Massas de Alta Resolução	92
8.1.4. Ponto de Fusão	93
8.2. METODOLOGIAS DE PREPARAÇÃO DOS COMPOSTOS 1-25	93
8.2.1. Preparação dos salicilatos 1–6.....	93
8.2.2 Dados espectroscópicos de 1–6	93
8.2.2.1. Salicilato de metila (1)	93
8.2.2.2. Salicilato de etila (2)	94
8.2.2.3. Salicilato de propila (3).....	94
8.2.2.4. Salicilato de isopropila (4)	95
8.2.2.5. Salicilato de butila (5).....	95
8.2.2.6. Salicilato de isopentila (6).....	96
8.2.3. Preparação dos salicilatos 7–13	97
8.2.4 Dados espectroscópicos de 7–13	98

8.2.4.1. Salicilato de benzila (7).....	98
8.2.4.2. Salicilato de 4-metilbenzila (8)	98
8.2.4.3. Salicilato de 4-isopropilbenzila (9)	99
8.2.4.4. Salicilato de 4-nitrobenzila (10).....	99
8.2.4.5. Salicilato de 3-metoxibenzila (11).....	100
8.2.4.6. Salicilato de 4-metoxibenzila (12).....	100
8.2.4.7. Salicilato de 4-clorobenizila (13)	101
8.2.5. Preparação das salicinamidas 14–23:	102
8.2.6 Dados espectroscópicos de 14–23	103
8.2.6.1. <i>N</i> -isobutil-2-hidroxi benzamida (14).....	103
8.2.6.2. <i>N</i> -ciclohexil-2-hidroxi benzamida (15)	103
8.2.6.3. <i>N</i> -benzil-2-hidroxi benzamida (16)	104
8.2.6.4. <i>N</i> -4-metilbenzil-2-hidroxi benzamida (17).....	104
8.2.6.5. <i>N</i> -4-metoxibenzil-2-hidroxi benzamida (18).....	105
8.2.6.6. <i>N</i> -2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi benzamida (19).....	105
8.2.6.7. <i>N</i> -3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi benzamida (20).....	106
8.2.6.8. <i>N</i> -(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi benzamida (21).....	106
8.2.6.9. <i>N</i> -4-fluorbenzil-2-hidroxi benzamida (22)	106
8.2.6.10. <i>N</i> -4-clorobenzil-2-hidroxi benzamida (23).....	107
8.2.7. Metodologia de obtenção do derivado 24:.....	107
8.2.8. Dados espectroscópicos de 24	108
8.2.8.1. Benzoato de 2-propoxi de metila (24).....	108
8.2.9. Síntese do derivado 25:	109
8.2.10 Dados espectroscópicos de 25	110
8.2.10.1. Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila.....	110
8.3. DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIPROTOZOÁRIA DOS COMPOSTOS 1, 3, 6-10,	
12, 14, 15, 17 E 20	110
8.3.1. Avaliação da citotoxicidade in vitro dos compostos	110
8.3.2. Avaliação da atividade leishmanicida in vitro	111
8.3.3. Avaliação da atividade anti-<i>Trypanosoma</i> in vitro	112
8.3.4. Avaliação da atividade antiplasmodial in vitro	112
8.3.5. Análise estatística.....	113
8.4. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DOS COMPOSTOS 1-25	114
8.4.1. Considerações gerais	114
8.4.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	114
8.4.3. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM).....	115
8.4.4. Verificação do modo de ação sobre a parede e membrana celular fúngica	115
8.4.4.1. Ensaio com Ergosterol	115

8.4.4.2. Ensaio com Sorbitol	116
8.5. ESTUDO DE MODELAGEM MOLECULAR DO COMPOSTO 15 EM POTENCIAIS ALVOS DE <i>C. ALBICANS</i>	116
8.5.1. Seleção dos alvos	116
8.5.2. Ancoragem molecular	117
8.5.3. Simulações de dinâmica molecular (MD) e estimativa das energias de ligação....	117
REFERÊNCIAS	119
APÊNDICE – ESPECTROS DE RMN ¹H E ¹³C, IV E EMAR.	140

1. INTRODUÇÃO

Um problema de saúde que vem emergindo ao decorrer dos anos é o crescimento de infecções causadas por espécies de *Candida*, que apresenta altas taxas de mortalidade e altos custos para os governos e o setor da saúde. As altas taxas de mortalidade podem ser justificadas pela progressão da ocorrência de infecções sistêmicas invasivas e casos de septicemia, principalmente em pacientes imunocomprometidos. Na atualidade as infecções sistêmicas por *Candida* são a quarta principal causa de infecções na corrente sanguínea em hospitais (Marak; Dhanashree, 2018; Medici; Poeta, 2015; Nami *et al.*, 2019; Sakagami *et al.*, 2019).

As espécies do gênero *Candida* apresentam alta prevalência de resistência aos antifúngicos existentes, aumentando a necessidade da busca de novas moléculas bioativas com melhor desempenho farmacológico e eficácia segura. Moléculas como o ácido salicílico e seus derivados (ácido acetilsalicílico, salicilato de metila, salicinilida) são exemplos de substâncias que apresentam diversas atividades farmacológicas, atuam como antipirético, analgésico, antioxidante, antimicrobiano, antiproliferativo e agente citotóxico (Rainsford, 2004; Sahoo; Paidesetty, 2015; Djurendić *et al.*, 2011). Vários estudos demonstram a atividade antifúngica do AS frente a patógenos como: *Penicillium expansum* (Yu; Zheng, 2006), *Botrytis cinerea* (Wang *et al.*, 2011), e *Rhizopus stolonifer* (Panahirad *et al.*, 2012). Portanto, apresentam boa segurança terapêutica e podem ser investigados em diversos modelos experimentais visando à descoberta de novas atividades farmacológicas.

Outro problema de saúde são as doenças tropicais negligenciadas (DTN) que afetam principalmente países pobres e subdesenvolvidos (Islan *et al.*, 2017). Dentre as DTNs, três doenças causadas por protozoários vêm se destacando devido ao alto número de pessoas infectadas, as quais são: leishmaniose, malária e doença de Chagas.

A leishmaniose, doença de Chagas e malária são causadas por protozoários digenéticos, apresentam insetos como vetores e mamíferos como hospedeiros, atuam infectando as células. A leishmaniose é transmitida através da picada do inseto flebotomíneo. Existem diversas espécies de protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania*. No mundo, atualmente a leishmaniose ameaça 350 milhões de pessoas em 88 países ao redor do mundo. As estatísticas apontam que 12 milhões de pessoas são afetadas e 2 milhões de novos casos são notificados ano após ano (Leal *et al.*, 2013).

A doença de Chagas, também chamada de tripanossomíase americana, é uma das mais agressivas dentre as causadas por protozoárias que ocorrem em toda a América Latina. É causada pelo *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado transmitido ao homem e a outros mamíferos, por meio de repasto de insetos hematófagos da família Reduviidae, como também de forma congênita, oral ou através de transfusão sanguínea (Leal *et al.*, 2013).

A malária é uma doença infecciosa causada pelo patógeno *Plasmodium*, que se apresenta em cinco espécies diferentes capazes de infectar humanos: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi*. A transmissão da doença ocorre através da picada do mosquito fêmea, por onde ocorre a inoculação do parasita no hospedeiro, por conseguinte, os sintomas se manifestam no momento que os parasitas invadem e se proliferam dentro dos glóbulos vermelhos humanos. Constatou-se que 216 milhões de novos casos de malária e 445.000 mortes ocorreram globalmente em 2016, com 91% localizada na Região africana (Scarim *et al.*, 2019).

O tratamento destas doenças apresenta várias limitações sendo imprescindível o desenvolvimento de agentes antiparasitários seguros, eficazes, acessíveis e facilmente administráveis, ou a otimização de terapêuticas já existentes (Le *et al.*, 2018; Olliaro *et al.*, 2015). Inserido nesse contexto, na busca de novas terapias para o tratamento de doenças parasitárias anteriormente citadas, se encontram os compostos fenólicos, oriundos do metabolismo secundário das plantas, que apresentam atividade antiprotozoária (Friedman *et al.*, 2018; Monzote *et al.*, 2016). Estudos demonstram atividade leishmanicida, anti-*Trypanosoma* e antimalárica dos compostos fenólicos por atuarem como antioxidantes, agindo na quelatação de íons metálicos e remoção de radicais livres (Aponte *et al.*, 2011; Alissa *et al.*, 2020; Brown *et al.*, 1998; Montrieux *et al.*, 2014; Ogungbe *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2016).

Dentro da gama de compostos fenólicos existentes, o ácido salicílico apresenta diversas atividades farmacológicas e foi utilizado no presente estudo como material de partida para a síntese de derivados salicilatos e salicinamidas. Antwi *et al.*, (2019) demonstrou em seu estudo que o ácido salicílico se apresenta bioativo frente a cepas de *Leishmania donovani*. Outros estudos realizados utilizando ainda o ácido salicílico, demonstraram a atividade inibitória com alta eficiência da enzima GlcNAc-PI de-N-acetilase presente no *T. brucei*, representando o primeiro inibidor analógico não-substrato do *Trypanosoma* via GPI (Urbaniak *et al.*, 2014).

O estudo publicado em 2013 por Molina-Berríos e colaboradores demonstrou a atividade do ácido acetilsalicílico quando administrado em camundongos machos BALB/c adultos contaminados por cepas de *T. cruzi* Dm28c. O AAS agiu diminuindo a mortalidade, a parasitemia e os danos cardíacos dos animais tratados quando administradas baixas doses de 25 e 50 mg/Kg. Estes resultados estão diretamente ligados a presença de 15-epi-LXA4, conhecida como “lipoxina desencadeada pela aspirina”, que aumenta com doses baixas de aspirina e diminui quando a dose de aspirina é aumentada. O 15-epi-LXA4 tem sido relacionado ao efeito antiinflamatório da aspirina, sendo capaz de diminuir a inflamação cardíaca e outros parâmetros relacionados à doença de Chagas. Diante desse estudo, surgiu o interesse em realizar modificações estruturais no ácido salicílico com o intuito de avaliar a atividade tripanocida desses derivados.

Em vista disso, o objetivo deste estudo foi preparar uma série de derivados do ácido salicílico e avaliar suas atividades antiparasitárias e antifúngicas, assim como o provável mecanismo de ação da molécula com melhor desempenho nos testes antifúngicos e realizar a análise in silico da mesma através de modelagem molecular.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Gênero *Candida*

As espécies de *Candida* vêm se destacando por causar infecções fúngicas severas, dentre todas as infecções invasivas, 90% são causadas por *Candida* oportunista. Durante muito tempo, a *Candida albicans* era considerada o agente mais frequentemente isolado a partir de espécimes clínicos. Com tudo a epidemiologia mudou o pensamento com o aumento de infecção causada por *Candida* não - *C. albicans* (CNCA) (Doi *et al.*, 2016; Guinea, 2014; Magalhães *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2017). Estudos têm mostrado que aproximadamente 55 a 65% dos casos de candidemia são causados por espécies CNCA (Wille *et al.*, 2013; Ishikane *et al.*, 2016).

As espécies de *Candida* que infectam hospedeiros saudáveis incluem *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* e *Candida krusei* (Spampinato; Leonardi, 2013). *Candida albicans* é o patógeno mais frequente responsável por infecções por *Candida*, seguido por *Candida glabrata* (Tscherner; Schwarzmüller; Kuchler, 2011). As espécies de *Candida krusei* e *Candida glabrata* se encontram mais frequentemente em infecções superficiais por *Candida* (Xie; Liu; Zhou, 2020). *Candida parapsilosis* é frequentemente encontrada na pele de hospedeiros saudáveis, sendo o agente causador de infecções geradas por uso de cateter (Yapar, 2014).

O tratamento com fármacos antifúngicos pode agir por dois tipos de mecanismos: como fungistático ou fungicida. A ação dos fármacos com atividade fungistática ocorre por inibição do crescimento celular das espécies de fungos, enquanto que a atividade fungicida ocorre por meio da morte celular (Geddes-MCalister, 2019).

Atualmente a terapia disponível para o tratamento de infecções por *Candida* spp. concentra-se em três classes principais fármacos: polienos (nistatina e anfotericina B), azóis (triazólicos e imidazólico) e equinocandinas (caspofungina e micafungina) (Zare-Shehneh *et al.*, 2014; Colombo *et al.*, 2013).

Os polienos são uma classe de primeira escolha no tratamento de infecções geradas por espécies do gênero *Candida* e possuem ação fungicida. Atuam nos componentes esteroides da membrana celular fúngica, promovendo rompimento por meio da formação de poros e canais, levando ao extravasamento do material intracelular, e por consequência gerando a morte celular (Hwang *et al.*, 2014; Costa, 2017).

Os antifúngicos da classe dos azólicos agem inibindo a produção de 14- α -desmetilase enzima que participa da síntese do ergosterol (componente essencial da membrana celular), um sistema enzimático dependente do citocromo P450, diante disso, ocorre dano na síntese do ergosterol, gerando aumento na formação de metilesteroides, modificando assim, a fluidez da membrana celular (Sousa *et al.*, 2016).

As equinocandinas são uma nova classe de antifúngicos de uso parenteral, atuam na produção de β -1,3-glicano sintase (polissacarídeo essencial presente na parede celular), gerando rompimento da célula fúngica (Colombo *et al.*, 2013; Sourmaghi *et al.*, 2015).

As espécies de *Candida* apresentam uma forma de resistência através da formação de biofilme contribuindo significativamente para a resistência frente aos antifúngicos atualmente disponíveis, como os da classe dos azólicos que tem apresentado um aumento na resistência à *Candida* devido ao uso geral e a longo prazo, dificultando na cura da infecção (Marak; Dhanashree, 2018; Nett, 2014; Pahwa *et al.*, 2014).

2.2. Gênero *Leishmania*

Mais de 20 espécies do gênero *Leishmania* são responsáveis por causar a leishmaniose. A transmissão da doença ocorre através da inoculação do protozoário por meio da picada de insetos flebotomíneos fêmeas infectadas. As regiões onde a leishmaniose é mais prevalente apresentam estrutura de urbanização não organizada, e envolve condições precárias de sobrevivência (Pace, 2014).

A doença apresenta três formas clínicas: cutânea, mucocutânea e visceral (calazar). Estas formas são originadas através da contaminação das espécies: *L. infantum* (*L. infantum chagasi*) parasita que causa a forma clínica visceral, e *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. major* e *L. brasiliensis* são algumas das espécies que causam as formas cutânea e mucocutânea da doença. A manifestação clínica mais grave e fatal é a leishmaniose visceral (LV), caracterizada por febre prolongada, hepatomegalia, esplenomegalia, perda de peso e anemia progressiva. A mortalidade anual global relatada causada por infecção por LV é de cerca de 20.000 (Das *et al.*, 2016; Steverding, 2017).

De acordo com dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), ocorrem entre 20 e 30 mil mortes por ano por leishmaniose e 700.000 a 1 milhões de novos casos (Who, 2018). O tratamento da leishmaniose ainda é limitado, dentre os fármacos utilizados incluem anfotericina B, antimônios pentavalente e pentamidina. A miltefosina tem sido usada

recentemente, principalmente em crianças e representa a única terapia disponível para administração oral. O tratamento eficaz é um grande desafio devido a efeitos adversos, toxicidade, resistência, duração longa, suscetibilidade individual e a variabilidade de espécies de parasitas (Anversa *et al.*, 2018; Ghorbani; Farhoudi, 2018; Pace, 2014;).

Diante disso, é urgente a necessidade de descoberta de novos fármacos para o tratamento da leishmaniose.

2.3. Doença de Chagas

A doença de Chagas, também chamada de tripanossomíase americana, é uma doença potencialmente mortal causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Estima-se que cerca de 8 milhões de pessoas são afetadas pela doença, afetando principalmente a América, onde é considerada endêmica (Cardoso *et al.*, 2016). A transmissão ocorre através de matéria fecal veiculada durante o repasto de insetos triatomíneos, como também por transmissão congênita, transfusão de sangue, transplante de órgãos, alimentos contaminados e exposição laboratorial (Nunes *et al.*, 2018).

A doença se inicia de forma aguda quando tripomastigotas metacíclicos penetram em um novo hospedeiro, invadem as células hospedeiras e se diferenciam em amastigotas proliferativas. No interior da célula sofrem o processo de replicação intracelular, seguida por diferenciação de volta ao estágio de tripomastigota que são liberadas na corrente sanguínea (Lewis; Kelly, 2016).

Quando não tratada, a infecção aguda geralmente evolui para forma crônica assintomática. Ao longo de décadas de infecção, em torno de um terço das infecções por *T. cruzi* evoluem para forma sintomática crônica da doença de Chagas apresentando manifestações cardiovasculares com risco de vida (cardiomegalia, aneurismas apicais, arritmias, insuficiência cardíaca) e/ou megacólon e megaesôfago. Deste modo, a doença de Chagas na forma aguda apresenta amplo tropismo tecidual, enquanto a infecção crônica está associada ao tropismo da doença especificamente nos órgãos (coração, cólon e esôfago) (Nunes *et al.*, 2018).

O tratamento da doença de Chagas é realizado com fármacos antiparasitários sendo limitado a dois fármacos: o benzonidazol e o nifurtimox. Ambos possuem maior eficácia na fase aguda da doença, contudo apresentam baixa eficácia na fase crônica, manifestam diferentes efeitos colaterais e podem induzir ao desenvolvimento de cepas resistentes a esses

fármacos (Junior, 2017). Diante deste cenário é de grande valia a busca por novas estratégias de tratamento, principalmente para a forma crônica que é responsável pelas altas taxas de mortalidade na América Latina por doenças cardíacas (Benziger, 2017).

2.4. *Plasmodium falciparum*

A malária é uma doença infectoparasitária causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, apresentando maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais (Bezerra, 2020). Cerca de 219 milhões de pessoas foram afetadas pela malária causando 435.000 mortes em 2017 em todo o mundo (Who, 2018).

Apresenta prevalência na África e em alguns países da Ásia, possui uma taxa de mortalidade global na faixa de 0,3 a 2,2%. A forma grave da doença em regiões de clima tropical apresenta em uma faixa de mortalidade em torno de 11-30% (White *et al.*, 2014).

Dentre as espécies do gênero *Plasmodium*, cinco delas são capazes de causar a doença em humanos às quais são: *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* e *P. knowlesi*. As mais comuns são a *P. vivax* e *P. falciparum*. *P. vivax* é predominante nas Américas, e *P. falciparum* é predominante em África subsaariana e é considerado o mais perigoso, apresenta mais complicações e maiores taxas de mortalidade entre espécies (Who, 2015).

A forma de contaminação da malária ocorre a través da inoculação do parasita no hospedeiro humano através da picada do mosquito fêmea do gênero *Anopheles*, e os sintomas aparecem no momento que o protozoário invade e se prolifera dentro dos glóbulos vermelhos humanos (Mohandas, 2012).

A terapia recomendada pela OMS como tratamento de primeira linha da malária causada pelo *Plasmodium falciparum* é à base de artemisinina (ACT). Já o tratamento de primeira linha para a malária causada pelo *Plasmodium vivax* é a cloroquina (CQ), em casos de multirresistência, a OMS recomenda modificar o tratamento para ACT. Embora a ACT tenha um bom desempenho no tratamento da malária, há relatos que demonstram o desenvolvimento de resistência clínica tanto à artemisinina quanto a drogas parceiras (Who, 2017).

Diante disso, a necessidade de descobrir e desenvolver novos fármacos antimaláricos, com novo mecanismo de ação, que sejam seguros e eficazes contra parasitas resistentes é fundamental (Okombo; Chibale, 2018; Wells, 2015).

2.5. Propriedades dos ácidos fenólicos

Os ácidos fenólicos são a classe de compostos fenólicos presentes em várias fontes vegetais como frutas, legumes, especiarias, grãos e bebidas (Karasawa & Mohan, 2018; Stuper-Szablewska & Perkowski, 2019). Apresentam benefícios para a saúde, atuando como antioxidante, anti-inflamatório, imunorregulador, antialérgico, antiaterogênico, antimicrobiano, antitrombótico, cardioprotetor, anticancerígeno e antidiabético (Anantharaju *et al.*, 2016; Kumar; Goel, 2019).

Embora muitas das atividades biológicas dos compostos fenólicos sejam comprovadas *in vitro*, ainda se tem muito a descobrir sobre sua ação *in vivo*, já que vários aspectos como a biodisponibilidade e absorção desses compostos, podem influenciar na sua ação biológica (Caleja *et al.*, 2017; Domínguez-Avila, 2017).

Os ácidos fenólicos possuem como estrutura básica um anel fenólico grupo carboxílico e, de acordo com seu esqueleto carbônico, são divididos em dois grupos: os ácidos hidroxibenzoicos (C6-C1) e os ácidos hidroxicinâmicos (C6-C3) que derivam do ácido cinâmico. Os ácidos hidroxibenzoicos são derivados de ácido benzoico com estrutura de sete átomos de carbono de estrutura C6-C1. O ácido gálico, ácido *p*-hidroxibenzoico, ácido salicílico, ácido elágico, ácido gentísico, ácido protocatecuico, ácido siringico e ácido vanílico são os principais ácidos hidroxibenzoicos, que se diferenciam entre si através da modificação no anel aromático (Durazzo *et al.*, 2019; Heleno *et al.*, 2015).

Dentre os ácidos fenólicos, o ácido salicílico (AS) foi escolhido no presente estudo como material de partida para os procedimentos reacionais. O AS apresenta uma hidroxila e grupo carboxílico ligados ao anel aromático. É um hormônio vegetal endógeno envolvido no desenvolvimento do vegetal e na sinalização celular (Asghari; Aghdam, 2010; Tian *et al.*, 2007).

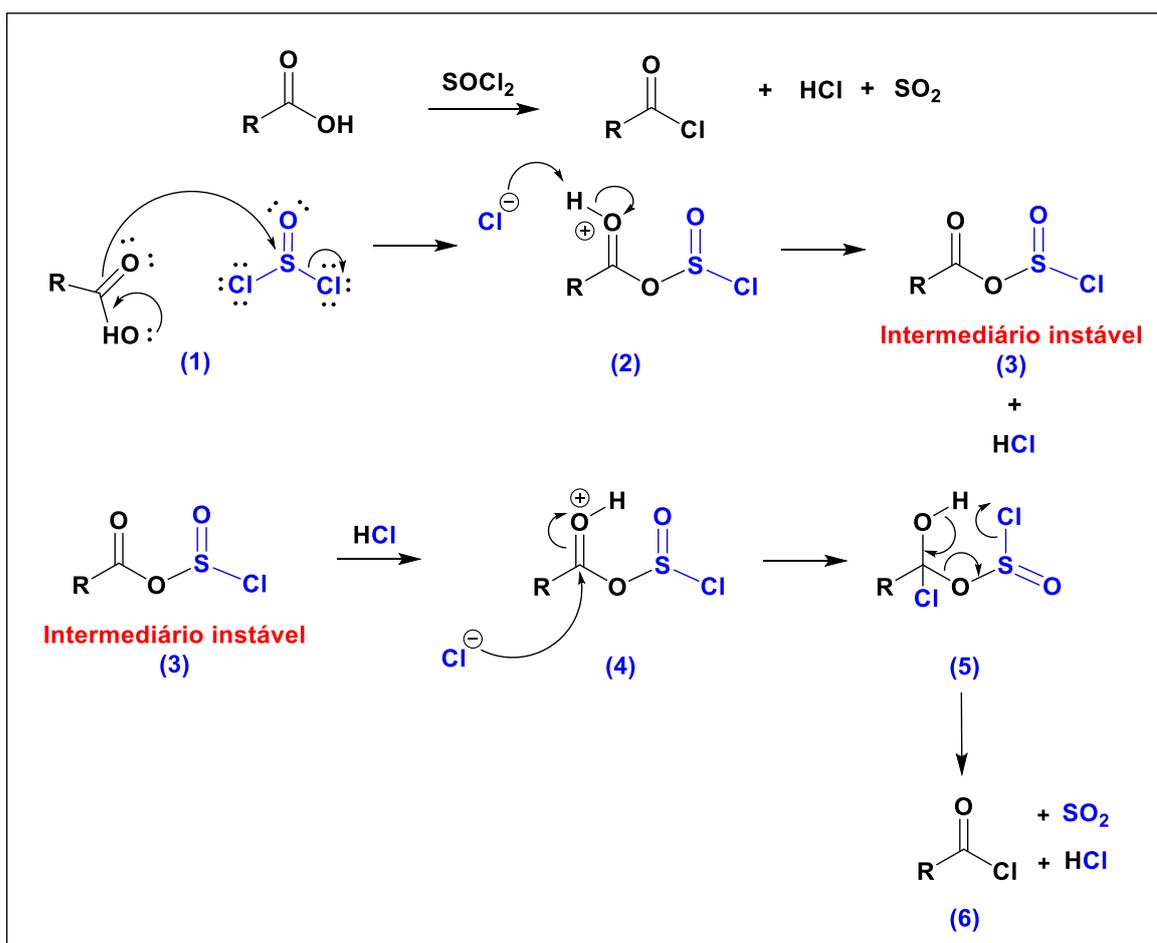
2.6. Reações de amidação e esterificação para obtenção de derivados salicílicos

O ácido salicílico pode ser convertido em derivados sintéticos via diversas metodologias de síntese. Por exemplo, o seu cloreto ácido reage com aminas primárias e secundárias para formar amidas. Esta reação é conhecida como Reação de Schotten-Baumann.

A metodologia reacional para a formação do cloreto ácido envolve o cloreto de tionila conforme o **esquema 1**. A primeira etapa ocorre com o ataque ao cloreto de tionila pelo ácido salicílico que sofre mudança de conformação e libera para o meio o íon Cl⁻ (**1**), o Cl⁻ capta o

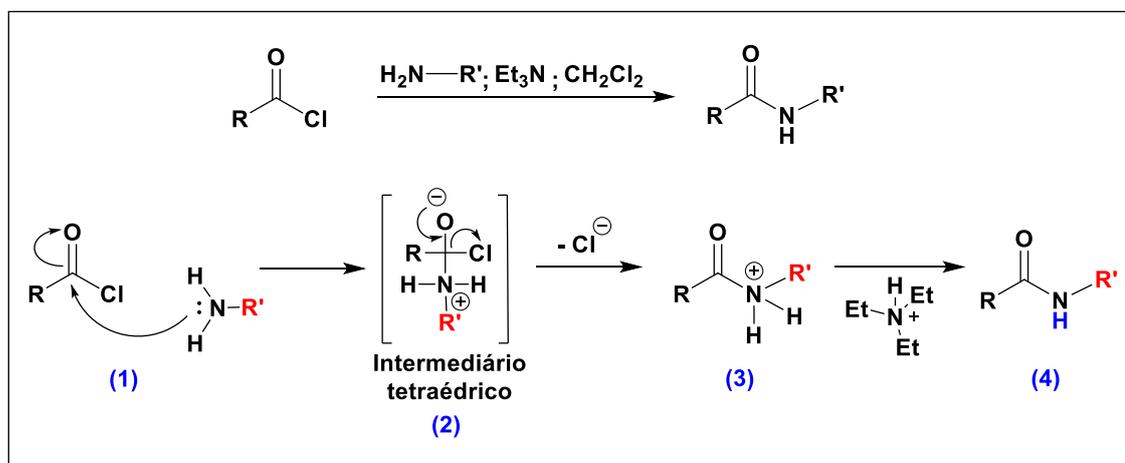
próton do ácido (2) levando a formação do intermediário instável e altamente eletrofílico e HCl (3) em sequência ocorre a reprotonação do intermediário instável pelo HCl que foi produzido (reversão da última etapa) fornecendo um eletrófilo poderoso o suficiente para reagir mesmo com o nucleófilo fraco (Cl^-) (4), e em seguida o intermediário tetraédrico colapsa (5) para cloreto de acila, dióxido de enxofre e HCl (6) (Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 214-215; Jagtap *et al.*, 2019).

Esquema 1. Mecanismo de obtenção do cloreto ácido utilizando o Cloreto de tionila (SOCl_2).



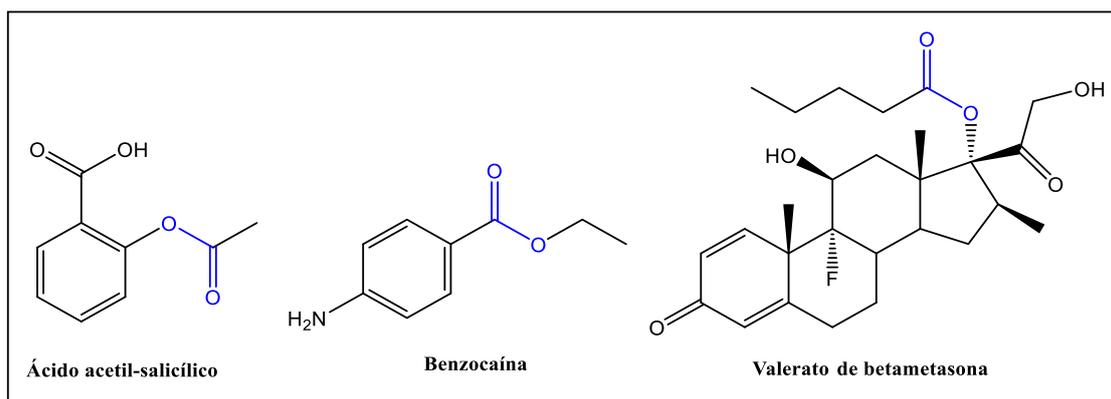
Fonte: Adaptado de Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 214-215; Jagtap *et al.*, 2019.

A reação de Schotten-Baumann (**esquema 2**), inicia-se com adição do cloreto de 2-hidroxibenzoíla as aminas primárias ou secundárias (1), devido à alta eletronegatividade do cloreto de 2-hidroxibenzoíla, a coordenação da reação é orientada para as cargas parciais presentes no NH_2 da amina, levando a formação de um intermediário (2), que em seguida libera o íon Cl^- para o meio. O nitrogênio fica realizando 4 ligações ficando carregado positivamente (3), a trietilamina por sua vez, capta o próton de 3, levando a formação do composto (4) (Clayden; Greeves; Warren, 2012, p. 203).

Esquema 2. Mecanismo de obtenção de amida através da reação de Schotten-Baumann.

Fonte: Adaptado de Clayden; Greeves; Warren, 2012, p 203.

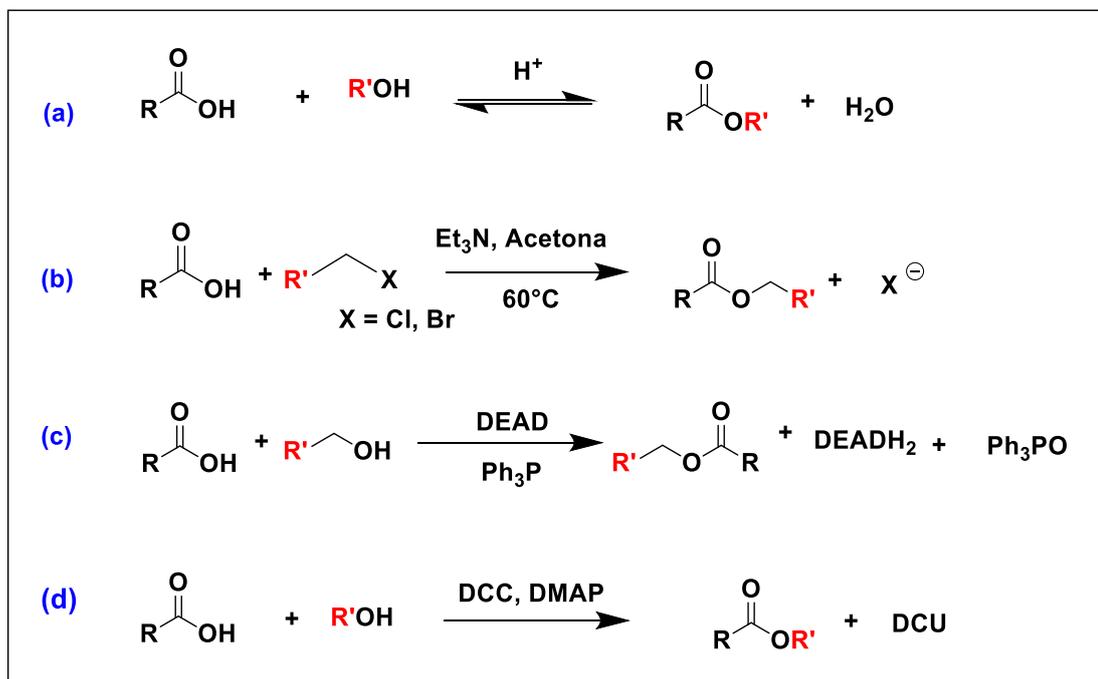
A classe de ésteres apresenta aplicações no âmbito farmacêutico. São utilizados no revestimento de cápsulas, como também fazem parte da composição química de vários princípios ativos, como por exemplo: o ácido acetilsalicílico (anti-inflamatório não esteroidal, analgésico, antipirético), sintetizado a partir da esterificação de uma hidroxila aromática do ácido salicílico (material de partida utilizado no presente trabalho); a benzocaína (anestésico local) e valerato de betametasona (anti-inflamatório esteroidal). Na **figura 1** foram representadas as estruturas químicas dos fármacos (Calvalcante *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2014).

Figura 1. Fármacos que possuem o grupo funcional éster.

Fonte: Elaborado pela autora.

Devido a grande importância e aplicação da função química éster, o objetivo de muitos estudos é o desenvolvimento de novas metodologias para síntese de ésteres (Liu *et al.*, 2014). Estão representados no **esquema 3** alguns tipos principais de reações de esterificação.

Esquema 3. Reações para síntese de ésteres. (a) Esterificação de Fischer; (b) Esterificação com haletos; (c) Reação de Mitsunobu; (d) Reação de Steglich.



Fonte: Adaptado de: Batovska, 2005; Solomons; Fryhle, 2012 p 797; Li *et al.*, 2012a; Neises; Steglich, 1978).

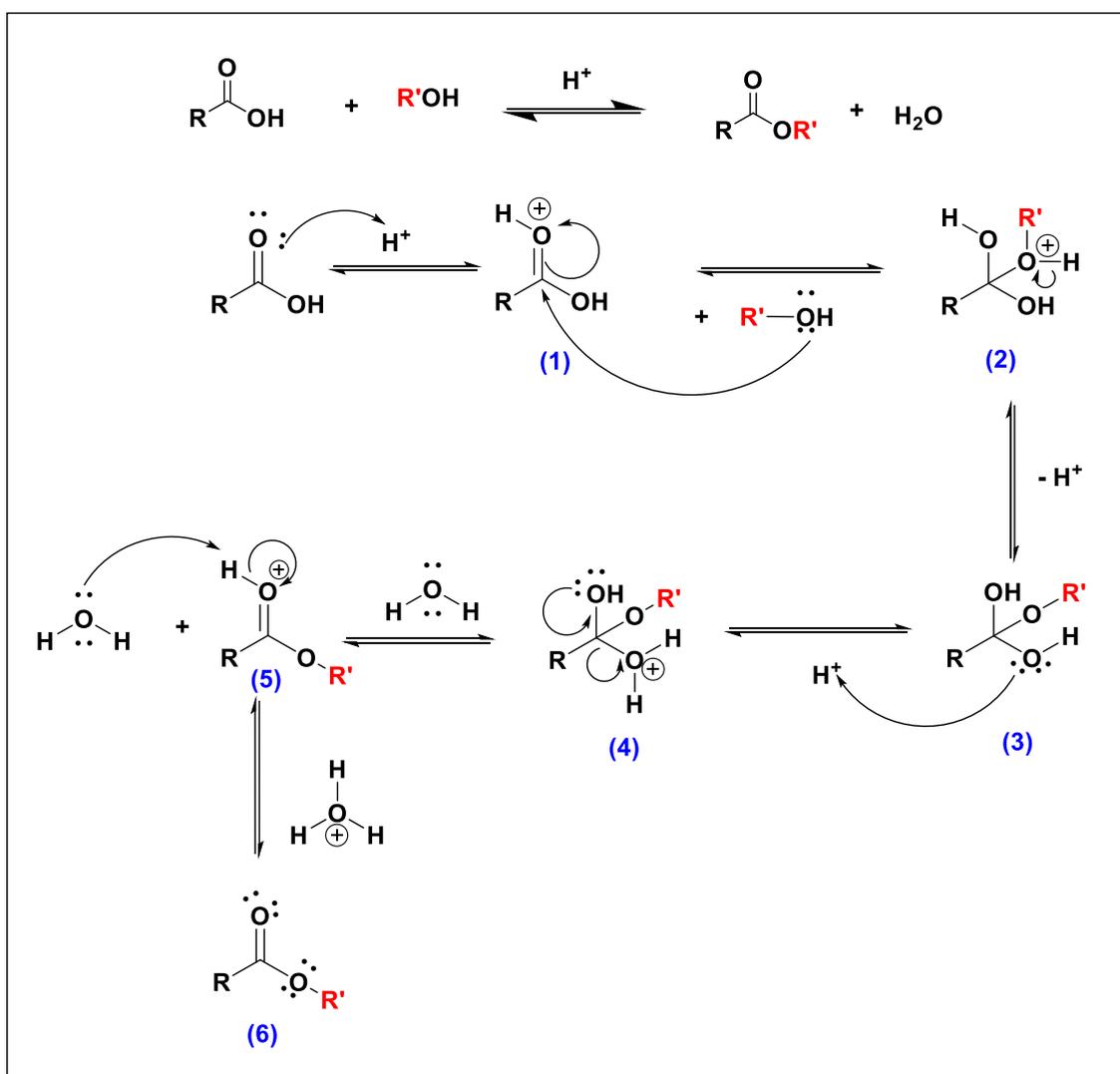
O método mais conhecido para obtenção de ésteres foi desenvolvido por Emil Fischer e Arthur Speier em 1895, é conhecido como esterificação de Fischer (**esquema 3a**), o procedimento reacional que ocorre entre um ácido carboxílico e um álcool, sob aquecimento e na presença de um catalisador (ácido forte) (Oliveira *et al.*, 2014).

Enquadra-se como uma reação reversível que, nas condições ideais como citadas anteriormente, atinge o equilíbrio em poucas horas e com isso, para se atingir um melhor rendimento, desloca-se o equilíbrio para a formação dos produtos, adicionando um dos reagentes em excesso ou retirando a água que se forma (utilizando um agente desidratante ou um dean-stark) (Oliveira *et al.*, 2014; Solomons; Fryhle, 2012, p. 797)

A esterificação de Fischer ocorre por meio de duas etapas: a adição nucleofílica seguida da eliminação. De acordo com o **esquema 4** o procedimento reacional se inicia com a protonação do oxigênio carbonílico (**1**) fazendo com que o par de elétrons da ligação dupla C=O se desloque para o oxigênio carbonílico, transformando o carbono acílico mais reativo (caráter eletrofílico), facilitando o ataque realizado em seguida pelo álcool, formando um intermediário tetraédrico (**2**). Ainda no passo **2**, o oxigênio carregado positivamente perde um próton para o meio gerando o intermediário (**3**). Uma das hidroxilas do intermediário capta um próton do meio ácido, gerando uma molécula de água ligada ao carbono acílico (**4**). A

molécula de água é considerada um bom grupo abandonador, dessa forma, com a saída da mesma, a hidroxila compartilha um par de elétrons com o carbono, recompondo a carbonila (5), contribuindo para a perda do próton pelo oxigênio, reestabelecendo o meio ácido e gerando o éster (6) (Solomons; Fryhle, 2012).

Esquema 4. Mecanismo da esterificação de Fischer.



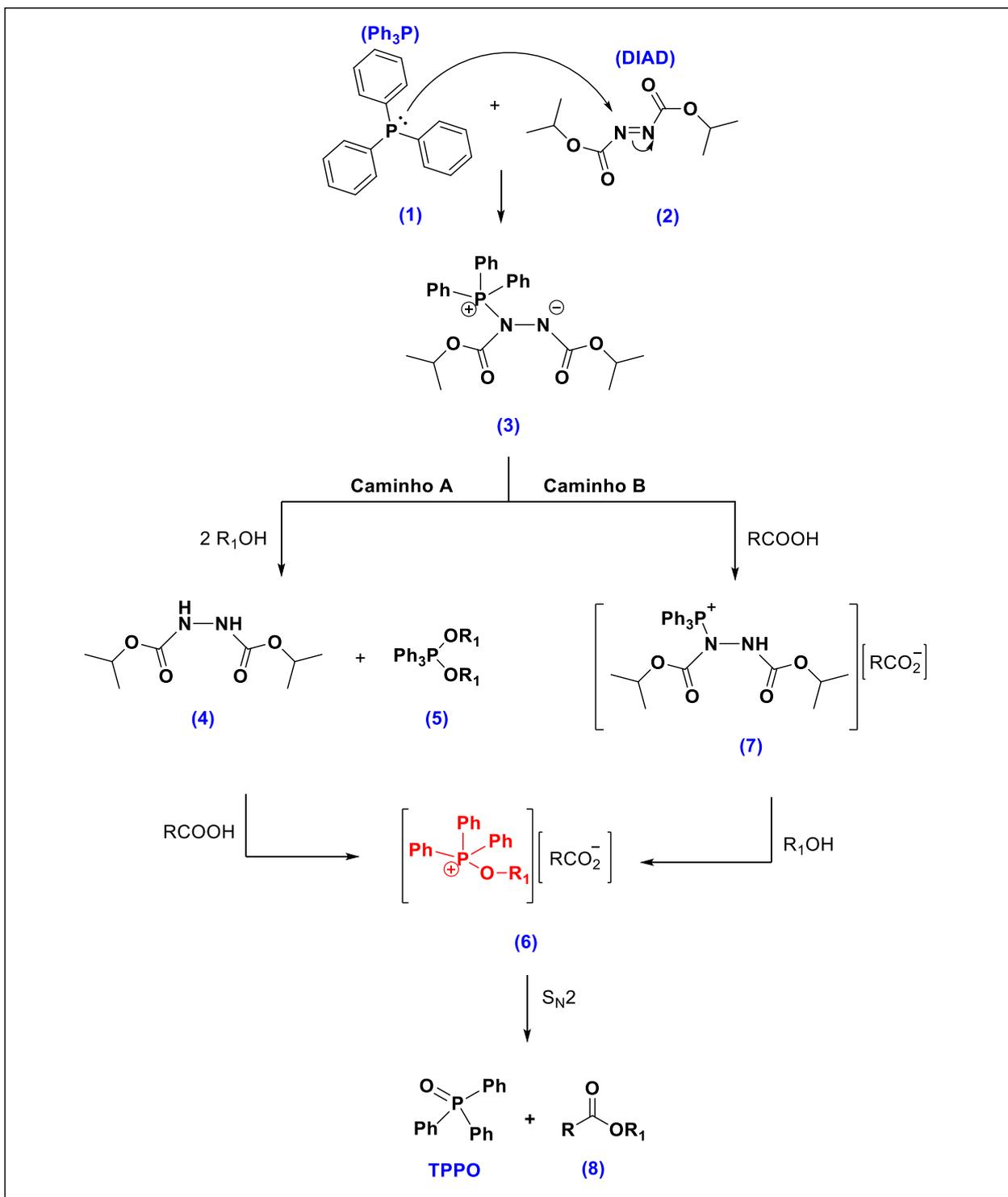
Fonte: Adaptado de Solomons; Fryhle, 2012, p. 798.

Outra metodologia muito utilizada também para o preparo de ésteres é a reação de Mitsunobu (**esquema 3c**). Foi descrita primeiramente por Oyo Mitsunobu em 1967 e atualmente é aplicada para síntese de ésteres arílicos, cíclicos, tionoésteres, para a formação de ligações carbono-carbono, carbono-nitrogênio, entre outras. Nesse tipo de procedimento reacional ocorre um acoplamento desidratante entre um álcool primário ou secundário e um nucleófilo (obtido a partir do ácido carboxílico) mediado pela reação de um agente oxidante do tipo azo. O mais comumente utilizado é o Diisopropil azodicarboxilato (DIAD), com um

reagente redutor do tipo fosfina, a exemplo da trifenilfosfina (Ph_3P); sob condições suaves a neutras, a temperaturas de 0°C à ambiente. Os solventes comumente utilizados são tetrahidrofurano (THF), éter dietílico, diclorometano e tolueno (Camp; Itzstein; Jenkins, 2015; But; Toy, 2007).

Conforme descrito no **esquema 5**, o procedimento reacional se inicia com o ataque nucleofílico da trifenilfosfina (**1**) ao átomo de nitrogênio do diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (**2**) gerando o intermediário **3**. O intermediário **3** pode seguir por duas vias mecanísticas diferentes: a via **A** e a via **B**. Na via **A**, o intermediário (**3**) reage desprotonando duas moléculas de álcool e conduzindo à formação de um fosforano pentacoordenado (**5**) e um derivado da hidrazina (**4**). O intermediário (**5**) em meio ácido (RCOOH), libera uma molécula de álcool e gera o sal alcoxifosfônio **6**. Na via **B**, o intermediário (**3**) inicialmente abstrai um próton do ácido (RCOOH), dando origem ao intermediário iônico (**7**). O intermediário (**7**) então reage com o álcool para produzir o derivado da hidrazina (**4**) como subproduto e um sal de alcoxifosfônio (**6**). Na etapa final de ambas as vias o nucleófilo desprotonado (RCO_2^-) ataca o carbono ligado ao oxigênio da porção do álcool correspondente no **6** em uma reação de substituição nucleofílica formando o produto (**8**) e o óxido de trifenilfosfina (TPPO) como subproduto (Heravi *et al.*, 2018; Swamy *et al.*, 2009).

Esquema 5. Mecanismo da reação de Mitsunobu para a preparação de ésteres.



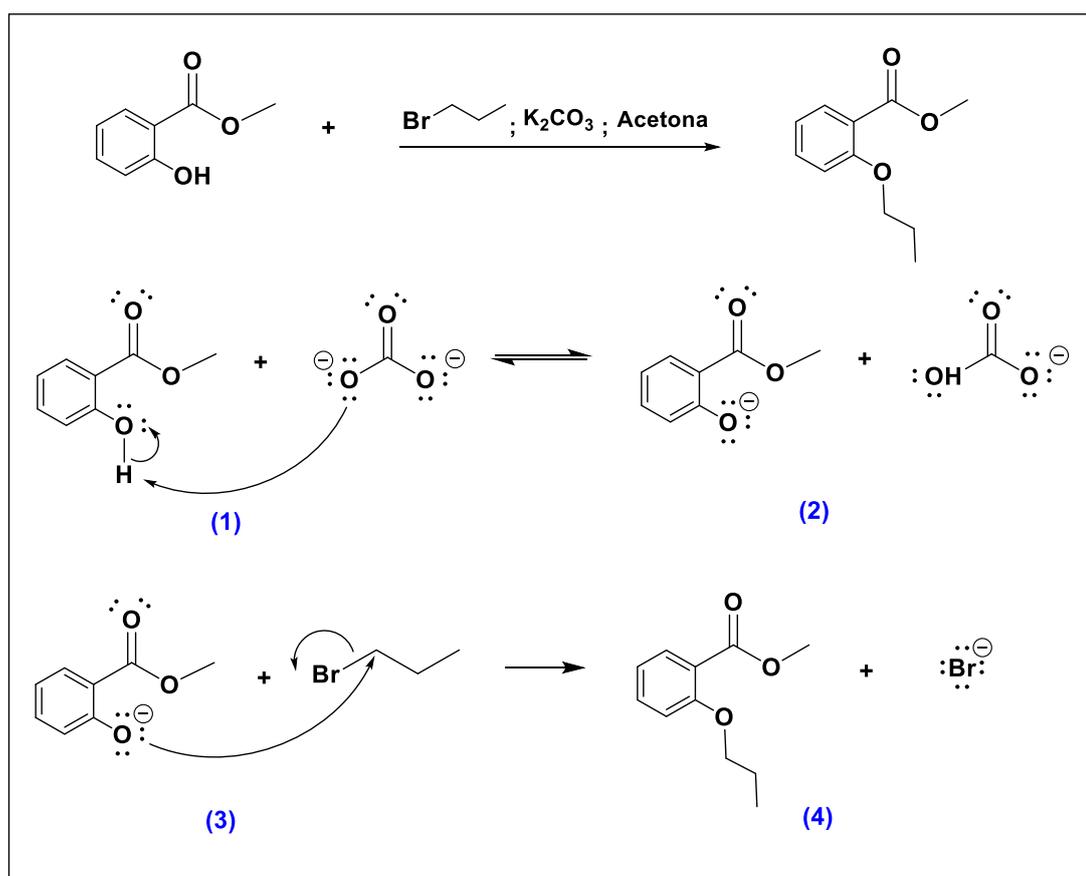
Fonte: Adaptado de: (Heravi *et al.*, 2018; Swamy *et al.*, 2009).

Ésteres podem ser formados a partir de reações de *O*-alquilação que consistem em substituições do tipo S_N2 (substituição nucleofílica bimolecular). Essa metodologia reacional geralmente emprega como substratos haletos de alquila e arila, considerando a boa aplicabilidade dos halogênios como grupos abandonadores, quando se pretende efetuar uma

O-alquilação específica em grupo funcional fenol, por meio de ataque a hidroxila fenólica em meio básico (Clayden; Greeves; Warren, 2012).

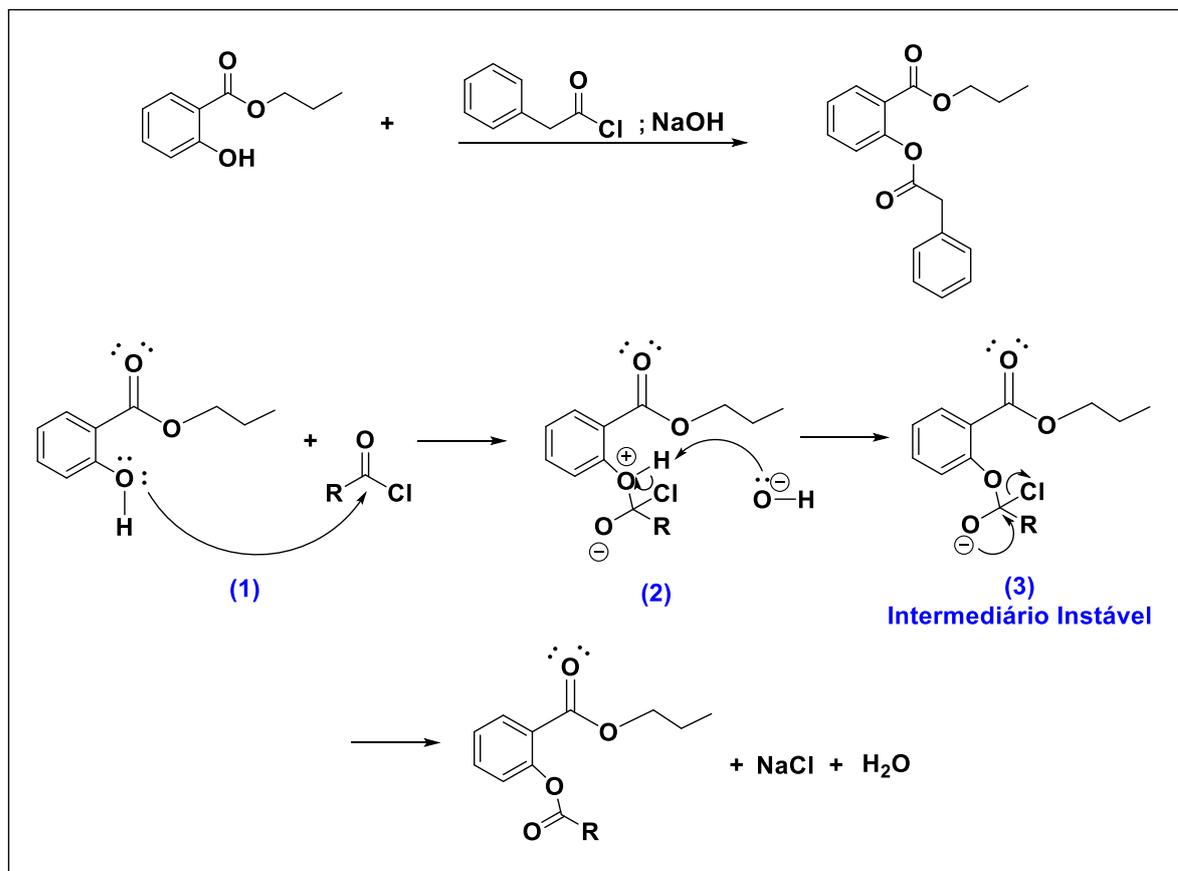
Na reação de *O*-alquilação do salicilato de metila conforme o **esquema 6** abaixo; o ataque do íon carbonato ao hidrogênio da hidroxila presente no composto (1) gera o nucleófilo (2) que, por conseguinte, ataca o carbono 1 do haleto (3) promovendo a saída o átomo de bromo (íon brometo), gerando o produto final (4).

Esquema 6. Mecanismo da reação de *O*-alquilação.



Fonte: Adaptado de Clayden; Greeves; Warren, 2012. p.575.

A reação de *O*-acilação consiste em Substituição nucleofílica acílica utilizando cloretos ácidos como agentes de acilação, em meio básico. Conforme o **esquema 7** abaixo, na reação de acilação inicialmente ocorre o ataque do par de elétrons do oxigênio do Salicilato de propila ao carbono do cloreto de acila (1), o hidrogênio do oxigênio é captado pela base (2) e gera o intermediário instável (3) que, por conseguinte, gera a saída do átomo de cloro (íon cloreto), formando o produto final (4) (Clayden; Greeves; Warren, 2012).

Esquema 7. Mecanismo da reação de *O*-acilação.

Fonte: Adaptado de (Clayden; Greeves; Warren, 2012), p. 199.

2.7. Modelagem molecular no estudo de fármacos

Ao decorrer dos anos, a busca por moléculas inovadoras, alinhada aos avanços da indústria farmacêutica são fatores de grande relevância para se obter fármacos com maior eficiência, que apresentem maior especificidade e menor prevalência de efeitos adversos, contribuindo para a melhor adesão ao tratamento pelo paciente (Gomes *et al.*, 2014).

Desde o surgimento dos primeiros computadores, ocorreu o desenvolvimento de técnicas virtuais na química medicinal. Foram criados vários bancos de dados, como o Protein Data Bank, que é utilizado para arquivar estruturas proteicas já descobertas, permitindo o acesso de informações para embasar o desenvolvimento de fármacos (Lima, 2007).

A indústria farmacêutica vem seguindo uma tendência tecnológica, utilizando técnicas como as de modelagem molecular para a busca de novos fármacos e melhoramentos de outros já existentes no mercado.

A modelagem molecular (docking molecular) envolve representações estruturais mais próximas do real, através de um conjunto de cálculos, utilizando a química teórica como

instrumento matemático e a computação gráfica para manusear os modelos obtidos. Desta forma, auxilia na interpretação da relação entre a estrutura e atividade biológica da molécula (Bielska *et al.*, 2011). Conforme descrito acima, a química teórica atua como ferramenta de apoio em análises e interpretação de dados experimentais e possui grande importância no planejamento racional de fármacos, por abranger análise conformacional de sistemas complexos, tal como o estudo da interação entre fármaco-proteína (Miller, 2012).

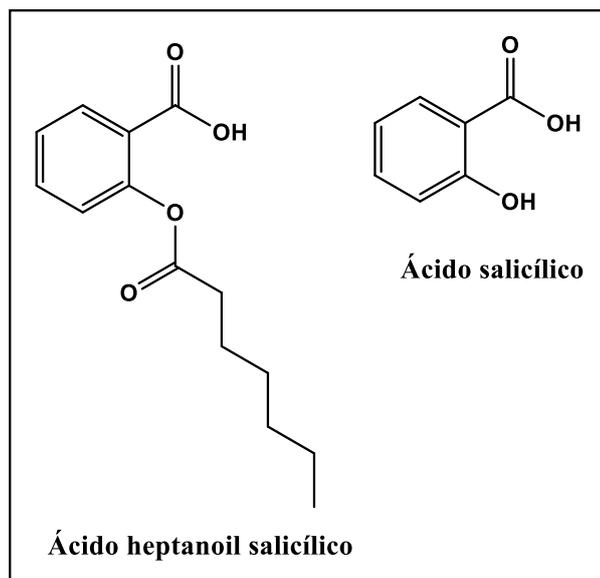
As técnicas de modelagem molecular proporcionam estimativas da energia livre de ligação entre a proteína e o ligante, antes mesmo que esses sejam sintetizados. Os custos com estes estudos são bem menores, quando equiparados aos gastos laboratoriais ao sintetizar e testar farmacologicamente várias substâncias. Tem sido uma importante ferramenta utilizada para filtrar compostos que não são apropriados para serem designados como alvo biológico, e designar as possíveis moléculas que poderiam apresentar uma boa interação com o sítio ativo do receptor (Rodrigues *et al.*, 2012).

Estas metodologias inovadoras de pesquisa e desenvolvimento tem como finalidade a busca por uma molécula ideal, que apresente eficácia, especificidade e menor reações adversas, tendo enfoque para doenças com maior incidência e com maior expectativa de retorno da investigação científica (Pimentel *et al.*, 2012).

3. REVISÃO DA LITERATURA DAS ATIVIDADES ANTIFÚNGICA, TRIPANOCIDA, LEISHMANICIDA E ANTIPLASMÓDICA DO ÁCIDO SALICÍLICO E SEUS DERIVADOS

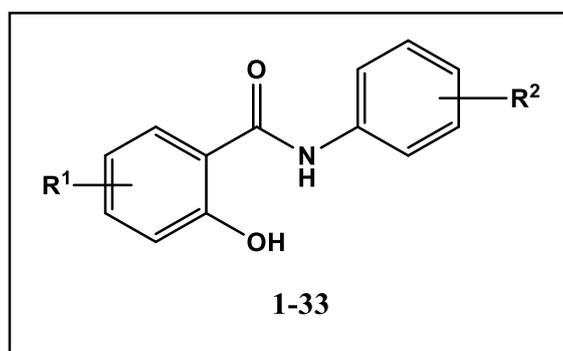
3.1. Derivados salicílicos com atividade antifúngica

Em estudo publicado por Tayeh e colaboradores em 2013, o ácido salicílico (AS) e o ácido heptanoil salicílico (AHS) conforme a **Figura 2**, foram submetidos a ensaio antifúngico contra o *Blumeria graminis f. sp. tritici* sob o trigo (*Triticum aestivum* L.). Trata-se do patógeno causador do oídio, uma doença de importância econômica em todos os países produtores de trigo. O método utilizado foi o de tratamento por pulverização em condições infecciosas e não infecciosas. No estudo os níveis de proteção obtidos do trigo contra *Blumeria graminis f. sp. tritici* (Bgt) aumentaram para 50% com AS e para 95% com AHS.

Figura 2. Estruturas químicas do AHS e AS.

Fonte: Adaptado de Tayeh et al., 2013.

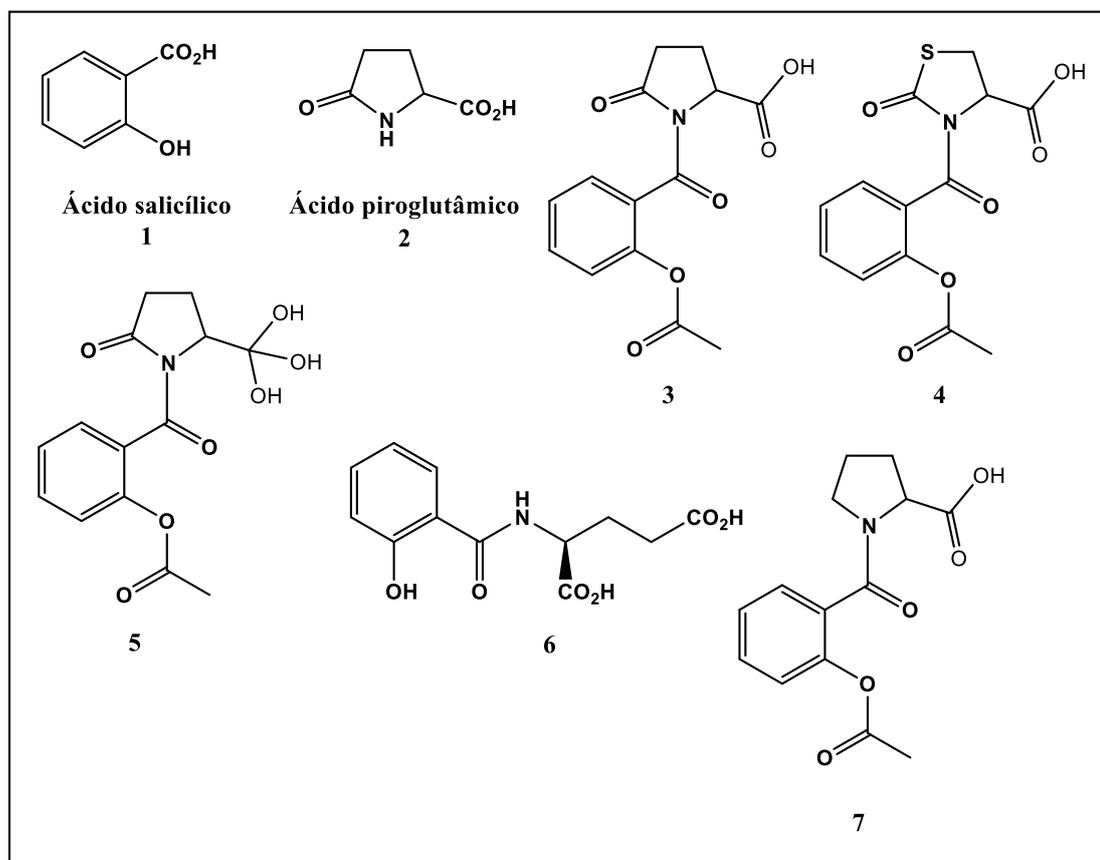
Em 2015, Paraskevopoulos e colaboradores sintetizaram uma série de 33 salicilanilidas (**Figura 3**) contendo grupo nitro na porção salicílica e foram submetidas à avaliação das atividades antimicrobiana, antimicrobiana e antifúngica *in vitro*. As nitrosalicilanilidas selecionadas foram testadas contra quatro cepas de *Candida* (*Candida albicans* ATCC 44859, *Candida tropicalis* 156, *Candida krusei* E28 e *Candida glabrata* 20/I), *Trichosporon asahii* 1188 e três fungos filamentosos (*Aspergillus fumigatus* 231, *Absidia corymbifera* 272 e *Trichophyton mentagrophytes* 445). As concentrações inibitórias mínimas (CIM) foram medidas pelo método de microdiluição em caldo, utilizando como controle o fluconazol. As nitrosalicilanilidas não apresentaram atividade antifúngica significativa quando comparados ao fluconazol, utilizado com controle.

Figura 3. Estrutura química geral das nitrosalicilanilidas.

Fonte: Adaptado de Paraskevopoulos *et al.*, 2015.

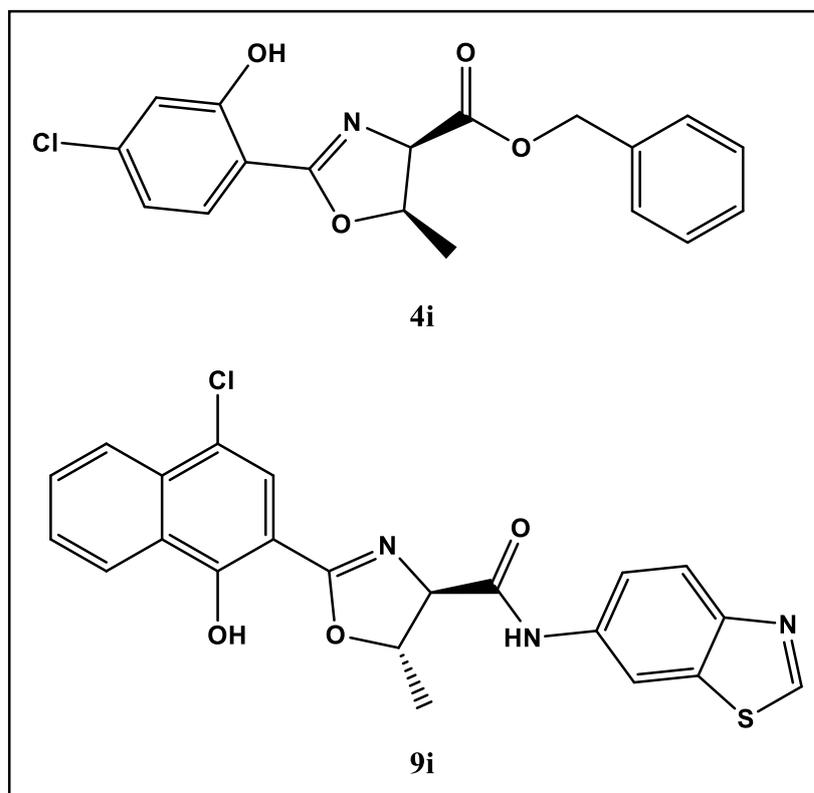
Mejri e colaboradores (2019) investigaram pela primeira vez a eficácia protetora do ácido salicílico (AS), do ácido piroglutâmico (PGA) e de cinco derivados conjugados (**Figura 4**) contra *Zymoseptoria tritici*, principal patógeno presente nas plantações de trigo. A atividade antifúngica foi realizada por duas metodologias, a primeira metodologia foi a de inoculação das substâncias com pulverizador manual diretamente no trigo, que por sua vez apresentou eficácia da proteção que variou entre 25% e 49%, conferidos por AS (25% redução da doença) e os quatro derivados testados (**3, 4, 6 e 7**), enquanto nenhuma proteção significativa foi conferida por PGA (**2**) ou o ácido *orto* (**5**). O mais alto nível de proteção foi obtido com a molécula **4** (49% de redução da doença). A segunda metodologia utilizada consistiu na avaliação da atividade antifúngica das sete moléculas por meio do cálculo da Concentração Inibitória Média (CI₅₀) em meio Agar Batata Doce (BDA), foi avaliado o efeito direto contra *Z. tritici* usando como medida da zona de inibição do crescimento do microrganismo em meio sólido BDA. PGA (**2**) não apresentou efeito direto sobre o crescimento fúngico para nenhuma das concentrações testadas. No entanto, AS (**1**) e as moléculas **4** e **5** exibiram atividade direta significativa sobre *Z. tritici*, na maior concentração testada. Valores de CI₅₀ calculados de AS (**1**) e das moléculas **4** e **5** foram 3,2 mM, 3,6 mM e 3,9 mM, respectivamente, enquanto as demais moléculas não apresentaram nenhum efeito antifúngico contra o patógeno.

Figura 4. Estruturas químicas do AS, PGA e derivados de 3-7.



Fonte: Adaptado de Mejri *et al.*, 2019.

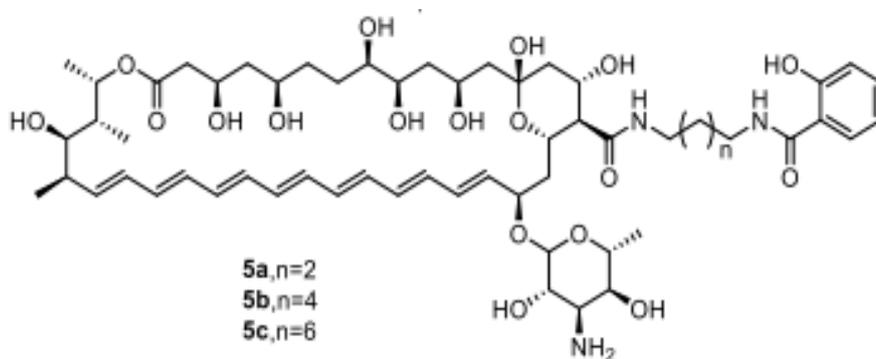
Em 2020, Argomedo e colaboradores realizaram a síntese de derivados de 2-ariloxazolina a partir da reação entre l-treonina e derivados do ácido salicílico ou ácido naftoico. No total, 26 compostos foram obtidos e testados contra espécies de *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus* para determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIMs), utilizando como controle a Anfotericina B, Caspofungina e Fluconazol. Os compostos (4R,5R) 4,5-dihidroxazol-2-(4-cloro-2-hidroxifenil)-5-metil-4-carboxilato de benzila (**4i**) (CIM: 0,06 µg/mL) e (4R,5S)-N-(benzo[d]tiazol-6-il)-2-(4-cloro-1-hidroxinaftaleno-2-il)-5-metil-4,5-dihidroxazol-4-carboxamida (**9i**) (CIM: 0,06 µg/mL), conforme **Figura 5**, apresentaram atividade antifúngica significativa quando comparado com o controle frente ao fungo emergente *Candida auris* CBS 10913. No entanto, os compostos foram menos ativos contra *Cryptococcus* spp. (CIM: 1 a >16 µg/mL) e *Aspergillus* spp. (CIM: 2 a >16 µg/mL).

Figura 5. Estruturas químicas dos derivados **4i** e **9i**.

Fonte: Adaptado de Argomedo *et al.*, 2020.

Os resultados mais recentes de atividade antifúngica do ácido salicílico e seus derivados publicados na literatura são de um estudo experimental realizado por Yu e colaboradores (2022) que sintetizaram derivados da Amphotericina B ligando o AS ao grupo carboxila da AmB. O procedimento de obtenção ocorreu por etapas, inicialmente foram obtidas amidas derivadas do ácido salicílico e em seguida houve a síntese dos conjugados AmB-AS. Os três conjugados **5a**, **5b** e **5c** (**Figura 6**) obtidos foram submetidos a ensaio antifúngico *in vitro* contra *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. neoformans* pelo método de microdiluição em caldo para determinar as concentrações inibitórias mínimas (CIMs). No estudo, os três conjugados foram bioativos frente *C. albicans*, *C. glabrata* e *C. neoformans* quando comparados com a AmB (0,25 a 1 µg/mL) nas concentrações de 1 a 8 µg/mL.

Figura 6. Estruturas químicas dos derivados **5a**, **5b** e **5c** com atividade antifúngica frente espécies de *Candida*.

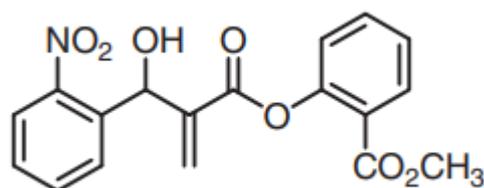


Fonte: Yu *et al.*, 2022.

3.2. Derivados salicílicos com atividade leishmanicida

No ano de 2011, Barbosa e colaboradores realizaram a síntese de uma série de 7 compostos tipo chalconas projetados por hibridação molecular com base no anti-inflamatório salicilato de metila e na porção antileishmania dos adutos de Morita-Baylis-Hillman O composto 2-{2-[hidroxi(2-nitrofenil)metil]acriloil oxi}benzoato de metila (**Figura 7**) apresentou melhor resultado com $CI_{50} = 7,65 \mu\text{M}$ frente a *Leishmania amazonensis* e $10,14 \mu\text{M}$ contra *Leishmania chagasi*.

Figura 7. Estrutura química do derivado com melhor perfil leishmanicida.

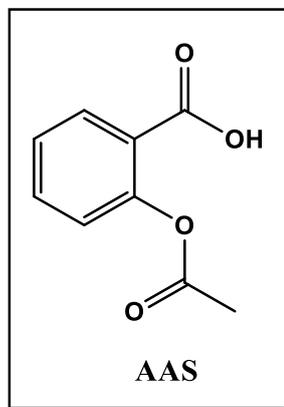


Fonte: Barbosa *et al.*, 2011.

No estudo de Nahrevanian e colaboradores (2012) camundongos Balb/c foram infectados com *Leishmania major* e o ácido acetilsalicílico (AAS) (**Figura 8**) foi inoculado por via oral após o aparecimento da lesão. O Fígado, baço e linfonodos foram estudados como órgãos-alvo para detectar formas amastigotas. Além disso, o plasma foi investigado para indução de NO usando o microensaio de Griess. Como resultado o AAS aumentou a produção de NO no plasma de ambos os grupos testados, o que resultou em declínio na proliferação de formas amastigotas no interior dos macrófagos do grupo teste quando comparado com o

controle. O AAS reduziu o tamanho da lesão, inibiu a visceralização da *Leishmania* no baço, linfonodo e diminuiu a hepato/esplenomegalia em animais tratados.

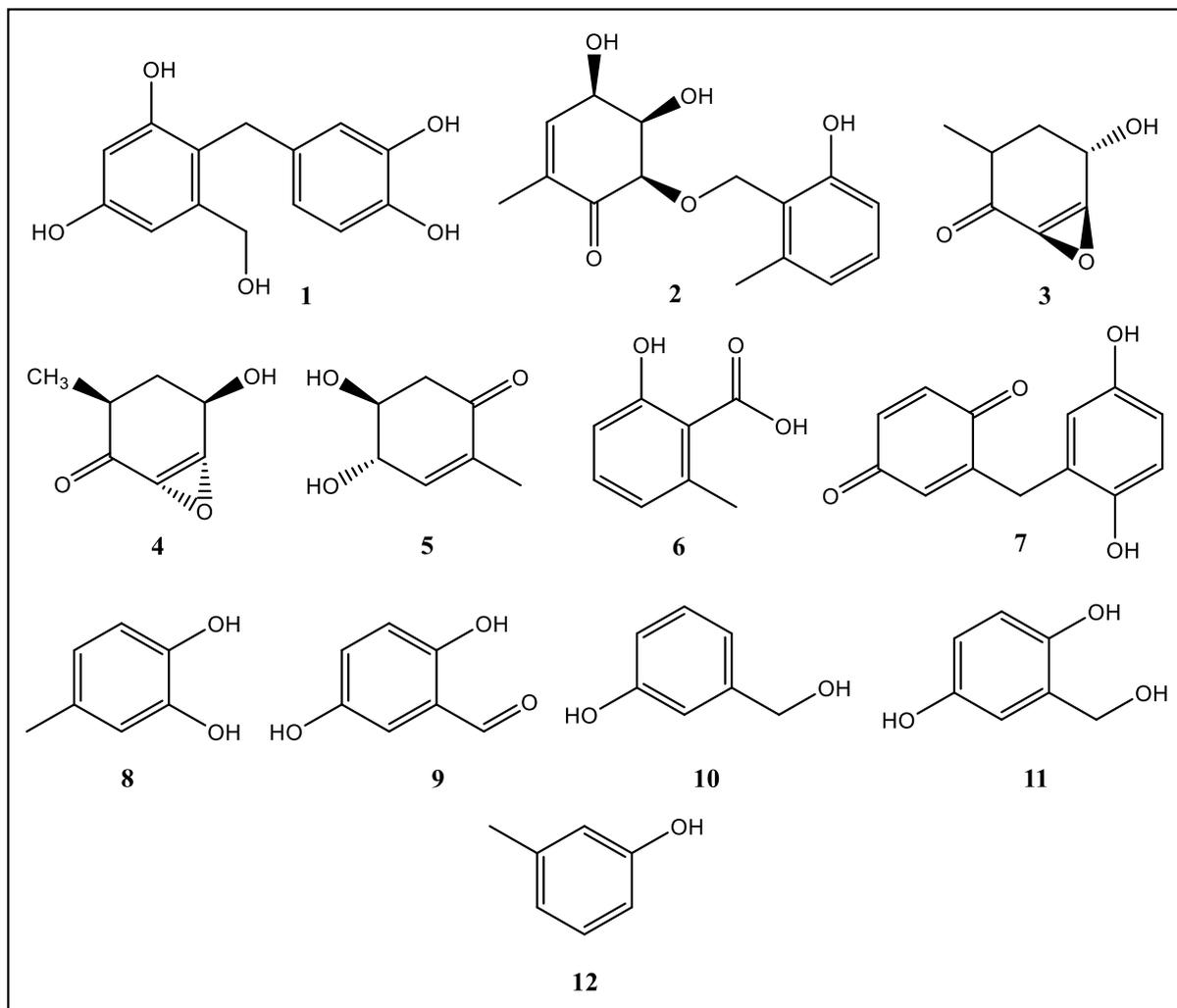
Figura 8. Estrutura química do ácido acetilsalicílico.



Fonte: Elaborado pela autora.

Malak e colaboradores (2014) utilizaram em seu estudo, o fungo filamentosso *Geosmithia langdonii* que foi cultivado em três meios diferentes [caldo de soja tríplica, caldo de extrato de malte e caldo de batata dextrose (PDB)]. Extratos de acetato de etila foram avaliados quanto à atividade leishmanicida, e o extrato obtido da cultura em PDB apresentou a melhor atividade contra *Leishmania donovani* com um valor de CI₅₀ de 0,35 µg/mL, enquanto os extratos obtidos usando soja tríplica e meio de caldo de extrato de malte exibiram valores de CI₅₀ 5,75 e 36,03 µg/mL, respectivamente. O fungo foi então cultivado em larga escala usando meio PDB, e passou por procedimento de extração e isolamento que levou à definição de metabólitos ativos presentes no fungo com atividade antileishmania. Entre os metabólitos produzidos apresentados na **Figura 9**, os compostos 4-(2',4'-di-hidroxi-6'-(hidroximetil)benzil)benzeno-1,2-diol (**1**) e (4R,5R,6R)-4,5-di-hidroxi-6-(6'-metilsaliciloxi)-2-metil-2-ciclohexen-1-ona (**2**) eram inéditos. E outros dez compostos conhecidos foram previamente identificados: (+)-epiepoformina (**3**), (-)-dihidroepiepoformina (**4**), (4S, 5S)-4,5-dihidroxi-2-metilciclohex-2-enona (**5**), ácido 6-metilsalicílico (**6**), gentisilquinona (**7**), 3,4-diidroxitolueno (**8**), 2,5- dihidroxibenzaldeído (**9**), álcool 3-hidroxibenzílico (**10**), álcool 2,5-diidroxibenzílico (**11**) e 3-hidroxitolueno (**12**).

Figura 9. Estruturas químicas dos metabólitos do fungo filamentosso *Geosmithia langdonii* com atividade leishmanicida.



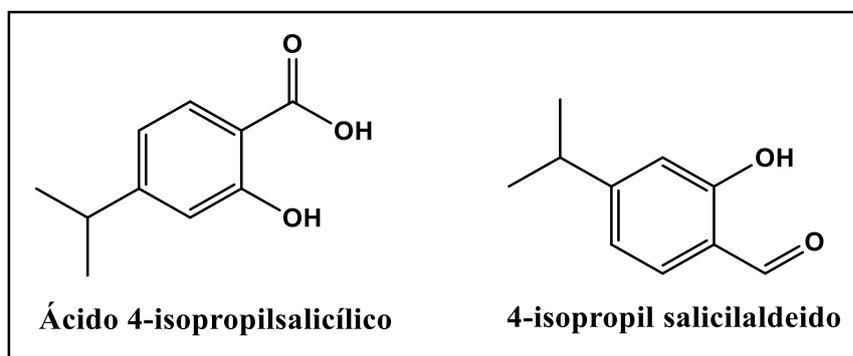
Fonte: Malak *et al.*, 2014.

Muñoz e colaboradores (2019) utilizaram em estudo a metodologia de aplicação tópica em camundongos BALB/c infectados por *Leishmania (V.) braziliensis* de uma solução de clorexidina a 0,5% (CGH), gel ácido salicílico (AS) a 10% e creme de pentamidina (PMD) a 3% ou 6% foram utilizados como antisséptico, queratolítico, e antileishmania, respectivamente. Foi aplicada topicamente a solução antisséptica nos primeiros sete dias, seguido de gel AS 10% e creme PMD. Posteriormente, o tratamento foi realizado apenas com os cremes antisséptico e PMD. O tratamento usando 6% PMD induziu uma redução completa da lesão em 3/6 camundongos e uma redução parcial em 1/6 camundongos, sem parasitas observados. Em contraste, o uso de CGH e AS puros, juntamente com o veículo, não foram eficazes ($p < 0,05$) apresentando ainda eritema grave no local da aplicação.

3.3. Derivados salicílicos com atividade frente a *T. cruzi*

Em 2001 Nogueira-Torres e colaboradores sintetizaram e avaliaram a possível atividade de dois compostos com estruturas relacionadas ao gossipol (composto que inibe o *T. cruzi* em cultura), o 4-isopropil salicilaldeído e o ácido 4-isopropilsalicílico (**Figura 10**). Os derivados foram submetidos a ensaios *in vitro* e *in vivo* utilizando duas cepas de *T. cruzi*: a cepa MIGUZ (resistente ao benznidazol e nifurtimox) e a cepa NINOA (parcialmente suscetível ao benznidazol e resistente ao nifurtimox). Avaliou-se também a capacidade de inibição da α -hidroxiácido desidrogenase dos dois compostos em ambas as cepas. Verificou-se que os compostos 4-isopropil salicilaldeído e o ácido 4-isopropilsalicílico apresentaram melhor efeito inibitório da α -hidroxiácido desidrogenase, quando comparado com gossipol, em ambas as cepas. Os resultados dos testes farmacológicos *in vitro* e *in vivo* dos derivados de gossipol apresentaram melhor efeito tripanocida do que o gossipol, e um efeito tripanocida muito melhor do que nifurtimox e benznidazol nas duas cepas de *T. cruzi* estudadas. O efeito tripanocida foi maior na cepa NINOA do que na cepa MIGUZ.

Figura 10. Estruturas dos compostos 4-isopropil salicilaldeído e ácido 4-isopropilsalicílico.



Fonte: Adaptado de Nogueira-Torres *et al.*, 2001.

Michelin e colaboradores (2005) investigaram o possível papel das prostaglandinas produzidas pela COX-2 na imunossupressão observada durante a infecção pelo *T. cruzi*. No estudo foram realizados ensaios utilizando camundongos BALB/c macho infectados por formas tripomastigotas da cepa Y do *T. cruzi*. Os esplenócitos (células do baço) dos camundongos foram estimulados com concanavalin A *in vitro* provocando a liberação de grandes quantidades de PGE2 e esta liberação foi inibida pelo tratamento dos animais com salicilato de sódio ou meloxicam. O tratamento dos animais com esses fármacos aumentou a liberação de IL-2 por esplenócitos de animais infectados por *T. cruzi* e reduziu significativamente a parasitemia sanguínea e retardou a mortalidade dos camundongos

infectados. Além disso, a liberação de TNF-, IFN-, IL-4 e IL-10 por esplenócitos estimulados por Con-A obtidos de camundongos infectados foi significativamente inibida pelo tratamento dos animais com salicilato ou meloxicam.

O nifurtimox e benznidazol são os únicos fármacos ativos contra o *T. cruzi*, embora possuam eficácia limitada e efeitos colaterais severos. No início da infecção os macrófagos infectados por *T. cruzi* desenvolvem uma resposta antiparasitária, com a ativação de PGE2, bem como diminuição da atividade de iNOS. Com base nisso, o estudo de López-Muñoz e colaboradores (2010) consistiu na análise isobolográfica dos efeitos combinados de AAS, nifurtimox e benznidazol e foi detectado o efeito sinérgico contra a infecção por *T. cruzi* de células RAW, com índices combinatórios de 0,71 e 0,61, respectivamente. O AAS sozinho não demonstrou efeito significativo sobre a atividade antiparasitária dos macrófagos. Assim, a inibição da síntese de prostaglandinas causada pelo AAS pode aumentar a atividade antiparasitária dos macrófagos e aumentar o efeito do nifurtimox e do benznidazol.

A doença de Chagas crônica afeta 10% a 30% dos pacientes infectados pelo *T. cruzi*, manifestando-se principalmente como cardiomiopatia. Os mecanismos envolvidos nas lesões cardíacas incluem ativação do endotélio e indução de microvascularização. Esses processos envolvem a produção de moléculas de adesão endotelial e tromboxano A2, que são envolvidos no recrutamento de células inflamatórias e na agregação plaquetária, respectivamente. No estudo de Molina-Berríos e colaboradores (2013) foram avaliados os efeitos da administração de baixas e altas doses de AAS em camundongos machos BALB/c adultos durante a fase inicial da infecção por *T. cruzi*, após dano microvascular no contexto de um modelo murino crônico da doença de Chagas. Inibidores da ciclooxigenase, como o ácido acetilsalicílico diminuem a produção de tromboxano e altera o curso da doença de Chagas, tanto na forma aguda quanto na crônica. O AAS normalizou os níveis de sICAM e sE-selectina, gerando melhora da função endotelial.

A invasão celular pelo *T. cruzi* e sua replicação intracelular são essenciais para o ciclo de vida do parasita e para o desenvolvimento da doença de Chagas. No estudo de Malvezi e colaboradores (2014) são apresentadas evidências sugerindo o envolvimento das enzimas ciclooxigenase (COX) do hospedeiro durante a invasão do *T. cruzi*. Diante disso, foram realizados os ensaios com células cardíacas de ratos contaminados com *T. cruzi* pré-tratadas com os antagonistas farmacológicos da COX-1 (ácido acetilsalicílico) e da COX-2 (celecoxib). Foi demonstrada a ação inibitória da infecção por *T. cruzi* do AAS e do

celecoxib, associada a um aumento na produção de NO e interleucina-1 β e diminuição da produção do fator transformador de crescimento (TGF- β) pelas células.

Malvezi e colaboradores ainda em 2014 apresentaram mais uma confirmação de evidências, sugerindo o envolvimento da enzima ciclooxigenase (COX) do hospedeiro durante a invasão do *T. cruzi*. Neste estudo foi realizado o ensaio com macrófagos peritoneais retirados de camundongos contaminados com *T. cruzi* e pré-tratados com a AAS. Este fármaco causou inibição acentuada da infecção por *T. cruzi*, e foi associada a produção aumentada de IL-1 β e óxido nítrico (NO \cdot) por macrófagos. Os resultados indicam que PGE₂, NO \cdot , e as lipoxinas estão envolvidas na regulação do anti-*T. cruzi* por macrófagos, proporcionando uma melhor compreensão do papel das prostaglandinas na resposta inflamatória inata à infecção por *T. cruzi*.

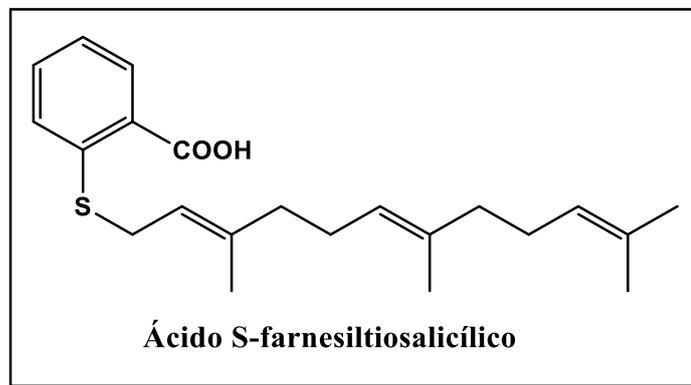
O *T. cruzi* possui uma enzima conhecida como anidrase carbônica classe α (TcCA), que apresenta alta atividade catalítica para a conversão de CO₂ em bicarbonato e prótons, sendo de grande importância para o parasita. Alguns estudos vêm demonstrando que a enzima pode ser inibida pelas principais classes de inibidores de AC (CAIs), como os ânions, sulfonamidas, tióis e hidroxamatos. Em estudo mais recente, Bonardi e colaboradores (2022) realizaram o primeiro estudo de inibição da TcCA utilizando 22 fenóis. Os melhores inibidores foram os fenóis: pirocatecol, ácido salicílico, 3,5-difluorofenol, ácido 3,4-diidroxibenzoico, ácido 3,6-diidroxibenzoico, ácido cafeico e análogos do desidroxi com K_{1/2} de 1,8 – 7,3 μ M.

3.4. Derivados salicílicos com atividade frente *Plasmodium* sp.

O desenvolvimento de novos medicamentos é uma das estratégias para o controle da malária. Diante disso, Rodrigues Goulart e colaboradores em 2004 avaliaram a atividade antimalárica de vários terpenos, moléculas com estrutura química semelhante aos intermediários da via dos isoprenoides. Todos os terpenos testados inibiram a biossíntese de dolicol no trofozoíto e no esquizonte. O tratamento dos estágios esquizontes com ácido S-farnesiltiosalicílico (**Figura 11**) levou a uma diminuição na intensidade da banda correspondente a uma proteína p21ras. O efeito inibitório dos terpenos e ácido S-farnesiltiosalicílico na biossíntese de dolicol e da cadeia lateral isoprênica de ubiquinonas e a isoprenilação de proteínas nos estágios intraeritrocíticos de *P. falciparum* parece ser específica, porque no geral a biossíntese de proteínas não foi afetada. Combinações de alguns

terpenos ou ácido S-farnesiltiosalicílico testados nesse estudo com outros antimaláricos, como a fosmidomicina, pode ser uma nova estratégia para o tratamento da malária.

Figura 11. Estrutura química do ácido S-farnesiltiosalicílico.

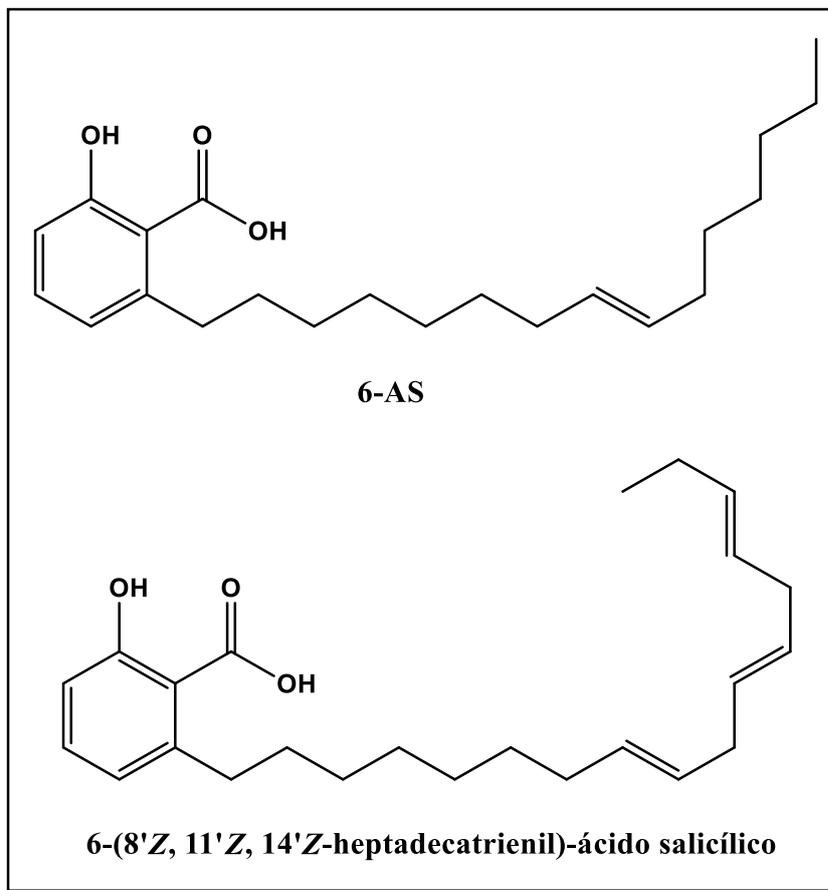


Fonte: Adaptado de Goulart *et al.*, 2004.

No estudo de Lee (2009) o extrato de éter de petróleo de *Viola websteri* Hemsl. (Violaceae) foi submetido a teste para avaliação da sua atividade contra cepas de *Plasmodium falciparum* sensíveis à cloroquina usando o método de ensaio da lactato desidrogenase do parasita. A cloroquina e artemisinina foram usadas como controles positivos. As amostras foram testadas em três concentrações diferentes (5, 25 e 100 µg/ml), e os resultados foram expressos como concentrações inibitórias de 50%, que foram atribuídos ao efeito sinérgico de vários compostos presentes no extrato. Os metabólitos principais responsáveis pela atividade antiplasmodial foram extraídos e isolados. O 6-(8'Z-pentadecenil)-ácido salicílico (**6-AS**) e 6-(8'Z, 11'Z, 14'Z-heptadecatrienil)-ácido salicílico (**Figura 12**), foram isolados de *V. websteri* pela primeira vez neste estudo e é o primeiro relato sobre a atividade antiplasmodial dos compostos de *V. websteri*.

Dando continuidade ao estudo anterior que definiu o metabólito 6-(8'Z-pentadecenil)-ácido salicílico (**6-AS**) como responsável pela atividade antiplasmodial do extrato da espécie *Viola websteri*, Chung e colaboradores (2009) em seu estudo definiram a atividade in vivo anti-malária do **6-AS** quando testado contra cepa sensível à cloroquina de *Plasmodium berghei* (ATCC 50175) em camundongos ICR machos. O **6-AS** demonstrou atividade antimalárica in vivo a 5, 10 e 25 mg/kg/dia, demonstrando um significativo efeito esquizontocida no sangue em infecções precoces de quatro dias, quando comparado ao fármaco padrão, cloroquina (5 mg/kg·dia).

Figura 12. Estruturas químicas de compostos isolados de *Viola websteri*.



Fonte: Chung *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009.

4. OBJETIVOS

4.1. Gerais

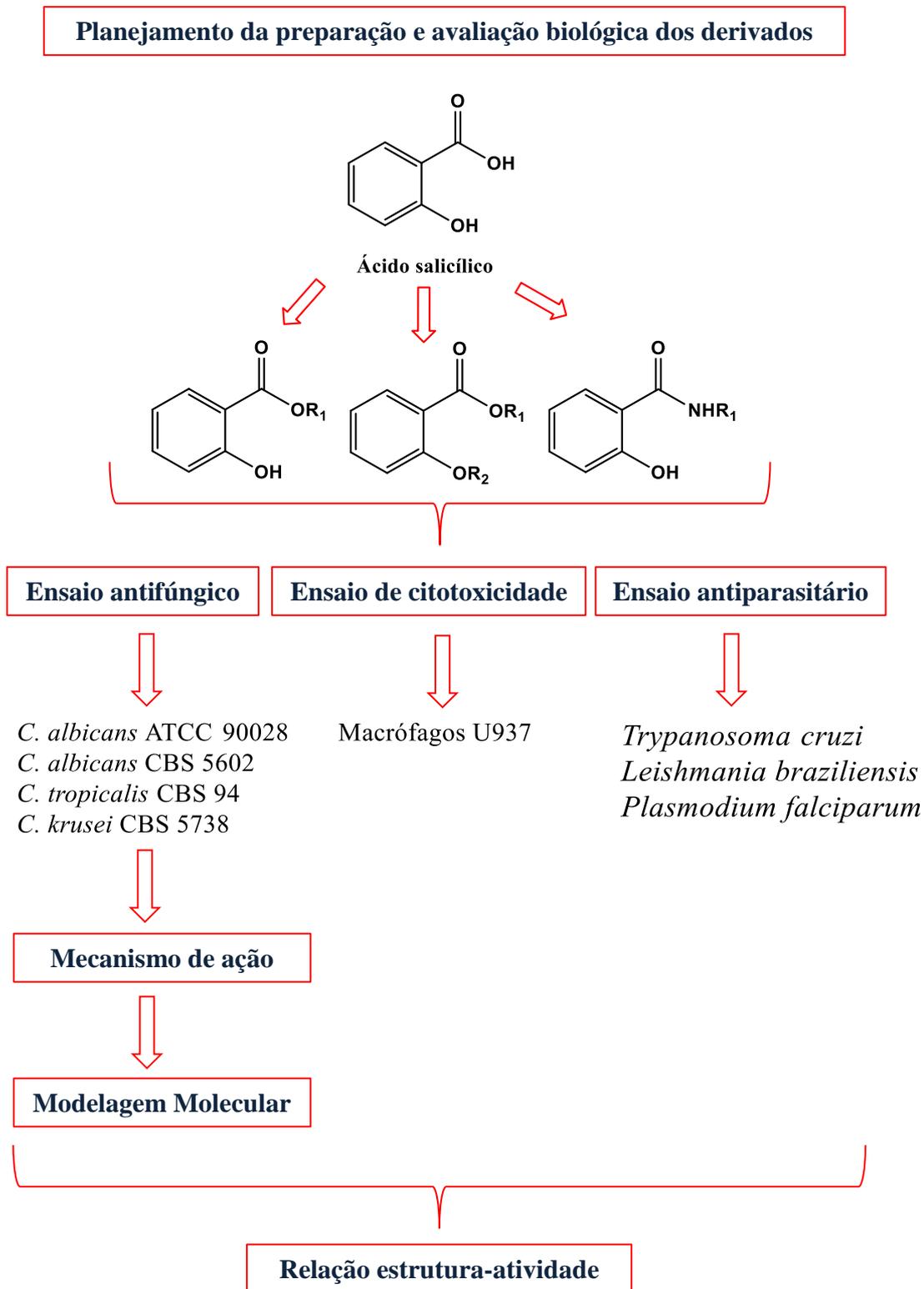
Preparar e avaliar a atividade citotóxica, antiparasitária e antifúngica de uma coleção de derivados do ácido salicílico, estabelecendo uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas.

4.2. Específicos

- Preparar uma coleção de ésteres e amidas derivados do ácido salicílico;
- Realizar avaliação da atividade citotóxica dos derivados;
- Realizar uma triagem leishmanicida dos derivados;
- Realizar uma triagem tripanocida dos derivados;
- Realizar uma triagem antiplasmódica dos derivados;
- Avaliar a ação antifúngica in vitro dos derivados;
- Investigar o possível mecanismo de ação antifúngico;
- Realizar a análise in silico frente a alvos biológicos fúngicos;
- Traçar uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas e estabelecer características químicas estruturais para o desenvolvimento de fármacos antiparasitários e antifúngicos com melhor perfil farmacológico.

5. PLANEJAMENTO DO ESTUDO

Esquema 8. Planejamento das etapas do estudo.



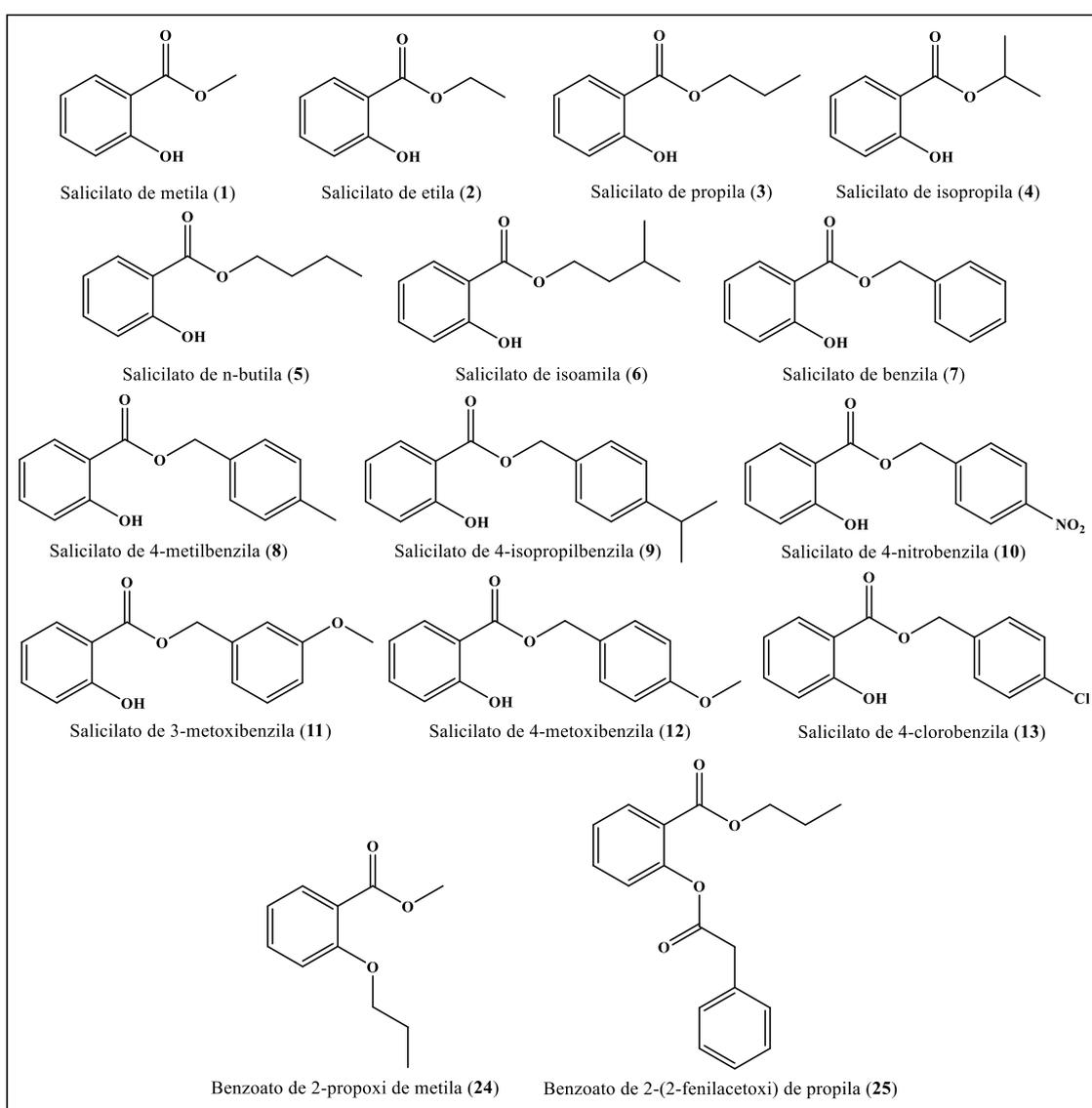
Fonte: Elaborado pela autora.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foi preparada uma série de 25 compostos derivados do ácido salicílico estruturalmente relacionados (Figuras 13 e 14), e submetidas a avaliação antifúngica e antiparasitária. Realizou-se modificações estruturais na cadeia lateral destes compostos através de reação de esterificação de Fischer, reação de Mitsunobu, reação de Schotten-Baumann e reações de *O*-alquilação e *O*-acilação para se avaliar as mudanças na bioatividade dos compostos.

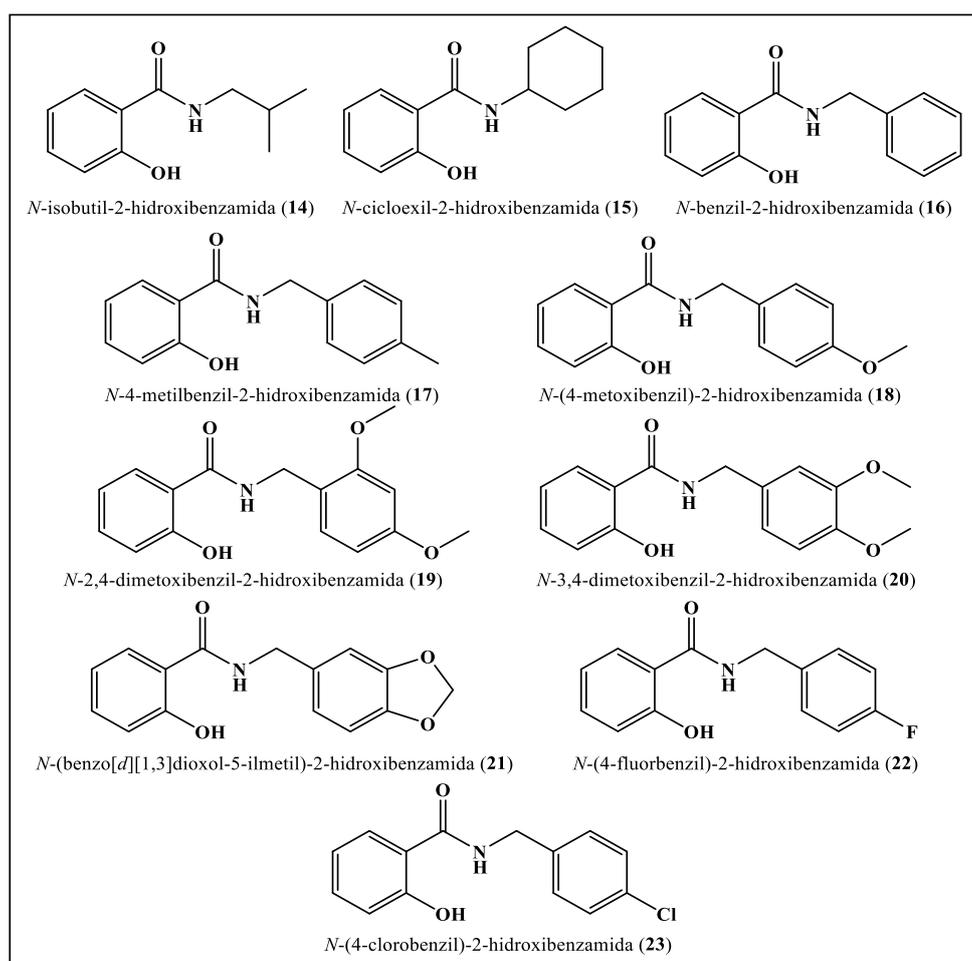
6.1. Etapa de preparação dos derivados 1-25

Figura 13. Estruturas químicas dos salicilatos 1-13, 24 e 25.



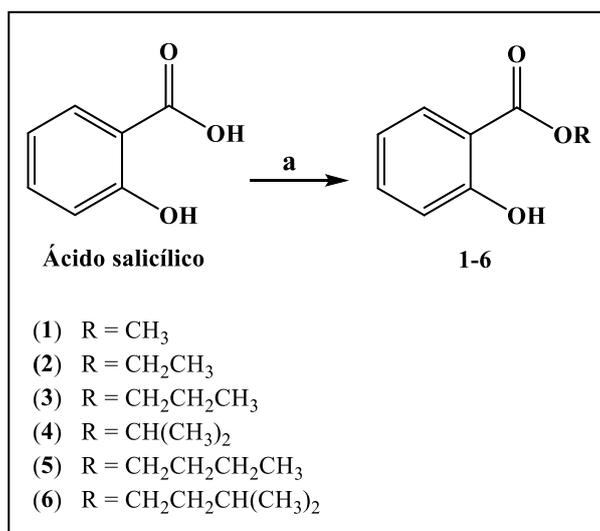
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 14. Estruturas químicas das salicinâmidas 14-23.



Fonte: Elaborado pela autora.

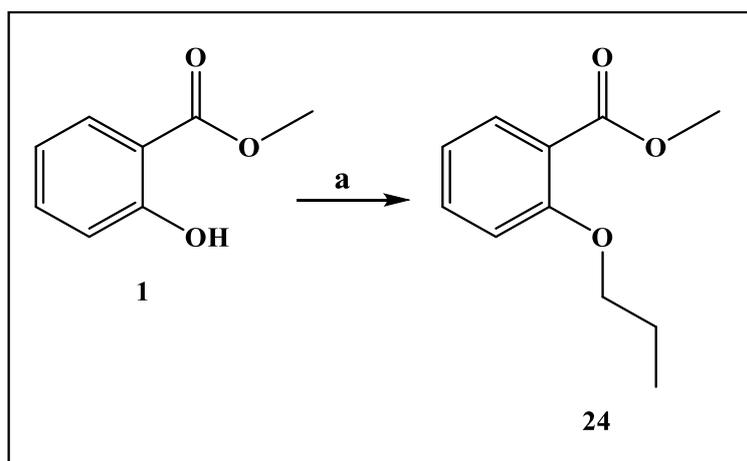
Os salicilatos **1-6** foram preparados através da esterificação de Fischer, reação que ocorre entre o ácido salicílico e o álcool em excesso, na presença de um catalisador, o ácido sulfúrico (H₂SO₄). A reação foi realizada sob refluxo, monitorada por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), segundo a metodologia de Sanderson e colaboradores (2013), conforme **Esquema 9**. Os álcoois utilizados na reação foram o metanol, etanol, isopropanol, 1-propanol, n-butanol e álcool isoamílico. De acordo com a **Tabela 1** (pág. 62) o tempo reacional foi de 16-24 horas, com rendimentos de 36-95,3%. O éster **1** apresentou o maior rendimento.

Esquema 9. Reação de obtenção dos derivados 1-6.

a) ROH, HCl (cat.), refluxo.

Fonte: Elaborado pela autora.

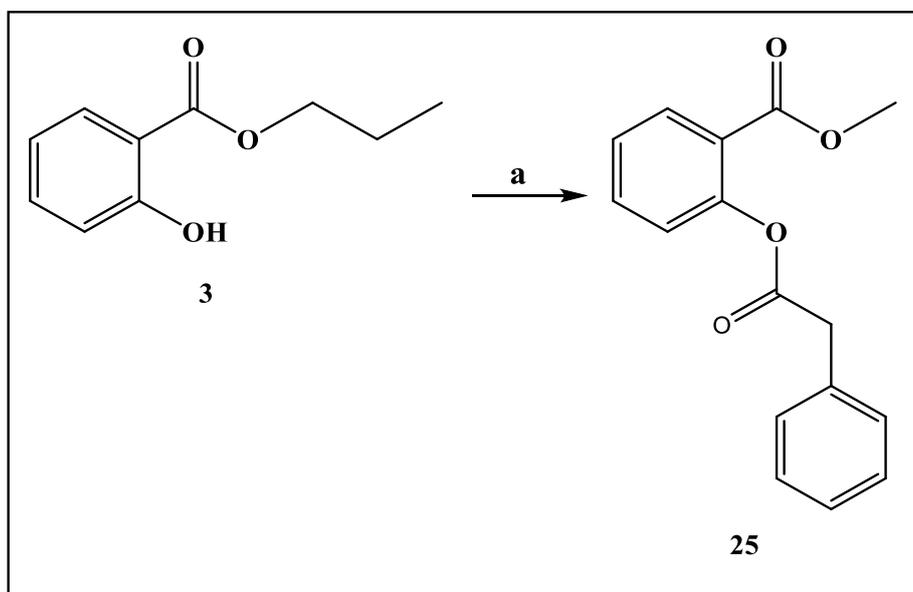
Na obtenção dos salicilatos **7-13** utilizou-se a reação de Mitsunobu, que consistiu na reação entre o álcool benzílico e seus derivados com o ácido salicílico na presença de agentes oxido-redutores como o agente oxidante diisopropil azodicarboxilato (DIAD) e agente redutor trifetilfosfina (PPh₃), em tetrahydrofurano (THF) a temperatura ambiente, conforme o **Esquema 10** (Chapado *et al.*, 2010). Três salicilatos são inéditos na literatura (**8**, **11** e **13**). Os álcoois utilizados nas reações foram: álcool 4-metilbenzílico, álcool benzílico, álcool 4-isopropilbenzílico, álcool 4-nitrobenzílico, álcool 4-metoxibenzílico, álcool 3-metoxibenzílico e o álcool 4-clorobenzenílico. De acordo com a **Tabela 1** (pág. 62), o tempo reacional foi de 72 horas, com rendimentos de 16,3-45,6%. O éster **8** apresentou maior rendimento.

Esquema 11. Reação de obtenção do derivado **24**.

a) Acetona, K₂CO₃, C₃H₇Br, refluxo.

Fonte: Elabora pela autora.

O composto **25** derivado do salicilato **3** foi obtido por meio da reação de *O*-acilação. O procedimento reacional consistiu na utilização do salicilato de propila, cloreto de fenilacetila, em solução aquosa de hidróxido de sódio a 10% (NaOH) conforme demonstrado no **Esquema 12** (Sadeghian, *et al.*, 2008). O tempo reacional foi de 2 horas com rendimento de 27,5% (**Tabela 1**, pág. 62).

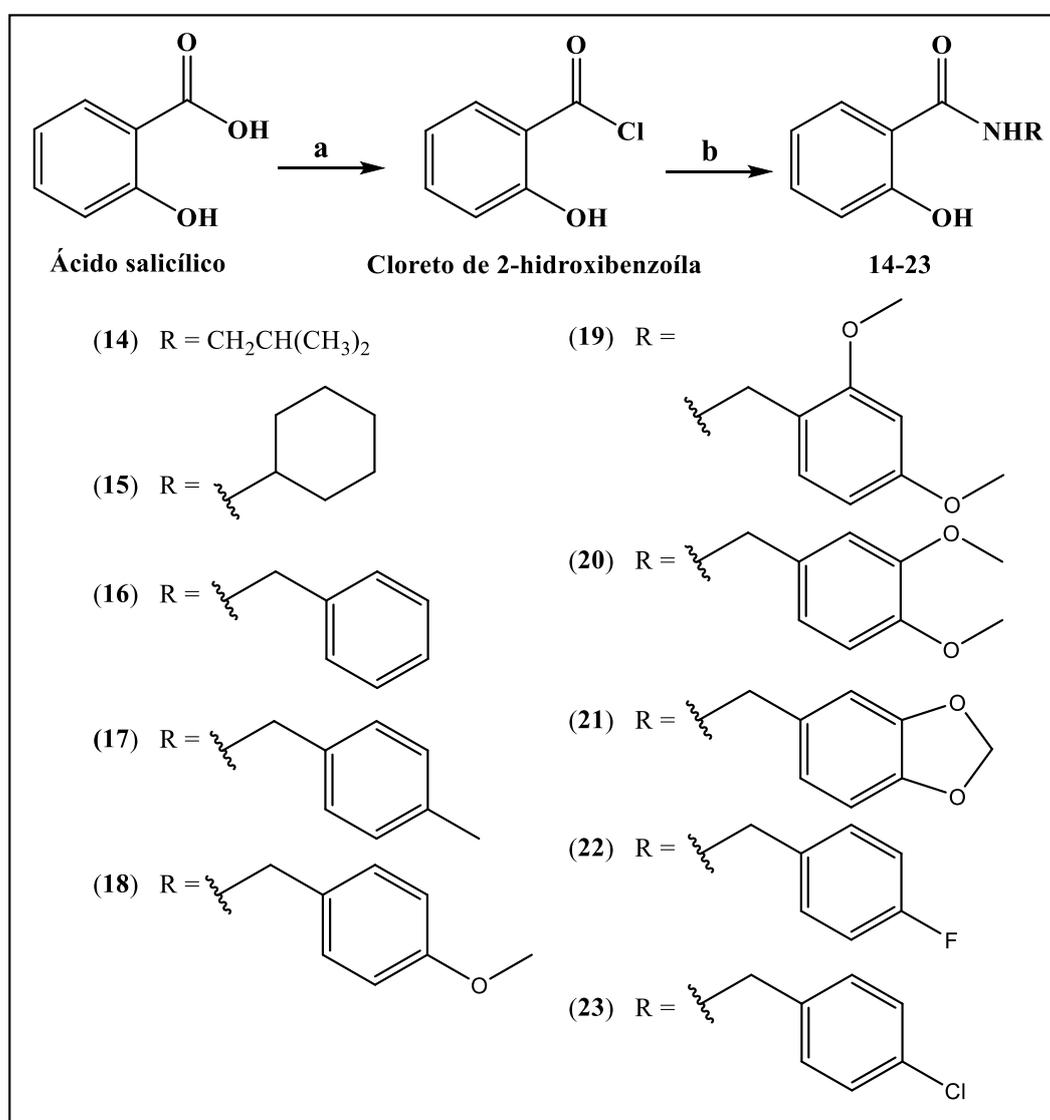
Esquema 12. Reação de obtenção do derivado **25**.

a) NaOH (10%), C₈H₇ClO a t.a.

Fonte: Elaborado pela autora.

A reação para obtenção das benzamidas **14-23** foi realizada em duas etapas. Preparou-se o cloreto ácido reagindo o ácido salicílico com o cloreto de tionila. Em seguida reagiu-se o cloreto ácido com as aminas (Reação de Schotten–Baumann), conforme **Esquema 13** (Ji, xing-yue, *et al.*, 2013). Os produtos **17** e **20** são relatados pela primeira vez na literatura. Foram utilizadas nas reações as aminas: isobutilamina, cicloexilamina, benzilamina, 4-metilbenzilamina, 4-metoxibenzilamina, 3,4-dimetoxibenzilamina, 2,4-dimetoxibenzilamina, piperonilamina, 4-fluorbenzilamina e 4-clorobenzilamina. De acordo com a **tabela 1** (pág. 62) o tempo reacional foi de 4-5 horas, com rendimentos entre 16,7-64,6%, a salicinamida **15** apresentou o maior rendimento.

Esquema 13. Reações de obtenção dos derivados **14-23**.



c) SOCl_2 ; CH_2Cl_2 , refluxo; b) RNH_2 , Et_3N , CH_2Cl_2 , 0°C a t.a. **Fonte:** Elaborado pela autora.

Tabela 1. Dados reacionais dos derivados do ácido salicílico 1-25.

Composto	R	Fórmula molecular	Massa molar (g/mol)	Ponto de fusão [lit.] (°C)	Tempo de reação (h)	Eluente (Hexano/ AcOEt)	Massa (mg)	Quantidade obtida (mmol)	Rendimento (%)
1	CH ₃	C ₈ H ₈ O ₃	152,15	-	I – 16	-	I – 210	1,38	I – 95,3
2	C ₂ H ₆	C ₉ H ₁₀ O ₃	166,18	-	I – 16	-	I – 63,5	0,27	I – 38,1
3	C ₃ H ₈	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180,20	-	I – 22	-	I – 182,3	1,01	I – 69,9
4	C ₃ H ₈	C ₁₀ H ₁₂ O ₃	180,20	-	I – 24	95:5	I – 63,2	0,25	I – 35,1
5	C ₄ H ₁₀	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194,23	-	I – 24	95:5	I – 80,7	0,30	I – 41,6
6	C ₅ H ₁₁	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	208,26	-	I – 24	10:0	I – 112	0,54	I – 37,2
7	C ₇ H ₇	C ₁₄ H ₁₂ O ₃	228,25	-	II – 72	10:0	II – 125	0,55	II – 37,9
8	C ₈ H ₉	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242,27	-	II – 72	10:0	II – 160	0,66	II – 45,7
9	C ₁₀ H ₁₄	C ₁₇ H ₁₈ O ₃	270,33	-	II – 72	95:5	II – 103,8	0,10	II – 26,6
10	C ₇ H ₇ NO ₂	C ₁₄ H ₁₁ NO ₅	273,24	92-93°C	II – 72	95:5	II – 100	0,36	II – 25,3
11	C ₈ H ₉ O	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258,27	-	II – 72	9:1	II – 122	0,47	II – 32,7
12	C ₈ H ₉ O	C ₁₅ H ₁₄ O ₄	258,27	53-54°C	II – 72	9:1	II – 61,4	0,06	II – 16,3
13	C ₇ H ₆ Cl	C ₁₄ H ₁₁ ClO ₃	262,69	61-62°C	II – 72	95:5	II – 170	0,66	II – 45,5
14	C ₄ H ₉	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂	193,25	61-62°C	III e IV – 5	9:1	III – 52	0,27	III – 37,4
15	C ₆ H ₁₁	C ₁₃ H ₁₇ NO ₂	219,28	91-92°C	III e IV – 5	8:2	III – 102	0,46	III – 64,6
16	C ₇ H ₇	C ₁₄ H ₁₃ NO ₂	227,26	130-131°C	III e IV – 4	93:7	III – 64	0,26	III – 39,1
17	C ₈ H ₉	C ₁₅ H ₁₅ NO ₂	241,29	116-117°C	III e IV – 4	8:2	III – 29,3	0,12	III – 16,7
18	C ₈ H ₉	C ₁₅ H ₁₅ NO ₃	257,29	95-96°C	III e IV – 4	9:1	III – 33	0,13	III – 17,8
19	C ₉ H ₁₁ O	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287,32	-	III e IV – 5	8:2	III – 75	0,26	III – 36,3
20	C ₉ H ₁₁ O	C ₁₆ H ₁₇ NO ₄	287,32	128-129°C	III e IV – 4	8:2	III – 84	0,29	III – 40,6
21	C ₈ H ₇ O ₂	C ₁₅ H ₁₃ NO ₄	271,27	138-139°C	III e IV – 4	9:1	III – 116	0,43	III – 59,4
22	C ₇ H ₆ F	C ₁₄ H ₁₂ FNO ₂	245,25	113-114°C	III e IV – 4	9:1	III – 81	0,33	III – 45,9
23	C ₇ H ₆ Cl	C ₁₄ H ₁₂ ClNO ₂	261,71	132-133°C	III e IV – 4	9:1	III – 52	0,20	III – 27,6
24	C ₃ H ₇	C ₁₁ H ₁₄ O ₃	194,23	-	V – 16	97:3	IV – 33	0,16	IV – 22,9
25	C ₈ H ₇ O ₂	C ₁₈ H ₁₈ O ₄	298,34	-	VI – 2	97:3	V – 59	0,20	V – 27,5

I-Reação de Esterificação de Fischer; II- Reação de Mitsunobu; III-Reação com cloreto de tionila; IV- Reação de Schotten-Baumann V- Reação com Haletos Alquílicos; VI- Reação com cloreto de acila. **Fonte:** Elaborado pela autora.

6.2. Análise espectroscópica dos derivados do ácido salicílico

A caracterização estrutural dos compostos foi estabelecida através de dados de IV, RMN de ^1H e ^{13}C , DEPT 135 (composto **18**) e espectrometria de massas de alta resolução para os compostos inéditos.

6.2.1. Interpretação dos espectros na região do infravermelho dos compostos derivados do ácido salicílico 1-25

A análise dos espectros na região do infravermelho dos compostos derivados do ácido salicílico foi realizada segundo os dados da literatura de Silverstein e Webster (2007); Pavia e colaboradores (2010). Pode-se evidenciar a presença de grupos funcionais que são importantes para identificação da molécula.

Na análise dos espectros dos diferentes análogos, as estruturas moleculares dos compostos apresentam o mesmo anel aromático do ácido salicílico. Diante disso, a partir dos espectros na região do infravermelho das substâncias em pastilha KBr foi possível identificar ou determinar alguns sinais característicos norteadores nas amidas obtidas: como bandas de absorção em aproximadamente 3300 cm^{-1} referente ao estiramento N-H de amidas secundárias; uma banda forte entre 1680 a 1630 cm^{-1} atribuído ao estiramento da carbonila de amida (C=O). Os sinais aos pares em torno de 1600 e 1475 cm^{-1} são referentes ao estiramento (C=C) de anéis aromáticos.

Nos ésteres obtidos os sinais norteadores são bandas de estiramento C=O na faixa de 1679 - 1666 cm^{-1} que ocorre devido a ligação intramolecular (interna) de hidrogênio presente, o sinal de C=O é movido para uma frequência mais baixa; sinais em torno de 1600 - 1450 cm^{-1} são referentes ao estiramento (C=C) de anéis aromáticos; o substituinte hidroxil (O-H) apresenta-se com o estiramento (C-O-H) em 1440 - 1220 cm^{-1} ; estiramento C-O atribuída a esta ligação nos ésteres que aparecem com duas bandas na faixa de 1300 a 1000 cm^{-1} .

Os análogos alquílicos são observados bandas de estiramento C-H de alcano abaixo de 3000 cm^{-1} , grupo metilenos com absorção de estiramento em 1465 cm^{-1} e grupos metila em 1375 cm^{-1} .

Nos derivados arílicos, se observa banda de estiramento nas regiões de 900 - 690 cm^{-1} . Para os substituintes presentes na posição *orto* (aneis orto-dissubstituídos), obtém-se uma banda forte próxima de 750 cm^{-1} . Para os substituintes presentes na posição

para, observa-se uma banda forte de vibração de estiramento na região entre 800 - 850 cm^{-1} ; e, os substituintes da posição *meta*, são evidenciadas três bandas, nas regiões entre 700-900 cm^{-1} . Em relação à ligação do substituinte com o carbono do anel aromático, para o substituinte cloro ($\text{Cl-C}_{\text{ANEL}}$) a absorção ocorre entre 1035-1100 cm^{-1} ; Flúor de arila (F-C_{ANEL}) absorve entre 1250 e 1100 cm^{-1} ; o nitrobenzeno absorve intensamente em 1550-1490 e 1350-1315 cm^{-1} .

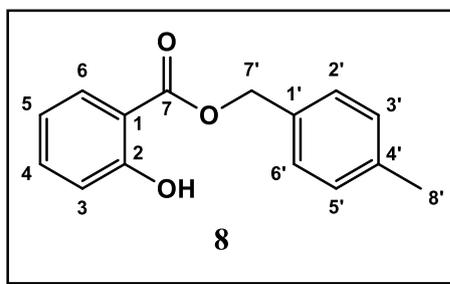
6.2.2. Interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos derivados obtidos

A análise dos espectros de RMN de ^1H dos salicilatos e salicinamidas apresentaram os seguintes sinais em comum: um deslocamento químico entre δH 12,20-10,56 ppm, na forma de um simpleto largo correspondente ao hidrogênio da hidroxila (OH) da estrutura fenólica (sinal presente apenas nos derivados de éster); na região entre δH 7,90-6,80 ppm apresentaram sinais referente aos quatro hidrogênios aromáticos comuns a todos os compostos. As amidas também apresentaram um deslocamento químico entre δH 6,68-6,22 ppm, na forma de um simpleto referente ao hidrogênio do nitrogênio do grupo funcional da amida ($-\text{NH}$). Na análise dos espectros de RMN de ^{13}C demonstraram sete carbonos aromáticos em comum. Um sinal entre δC 170,71-164,64 ppm atribuído ao carbono carbonílico; um sinal entre δC 161,99-161,42 ppm foi atribuído ao carbono ligado à hidroxila. O sinal entre δC 136,39-133,41 ppm indica o carbono na posição *para* do anel; o sinal entre δC 130,20-125,15 ppm é atribuído a um carbono na posição *orto* do anel aromático e o sinal entre δC 126,13-118,49 ppm e entre δC 118,84-117,32 ppm atribuído a dois carbonos *meta*, respectivamente. Além disso, o sinal entre δC 123,72-111,96 ppm é atribuído ao carbono do anel aromático ligado a carbonila do éster.

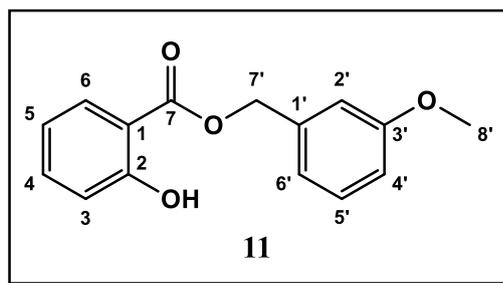
Os compostos **8**, **11**, **13**, **17**, **20** e **25** são inéditos. Todos os espectros apresentaram em comum sinais semelhantes referentes ao núcleo derivado do ácido salicílico. Para análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C as atribuições dos compostos **8**, **11**, **13**, **17**, **20** e **25** (inéditos na literatura) estão representadas nas **Tabelas 2, 3 e 4** (págs. 69, 70 e 71).

No RMN de ^1H demonstrado na **Figura 62** (pág. 162) nota-se os deslocamentos característicos do esqueleto metil-benzílico no composto salicilato de 4-metilbenzila (**8**) apresentou dois dupletos em 7,35 ppm (*d*, $J = 8,0$ Hz) e 7,22 ppm (*d*, $J = 8,0$ Hz), sinais referentes aos H-2'/6', H-3'/5' do anel aromático da cadeia lateral que acoplam entre si,

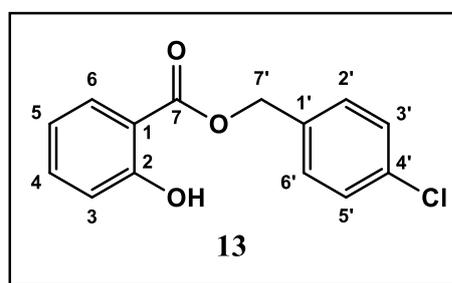
respectivamente; simpleto referente a hidrogênios metilênicos (H-7') em 5,35 ppm, deslocamento químico do hidrogênio do carbono diretamente ligado ao oxigênio do grupo funcional, fundamental para a confirmação do produto; simpleto referente a hidrogênios da metila (H-8') substituinte do anel em 2,38 ppm. No RMN de ^{13}C demonstrado na **Figura 66** (pág. 164) apresentou 13 sinais, sinal em 138,64 ppm referente ao carbono não hidrogenado ligado a metila (C-4'), sinal em 132,48 ppm (C-1') também de carbono não hidrogenado ligado ao carbono metilênico do grupo funcional (C-O), sinais equivalentes em 129,55 ppm (C-3'/5') e 128,63 (C-2'/6') referentes a carbonos do anel aromático da cadeia lateral; sinal em 67,20 ppm (C-7') confirmando que houve a formação da molécula através da reação de Mitsunobu (carbono ligado diretamente ao grupo funcional O-C=O) e um sinal em 21,42 ppm (C-8') referente ao carbono metílico.



O composto salicilato de 3-metoxibenzila (**11**) apresentou no RMN de ^1H conforme a **Figura 81** (pág. 172), tripleto em 7,32 ppm ($t, J = 7,9$ Hz) referente ao H-5', duplo duplete em 7,03 ppm ($dd, J = 7,6; 0,5$ Hz) referente a H-6' e multiplete em 6,99-6,98 ppm (H-2'/4') referente aos hidrogênios do anel aromático da cadeia lateral; apresentou ainda dois simpletos em 5,36 ppm (hidrogênios metilênicos) e em 3,83 ppm (hidrogênios da metoxila substituinte do anel). No RMN de ^{13}C demonstrado na **Figura 85** (pág. 174) apresentou o total de 15 sinais, sinal em 159,73 ppm (C-3') de carbono não hidrogenado ligado a metoxila (OCH₃), sinal em 136,71 (C-1') de carbono não hidrogenado ligado ao carbono metilênico; sinais em 129,66 ppm (C-5'), 119,07 ppm (C-6'), 113,77 ppm (C-2') e 113,73 ppm (C-4') de carbono hidrogenado pertencente ao anel aromático da cadeia lateral; sinal em 66,70 ppm (C-7') e um sinal em 55,18 ppm (C-8') referente ao carbono da metoxila.

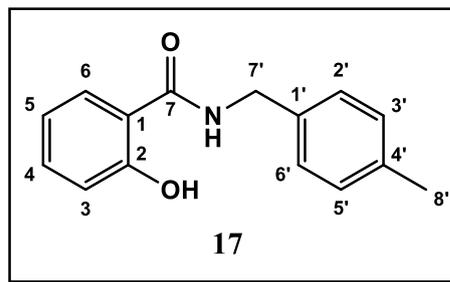


O composto salicilato de 4-clorobenzila (**13**) no RMN de ^1H demonstrado na **Figura 96** (pág. 179) apresentou simpleto em 7,38 ppm referente aos H-2', H-4', H-5' e H-6' do anel aromático da cadeia lateral e um simpleto em 5,35 ppm de hidrogênio metilênico (H-7'), sinais característicos de composto halogenado (C-Cl). No RMN de ^{13}C conforme a **Figura 100** (pág. 181) apresentou o total de 12 sinais, sinal em 134,33 ppm (C-1') de carbono não hydrogenado ligado ao carbono metilênico; sinal em 133,59 ppm (C-4') de carbono não hydrogenado ligado diretamente ao substituinte (Cl); os sinais em 129,52 ppm (C-2', C-6') e 128,78 ppm (C-3', C-5') referente aos carbonos hydrogenados pertencentes ao anel aromático da cadeia lateral; sinal em 65,96 ppm (C-7') de carbono metilênico.

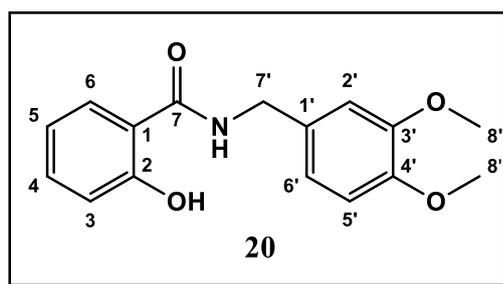


O composto *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**) apresentou no RMN ^1H conforme a **Figura 119** (pág. 191), um duplete largo na região de 7,28 ppm (*dl*, $J = 6,7$ Hz) referente aos H-2'/6' e um duplete largo na região 7,20 ppm (*dl*, $J = 7,9$ Hz) referente aos H-3'/5' do anel aromático da cadeia lateral; duplete em 4,61 ppm referente a hidrogênios metilênicos (H-7'); simpleto referente a hidrogênios da metila substituinte do anel em 2,39 ppm (H-8'). Apresentou no RMN de ^{13}C conforme a **Figura 122** (pág. 192) um total de 13 sinais, sinal em 137,77 ppm (C-4') referente ao carbono não hydrogenado ligado a metila; sinal em 134,50 ppm (C-1') também de carbono não hydrogenado ligado ao carbono do grupo funcional (C-N); sinais em 129,68 ppm (C-3'/5') e 128,04 ppm (C-2'/6') referentes a carbonos do anel aromático da cadeia lateral;

sinal em 43,79 ppm (C-7') de carbono metilênico e um sinal em 21,23 ppm (C-8') referente ao carbono metílico.



O composto *N*-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**20**) apresentou no RMN de ^1H conforme a **Figura 136** (pág. 199), sinais de um tripleto de duplete em 6,89 ppm (*td*, $J = 8,0; 2,0$ Hz) referente a H-2' e um multiplete em 6,85-6,80 ppm (C-5'/6') referente aos hidrogênios do anel aromático da cadeia lateral; duplete em 4,56 ppm referente a hidrogênios metilênicos (H-7') e simpleto em 3,87 ppm (H-8') referente a hidrogênios das duas metoxilas (OCH₃) das posições *meta* e *para* do anel aromático da cadeia lateral. Os espectro de RMN de ^{13}C desmontrado na **Figura 140** (pág. 201) apresentou no total 14 sinais, sinal em 149,09 ppm de carbono do anel aromático ligado a metoxila (C-3'); sinal em 148,58 ppm de carbono do anel aromático ligado a outra metoxila (C-4'); sinal em 129,68 ppm de carbono não hidrogenado (C-1'); sinal em 120,16 ppm do C-6'; sinal em 111,10 ppm (C-2', C-5'); sinal em 55,77 referente a carbonos das duas metoxilas (3',4'-MeO); e sinal em 43,43 ppm de carbono metilênico (C-7').



O composto benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**) é derivado do composto **3**, portanto apresentou o núcleo principal com sinais semelhantes. O espectro de RMN de ^1H demonstrado na **Figura 164** (pág. 213) apresentou um duplo duplete em 8,02 ppm (*dd*, $J = 7,9; 1,6$ Hz) e duplete de duplete de duplete em 7,52 ppm (*ddd*, $J = 8,0; 7,5; 1,7$ Hz) referentes aos hidrogênios do anel aromático (H-6 e H-4, respectivamente) similar ao composto **3**; apresentou um multiplete em 7,44-7,35 ppm

referente a H-4'', H-5'', H-7'' e H-8'' da porção adicionada oriunda do cloreto; multiplete em 7,33-7,28 ppm referente H-3/5 e duplo duplete em 7,05 (*dd*, $J = 8,1; 0,9$ Hz) de H-6'' do anel aromático da cadeia lateral; tripleto em 4,21 ppm (*t*, $J = 6,8$ Hz) de hidrogênio metilênico oriundo do composto **3** (H-1'); simpleto em 3,96 ppm de hidrogênio metilênico da cadeia lateral (H-2''); sexteto em 1,75 ppm (*sex*, $J = 7,4$ Hz) de hidrogênio metilênico (H-2') e tripleto em 1,01 ppm (*t*, $J = 7,4$ Hz) de hidrogênio metílico (H-3'). No RMN de ^{13}C conforme a **Figura 167** (pág. 215) o composto **25** apresentou o núcleo principal com os sinais semelhantes em comum ao composto **3** (C-7, C-2, C-4, C-6, C-5, C-3, C-1, C-1', C-2' e C-3'), apresentou sinal do carbono carbonílico da cadeia lateral em 170,33 ppm (C-1'') que se apresenta desprotegido devido a eletronegatividade do oxigênio da carbonila; sinal em 133,55 ppm (C-3'') de carbono não hidrogenado; sinais em 129,73 ppm (C-4''/8''); 128,72 ppm (C-5''/7'') e 127,36 ppm (C-6'') referente a carbonos hidrogenados pertencentes ao anel aromático da cadeia lateral; e um sinal em 41,19 ppm (C-2'') indicativo de carbono hidrogenado ligado diretamente a carbonila (C=O).

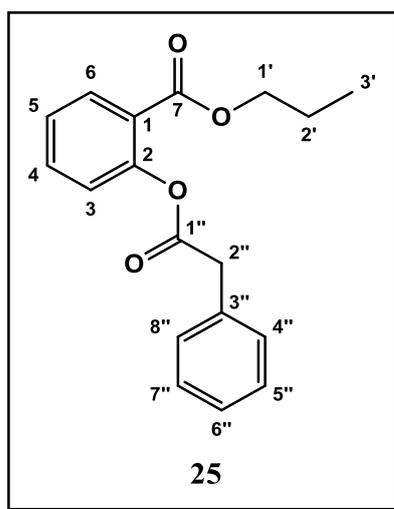


Tabela 2. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (**8** e **11**).

Posição	8		11	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	112,67	-	112,28
2	-	161,89	-	161,64
3	6,99 (<i>ddd</i> , $J = 8,4; 1,1; 0,4$ Hz, 1H)	119,32	6,92-6,86 (<i>m</i> , 1H)	117,49
4	7,47-7,43 (<i>m</i> , 1H)	135,92	7,46 (<i>ddd</i> , $J = 8,4; 7,3; 1,5$ Hz, 1H)	135,70
5	6,86 (<i>t</i> , $J = 8,0; 7,2; 1,1$ Hz, 1H)	117,74	6,92-6,86 (<i>m</i> , 1H)	120,28
6	7,89 (<i>ddd</i> $J = 8,0; 1,8; 0,4$ Hz, 1H)	130,20	7,89 (<i>dd</i> , $J = 8,0; 1,7$ Hz, 1H)	129,89
7	-	170,17	-	169,83
OH	10,78 (<i>s</i> , 1H)	-	10,73 (<i>s</i> , 1H)	-
1'	-	132,48	-	136,71
2'	7,35 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	128,63	6,99-6,98 (<i>m</i> , 1H)	113,77
3'	7,22 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	129,55	-	159,73
4'	-	138,64	6,99-6,98 (<i>m</i> , 1H)	113,73
5'	7,22 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	129,55	7,32 (<i>t</i> , $J = 7,9$ Hz, 1H)	129,66
6'	7,35 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	128,63	7,03 (<i>d</i> , $J = 7,6$ Hz, 1H)	119,07
7'	5,35 (<i>s</i> , 2H)	67,20	5,36 (<i>s</i> , 2H)	66,70
8'	2,38 (<i>s</i> , 3H)	21,42	3,83 (<i>s</i> , 3H)	55,18

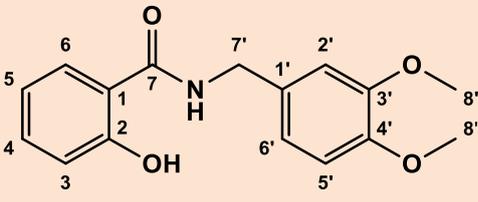
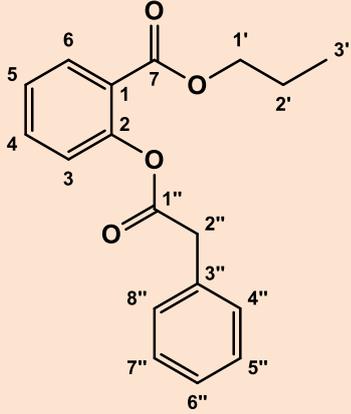
Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (13 e 17).

Posição	13		17	
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	112,02	-	114,31
2	-	161,58	-	161,73
3	6,99 (<i>dd</i> , $J = 8,4; 0,8$ Hz, 1H)	117,48	7,02 (<i>dd</i> , $J = 8,3; 0,7$ Hz, 1H)	118,75
4	7,47 (<i>ddd</i> , $J = 8,4; 7,3; 1,7$ Hz, 1H)	135,79	7,37 (<i>dd</i> , $J = 1,3; 8,0$ Hz, 1H)	134,38
5	6,88 (<i>ddd</i> , $J = 8,0; 7,2; 1,1$ Hz, 1H)	119,07	6,87-6,82 (<i>m</i> , 1H)	118,76
6	7,86 (<i>ddd</i> , $J = 8,0; 1,7; 0,2$ Hz, 1H)	129,73	7,44-7,39 (<i>m</i> , 1H)	125,47
7	-	169,67	-	169,89
OH	10,69 (<i>s</i> , 1H)	-	-	-
NH	-	-	6,63 (<i>sl</i> , 1H)	-
1'	-	134,33	-	134,50
2'	7,38 (<i>s</i> , 1H)	129,52	7,28 (<i>dl</i> $J = 6,7$ Hz, 1H)	128,04
3'	7,38 (<i>s</i> , 1H)	128,78	7,20 (<i>dl</i> $J = 7,9$ Hz, 1H)	129,68
4'	-	133,59	-	137,77
5'	7,38 (<i>s</i> , 1H)	128,78	7,20 (<i>dl</i> $J = 7,9$ Hz, 1H)	129,68
6'	7,38 (<i>s</i> , 1H)	129,52	7,28 (<i>dl</i> $J = 6,7$ Hz, 1H)	128,04
7'	5,35 (<i>s</i> , 2H)	65,96	4,61 (<i>d</i> , $J = 5,6$ Hz, 2H)	43,64
8'	-	-	2,39 (<i>s</i> , 3H)	21,23

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4. Deslocamentos químicos de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos inéditos (20 e 25).

	20		25	
Posição				
	δ_{H}	δ_{C}	δ_{H}	δ_{C}
1	-	113,93	-	123,72
2	-	161,42	-	150,76
3	7,01-6,98 (<i>m</i> , 1H)	118,49	7,33-7,28 (<i>m</i> , 1H)	123,82
4	7,35 (<i>dd</i> , $J = 8,0; 1,5$ Hz, 1H)	134,15	7,52 (<i>ddd</i> , 8,0; 7,5; 1,7 Hz, 1H)	133,74
5	6,89 (<i>td</i> , $J = 8,0; 2,0$ Hz, 1H)	118,48	7,33-7,28 (<i>m</i> , 1H)	126,13
6	7,39 (<i>ddd</i> , $J = 8,4; 7,2; 1,6$ Hz, 1H)	125,16	8,02 (<i>dd</i> , $J = 7,9; 1,6$ Hz, 1H)	131,76
7	-	169,55	-	164,65
OH	-	-	-	-
NH	6,60 (<i>sl</i> , 1H)	-	-	-
1'	-	129,68	4,21 (<i>t</i> , $J = 6,8$ Hz, 2H)	66,81
2'	6,89 (<i>td</i> , $J = 8,0; 2,0$ Hz, 1H)	111,10	1,75 (<i>sex</i> , $J = 7,4$ Hz, 2H)	22,16
3'	-	149,09	1,01 (<i>t</i> , $J = 7,4$ Hz, 3H)	10,57
4'	-	148,58	-	-
5'	6,85-6,80 (<i>m</i> , 1H)	111,10	-	-
6'	6,85-6,80 (<i>m</i> , 1H)	120,16	-	-
7'	4,56 (<i>d</i> , $J = 5,6$ Hz, 2H)	43,43	-	-
8'	3,87 (<i>s</i> , 6H)	55,76	-	-
1''	-	-	-	170,33
2''	-	-	3,96 (<i>s</i> , 2H)	41,19
3''	-	-	-	133,55
4''	-	-	7,44-7,35 (<i>m</i> , 1H)	129,73
5''	-	-	7,44-7,35 (<i>m</i> , 1H)	128,72
6''	-	-	7,05 (<i>dd</i> , $J = 8,1; 0,9$ Hz, 1H)	127,36
7''	-	-	7,44-7,35 (<i>m</i> , 1H)	128,72
8''	-	-	7,44-7,35 (<i>m</i> , 1H)	129,73

Fonte: Elaborado pela autora.

6.2.3. Interpretação dos espectros de massas dos compostos 8, 11, 13, 17, 20 e 25.

Os espectros de massas dos compostos inéditos na literatura foram obtidos por espectrômetro de massas de alta resolução, o qual permitiu a obtenção das massas com elevada exatidão dos compostos derivados do ácido salicílico. A análise detectou a razão massa/carga (m/z) do pico do íon molecular protonado e/ou associado ao sódio com precisão de quatro casas decimais, os valores encontrados podem ser observados na **tabela 5** (pág. 72). O composto **8** apresenta um valor teórico m/z de 243,1015 e foi

confirmado através da presença do íon m/z de 243,1013 ($C_{15}H_{14}O_3+H$)⁺. O composto **11** apresenta um valor teórico m/z de 259,0964 e foi confirmado através da presença do íon m/z 259,0962 ($C_{15}H_{14}O_4+H$)⁺. O composto **13** apresenta um valor teórico m/z de 263,0469 e foi confirmado através da presença do íon m/z 263,0467 ($C_{14}H_{11}ClO_3+H$)⁺. O composto **17** apresenta um valor teórico m/z de 242,1175 e foi confirmado através da presença do íon m/z 242,1175 ($C_{15}H_{15}NO_2+H$)⁺. O composto **20** apresenta um valor teórico m/z de 288,1230 e foi confirmado através da presença do íon m/z 288,1227 ($C_{16}H_{17}NO_4+H$)⁺. O composto **25** apresenta um valor teórico m/z de 321,1102 e foi confirmado através da presença do íon m/z de 321,1109 ($C_{18}H_{18}O_4+Na$)⁺.

Tabela 5. Dados espectrométricos de massas de alta resolução dos compostos **8**, **11**, **13**, **17**, **20** e **25**.

Compostos	Pico íon molecular	m/z teórico	m/z medido	Erro percentual (ppm)
8	[M+H] ⁺	243,1015	243,1013	- 0,8227
11	[M+H] ⁺	259,0964	259,0962	- 0,77191
13	[M+H] ⁺	263,0469	263,0467	- 0,76032
17	[M+H] ⁺	242,1175	242,1175	-
20	[M+H] ⁺	288,1230	288,1227	- 1,04122
25	[M+Na] ⁺	321,1102	321,1109	- 0,21799

Fonte: Elaborado pela autora.

6.2.4. Avaliação da atividade antiparasitária

Os derivados **1**, **3**, **6-10**, **12**, **14**, **15**, **17** e **20** foram obtidos no início da execução do projeto, no período surgiu à oportunidade de realizar os testes antiparasitários com o grupo de pesquisa da Dr. Sara Maria Robledo. Os doze compostos foram avaliados quanto à sua atividade citotóxica em macrófagos U-937 (LC₅₀), assim como também foram submetidos à avaliação da atividade antiparasitária, os resultados foram descritos usando a concentração efetiva de 50% (EC₅₀) em células amastigotas de *Leishmania braziliensis*, contra formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi* e culturas assincronizadas de *Plasmodium falciparum* 3D7 (**Tabela 6**, págs. 76 e 77).

A atividade antiparasitária foi classificada em alta, moderada ou baixa de acordo com os valores de EC₅₀, sendo: alta atividade quando a EC₅₀ foi <25 µg/mL; atividade moderada EC₅₀ na faixa de 25-50 µg/mL e baixa atividade quando a EC₅₀ foi >50

$\mu\text{g/mL}$. O Índice de Seletividade (IS) foi calculado dividindo-se a atividade citotóxica e a atividade antiparasitária utilizando a seguinte fórmula: $\text{IS} = \text{LC}_{50}/\text{EC}_{50}$.

6.2.4.1. Atividade citotóxica contra macrófagos U-937

A atividade citotóxica dos compostos foi avaliada pela viabilidade da linhagem celular promonocítica humana U-937 (ATCC CRL-1593.2TM) pelo método de MTT (Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio). O efeito dos compostos foi determinado através da medição da atividade da desidrogenase mitocondrial da célula (Taylor *et al.*, 2011).

A toxicidade foi definida de acordo com os valores de CL_{50} , utilizando a seguinte escala: Tóxico; $\text{CL}_{50} < 100 \mu\text{M}$; moderadamente tóxico; $\text{CL}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ e $< 200 \mu\text{M}$ e potencialmente não tóxico; $\text{CL}_{50} > 200 \mu\text{M}$.

Em geral os compostos apresentaram valores de LC_{50} elevados, quando comparado ao controle utilizado (doxiciclina). Sendo possível inferir que as características estruturais inseridas nos derivados não levaram a obtenção de uma molécula com perfil citotóxico significativo, servindo de partida para posteriores modificações estruturais desses compostos para se obter uma molécula com atividade potencializada.

6.2.4.2. Atividade leishmanicida in vitro

Todos os derivados submetidos ao ensaio leishmanicida apresentaram baixos índices de seletividade e conseqüentemente uma atividade leishmanicida muito fraca. A anfotericina B foi utilizada como controle e apresentou $\text{EC}_{50} = 0,32 \pm 0,08 \mu\text{M}$ (IS = 128). Observaram-se nos derivados **8**, **10**, **12**, **15** e **17** os menores valores de EC_{50} . Pode-se inferir que compostos arílicos monossustituídos com a presença de metila (doador de elétrons) na posição *para* do anel no salicilato de 4-metilbenzila (**8**) ($16,88 \pm 0,62 \mu\text{M}$, IS = 3,22) e na salicinamida *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**) ($15,09 \pm 2,03 \mu\text{M}$, IS = 2,38), substituinte NO_2 (retirador de elétrons) na posição *para* no salicilato de 4-nitrobenzila (**10**) ($25,75 \pm 0,81 \mu\text{M}$, IS = 3,07), metoxila (doador de elétrons) na posição *para* no salicilato de 4-metoxibenzila (**12**) ($17,46 \pm 2,48 \mu\text{M}$, IS = 2,85) e salicinamida com cadeia lateral constituída por anel ciclohexano na *N*-ciclohexil-2-hidroxibenzamida (**15**) ($15,60 \pm 2,69 \mu\text{M}$, IS = 2,67) contribuem para uma diminuição da EC_{50} , quando se compara aos compostos **1**, **3**, **6** e **14** que apresentaram cadeia alquílica na porção lateral e com os compostos **7** e **9**, que

apresentam anel aromático sem substituição e anel aromático monossubstituído por grupo volumoso (isopropil), respectivamente, e tiveram os valores mais elevados de EC_{50} . Os resultados apresentados são semelhantes aos dados obtidos no estudo realizado por Nóbrega *et al.*, (2019) frente *Leishmania (L.) amazonensis* com amidas cinâmicas com a cadeia lateral semelhante aos compostos **15**, **17** e **20**, que apresentaram atividade leishmanicida baixa.

6.2.4.3. Atividade tripanocida in vitro

Todos os compostos apresentaram baixos índices de seletividade quando comparados com o benznidazol (EC_{50} $55,56 \pm 0,38 \mu\text{M}$, IS = 13,8) utilizado como controle, sugerindo que a atividade tripanocida foi fraca. Por outro lado, os valores de EC_{50} se apresentaram mais baixos ou próximos ao controle nos compostos **3**, **6**, **8**, **10**, **12**, **14**, **15**, **17** e **20**. O salicilato de metila (**1**) apresentou EC_{50} de $101,87 \pm 2,56 \mu\text{M}$ (IS = 0,81), mas quando comparado ao salicilato de propila (**3**), o aumento da cadeia alquila gerou aumento na potência, apresentando um $EC_{50} > 38,85 \mu\text{M}$ (IS = 1,96), assim como no composto **6** que apresentou EC_{50} semelhante ao composto **3** com valor $> 38,44 \mu\text{M}$ (IS = 1,68). Corroborando com esse resultado Lopes *et al.*, (2019) realizou estudo com derivados *p*-cumáricos frente *Trypanosoma cruzi*, onde os derivados contendo radicais *n*-propil e isopentil apresentaram atividade tripanocida. Os compostos com grupos volumosos na cadeia lateral como anel aromático monossubstituído por metila na posição *para* em **8** (EC_{50} $48,83 \pm 14,41 \mu\text{M}$) e **17** ($27,56 \pm 3,61 \mu\text{M}$, IS = 1,30), substituinte NO_2 na posição *para* (**10**) (EC_{50} $33,11 \pm 8,21 \mu\text{M}$, IS = 2,38), metoxila na posição *para* (**12**) ($EC_{50} > 23,23 \mu\text{M}$, IS = 2,41), anel aromático dissubstituído por metoxilas na posição *meta* e *para* na *N*-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**20**) ($36,13 \pm 0,56 \mu\text{M}$, IS = 1,49), e a presença de um substituinte ciclohexano na cadeia lateral (**15**) ($31,47 \pm 3,88 \mu\text{M}$, IS = 1,31) também demonstram valores de EC_{50} próximos ao controle.

Os resultados mostram que alguns compostos possuem ação tóxica sobre o parasita, porém com baixa seletividade. Modificações estruturais podem ser realizadas com o objetivo de aumentar essa seletividade e obter compostos com potencial antiparasitário contra o *T. cruzi*.

6.2.4.4. Atividade antiplasmódica in vitro

Em comparação com a cloroquina utilizada como controle (EC_{50} $10,47 \pm 1,22$ μ M, IS = 14,1), os compostos testados apresentaram atividade antiparasitária muito fraca frente à avaliação antiplasmódica. Os altos índices de seletividade demonstram que os derivados avaliados não demonstraram potencial biológico significativo frente *P. falciparum*.

Tabela 6. Citotoxicidade e avaliação leishmanicida dos compostos **1, 3, 6-10, 12, 14, 15, 17 e 20.**

Compostos	Macrófagos U-937	Avaliação Leishmanicida		Avaliação Tripanocida		Avaliação Antiplasmódica	
	LC ₅₀ μM (μg/mL)	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS
1	82,55 ± 18,99	137,23 ± 27,28	0,6	101,87 ± 2,56	0,81	678,15 ± 118,17	0,12
	(12,56 ± 2,89)	(20,88 ± 4,15)		(15,5 ± 0,39)		(103,18 ± 17,98)	
3	76,24 ± 6,05	213,15 ± 51,55	0,36	>38,85	<1,96	516,20 ± 64,15	0,15
	(13,74 ± 1,09)	(38,41 ± 9,29)		(>7)		(93,02 ± 11,56)	
6	75,96 ± 4,51	65,58 ± 18,92	1,18	>38,44	<1,68	515,80 ± 88,50	0,15
	(15,82 ± 0,94)	(13,45 ± 3,94)		(>8)		(107,42 ± 18,43)	
7	141,07 ± 27,60	78,95 ± 14,55	1,79	136,08 ± 22,34	1,04	244,21 ± 24,40	0,58
	(32,2 ± 6,3)	(18,02 ± 3,32)		(31,06 ± 5,1)		(55,74 ± 5,57)	
8	54,36 ± 3,14	16,88 ± 0,62	3,22	48,83 ± 14,41	1,11	597,27 ± 177,53	0,09
	(13,17 ± 0,76)	(4,09 ± 0,15)		(11,83 ± 3,49)		(144,7 ± 43,01)	
9	281,36 ± 45,01	112,76 ± 13,83	2,5	252,71 ± 24,85	1,1	97,97 ± 14,13	2,87
	(76,88 ± 12,30)	(30,81 ± 3,78)		(69,05 ± 6,79)		(26,77 ± 3,86)	
10	78,87 ± 1,89	25,75 ± 0,81	3,07	33,11 ± 8,21	2,38	107,31 ± 8,58	0,73
	(21,32 ± 0,51)	(6,96 ± 0,22)		(8,95 ± 2,22)		(29,01 ± 2,32)	
12	49,83 ± 6,74	17,46 ± 2,48	2,85	>23,23	<2,41	117,44 ± 11,54	0,42
	(12,87 ± 1,74)	(4,51 ± 0,64)		(>6)		(30,33 ± 2,98)	
14	58,53 ± 7,87	68,77 ± 1,03	0,85	58,73 ± 5,85	1,0	168,23 ± 24,89	0,35
	(11,31 ± 1,52)	(13,29 ± 0,2)		(11,35 ± 1,13)		(32,51 ± 4,81)	

Tabela 6. Cont. Citotoxicidade e avaliação leishmanicida de compostos **1, 3, 6-10, 12, 14, 15, 17 e 20.**

Compostos	Macrófagos U-937	Avaliação Leishmanicida		Avaliação Tripanocida		Avaliação Antiplasmódica	
	LC ₅₀ μM (μg/mL)	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS	EC ₅₀ μM (μg/mL)	IS
15	41,64 ± 2,10	15,60 ± 2,69	2,67	31,47 ± 3,88	1,31	140,55 ± 2,14	0,3
	(9,13 ± 0,46)	(3,42 ± 0,59)		(6,99 ± 0,85)		(30,82 ± 0,47)	
17	35,93 ± 1,62	15,09 ± 2,03	2,38	27,56 ± 3,61	1,3	180,20 ± 20,27	0,2
	(8,67 ± 0,39)	(3,64 ± 0,49)		(6,65 ± 0,87)		(43,48 ± 4,89)	
20	53,70 ± 8,35	53,60 ± 6,23	1,0	36,13 ± 0,56	1,49	136,36 ± 8,77	0,39
	(15,43 ± 2,4)	(15,4 ± 1,79)		(10,38 ± 0,16)		(39,18 ± 2,52)	
^a DOX	2,03 ± 0,45 (0,9 ± 0,2)	-	-	-	-	-	-
^b AMB	41,55 ± 6,81 (38,4 ± 6,3)	0,32 ± 0,08 (0,3 ± 0,07)	128	-	-	-	-
^c BENZ	> 768,49 (>200)	-	-	55,56 ± 0,38 (14,46 ± 0,1)	>13,8	-	-
^d CQ	147,75 ± 15,32 (47,26 ± 4,9)	-	-	-	-	10,47 ± 1,22 (3,35 ± 0,39)	14,1

Os dados representam valores médios ± desvio padrão. ^aDOX: controle da citotoxicidade. ^bAMB: anfotericina B, controle de drogas leishmanicidas. ^cBENZ: controle de fármaco anti-*Trypanosoma*: benzonidazol. ^dCQ: sal de difosfato de cloroquina, controle com fármaco antimalárico.

Fonte: Elaboradora pela autora.

6.2.5 Avaliação da atividade antifúngica dos derivados 1-25

A atividade antifúngica dos derivados foi avaliada através da sua Concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração fungicida mínima (CFM) contra cepas de *Candida*: *C. albicans* (ATCC 90028), *C. albicans* (CBS 5602), *C. tropicalis* (CBS 94), *C. krusei* (CBS 573) (**Tabela 7**, pág. 81). O método utilizado para obtenção da CIM dos compostos foi o teste de microdiluição, em placas de 96 poços (CLSI, 2008). Oito salicinamidas (**14**, **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **22** e **23**) apresentaram atividade inibitória contra pelo menos uma cepa fúngica e ação fungicida contra todas as cepas testadas. No entanto, o ácido salicílico e os salicilatos não demonstraram atividade antifúngica, sugerindo que a presença da função éster nos compostos resulta em inatividade contra todas as cepas.

A partir dos valores da CIM, a bioatividade dos compostos **1-25** foi classificada com base nas seguintes categorias: 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) (ALVES et al., 2021). A **tabela 7** apresenta a CIM, a CFM, bem como a relação CFM/CIM que informa sobre a capacidade fungicida (CFM/CIM < 4) ou fungistática (CFM/CIM > 4) das moléculas **1-25**. Os resultados obtidos nessa primeira avaliação são discutidos adiante.

As salicinamidas **14**, **15**, **17**, **18**, **22** e **23** foram ativas contra a cepa de *C. albicans* ATCC 90028 em concentrações que variaram de 485,83 µM - 4077,47 µM. Os compostos **15** e **18** apresentaram o melhor desempenho antifúngico com CIMs de 570,05 µM e 485,83 µM, respectivamente. Pode-se inferir que ambos os substituintes ciclohexil (**15**) e 4-metoxi-benzil (**18**) aumentam a potência antifúngica dos dois compostos na maioria das cepas testadas. O composto **14** (grupo isobutil) apresentou CIM de 1293,73 µM, da mesma forma que os compostos *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**) e *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**) que demonstraram um maior valor de CIM de 1910,58 µM e 2072,20 µM, respectivamente, bioatividade considerada fraca quando comparado com os demais compostos. O composto *N*-4-fluorobenzil-2-hidroxibenzamida (**22**) apresentou CIM na maior concentração testada (CIM = 4077,47 µM), sugerindo que a presença de um halogênio como o flúor na posição *para* do anel aromático contribuiu para a bioatividade muito fraca.

Nos testes contra *C. albicans* CBS 5602, os compostos bioativos foram **14**, **15**, **16**, **17**, **18** e **22** em concentrações variando de 485,83 μM - 2072,20 μM . Os compostos **15**, **16** e **18** foram os mais potentes contra *C. albicans* CBS 5602 apresentando CIMs respectivas de 570,05 μM , 550,03 μM e 485,83 μM . Sugerindo que os substituintes ciclohexil (**15**), benzílico (**16**) e anel aromático monossobstituído por metoxila na posição *para* (**18**) potencializam a atividade antifúngica. As salicinamidas **17** e **22** foram equipotentes (CIM de 2072,20 μM e 2038,74 μM , respectivamente), demonstrando atividade fraca, assim como a salicinamida **14** (CIM de 1293,73 μM), é possível sugerir que a presença de grupo isobutílico (volumoso) (**14**), de anel aromático monossobstituído com metila na posição *para* (**17**) e do flúor na posição *para* do anel aromático (**22**) da cadeia lateral dos compostos contribuem para a bioatividade fraca.

No teste contra *C. tropicalis* CBS 94, os compostos bioativos foram **14**, **15**, **18** e **22** com concentrações variando de 1140,10 μM - 2587,46 μM . O composto **15** foi o mais potente apresentou CIM de 1140,10 μM , bioatividade considerada fraca. Os compostos **14**, **18** e **22** apresentaram aumento das CIMs (2587,46 μM , 1943,33 μM e 2038,74 μM , respectivamente).

Nos testes contra *C. krusei* CBS 573, os compostos bioativos foram **14**, **15**, **16**, **17**, **18**, **19**, **22** e **23** com valores de CIM entre 485,83 μM - 2072,20 μM . Os compostos **15** e **18** apresentaram os menores valores de CIM (570,05 μM e 485,83 μM , respectivamente) contra *C. krusei* CBS 573, com atividade semelhante aos testes contra *C. albicans* ATCC 90028. Observou-se que a presença de uma cadeia lateral alquílica de seis membros (**15**) ou um substituinte 4-metoxi-benzil (**18**) potencializa a atividade antifúngica. Os compostos **14** e **16** apresentaram atividade fraca semelhante (CIM = 1293,73 μM e 1100,06 μM , respectivamente). Os compostos **17**, **19**, **22** e **23** apresentaram atividade semelhante, porém com maiores valores de CIM (2072,20 μM , 1740,28 μM , 2038,74 μM e 1910,58 μM , respectivamente), demonstrando bioatividade fraca. Corroborando com os resultados do composto **23** (CIM = 500 $\mu\text{g/mL}$), Perez-Castillo *et al.*, 2022 apresentou resultados semelhantes em avaliações antifúngicas de amidas *N*-(4-halobenzil) com estrutura esquelética benzoica semelhante à *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida, composto submetido à avaliação contra o *C. krusei* (ATCC 14243), que apresentou CIM de 250 $\mu\text{g/mL}$.

De acordo com Begum *et al.*, 2019 o ácido salicílico (quando combinado com rifampicina e ácido benzoico na forma de nanoemulsão tópica), apresentou atividade

significativa contra *C. albicans* (quando isolado e coletado de um paciente em um laboratório de microbiologia na Bangabandhu Sheikh Mujib Medical University), demonstrando grande potencial biológico para incorporação em formulações antifúngicas. Assim, as salicinamidas mais potentes do presente estudo poderiam ser utilizadas em associação com outros antifúngicos em formulações para o desenvolvimento de novos fármacos contra cepas de *Candida*.

Tabela 7. Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) do AS e derivados 1-25 contra *Candida* spp. Os valores CIM e CFM são expressos em µg/mL e µM. Os valores de CFM são expressos em µM.

Compostos	<i>C. albicans</i> ATCC 90028				<i>C. albicans</i> CBS 5602				<i>C. tropicalis</i> CBS 94				<i>C. krusei</i> CBS 573			
	CIM (µg/mL)	CIM (µM)	CFM	CFM/ CIM	CIM (µg/mL)	CIM (µM)	CFM	CFM/ CIM	CIM (µg/mL)	CIM (µM)	CFM	CFM/ CIM	CIM (µg/mL)	CIM (µM)	CFM	CFM/ CIM
AS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	250	1293,73	1293,73	1	250	1293,73	1293,73	1	500	2587,46	2587,46	1	250	1293,73	1293,73	1
15	125	570,05	570,05	1	125	570,05	570,05	1	250	1140,10	1140,10	1	125	570,05	570,05	1
16	-	-	-	-	125	550,03	550,03	1	-	-	-	-	250	1100,06	1100,06	1
17	500	2072,20	2072,20	1	500	2072,20	2072,20	1	-	-	-	-	500	2072,20	2072,20	1
18	125	485,83	485,83	1	125	485,83	485,83	1	500	1943,33	1943,33	1	125	485,83	485,83	1
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	500	1740,28	1740,28	1
20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22	1000	4077,47	4077,47	1	500	2038,74	2038,74	1	500	2038,74	2038,74	1	500	2038,74	2038,74	1
23	500	1910,58	1910,58	1	-	-	-	-	-	-	-	-	500	1910,58	1910,58	1
24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nistatina	1,5	1,62	1,62	1	1,5	1,62	1,62	1	1,5	1,62	1,62	1	1,5	1,62	1,62	1
Cetoconazol	0,5	0,940	0,940	1	1	1,88	1,88	1	4	7,53	7,53	1	0,5	0,940	0,940	1
DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fonte: Elaborado pela autora.

6.2.5.1. Verificação do modo de ação sobre parede e membrana celular fúngica

O composto **15** apresentou o melhor perfil antifúngico (CIM de 570,05 μM) contra *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* CBS 5602 e *C. krusei* CBS 573. Foi submetido à investigação de mecanismo de ação antifúngica na parede e membrana celular fúngica. Essa verificação baseia-se na medida dos dados causados à célula fúngica pelos derivados bioativos. Para isso também foi utilizado o teste de microdiluição em placas de 96 cavidades para determinação da CIM dos compostos frente *C. albicans* ATCC 90028 na presença de ergosterol e sorbitol (**Tabelas 8 e 9**, pág. 83).

Os esteróis participam da constituição de todos os tipos de células fúngicas; o principal esteroide é o ergosterol, que atua modulando a fluidez da membrana, o crescimento celular e a proliferação (Czub; Baginski, 2006; Vandeputte, 2012). Para determinar que a atividade antifúngica de **15** decorra da interação direta com o ergosterol membranar, o fornecimento de ergosterol ao meio de cultura deve promover um aumento na CIM das moléculas, considerando que, na presença do ergosterol exógeno é necessária uma concentração maior do derivado bioativo para que o mesmo possa atingir o ergosterol da membrana plasmática. (Escalante *et al.*, 2008; Freires *et al.*, 2014). Como resultado, não houve variação da CIM, indicando que o composto não atuou inibindo a síntese de ergosterol e não se ligou diretamente ao ergosterol. Azóis e polienos (frequentemente usados para tratar infecções fúngicas) agem inibindo síntese do ergosterol (Tavares, 2001).

De forma semelhante é feita a análise do teste com sorbitol exógeno. O sorbitol, um protetor osmótico que atua impedindo alterações na parede celular do fungo. Para definir que **15** possui ação direta sobre a parede celular fúngica, o fornecimento do sorbitol exógeno iria aumentar a CIM dos produtos, visto que as células fúngicas teriam o protetor osmótico para permitir o seu crescimento, porém não houve aumento da CIM, indicando que a substância não age interferindo na síntese da parede celular (Leite *et al.*, 2015).

Dessa forma, sugere-se que o mecanismo de ação antifúngica de **15** é desencadeado pela interação com outros alvos biológicos. Nessas premissas, foi realizado estudo *in silico* utilizando o composto **15** que apresentou melhor resultado *in vitro*.

Tabela 8. Efeito do ergosterol exógeno (1,008 mM) na CIM do composto **15** e nistatina contra *C. albicans* ATCC 90028. Valores expressos em μM .

<i>C. albicans</i> ATCC 90028					
15			Nistatina		
Concentração (μM)	Sem ergosterol	Com ergosterol	Concentração (μM)	Sem ergosterol	Com ergosterol
9120	-	-	52	-	-
4560	-	-	26	-	+
2280	-	-	13	-	+
1140	-	-	6,5	-	+
570	-	-	3,2	-	+
290	+	+	1,6	-	+
140	+	+	0,8	+	+
70	+	+	0,4	+	+

Nota: +, crescimento fúngico; -, sem crescimento de fungos

Fonte: Elaborada pela autora.

Tabela 9. Valores de CIM do composto **15** e caspofungina na ausência e presença de sorbitol (0,8 M) contra cepas de *C. albicans* ATCC 90028. Os valores são expressos em μM .

<i>C. albicans</i> ATCC 90028					
15			Caspofungina		
Concentração (μM)	Sem sorbitol	Com sorbitol	Concentração (μM)	Sem sorbitol	Com sorbitol
9120	-	-	3,6	-	-
4560	-	-	1,8	-	-
2280	-	-	0,9	-	+
1140	-	-	0,45	-	+
570	-	-	0,228	-	+
290	+	+	0,114	+	+
140	+	+	0,056	+	+
70	+	+	0,028	+	+

Nota: +, crescimento fúngico; -, sem crescimento de fungos

Fonte: Elaborada pela autora.

6.2.6. Modelagem Molecular

Os estudos de modelagem consistiram na aplicação sequencial de pesca computacional de alvos, modelagem molecular, simulações de DM e na estimativa das energias livres de ligação a partir de um subconjunto de *snapshots* de DM. O objetivo deste estudo é propor os alvos mais prováveis do composto **15** que apresentou o melhor perfil antifúngico frente cepas de *C. albicans*. A pesca ao alvo serve como o primeiro filtro que permite a seleção de um conjunto de proteínas no fungo para modelagem baseada em estrutura. Em seguida, o encaixe molecular é usado para gerar hipóteses de ligação receptor-ligante. Finalmente, simulações de DM são realizadas para gerar um conjunto conformacional para cada complexo a partir do qual as energias livres de ligação são estimadas. O uso das energias derivadas de DM para selecionar os alvos mais prováveis do composto é motivado por alguns aspectos principais. A primeira é a

maior precisão na descrição das interações intermoleculares fornecidas pelas simulações de DM sobre o encaixe molecular. Especificamente, foi demonstrado que os cálculos de MM-PBSA fornecem previsões mais confiáveis para a ligação de energias livres do que o encaixe molecular (Poli *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2019).

O segundo aspecto considerado é que, devido à sua simplicidade, as funções de pontuação docking podem produzir resultados tendenciosos quando seus resultados são comparados entre diferentes alvos (Lapillo *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2017). A lista de alvos potenciais do composto em *C. albicans* que foram identificados durante as previsões de pesca de alvo é fornecida na **Tabela 10** (pág. 85). A tabela inclui o número de acesso de cada sequência alvo no banco de dados Uniprot, o ID atribuído às proteínas ao longo do manuscrito e uma breve descrição funcional para eles. Dentre as 15 proteínas selecionadas, cinco delas são proteínas quinases e três são anotadas como peptidil-prolil *cis-trans* isomerases. Ou seja, a maioria das proteínas é anotada com as duas funções posteriores.

Tabela 10. Alvos potenciais do composto **15** em *C. albicans*.

Adesão UniProt	ID	Descrição
A0A1D8PHU1	TPK2	cAMP-dependent protein kinase
P43063	CDK1	Cyclin-dependent kinase 1
A0A1D8PDA6	PHO85	Cyclin-dependent serine/threonine-protein kinase
Q5A1D3	CEK1	Extracellular signal-regulated kinase 1
Q9URB4	FBA1	Fructose-bisphosphate aldolase
A0A1D8PS79	IDP2	Isocitrate dehydrogenase
A0A1D8PHH7	IDP1	Isocitrate dehydrogenase
Q59LF9	MAP2	Methionine aminopeptidase 2
Q5ALM6	CPR3	Peptidyl-prolyl <i>cis-trans</i> isomerase
P22011	CYP1	Peptidyl-prolyl <i>cis-trans</i> isomerase
A0A8H6F4I1	CYPB	Peptidyl-prolyl <i>cis-trans</i> isomerase
Q59U59	APR1	Proteinase A
A0A1D8PU61	FDH3	S-(hydroxymethyl)glutathione dehydrogenase
A0A1D8PSJ8	PPH3	Serine/threonine-protein phosphatase
Q92207	HOG1	Mitogen-activated protein kinase HOG1

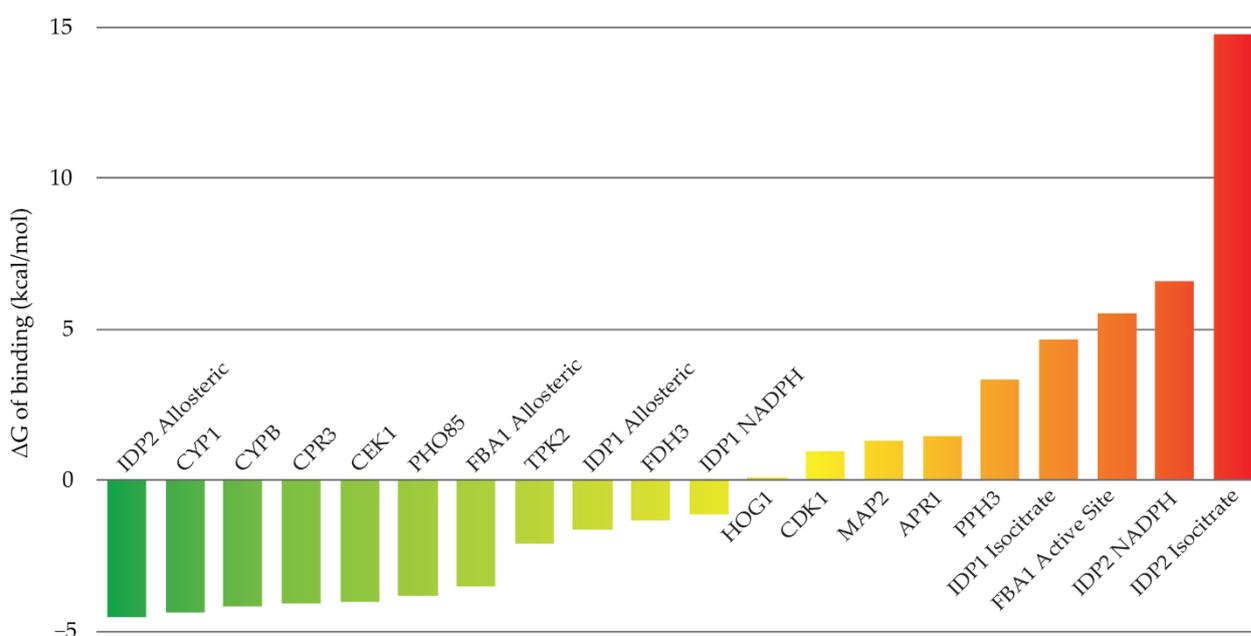
Fonte: Perez-Castillo, 2022.

Os cálculos de encaixe molecular foram realizados conforme descrito na seção Métodos. Para FBA1 foram exploradas duas cavidades de ligação: o sítio ativo e um sítio de modulação alostérica na vizinhança do primeiro (Wen *et al.*, 2022). Da mesma forma, três diferentes regiões de ligação previamente identificadas no homólogo IDH1 de *H. sapiens* foram exploradas para IDP1 e IDP2. Estes foram o sulco de ligação do NADPH, a região de ligação do isocitrato e uma cavidade moduladora alostérica

localizada na interface do dímero (Jakob *et al.*, 2018). Cálculos de encaixe levam a 60 complexos de proteína para análises adicionais do composto **15**.

Como discutido acima, o encaixe molecular foi usado para gerar hipóteses de ligação ligante-receptor, cuja estabilidade energética foi avaliada em seguida por cálculos de MM-PBSA realizados a partir de simulações instantâneas de DM. O fluxo de trabalho de modelagem aplicado levou a um total de 1,2 μ s de tempo de simulação DM. As energias livres de ligação previstas obtidas para todos os complexos estão resumidas na **Figura 15**. Os resultados sugerem que o mecanismo de ação antifúngico do composto **15** pode estar relacionado a um mecanismo de ação multialvo. Esta suposição é apoiada pelas energias de ligação muito semelhantes obtidas para os alvos classificados nas primeiras sete posições. Além disso, essas proteínas de primeira linha estão relacionadas a quatro funções diferentes: Isocitrato desidrogenase (IDP2), Peptidil-prolil *cis-trans* isomerase (CYP1, CYPB e CPR3), Proteína quinase (CEK1 e PHO85) e Frutose-bifosfato aldolase (FBA1). É interessante notar que as três isomerases Peptidil-prolil *cis-trans* se classificam consecutivamente nas posições 2, 3 e 4. A última pode ser explicada pelas estruturas e sequências idênticas dessas proteínas em suas regiões de ligação ao ligante.

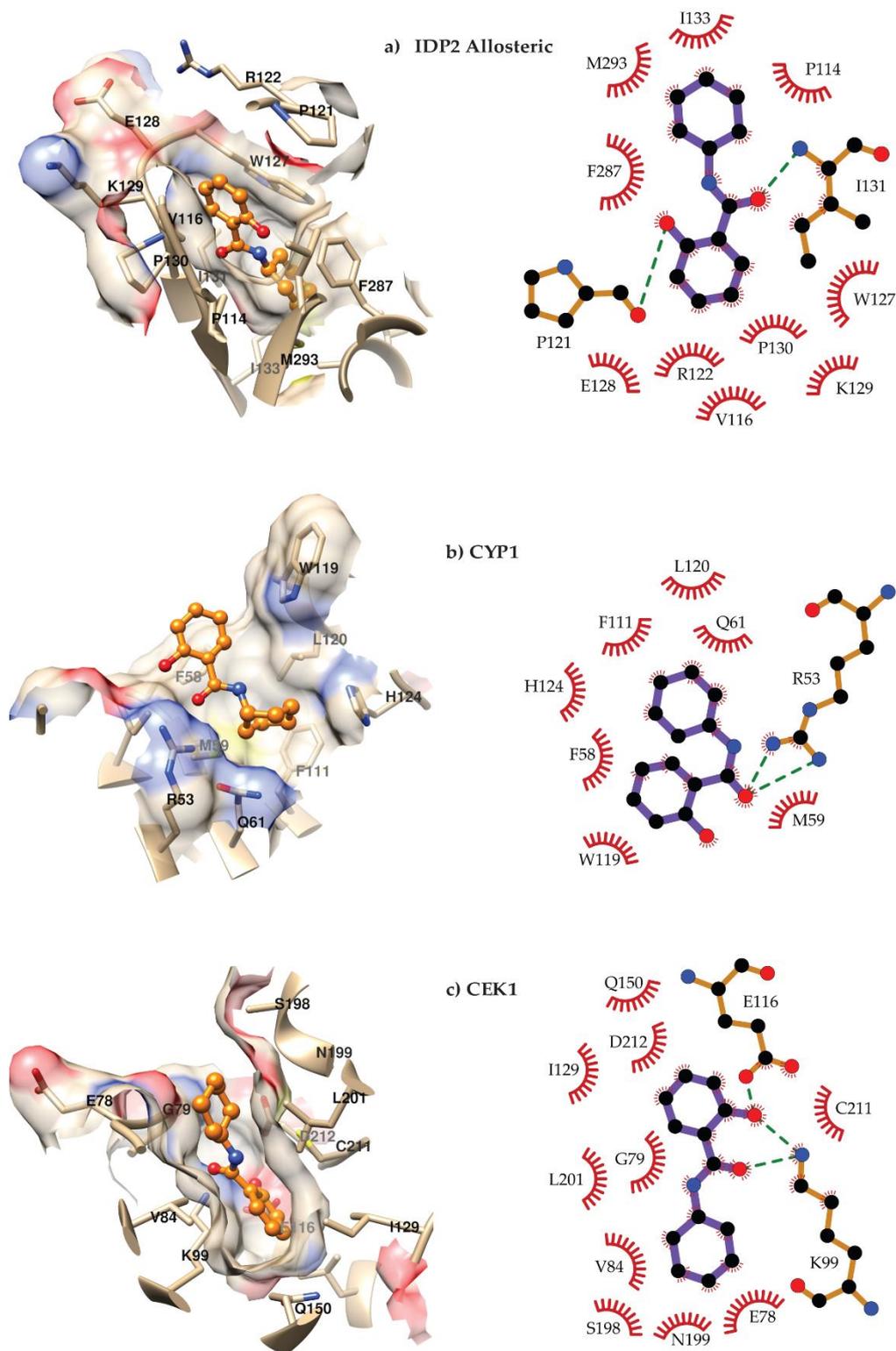
Figura 15. Energias livres previstas de ligação do composto 15 aos seus alvos potenciais.



Fonte: Perez-Castillo, 2022.

Para se obter mais informações sobre a inibição potencial do composto **15** contra suas três classes de alvo mais prováveis, os modos de ligação previstos para o sítio alostérico de IDP2, CYP1 e CEK1 foram analisados em detalhes. Essas conformações de ligação, bem como as interações ligante-receptor previstas, estão representadas na **Figura 16**. As poses de ligante representadas na figura são os centróides dos maiores clusters obtidos do agrupamento dos instantâneos de 100 DM usados para cálculos de MM-PBSA. A figura foi produzida com UCSF Chimera (Pettersen *et al.*, 2004) e LigPlot+ (Lawoski; Mark, 2011).

Figura 16. Modos de ligação previstos do composto **15** ao sítio alostérico de IDP2 (a), CYP1 (b) e CEK1 (c). O ligante é representado como bolas e bastões laranja nas figuras dos complexos. Todos os átomos são representados nos diagramas de interação apenas para os resíduos que formam ligações de hidrogênio com o composto. Os resíduos marcados são aqueles que interagem com o composto em pelo menos 40% dos instantâneos empregados para cálculos de MM-PBSA.



Fonte: Perez-Castillo, 2022.

Prevê-se que o composto **15** forme ligações de hidrogênio com os três receptores. Essas interações ocorrem com os esqueletos de P121 e I131 de IDP2, a cadeia lateral de R53 em CYP1 e as cadeias laterais de K99 e E116 de CEK1. Além disso, o ligante se orienta com seu grupo *orto*-fenil para a entrada do sítio alostérico de IDP2, interagindo com V116, P121, R122, K129 e P130. A orientação deste substituinte é favorável para a interação de empilhamento π - π com W127. Por outro lado, a porção ciclohexil ocupa uma região hidrofóbica definida por P114, F287, M293, I131 e I133.

No complexo previsto com CYP1, o resto das interações ligante-receptor ocorrem com F58 e W119 para o substituinte *orto*-fenil e com M59, Q61, F111, L120 e H124 para o grupo ciclohexil. Finalmente, no complexo com CEK1, prevê-se que a porção posterior se oriente na entrada da cavidade revestida por E78, G79, V84, S198, N199 e L201. O grupo 2-hidroxifenil, em contraste, ocupa a parte inferior do sítio ativo da CEK1 e faz contatos adicionais com I129, Q150, C211 e D212.

Conforme discutido anteriormente, os resultados da modelagem apontam para um provável mecanismo de ação antifúngico multialvo do composto **15**. Apesar de não ser realizada validação experimental dos potenciais alvos desse composto em *C. albicans*, os resultados da modelagem podem orientar futuras experimentações nesse sentido. Por exemplo, proteínas e processos celulares podem ser priorizados com base nos resultados da modelagem. Além disso, os modos de ligação previstos do composto aos seus alvos potenciais podem servir como ponto de partida para a otimização da atividade antifúngica do composto **15**.

7.0. CONCLUSÕES

No presente trabalho foram preparados vinte e cinco compostos derivados do ácido salicílico. Os compostos **1, 3, 6-10, 12, 14, 15, 17 e 20** foram submetidos a ensaio de citotoxicidade em macrófagos U937 e a avaliação da atividade antiparasitária frente à *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania braziliensis*. A atividade antifúngica frente a espécies de *Candida* foi avaliada em todos os compostos.

Nos ensaios antiparasitários, todos compostos avaliados apresentaram atividade muito fraca frente *L. braziliensis*, devido aos índices de seletividade baixos quando comparados a Anfotericina B, utilizada como controle. Os compostos **3, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17 e 20** demonstraram ação tóxica sobre *T. cruzi*, porém com baixa seletividade. Os resultados servem de partida para posteriores modificações estruturais nestes compostos com o objetivo de aumentar essa seletividade e obter compostos com potencial antiparasitário contra o *T. cruzi*. No teste frente *P. falciparum* os compostos apresentaram atividade muito fraca quando comparado ao controle (Cloroquina).

No tocante a atividade antifúngica frente cepas de *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* CBS 5602, *C. krusei* CBS 573 e *C. tropicalis* CBS 94, os compostos **15 e 18** exibiram o melhor perfil antifúngico, com atividade significativa frente a três das cepas testadas: *C. albicans* ATCC 90028, *C. albicans* CBS 5602 e *C. albicans* CBS 5602. Esses resultados sugerem que salicinamidas que apresentam substituintes como um anel de seis membros (não heterocíclico) ou anel aromático monosubstituído por metoxila na posição *para* do anel contribui para potencializar a ação antifúngica desses produtos frente a espécies de *Candida*.

Os estudos de mecanismo de ação do composto **15** demonstraram que o composto não interage diretamente com o ergosterol da membrana plasmática ou com parede celular fúngica, o que indica que o seu modo de ação envolve outros alvos biológicos. Os resultados do estudo de modelagem molecular do composto **15** sugere provável mecanismo de ação antifúngico multialvo sendo de grande importância no norteamento de futuras experimentações neste sentido.

Os resultados demonstrados neste estudo podem contribuir para futuras pesquisas no desenvolvimento de produtos com potencial bioatividade antiparasitária e antifúngica visando à descoberta de novos fármacos.

8.0. PARTE EXPERIMENTAL

8.1. Materiais e métodos utilizados

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

8.1.2. Métodos cromatográficos

O monitoramento reacional foi realizado através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), em cromato folhas com sílica gel 60 F₂₅₄ suportada em placa de alumínio MERCK (fase estacionária) e tendo como fase móvel uma mistura entre hexano e acetato de etila em diferentes proporções. A visualização das placas cromatográficas se deu através do revelador químico a base de ácido sulfúrico a 5% em álcool etílico, bem como pela exposição das placas à lâmpada de irradiação ultravioleta com dois comprimentos de onda (254 e 356 nm) por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58.

A purificação dos compostos foi realizada por cromatografia de adsorção em coluna (CC) utilizando como fase estacionária, sílica gel 60, ART 7734 da MERCK, de partículas com dimensões entre 0,063-0,200 mm, tendo como suporte colunas de vidro cilíndricas. A fase móvel constituiu-se de uma mistura entre hexano e acetato de etila com proporções variáveis.

8.1.3. Análises espectroscópicas

8.1.3.1. Ressonância Magnética Nuclear

Os compostos foram identificados por espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ¹H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze (RMN de ¹³C) unidimensional. Os mesmos foram obtidos por meio de espectrômetros AscenedTM – Bruker operando a 400 MHz (¹H) e 100 MHz (¹³C) e o Varian-RMN-System operando à 500 MHz (¹H) e 125 MHz (¹³C) (LMCA/ Laboratório Multiusuário de caracterização e Análise/UFPB).

O solvente usado na dissolução das amostras foi clorofórmio deuterado (CDCl₃) da MERCK. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As multiplicidades das

bandas de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (simpleto), *sl* (simpleto largo), *d* (duplete), *dl* (duplete largo), *dd* (duplo duplete), *dt* (duplete de triplete), *ddd* (duplete de duplete de duplete), *t* (triplete), *tl* (triplete largo), *td* (triplete de duplete), *q* (quarteto), *quint* (quinteto), *sex* (sexteto), *sept* (septeto), *m* (multiplete).

Para os espectros de RMN de ^{13}C foi utilizada a técnica de APT em que os carbonos quaternários e metilênicos ficam na face positiva do gráfico (sinais voltados pra cima) e os sinais de carbonos metínicos e metílicos ficam na face negativa do gráfico (sinais voltados para baixo). A técnica de DEPT 135 foi utilizada para confirmação dos carbonos do composto **18**, técnica em que os carbonos quaternários e metilênicos demonstram sinais voltados para baixo e os carbonos metínicos e metílicos demonstram sinais voltados pra cima.

8.1.3.2. Infravermelho

Os dados espectrais na região do infravermelho (IV) foram obtidos em aparelho de Cary 630 FTIR Agilent technologies e uma faixa espectral na região de 4000 - 400 cm^{-1} , do Laboratório de Analítico de Multiusuário do Departamento de Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde da UFPB, utilizando de 1,0 mg de amostra em 15,00 mg pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

8.1.3.3. Espectrometria de Massas de Alta Resolução

Os espectros de Massas de Alta Resolução foram obtidos no Centro de Espectrometria de Massas de Biomoléculas (CEMBIO) do Centro de Ciências da Saúde (CCS/UFRJ) e Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise (LMCA). No CEMBIO, o espectrômetro utilizado foi Solarix XR – configuração FT-ICR (Bruker), com calibração externa com formiato de sódio 100 μM em água/acetonitrila 1:1 e fonte de ionização do tipo electrospray (ESI – pressão do nebulizador: 1 bar, 4.0 L/min, à temperatura de 200 °C, fluxo de 4 $\mu\text{L}/\text{min}$), modo positivo, janela de detecção de 75 a 1200 m/z . Resolução teórica: 99000 para m/z 400. As amostras foram solubilizadas em 1 mL de metanol e então diluídas 1000x em água:acetonitrila 1:1 e injetadas diretamente no espectrômetro de massas. No LMCA as medições foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas Ultraflex II TOF / TOF equipado com um laser de alta performance de estado sólido ($\lambda = 355 \text{ nm}$) e um reflector. O sistema é operado pelo pacote de software FlexControl 2,4 (Bruker Daltonics GmbSH, Bremen, Alemanha).

8.1.4. Ponto de Fusão

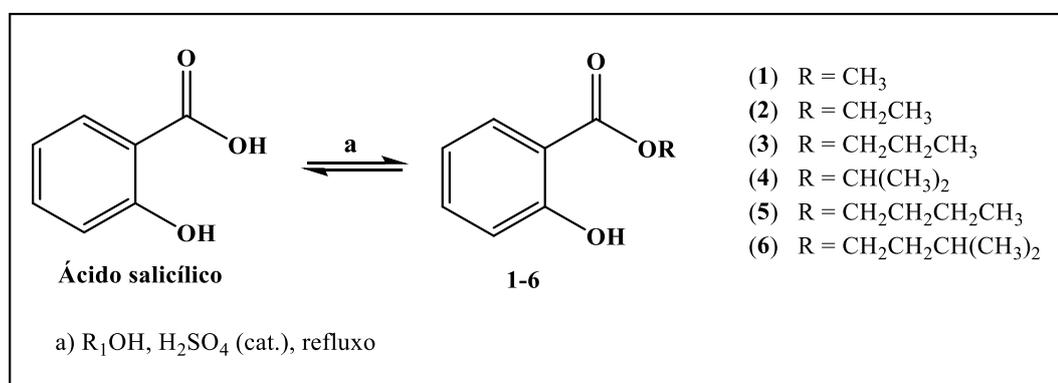
Os pontos de fusão foram determinados em um aparelho da Microquímica Equipamentos (Modelo MQAPF), n° de série 403/18.

8.2. Metodologias de preparação dos compostos 1-25

Os compostos foram obtidos por quatro métodos de síntese: esterificação de Fischer (**1-6**); reação de Mitsunobu (**7-13**); reação de Schotten-Baumann (**14-23, 25**); reação do tipo SN_2 com haleto alquílico (**24**).

8.2.1. Preparação dos salicilatos 1–6:

Esquema 14. Reação de obtenção dos compostos 1-6.

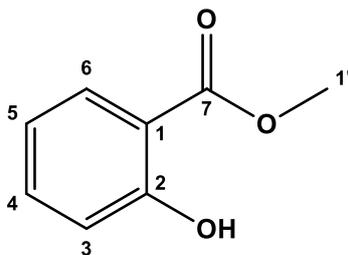


Fonte: Elaborado pela autora.

Após adicionar 200 mg (1,45 mmols) do ácido salicílico em 40 mL do álcool alifático, foi gotejado à solução 0,4 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. A reação foi mantida sob refluxo em constante agitação magnética, durante 24 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo foi tratado com água destilada (10 mL) e extraído com acetato de etila (3x10 mL). A fase orgânica foi reunida e tratada com solução de bicarbonato de sódio a 5% (10 mL), e água destilada (10 mL). A fase orgânica foi seca com Na_2SO_4 anidro e o solvente foi evaporado (Sanderson *et al.*, 2013). Os produtos **4**, **5** e **6** foram isolados através de coluna cromatográfica em sílica gel 60 (Hexano/AcOEt, 10:0 a 95:5), utilizando como eluentes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. Os demais produtos apresentaram pureza satisfatória.

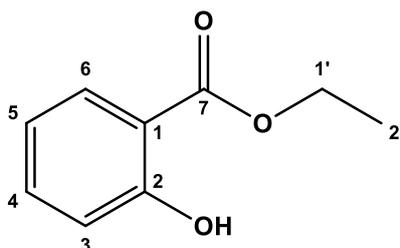
8.2.2 Dados espectroscópicos de 1–6

8.2.2.1. Salicilato de metila (1)



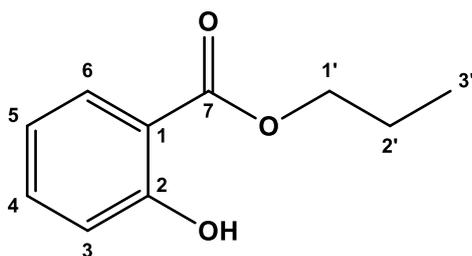
Óleo amarelo; Rendimento: 95,3% (95,3 mg; 1,38 mmol); Rf: 0,6; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3190 (O-H); 2957 (C-H sp^3); 1679 (C=O); 1487 e 1442 (C=C); 1306 (C-O-H); 1254 e 1217 (C-O); 759. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,76 (*s*, 1H, O-H); 7,85 (*dd*, $J = 8,0$; 1,3 Hz, 1H, H-6); 7,47-7,43 (*m*, 1H, H-4); 6,98 (*dl*, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-3); 6,88 (*tl*, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-5); 3,95 (*s*, 3H, H-1'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,71 (C-7); 161,72 (C-2); 135,91 (C-4); 129,89 (C-6); 119,29 (C-3); 117,69 (C-5); 112,45 (C-1); 52,35 (C-1') (Masetto *et al.*, 2022).

8.2.2.2. Salicilato de etila (2)



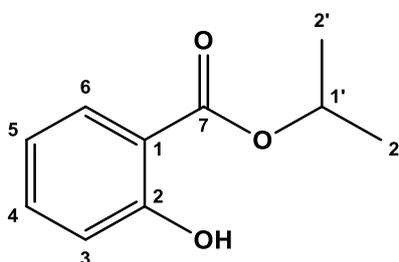
Óleo amarelo; Rendimento: 38,1% (63,5 mg; 0,27 mmol); Rf: 0,80; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 2922 (C-H sp^3); 1711 (C=O); 1607 e 1462 (C=C); 1265 (C-O); 738. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,85 (*s*, 1H, O-H); 7,85 (*ddd*, $J = 8,0$; 1,7; 0,3 Hz, 1H, H-6); 7,45 (*ddd*, $J = 8,4$; 7,2; 1,7 Hz, 1H, H-4); 6,98 (*ddd*, $J = 8,4$; 1,1; 0,3 Hz, 1H, H-3); 6,87 (*ddd*, $J = 8,4$; 7,2; 1,1 Hz, 1H, H-5); 4,41 (*quart*, $J = 7,1$ Hz, 2H, H-1'); 1,42 (*t*, $J = 7,2$ Hz, 3H, H-2'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,34 (C-7); 161,80 (C-2); 135,68 (C-4); 130,04 (C-6); 119,21 (C-3); 117,68 (C-5); 112,77 (C-1); 61,55 (C-1'); 14,33 (C-2') (Masetto *et al.*, 2022).

8.2.2.3. Salicilato de propila (3)



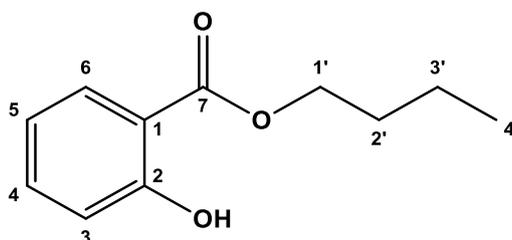
Óleo incolor; Rendimento: 69,9% (182,3 mg; 1,01 mmol); Rf: 0,64; IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3189 (O-H); 2971 (C-H sp^3); 1676 (C=O); 1614 e 1486 (C=C); 1302 (C-O-H); 1251 e 1215 (C-O); 757; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,84 (s, 1H, O-H); 7,86 (ddd, $J = 8,4; 1,8; 0,4$ Hz, 1H, H-6); 7,45 (ddd, $J = 8,4; 7,2; 1,8$ Hz, 1H, H-4); 6,98 (ddd, $J = 8,4; 1,1; 0,4$ Hz, 1H, H-3); 6,88 (ddd, $J = 8,0; 7,2; 1,1$ Hz, 1H, H-5); 4,31 (t, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 1,81 (sex, $J = 7,4$ Hz, 2H, H-2'); 1,04 (t, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-3') (Masetto *et al.*, 2022).

8.2.2.4. Salicilato de isopropila (4)



Óleo incolor; Rendimento: 35,1% (63,2 mg; 0,25 mmol); CCDA (95:5 Hexano/AcOEt); Rf: 0,84; IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 2918 (C-H, sp^3); 1735 (C=O); 1463 (C=C); 1377 (C-O-H); 1250 e 1212 (C-O); 739. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,93 (s, 1H, O-H); 7,84 (dd, $J = 8,0; 1,8$ Hz, 1H, H-6); 7,44 (ddd, $J = 8,4; 7,2; 1,8$ Hz, 1H, H-4); 6,97 (dd, $J = 8,3; 1,2$ Hz, 1H, H-3); 6,87 (ddd, $J = 8,0; 7,2; 1,2$ Hz, 1H, H-5); 5,29 (sept, $J = 6,2$ Hz, 1H, H-1'); 1,39 (d, $J = 6,3$ Hz, 6H, H-2'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,90 (C-7); 161,84 (C-2); 135,59 (C-4); 130,03 (C-6); 119,13 (C-3); 117,64 (C-5); 113,09 (C-1); 69,33 (C-1'); 21,99 (C-2') (Masetto *et al.*, 2022).

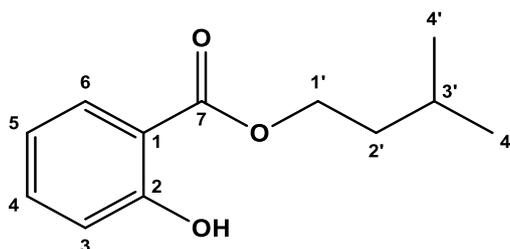
8.2.2.5. Salicilato de butila (5)



Óleo incolor; Rendimento: 41,6% (80,7 mg; 0,30 mmol); CCDA (95:5 Hexano/AcOEt); Rf: 0,88; IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3186 (O-H); 2961 (C-H sp^3); 1674 (C=O); 1614 e 1485 (C=C); 1300 (C-O-H); 1250 e 1213 (C-O); 757. RMN de ^1H (400 MHz,

CDCl₃): δ_{H} 10,85 (*s*, 1H, O-H); 7,85 (*dd*, $J = 8,0$; 1,8 Hz, 1H, H-6); 7,45 (*ddd*, $J = 8,4$; 7,2; 1,8 Hz, 1H, H-4); 6,98 (*dd*, $J = 8,4$; 1,1 Hz, 1H, H-3); 6,88 (*ddd*, $J = 8,0$; 7,2; 1,1; Hz, 1H, H-5); 4,36 (*t*, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 1,77 (*quint*, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-2'); 1,49 (*sex*, $J = 7,3$ Hz, 2H, H-3'); 0,99 (*t*, $J = 7,3$ Hz, 3H, H-4'). RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ_{C} 170,26 (C-7); 161,67 (C-2); 135,57 (C-4); 129,91 (C-6); 119,09 (C-3); 117,56 (C-5); 112,67 (C-1); 65,22 (C-1'); 30,56 (C-2'); 19,21 (C-3'); 13,72 (C-4') (Masetto *et al.*, 2022).

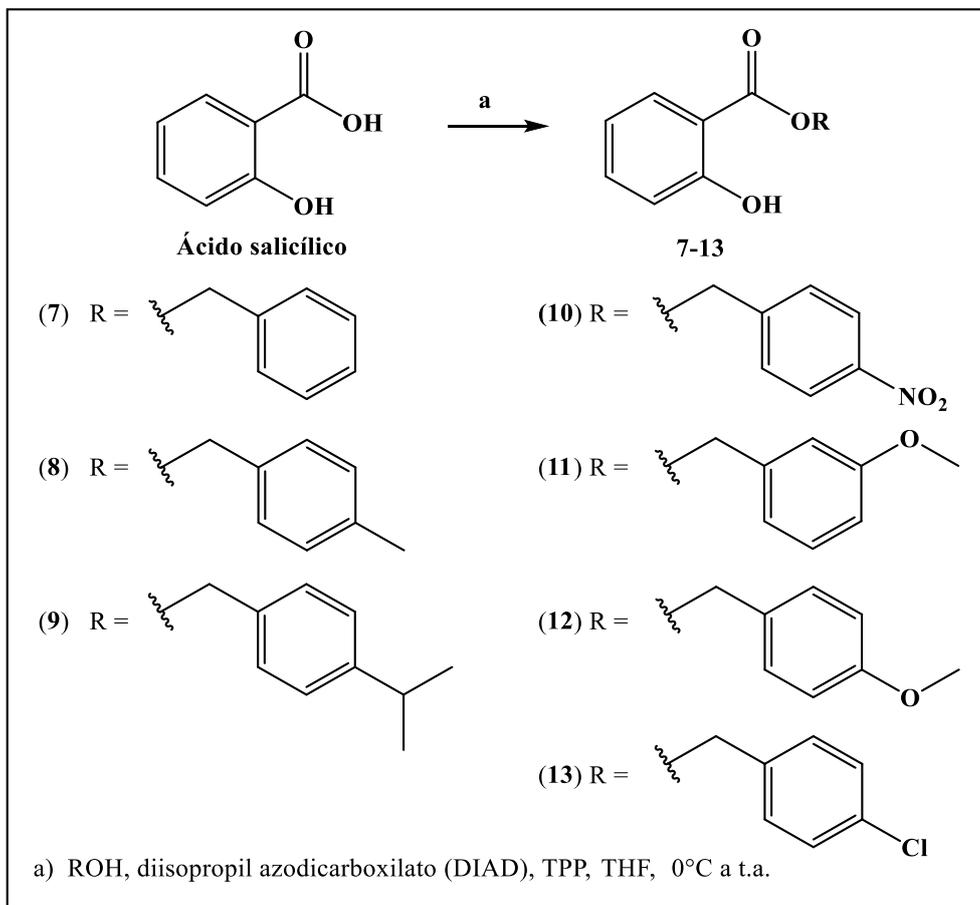
8.2.2.6. Salicilato de isopentila (6)



Óleo incolor; Rendimento: 37,2% (112 mg, 0,54 mmol); CCCDA (10:0 Hexano/AcOEt); R_f: 0,66; IV ν_{max} (KBr, cm⁻¹): 3201 (OH); 2963 (C-H sp³); 1678 (C=O); 1615 e 1487 (C=C); 1303 (C-O-H); 1252 e 1215 (C-O); 757. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 10,85 (*s*, 1H, O-H); 7,84 (*ddd*, $J = 8,0$; 1,8; 0,4 Hz, 1H, H-6); 7,47-7,42 (*m*, 1H, H-4); 6,98 (*ddd*, $J = 8,4$; 1,1; 0,4 Hz, 1H, H-3); 6,87 (*ddd*, $J = 8,0$; 7,2; 1,1 Hz, 1H, H-5); 4,38 (*t*, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-1'); 1,80 (*sept*, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-3'); 1,71 (*q*, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-2'); 0,98 (*d*, $J = 6,8$ Hz, 6H, H-4'); RMN de ¹³C (100 MHz, CDCl₃): δ_{C} 170,04 (C-7); 161,47 (C-2); 135,37 (C-4); 129,67 (C-6); 118,89 (C-3); 117,36 (C-5); 112,46 (C-1); 63,82 (C-1'); 37,04 (C-2'); 24,98 (C-3'); 22,28 (C-4') (Zhao *et al.*, 2008).

8.2.3. Preparação dos salicilatos 7-13:

Esquema 15. Reação de obtenção dos compostos 7-13.

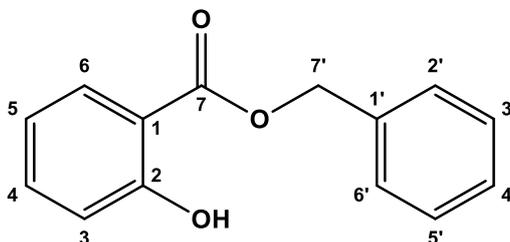


Fonte: Elaborado pela autora.

Uma solução de 200 mg (1,45 mmols) do ácido salicílico e o álcool aromático (1,45 mmols) em 4,82 mL tetrahydrofurano (THF) foi mantida em banho de gelo e sob constante agitação magnética durante cerca de 30 minutos. Posteriormente, adicionou-se o diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (0,3 mL; 1,45 mmols) e trifenilfosfina (TPP) (0,38 g; 1,45 mmol), mantendo a agitação, à temperatura ambiente, durante 72 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo foi tratado com água destilada (10 mL) e extraído com acetato de etila (3 x 10 mL). A fase orgânica foi reunida e tratada com solução de ácido clorídrico a 1N (10 mL), seguida de solução de bicarbonato de sódio a 5% (10 mL), e água destilada (10 mL). A fase orgânica foi seca com Na₂SO₄ anidro e o solvente foi evaporado (Chapado *et al.*, 2010). O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (Hexano/AcOEt, 10:0 a 9:1) para obtenção dos compostos.

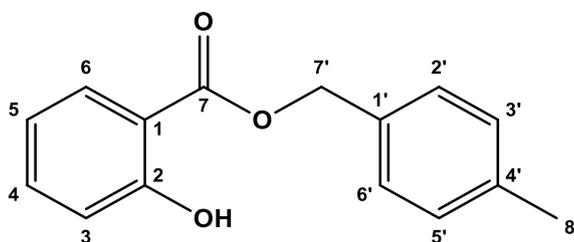
8.2.4 Dados espectroscópicos de 7–13

8.2.4.1. Salicilato de benzila (7)



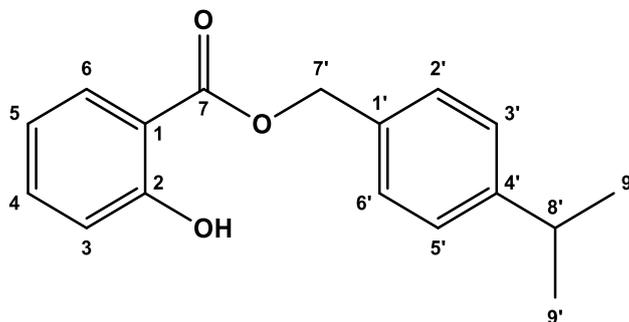
Óleo amarelo; Rendimento: 37,9% (125 mg, 0,55 mmol); CCDA (10:0 Hexano/AcOEt); Rf: 0,56; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3201 (O-H); 2962 (C-H sp^3); 1676 (C=O); 1485 (C=C); 1300 (C-O-H); 1250 e 1213 (C-O); 755; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,76 (s, 1H, O-H); 7,89 (ddd, $J = 8,0; 1,8; 0,4$ Hz, 1H, H-6); 7,49-7,36 (m, 6H, H-4, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 6,99 (ddd, $J = 8,4; 1,1; 0,4$ Hz, 1H, H-3); 6,88 (ddd, $J = 8,0; 7,2; 1,1$ Hz, 1H, H-5); 5,39 (s, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,78 (C-7); 161,57 (C-2); 135,62 (C-4); 135,13 (C-1'); 129,83 (C-6); 128,53 (C-2', C-4'); 128,37 (C-4'); 128,09 (C-3', C-5'); 119,04 (C-3); 117,42 (C-5); 112,34 (C-1); 66,79 (C-7') (Yamada *et al.*, 2015).

8.2.4.2. Salicilato de 4-metilbenzila (8)

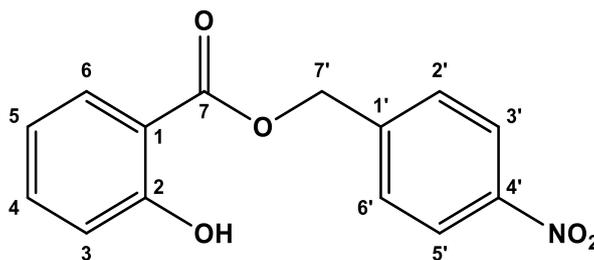


Líquido branco; Rendimento: 45,7% (160 mg, 0,66 mmol); CCDA (10:0 Hexano/AcOEt); Rf: 0,56; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3152 (O-H); 2966 (C-H sp^3); 1674 (C=O); 1614 e 1485 (C=C); 1299 (C-O-H); 1248 e 1211 (C-O); 754; RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,78 (s, 1H, O-H); 7,89 (ddd, $J = 8,0; 1,8; 0,4$ Hz, 1H, H-6); 7,47-7,43 (m, 1H, H-4); 7,35 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,22 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,99 (ddd, $J = 8,4; 1,1; 0,4$ Hz, 1H, H-3); 6,86 (ddd, $J = 8,3; 7,2; 1,1$ Hz, 1H, H-5); 5,35 (s, 2H, H-7'); 2,38 (s, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,17 (C-7); 161,89 (C-2); 138,64 (C-4'); 135,92 (C-4); 132,48 (C-1'); 130,20 (C-6); 129,55 (C-3', C-5'); 128,63 (C-2', C-6'); 119,32 (C-3); 117,74 (C-5); 112,67 (C-1); 67,20 (C-7'); 21,42 (C-8'); HRMS (ESI) m/z calculado $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 243,1015$; encontrado

243,1013.

8.2.4.3. Salicilato de 4-isopropilbenzila (9)

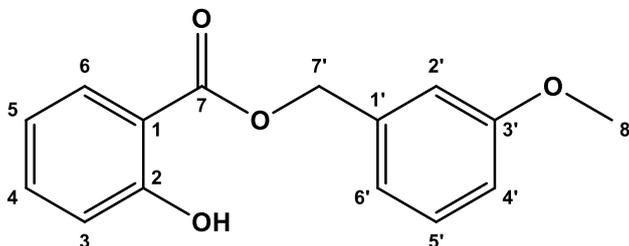
Óleo incolor; Rendimento: 26,5% (103,8 mg, 0,10 mmol); CCDA (95:5 Hexano/AcOEt); Rf: 0,84; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3193 (OH); 2962 (C-H sp^3); 1676 (C=O); 1486 (C=C); 1300 (C-O-H); 1251 e 1213 (C-O); 757; RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,78 (s, 1H, O-H); 7,89 (dl, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-6); 7,45 (tl, $J = 7,2$ Hz, 1H, H-4); 7,38 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,27 (d, $J = 8,1$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 6,99 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-3); 6,87 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-5); 5,36 (s, 2H, H-7'); 2,94 (sept, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-8'); 1,27 (d, $J = 6,9$ Hz, 6H, H-9'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,14 (C-7); 161,85 (C-2); 149,55 (C-4'); 135,87 (C-4); 132,79 (C-1'); 130,18 (C-6); 128,65 (C-2', C-6'); 126,90 (C-3', C-5'); 119,27 (C-3); 117,70 (C-5); 112,65 (C-1); 67,09 (C-7'); 34,07; (C-8'); 24,08; (C-9') (Villa *et al.*, 2005).

8.2.4.4. Salicilato de 4-nitrobenzila (10)

Sólido amorfo branco; Rendimento: 25,3% (100 mg, 0,36 mmol); P.F: 92-93 °C; CCDA (95:5 Hexano/AcOEt); Rf: 0,62; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3114 (O-H); 2950 (C-H sp^3); 1668 (C=O); 1520 (N=O); 1451 e 1346 (C=C); 1302 (C-O-H); 1219 (C-O); 757; RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,56 (s, 1H, O-H); 8,27 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,90 (dd, $J = 8,0$; 1,2 Hz, 1H, H-6); 7,61 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,51-7,47 (m, 1H, H-4); 7,00 (d, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-3); 6,91 (t, $J = 7,6$ Hz, 1H, H-5); 5,48 (s, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,73 (C-7); 161,99 (C-2); 148,03 (C-4');

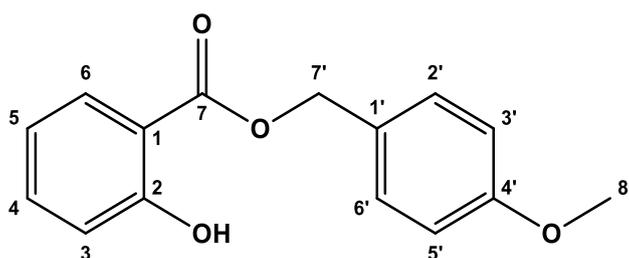
142,64 (C-1'); 136,39 (C-4); 129,94 (C-6); 128,59 (C-2', C-6'); 124,08 (C-3', C-5'); 119,52 (C-3); 117,49 (C-5); 111,96 (C-1); 65,49 (C-7') (Dev *et al.*, 2014).

8.2.4.5. Salicilato de 3-metoxibenzila (11)



Óleo viscoso amarelo; Rendimento: 32,7% (122 mg; 0,47 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); Rf: 0,62; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3193 (O-H); 2959 (C-H sp^3); 1677 (C=O); 1613 e 1487 (C=C); 1301 (C-O-H); 1250 e 1213 (C-O); 758. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,73 (*s*, 1H, O-H); 7,89 (*dd*, $J = 8,0$; 1,7 Hz, 1H, H-6); 7,46 (*ddd*, $J = 8,4$; 7,3; 1,5 Hz, 1H, H-4); 7,32 (*t*, $J = 7,9$ Hz, 1H, H-5'); 7,03 (*dd*, $J = 7,6$; 0,5 Hz, 1H, H-6'); 6,99-6,98 (*m*, 2H, H-2', H-4'); 6,92-6,86 (*m*, 2H, H-3, H-5); 5,36 (*s*, 2H, H-7'); 3,83 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,83 (C-7); 161,64 (C-2); 159,73 (C-3'); 136,71 (C-1'); 135,70 (C-4); 129,89 (C-6); 129,66 (C-5'); 120,28 (C-3); 119,07 (C-6'); 117,49 (C-5); 113,77 (C-2'); 113,73 (C-4'); 112,28 (C-1); 66,70 (C-7'); 55,18 (C-8'). HRMS (ESI) m/z calculado $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 259,0964$; encontrado 259,0962.

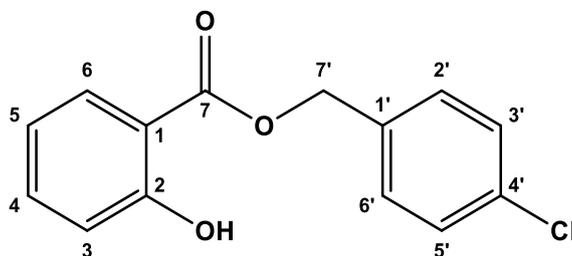
8.2.4.6. Salicilato de 4-metoxibenzila (12)



Óleo amarelo; Rendimento: 16,33% (61,4 mg; 0,06 mmol); P.F: 53-54 °C; CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); Rf: 0,58; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3133 (O-H); 2965 (C-H sp^3); 1666 (C=O); 1517 e 1470 (C=C); 1299 (C-O-H); 1246 e 1211 (C-O); 755; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,79 (*s*, 1H, O-H); 7,85 (*dd*, $J = 8,0$; 1,8 Hz, 1H, H-6); 7,44 (*ddd*, $J = 8,4$; 7,2; 1,8 Hz, 1H, H-4); 7,41-7,37 (*m*, 2H, H-3', H-5'); 6,98 (*dd*, $J = 8,4$; 1,1 Hz, 1H, H-3); 6,95-6,91 (*m*, 2H, H-2', H-6'); 6,87 (*ddd*, $J = 8,0$; 7,2; 1,1 Hz, 1H, H-5); 5,32 (*s*, 2H, H-7'); 3,83 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,16 (C-7); 161,84

(C-2); 160,01 (C-4'); 135,85 (C-4); 130,37 (C-2', C-6'); 130,15 (C-6); 127,50 (C-1'); 119,25 (C-3); 117,68 (C-5); 114,21 (C-3', C-5'); 112,65 (C-1); 67,01 (C-7'); 55,45; (C-8') (Bamoharram *et al.*, 2006).

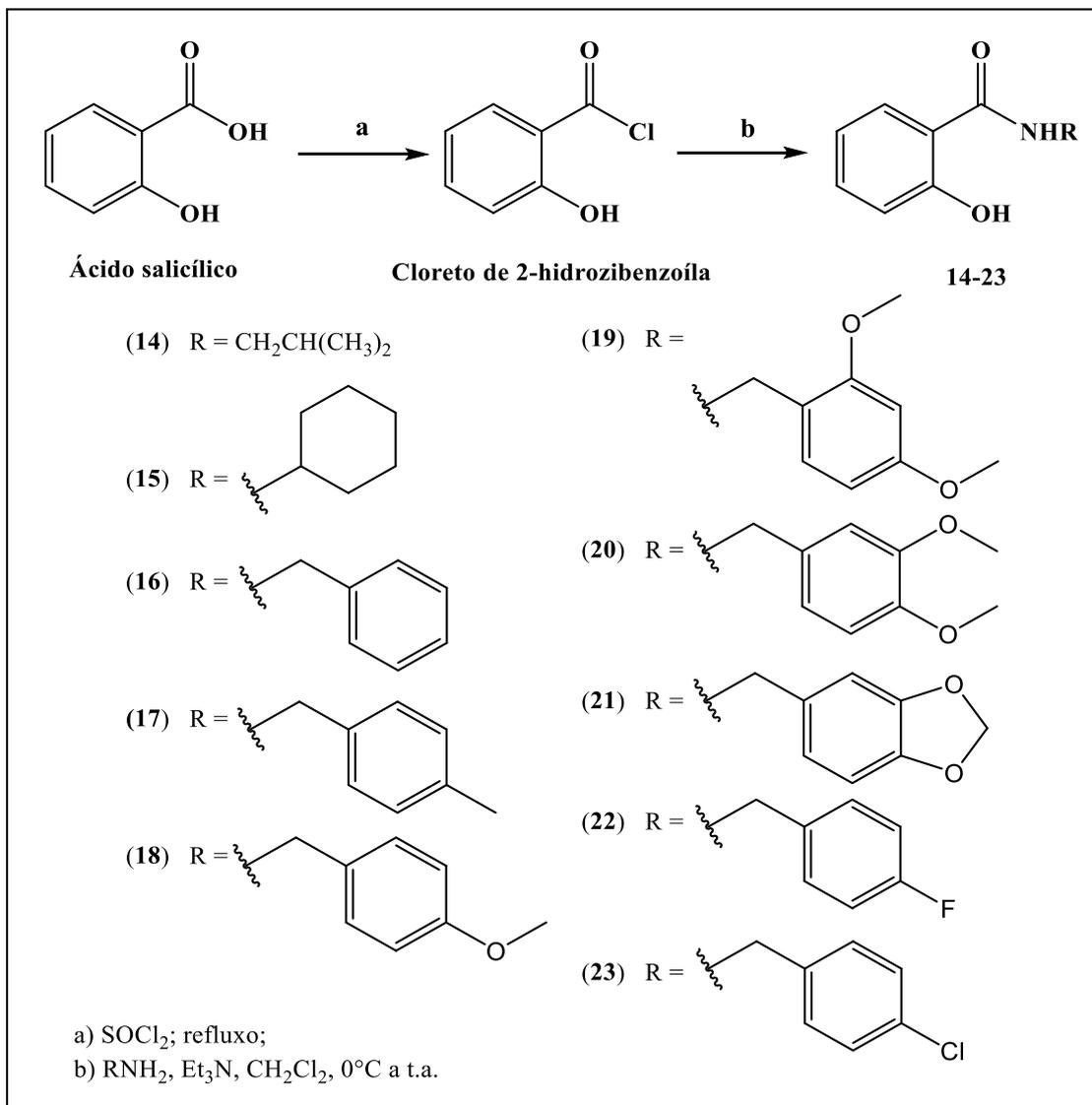
8.2.4.7. Salicilato de 4-clorobenzila (13)



Sólido amorfo amarelo; Rendimento: 45,5% (170 mg; 0,66 mmol); CCDA (95:5 Hexano/AcOEt); P.F.: 61-62 °C; R_f: 0,80; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3200 (O-H); 2962 (C-H sp^3); 1673 (C=O); 1488 (C=C); 1299 (C-O-H); 1251 e 1214 (C-O); 1089 (C-Cl); 754. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 10,69 (s, 1H, O-H); 7,86 (ddd, $J = 8,0; 1,7; 0,2$ Hz, 1H, H-6); 7,47 (ddd, $J = 8,4; 7,3; 1,7$ Hz, 1H, H-4); 7,38 (s, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'); 6,99 (dd, $J = 8,4; 0,8$ Hz, 1H, H-3); 6,88 (ddd, $J = 8,0; 7,2; 1,1$ Hz, 1H, H-5); 5,35 (s, 2H, H-7'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,67 (C-7); 161,58 (C-2); 135,79 (C-4); 134,33 (C-1'); 133,59 (C-4'); 129,73 (C-6); 129,52 (C-2', C-6'); 128,78 (C-3', C-5'); 119,07 (C-5); 117,48 (C-3); 112,02 (C-1); 65,96 (C-7'). HRMS (ESI) m/z calculado $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 263,0469$; encontrado 263,0467.

8.2.5. Preparação das salicinamidas 14–23:

Esquema 16. Reações de obtenção dos compostos 14-23.

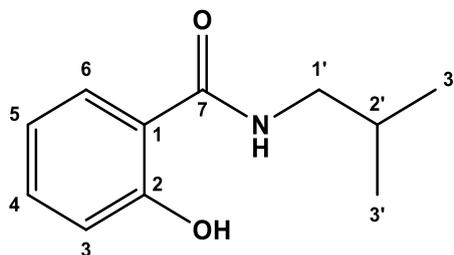


Fonte: Elaborado pela autora.

Uma mistura do ácido salicílico (0,1 g; 0,72 mmols) e SOCl_2 (4,8 mL; 66,45 mmols) foi aquecida sob refluxo entre 2 a 3 horas. O excesso de SOCl_2 foi evaporado e utilizado sem mais purificação. A amina (0,86 mmols) foi dissolvida em CH_2Cl_2 (4 mL) em seguida foi adicionado a Et_3N (1,08 mmols), a mistura foi refrigerada a 0°C . O cloreto ácido foi dissolvido em CH_2Cl_2 (4 mL) e adicionado à solução contendo a amina, gota a gota. A mistura resultante foi deixada à temperatura ambiente, sob agitação por 2 horas (Ji, Xing-Yue, *et al.*, 2013). O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (Hexano/AcOEt, 93:7 a 8:2) para obtenção dos compostos.

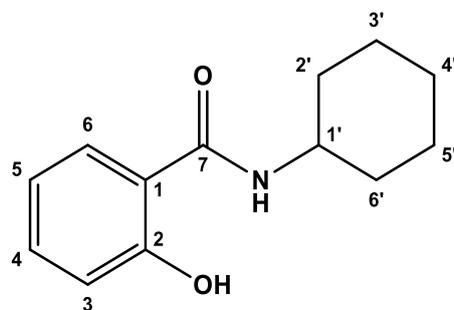
8.2.6 Dados espectroscópicos de 14–23

8.2.6.1. *N*-isobutil-2-hidroxi-benzamida (14)



Sólido amarelo; Rendimento: 37,4% (38,4 mg; 0,27 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); R_f: 0,62; P.F.: 61-62 °C; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3317 (N-H); 2960 (C-H); 1637 (C=O); 1598; 1490 (C=C); 1257 (C-O); 758; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,41-7,38 (*m*, 1H, H-6), 7,35 (*dd*, $J = 8,3; 1,5$ Hz, 1H, H-4); 6,98 (*ddd*, $J = 8,3; 1,1; 0,3$ Hz, 1H, H-3); 6,84 (*ddd*, $J = 8,4; 7,2; 1,2$ Hz, 1H, H-5); 6,40 (*sl*, 1H, N-H); 3,28 (*dd*, $J = 6,9; 6,0$ Hz, 2H, H-1'); 1,91 (*sept*, $J = 6,7$ Hz, 1H, H-2'); 0,98 (*d*, $J = 6,8$ Hz, 6H, H-3'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,12 (C-7); 161,69 (C-2); 134,26 (C-4); 125,27 (C-6); 118,79 (C-3); 118,74 (C-5); 114,53 (C-1); 47,05 (C-1'); 28,66 (C-2'); 20,32 (C-3') (Eisenmann, 1962; Gao *et al.*, 2017).

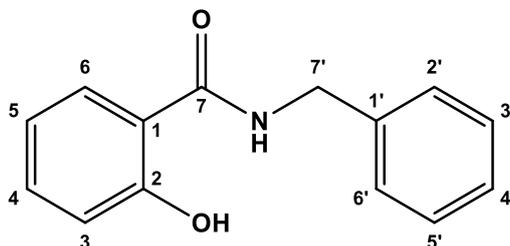
8.2.6.2. *N*-ciclohexil-2-hidroxi-benzamida (15)



Sólido amorfo amarelo; Rendimento: 64,6% (102 mg, 0,46 mmol); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); R_f: 0,64; P.F.: 61-62 °C; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3293 (O-H); 2939 (C-H sp^3); 1632 (C=O); 1523; 1489 (C=C); 1261 (C-O); 755; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,39-7,33 (*m*, 2H, H-4, H-6); 6,96 (*dd*, $J = 8,3; 1,1$ Hz, 1H, H-3); 6,82 (*ddd*, $J = 8,2; 7,3; 1,2$ Hz, 1H, H-5); 6,22 (*sl*, 1H, N-H); 4,01-3,90 (*m*, 1H, H-1'); 2,01 (*dd*, $J = 12,3; 3,5$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 1,76 (*dt*, $J = 13,7; 3,5$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 1,66 (*dt*, $J = 13,0; 3,5$ Hz, 1H, H-4'); 1,48-1,34 (*m*, 2H, H-4', H-3'); 1,32-1,17 (*m*, 3H, H-3', H-5'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,2 (C-7); 161,73 (C-2); 134,12 (C-4); 125,31 (C-6); 118,70 (C-3); 118,65 (C-5); 114,63 (C-1); 48,69 (C-1'); 33,14 (C-2', C-6'); 25,57 (C-3',

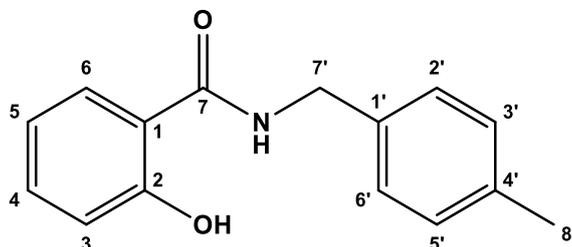
C-5'); 25,02 (C-4') (Madasamy *et al.*, 2022).

8.2.6.3. *N*-benzil-2-hidroxibenzamida (16)

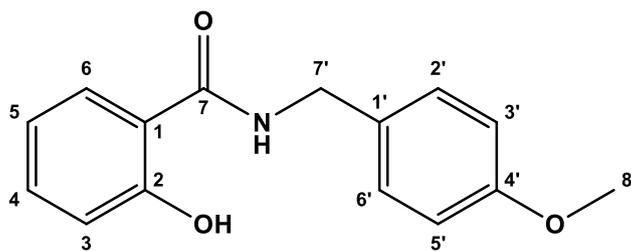


Cristal incolor; Rendimento: 39,1% (64 mg; 0,26 mmol); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); P.F.: 131-132 °C; Rf: 0,56; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3360 (O-H); 2941 (C-H sp^3); 1642 (C=O); 1545; 1495 (C=C); 1253 (C-O); 749; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,42-7,29 (*m*, 7H, H-4, H-6, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 6,99 (*dd*, $J = 8,3; 1,1$ Hz, 1H, H-3); 6,85-6,80 (*m*, 1H, H-5); 6,67 (*sl*, 1H, N-H); 4,63 (*d*, $J = 5,7$ Hz, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,94 (C-7); 161,69 (C-2); 137,50 (C-1'); 134,47 (C-4); 129,02 (C-3', C-5'); 128,01 (C-2', C-6'); 128,00 (C-6); 125,49 (C-4'); 118,83 (C-3); 118,76 (C-5); 114,21 (C-1); 43,79 (C-7') (Madasamy *et al.*, 2022).

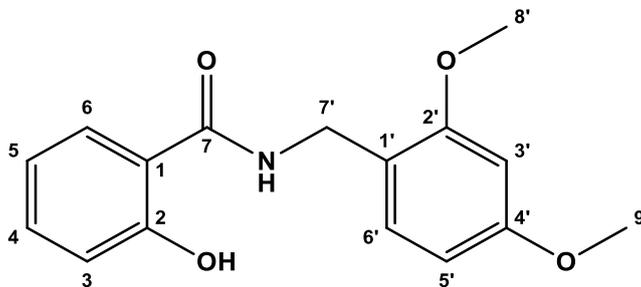
8.2.6.4. *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (17)



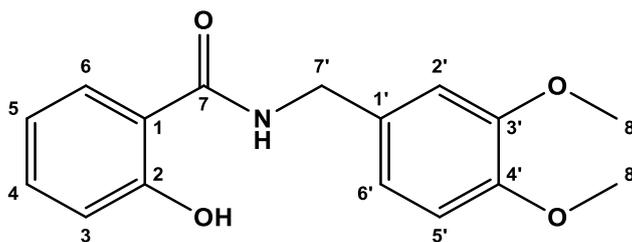
Cristal incolor; Rendimento: 16,7% (29,3 mg; 0,12 mmol); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); Rf: 0,6; P.F: 116-117 °C; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3379 (O-H); 2940 (C-H sp^3); 1643 (C=O); 1591; 1495 (C=C); 1252 (C-O); 750; RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,44-7,39 (*m*, 1H, H-6); 7,37 (*dd*, $J = 8,0; 1,3$ Hz, 1H, H-4); 7,28 (*dl*, $J = 6,7$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,20 (*dl*, $J = 7,9$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,02 (*dd*, $J = 8,3; 0,7$ Hz, 1H, H-3'); 6,87-6,82 (*m*, 1H, H-5); 6,63 (*sl*, 1H, N-H); 4,61 (*d*, $J = 5,6$ Hz, 2H, H-7'); 2,39 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,89 (C-7); 161,73 (C-2); 137,77 (C-4'); 134,50 (C-1'); 134,38 (C-4); 129,68 (C-3', C-5'); 128,04 (C-2', C-6'); 125,47 (C-6); 118,76 (C-3); 118,75 (C-5); 114,31 (C-1); 43,79 (C-7'); 21,23 (C-8'); HRMS (MALDI-TOF) m/z calculado $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{NO}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 242,1175$; encontrado 242,1175.

8.2.6.5. *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxibenzamida (18)

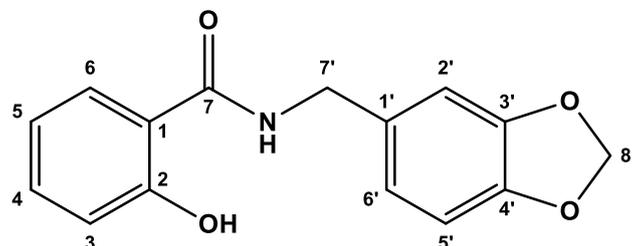
Sólido amorfo branco; Rendimento: 17,8% (33 mg; 0,13 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); P.F: 95-96 °C; Rf: 0,58; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3395 (O-H); 2929 (C-H sp^3); 1641 (C=O); 1588, 1492 (C=C); 1253 (C-O); 745; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,39 (*ddd*, $J = 8,4; 7,2; 1,5$ Hz 1H, H-6); 7,33 (*dd*, $J = 8,0; 1,5$ Hz, 1H, H-4); 7,29-7,26 (*m*, 2H, H-3', H-5'); 6,99 (*dd*, $J = 8,4; 1,1$ Hz, 1H, H-3); 6,91-6,87 (*m*, 2H, H-2', H-6'); 6,81 (*ddd*, $J = 8,0; 7,3; 1,2$ Hz, 1H, H-5); 6,55 (*sl*, 1H, N-H); 4,56 (*d*, $J = 5,5$ Hz, 2H, H-7'); 3,81 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,84 (C-7); 161,75 (C-2); 159,41 (C-4'); 134,42 (C-4); 129,53 (C-1'); 129,48 (C-2', C-6'); 125,45 (C-6); 118,78 (C-3); 118,64 (C-5, determinado no espectro de DEPT 135) 114,40 (C-3'); 114,26 (C-5'); 55,47 (C-8'); 43,34 (C-7') (Waisser *et al.*, 2003).

8.2.6.6. *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (19)

Óleo amarelo; Rendimento: 36,3% (75 mg; 0,26 mmol); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); Rf: 0,36; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3369 (N-H); 2938 (C-H sp^3); 1640 (C=O); 1593; 1353 (C=C); 1208 (C-O); 753; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,36 (*ddd*, $J = 8,3; 7,3; 1,5$ Hz, 1H, H-6); 7,29 (*dd*, $J = 8,0; 1,6$ Hz, 1H, H-4); 7,24 (*d*, $J = 8,2$ Hz, 1H, H-6'); 6,96 (*dd*, $J = 8,3; 1,0$ Hz, 1H, H-3); 6,80 (*ddd*, 8,0; 7,3; 1,2 Hz, 1H, H-5); 6,47 (*td*, $J = 8,0; 2,3$ Hz, 2H, H-5'); 6,55 (*sl*, 1H, N-H); 4,55 (*d*, $J = 5,7$ Hz, 2H, H-7'); 3,87 (*s*, 3H, H-9'); 3,81 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,62 (C-7); 161,75; (C-4') 160,98 (C-2); 158,84 (C-2'); 134,13 (C-4); 130,90 (C-6); 125,43 (C-6'); 118,68 (C-3); 118,62 (C-5); 118,07 (C-1'); 114,64 (C-1); 104,26 (C-5'); 98,95 (C-3'); 55,64 (C-8'); 55,58 (C-9'); 39,40 (C-7') (Grintsevich *et al.*, 2020).

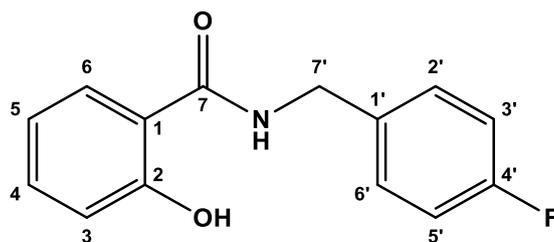
8.2.6.7. N-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxiacetamida (20)

Sólido amorfo amarelo; Rendimento: 40,6% (84 mg, 0,29 mmol); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); Rf: 0,58; P.F.: 128-129 °C; IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3367 (O-H); 2965 (C-H sp^3); 1640 (C=O); 1594; 1376 (C=C); 1237 (C-O); 756; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,39 (*ddd*, $J = 8,4; 7,2; 1,6$ Hz, 1H, H-6); 7,35 (*dd*, $J = 8,0; 1,5$ Hz, 1H, H-4); 7,01-6,98 (*m*, 1H, H-2'); 6,89 (*td*, $J = 8,0; 2,0$ Hz, 2H, H-3, H-5); 6,85-6,80 (*m*, 2H, H-5', H-6'); 6,60 (*sl*, 1H, N-H); 4,56 (*d*, $J = 5,6$ Hz, 2H, H-7'); 3,87 (*s*, 6H, H-8'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,55 (C-7); 161,42 (C-2); 149,09 (C-3'); 148,58 (C-4'); 134,15 (C-4); 129,68 (C-1'); 125,16 (C-6); 120,16 (C-6'); 118,49 (C-3); 118,48 (C-5); 113,93 (C-1); 111,10 (C-2', C-5'); 55,76 (C-8'); 43,43 (C-7'); HRMS (ESI) m/z calculado $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{NO}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+ = 288,1230$; encontrado 288,1227.

8.2.6.8. N-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxiacetamida (21)

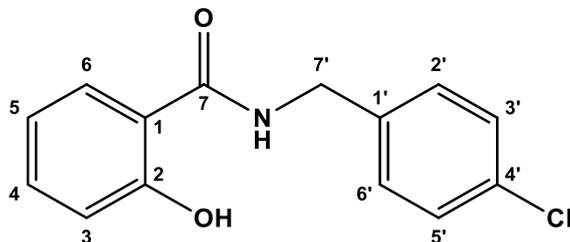
Cristal incolor; Rendimento: 59,4% (116 mg; 0,43 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); Rf: 0,48; P.F.: 138-139 °C; IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3367 (O-H); 2897 (C-H sp^3); 1640 (C=O); 1591; 1353 (C=C); 1231 (C-O); 767; RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 7,39 (*ddd*, $J = 8,4; 7,2; 1,6$ Hz, 1H, H-6); 7,34 (*dd*, $J = 8,0; 1,6$ Hz, 1H, H-4); 6,99 (*dd*, $J = 8,3; 1,0$ Hz, 1H, H-2'); 6,84-6,80 (*m*, 2H, H-3, H-5); 6,80-6,77 (*m*, 2H, H-5', H-6'); 6,59 (*sl*, 1H, N-H); 5,95 (*s*, 2H, H-8'); 4,52 (*d*, $J = 5,6$ Hz, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,87 (C-7); 161,73 (C-2); 148,20 (C-4'); 147,39 (C-3'); 134,48 (C-4); 131,29 (C-1'); 125,46 (C-6); 121,43 (C-6'); 118,81 (C-3); 118,78 (C-5); 114,18 (C-1); 101,31 (C-8'); 108,60 (C-2'); 108,58 (C-5'); 43,64 (C-7') (Gao *et al.*, 2017).

8.2.6.9. N-4-fluorbenzil-2-hidroxiacetamida (22)



Cristal transparente; Rendimento: 45,9% (81 mg; 0,33 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); P.F: 113-114 °C; R_f: 0,54; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3388 (O-H); 2943 (C-H sp^3); 1642 (C=O); 1588; 1330 (C=C); 1228 (C-O); 758. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 12,27 (s, 1H, O-H); 7,42-7,34 (m, 2H, H-4, H-6); 7,34-7,28 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,04 (t, $J = 8,7$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,99 (dd, $J = 8,3; 1,0$ Hz, 1H, H-3); 6,83 (ddd, $J = 7,9; 7,3; 1,2$ Hz, 1H, H-5); 6,68 (sl, 1H, N-H); 4,59 (d, $J = 5,7$ Hz, 2H, H-7'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 169,98 (C-7); 163,70 (C-4'-F); 161,70 (C-4'); 161,25 (C-2); 134,57 (C-4, C-6); 133,39 (C-1'-F); 133,36 (C-1'); 129,78 (C-2'); 129,70 (C-6'-F); 125,49 (C-6'); 118,88 (C-3, C-5); 118,80 (C-3', C-5'); 115,98 (C-3'); 115,77 (C-5'-F); 114,12 (C-1); 43,05 (C-7') (Carcelli *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2021).

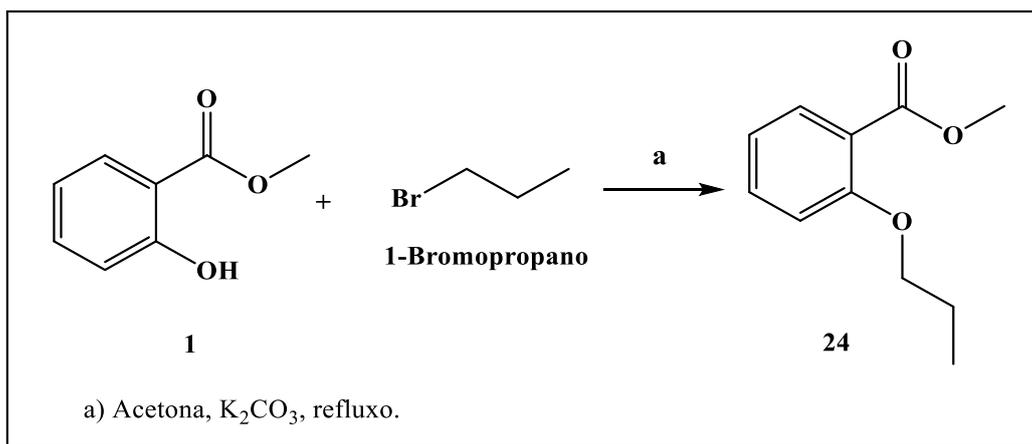
8.2.6.10. N-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (23)



Sólido branco amorfo; Rendimento: 27,6 % (52 mg; 0,20 mmol); CCDA (9:1 Hexano/AcOEt); P.F.: 132-133 °C; R_f: 0,46; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3378 (O-H); 2944 (C-H sp^3); 1648 (C=O); 1544; 1491 (C=C); 1252 (C-O); 749. RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ_{H} 12,20 (s, 1H, O-H); 7,40 (ddd, $J = 8,3; 7,3; 1,5$ Hz, 1H, H-6); 7,36 (dd, $J = 8,0; 1,5$ Hz, 1H, H-4); 7,34-7,30 (m, 2H, H-2', H-6'); 7,27 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,99 (dd, $J = 8,4; 0,9$ Hz, 1H, H-3); 6,83 (ddd, $J = 8,3; 7,0; 1,1$ Hz, 1H, H-5); 6,68 (sl, 1H, N-H); 4,59 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,05 (C-7); 161,74 (C-2); 136,15 (C-1'); 134,60 (C-4); 133,83 (C-4'); 129,33 (C-3', C-5'); 129,14 (C-2', C-6'); 125,48 (C-6); 118,89 (C-3); 118,84 (C-5); 114,13 (C-1); 48,09 (C-7') (Waisser *et al.*, 2003).

8.2.7. Metodologia de obtenção do derivado 24:

Esquema 17. Reação de obtenção do composto 24.

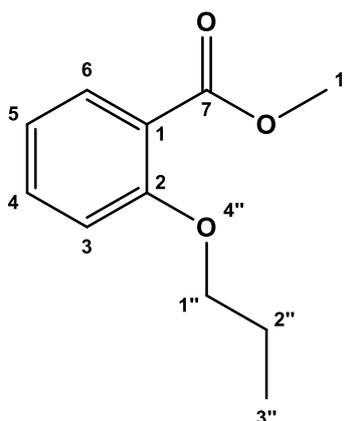


Fonte: Elaborado pela autora.

Em um balão de 50 mL, 100 mg (0,65 mmols) do salicilato de metila (**1**) foi adicionado a uma solução de 4 mL de acetona contendo K₂CO₃ (0,267 mg; 1,93 mmols) e o brometo de 1-propanila (0,07 mL; 0,79 mmols). A reação foi mantida sob refluxo e agitação magnética por 16 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo foi transferido para um funil de separação contendo água destilada (10 mL) e o produto extraído com diclorometano (3 x 10 mL). A fase orgânica foi tratada com solução NaOH 1 N (3 x 10 mL) e seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e concentrado em rotavapor (Coolen, *et al.*, 1995). O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (Hexano/AcOEt, 97:3) para obtenção dos compostos.

8.2.8. Dados espectroscópicos de 24

8.2.8.1. Benzoato de 2-propoxi de metila (24)

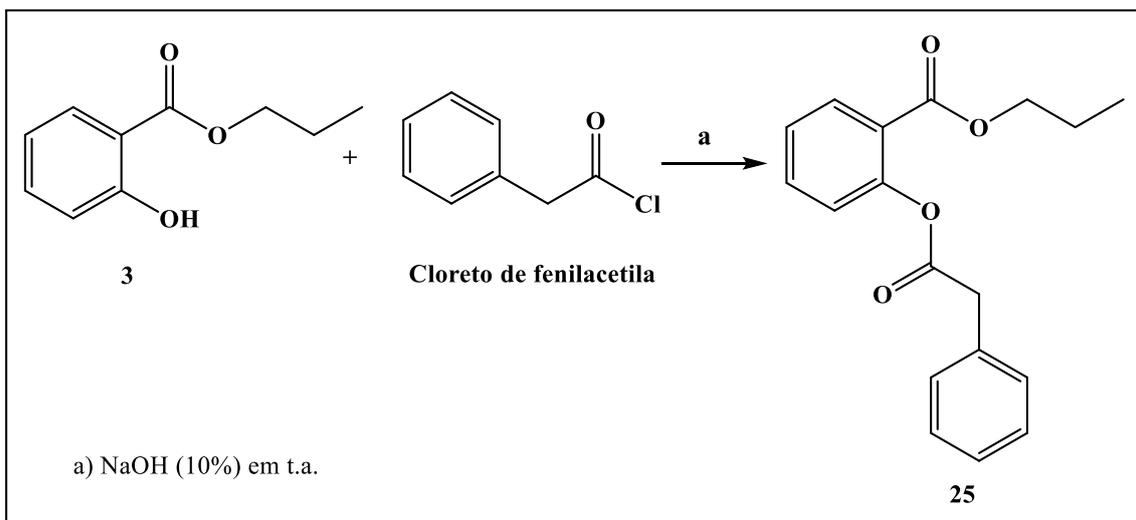


Óleo incolor; Rendimento: 22,9% (33 mg; 0,16 mmol); CCDA (97:3 Hexano/AcOEt); R_f: 0,66; IV ν_{\max} (KBr, cm⁻¹): 2966 (C-H sp³); 2879; 1730 (C=O); 1452 e 1492 (C=C); 1305; 1251 (C-O); 754. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ_{H} 7,77 (*dd*, *J* = 7,9; 1,9 Hz, 1H, H-6); 7,44-7,39 (*m*, 1H, H-3); 6,97-6,92 (*m*, 2H, H-4, H-5); 3,99 (*t*, *J* = 6,5 Hz, 2H,

H-1''); 3,88 (*s*, 3H, H-1'); 1,84 (*sex*, $J = 7,2$ Hz, 2H, H-2''); 1,06 (*t*, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-3''). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 167,11 (C-7); 158,73 (C-2); 133,41 (C-4); 131,65 (C-6); 120,55 (C-1); 120,08 (C-3); 113,31 (C-5); 70,47 (C-1''); 51,96 (C-1'); 22,66 (C-2''); 10,60 (C-3'') (Ahmed *et al.*, 2019).

8.2.9. Síntese do derivado 25:

Esquema 18. Reação de obtenção do composto 25.

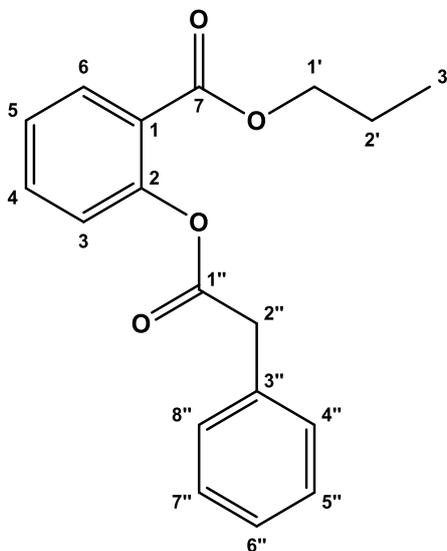


Fonte: Elaborado pela autora.

Adicionou-se 100 mg (0,56 mmols) do salicilato de propila (3) a uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 10% (0,8 mL; 2 mmols), sob agitação magnética. Em seguida adicionou-se gota a gota o cloreto de fenilacetila (0,07 mL; 0,56 mmols) permanecendo a temperatura ambiente e agitação magnética por 2 horas. O solvente foi evaporado e o resíduo foi tratado com água destilada (10 mL) e extraído com diclorometano (3 x 10 mL). A fase orgânica foi tratada com carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 5% (2 a 5 mL), e seca com Na_2SO_4 , filtrada e concentrada em rotavapor (Sadeghian, *et al.*, 2008). O resíduo foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (Hexano/AcOEt, 97:3) para obtenção dos compostos.

8.2.10 Dados espectroscópicos de 25

8.2.10.1. Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (25)



Óleo incolor; Rendimento: 27,5% (59 mg; 0,20 mmols); CCDA (8:2 Hexano/AcOEt); R_f: 0,76; IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3034; 2970 (C-H sp^3); 1767 e 1722 (C=O); 1454 (C=C); 1297 e 1263 (C-O); 1205; 745. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ_{H} 8,02 (*dd*, $J = 7,9; 1,6$ Hz, 1H, H-6); 7,52 (*ddd*, $J = 8,0; 7,5; 1,7$ Hz, 1H, H-4); 7,44-7,35 (*m*, 4H, H-4'', H-5'', H-7'', H-8''); 7,33-7,28 (*m*, 2H, H-3, H-5); 7,05 (*dd*, $J = 8,1; 0,9$ Hz, 1H, H-6''); 4,21 (*t*, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-1'); 3,96 (*s*, 2H, H-2''); 1,75 (*sex*, $J = 7,4$ Hz, 2H, H-2'); 1,01 (*t*, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-3'). RMN de ^{13}C (100 MHz, CDCl_3): δ_{C} 170,33 (C-1''); 164,65 (C-7); 150,76 (C-2); 133,74 (C-4); 133,55 (C-3''); 131,76 (C-6); 129,73 (C-4'', C-8''); 128,72 (C-5'', C-7''); 127,36 (C-6''); 126,13 (C-3); 123,82 (C-5); 123,72 (C-1); 66,81 (C-1'); 41,19 (C-2''); 22,16 (C-2'); 10,57 (C-3'). HRMS (MALDI-TOF) m/z calculado $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{Na}]^+ = 321,1102$ encontrado 321,1109.

8.3. Determinação da atividade antiprotozoária dos compostos 1, 3, 6-10, 12, 14, 15, 17 e 20

Os ensaios sobre *Leishmania braziliensis*, *Trypanosoma cruzi* e *Plasmodium falciparum* e de citotoxicidade foram realizados pela equipe da professora Dr. Sara Maria Robledo, na Universidade de Antioquia (Medellín, Colombia).

8.3.1. Avaliação da citotoxicidade in vitro dos compostos

A atividade citotóxica dos compostos foi avaliada utilizando a viabilidade da linhagem celular promonocítica humana U-937 (ATCC CRL-1593.2TM) pelo MTT

(brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio) baseado em uma metodologia previamente descrita. O efeito dos compostos foi determinado medindo-se a atividade da desidrogenase mitocondrial pela adição de 10 mL/poço de solução de MTT (0,5 mg/mL) e incubação a 37 °C por 3 h. A viabilidade celular foi determinada com base na quantidade de formazan produzida de acordo com a intensidade de cor (absorvância) registrada em densidades ópticas (D.O.) obtidas a 570 nm em espectrofotômetro (Varioskan™ Flash Multimode Reader – Thermo Scientific, EUA). Células cultivadas na ausência de compostos foram utilizadas como controle de viabilidade (controle negativo), enquanto a doxorubicina foi utilizada como controle de citotoxicidade. Os ensaios foram conduzidos em dois ensaios independentes, cada concentração em triplicata (Taylor *et al.*, 2011).

8.3.2. Avaliação da atividade leishmanicida in vitro

A atividade dos compostos foi avaliada em amastigotas intracelulares de *L. braziliensis* transfectadas com o gene da proteína verde fluorescente (MHOM/CO/88/UA301-EGFP). Primeiro, células humanas U-937 a uma densidade de 3×10^5 células/mL em RPMI 1640 e 0,1 µg/mL de PMA (forbol-12-miristato-13-acetato) foram dispensadas em microplaca de 24 poços e incubadas a 37 °C, 5% CO₂. Após 72 h de incubação, as células foram infectadas com promastigotas de crescimento em fase estacionária na proporção de 15:1 (parasitas:célula). As placas foram incubadas a 34°C e 5% de CO₂ por 3 h e, em seguida, as células foram lavadas duas vezes com solução tampão fosfato (PBS) para eliminar os parasitas não internalizados. RPMI-1640 fresco foi adicionado em cada poço (1 mL) e as placas foram incubadas novamente para completar a infecção.

Após 24 h de infecção, o meio RPMI-1640 foi substituído por meio de cultura fresco contendo cada composto em quatro diluições seriadas, sendo a concentração mais alta equivalente a duas vezes a LC₅₀, e as placas foram então incubadas a 37°C e 5% de CO₂ durante 72h. As células foram removidas da placa inferior com uma solução de tripsina/EDTA (250 mg) e foram centrifugadas a 1100 rpm durante 10 min a 4°C; o sobrenadante foi descartado e as células foram lavadas com 1 mL de PBS frio e centrifugadas duas vezes a 1100 rpm por 10 min a 4 °C e após a última lavagem, o sobrenadante foi descartado e as células foram suspensas em 500 µL de PBS.

As células foram analisadas em um citômetro de fluxo (cytomics FC 500MPL) lendo a 488 nm (excitante) e 525 nm (emissor) sobre um laser de argônio e contando

10.000 eventos. As células infectadas foram determinadas de acordo com os eventos de fluorescência verde (parasitas). Células infectadas expostas a drogas de controle (anfotericina B) foram usadas como controle para atividade antileishmania (controle positivo), enquanto células infectadas incubadas na ausência de qualquer composto ou droga foram usadas como controle para infecção (controle negativo). A fluorescência não específica foi corrigida subtraindo a fluorescência das células não coradas. As determinações foram feitas em triplicata em pelo menos dois experimentos independentes (Pulido *et al.*, 2012).

8.3.3. Avaliação da atividade anti-*Trypanosoma* in vitro

Para testar a eficácia dos compostos, 25.000 macrófagos humanos U-937/100 μ L de RPMI-1640 enriquecidos com 10% de FBS e 10 ng de PMA foram colocados em cada poço da placa de cultura de células de 96 poços. As células foram então infectadas com epimastigotas (24 h de crescimento) da cepa Tulahuen de *T. cruzi* transfectada com o gene β -gal (doado pelo Dr. F. S. Buckner, University of Washington) na proporção de 5:1 (parasitas:célula). Após a infecção, 100 μ L de cada composto a 50 – 12,5 – 3,125 ou 0,78 μ g/mL foram adicionados a cada poço e as placas foram incubadas durante 72 h a 37 °C, 5% de CO₂. Por fim, o efeito de cada composto e cada concentração na viabilidade de parasitas intracelulares foi determinado medindo a atividade de β -gal por método colorimétrico após a adição de 100 μ M de vermelho de clorofenol- β -D-galactopiranosídeo (CPRG) e 0,1% de nonidet P-40. Após 3 h de incubação à temperatura ambiente, as placas foram lidas a 570 nm em um espectrofotômetro (Varioskan, Thermo) e a absorbância foi registrada como D.O. (Buckner *et al.*, 1996). A atividade anti-*Trypanosoma* do benzonidazol foi usada como controle positivo enquanto o meio RPMI-1640 foi usado como controle negativo. A absorbância não específica foi corrigida pela subtração de D.O. do branco. As determinações foram feitas em triplicado em pelo menos duas experiências independentes.

8.3.4. Avaliação da atividade antiplasmodial in vitro

As culturas assincronizadas de *P. falciparum* 3D7 foram ajustadas para 0,5% de parasitemia e 1% de hematócrito em meio RPMI enriquecido com 3% de albumina de soro bovino rico em lipídios-Albumax II. Em seguida, 100 μ L de suspensão de parasitas foram dispensados em cada poço da placa de cultura de células de 96 poços e posteriormente expostos a 100 μ L de cada composto a 100 – 25 – 6,25 ou 1,56 μ g/mL. As placas foram incubadas por 48 h a 37°C em atmosfera de N₂ (90%), CO₂ (5%) e O₂

(5%). Após a incubação, os parasitas foram colhidos e submetidos a três ciclos de congelamento-descongelamento de 20 minutos.

Enquanto isso, 100 µL de reagente Malstat (400 µL Triton X-100 em 80 mL de água desionizada, 4 g de lactato, 1,32 g de tampão Tris e 0,022 g de acetilpiridina adenina dinucleotídeo em 200 mL de água deionizada; pH 9,0) e 25 mL de NBT/PES (0,16 g de sal nitroazul tetrazólio e 0,08 g de fenazinaetossulfato em 100 mL de água desionizada) foram adicionados a cada poço de uma placa adicional de 96 poços. Após os ciclos de congelamento-descongelamento, a cultura em cada um dos poços da primeira placa foi ressuspensa por pipetagem e 15 µL de cada poço foram retirados e adicionados ao poço correspondente da placa adicional (contendo reagentes Malstat e NBT/PES). Após uma hora de incubação no escuro, o desenvolvimento da cor da reação de LDH foi lido em um espectrofluorômetro (Varioskan, Thermo) a 650 nm. A intensidade da cor em cada condição experimental foi registrada como unidades fluorescentes (F.U). A fluorescência não específica foi corrigida subtraindo F.U do branco. As determinações foram feitas em triplicado em pelo menos duas experiências independentes. Cloroquina (CQ) foi usada como controle positivo e meio de cultura foi usado como controle negativo (Insuasty, *et al.*, 2017).

8.3.5. Análise estatística

A citotoxicidade foi determinada de acordo com os percentuais de viabilidade e mortalidade obtidos para cada condição experimental (compostos sintetizados, anfotericina B, benznidazol, cloroquina e meio de cultura). Inicialmente, os percentuais de viabilidade foram calculados pela equação (1), onde o D.O do poço controle corresponde a 100% de viabilidade. Por sua vez, o percentual de mortalidade corresponde a 100% – % de viabilidade.

$$\% \text{Viabilidade} = (\text{Células D.O Expostas}) / (\text{Células de Controle D.O}) \times 100 \quad (1)$$

Então, a porcentagem de inibição do crescimento celular foi calculada usando a equação (2):

$$\% \text{ de inibição do crescimento celular} = 100\% \text{ de viabilidade} \quad (2)$$

Esses percentuais de inibição do crescimento celular foram usados para calcular as concentrações letais (LC₅₀) usando a análise Probit (Finney, 1978).

A atividade anti-*Trypanosoma* foi determinada de acordo com a redução da D.O. das células infectadas obtidas para cada condição experimental. A inibição da quantidade de parasitas foi calculada pela Equação (1),

$$\% \text{ de inibição de infecção} = 100 - [(células infectadas com D.O e expostas ao composto) / (células infectadas com D.O e não expostas) \times 100]$$

A atividade antiplasmodial de cada composto avaliado foi evidenciada pela redução dos parasitas em crescimento calculada de acordo com a Equação (2):

$$\% \text{ de inibição de crescimento} = 100 - [(parasitas U.F expostos a compostos) / parasitas não expostos U.F] \times 100]$$

Dados percentuais de redução de parasitas foram usados para calcular o EC₅₀ usando o modelo de regressão linear Probit (Finney, 1978).

8.4. Avaliação da Atividade antifúngica dos compostos 1-25

8.4.1. Considerações gerais

Os testes de atividade antifúngica foram realizados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Farmacologia Experimental e Cultivo Celular (LAFECC/UFPB). Foram utilizadas cepas de Referência de *Candida* spp. Obtidas da American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, EUA) e Centralbureau Voor Schimmelcultures (CBS, Delft, Holanda): *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida albicans* CBS 5602, *Candida tropicalis* CBS 94 e *Candida krusei* CBS 5738. Nistatina, cetoconazol, DMSO (Dimetil Sulfoxido), Tween 80% e Ergosterol foram obtidos da Sigma-Aldrich® Chemical Co. (St. Louis, MO, EUA). O sorbitol (D-sorbitol anidro) foi comprado do INLAB® (São Paulo, Brasil).

8.4.2. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A CIM foi determinada por meio da técnica de microdiluição descrita pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2008). A suspensão de levedura foi preparada em caldo RPMI (Roswell Park Memorial Institute Médiu) e ajustada com turbidez equivalente a $2,5 \times 10^3$ UFC / mL, 530 nm, absorvância entre 0,08 – 0,116.

Foram feitas diluições em série dos compostos em placas de microdiluição com 96 poços de fundo em U contendo RPMI, resultando em concentrações que variaram entre 1000 a 7,81 µg/mL. Nistatia e cetoconazol foram utilizados como controles e foram testados em concentrações que variaram, respectivamente, de 48 a 0,75 µg/mL e

16 a 0,125 µg/mL. Estas placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C, e os resultados foram lidos por meio da observação visual de agregados celulares no fundo dos poços.

Controles de viabilidade celular, esterilidade do meio de cultura, e de solução de 5% de DMSO, utilizado para preparação das soluções dos compostos, foram realizados simultaneamente com o ensaio. A CIM foi definida como menor concentração capaz de inibir o crescimento visível.

A bioatividade dos compostos foi determinada a partir dos valores da CIM e classificada de acordo com as seguintes categorias: 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) (Alves *et al.*, 2021).

8.4.3. Determinação da Concentração Fungicida Mínima (CFM)

Para determinação da CFM, alíquotas de 10 µL dos poços correspondentes à CIM, CIMx2 e CIMx4 foram subcultivadas em Ágar Sabouraud Dextrose (KASVII, kasv Imp e Dist de Prod / laboratórios LTDA, Curitiba, Brasil). Em seguida, as placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C, e a leitura foi realizada por observação visual do crescimento fúngico no meio sólido. A CFM foi definida como menor concentração capaz de inibir o crescimento visível pela formação de colônias em meio de cultura sólido. A razão CFM / CIM foi calculada para determinar se a substância apresentou atividade fungistática (CFM/ CIM maior ou igual a 4) ou fungicida (CFM / CIM menor que 4) (Siddiqui *et al.*, 2013).

8.4.4. Verificação do modo de ação sobre a parede e membrana celular fúngica

8.4.4.1. Ensaio com Ergosterol

A CIM na presença de ergosterol foi definida como a menor concentração da substância capaz de promover à inibição do crescimento microbiano visível. O ensaio também foi realizado utilizando a técnica de microdiluição, no entanto, na presença de Ergosterol exógeno (SigmaAldrich, São Paulo, Brasil) em uma concentração de 400 µg/ml. Foi utilizada cepa de *C. albicans* ATCC 90028, e o ensaio foi conduzido de acordo com o descrito para determinação da CIM. A nistatina foi utilizada como controle positivo (Lima *et al.*, 2013).

8.4.4.2. Ensaio com Sorbitol

O ensaio foi realizado por meio da técnica de microdiluição objetivando a comparação dos valores da CIM do composto frente *C. albicans* ATCC 90028 na ausência e na presença de Sorbitol 0,8 μ M. Para condução deste experimento, foram realizados os procedimentos descritos para determinação da CIM. Concluída essa etapa, as placas foram incubadas a 35° C, e as leituras foram realizadas 24 horas após o período de incubação. Caspofungina, na concentração inicial de 4 μ g/mL, foi utilizado como controle positivo. O sorbitol é um protetor osmótico da parede celular fúngica e valores maiores de CIM em meios com adição dessa substância indica possível modo de ação sobre alvos que envolvem funções da parede celular (Escalante *et al.*, 2008; Freires *et al.*, 2014).

8.5. Estudo de Modelagem Molecular do composto 15 em potenciais alvos de *C. albicans*

O estudo de modelagem molecular foi realizado pelo Dr. Yunierkis Perez-Castillo no laboratório do Grupo de Pesquisa em Bioinformática da Universidade de Las Américas, localizado no Quito, Equador.

8.5.1. Seleção dos alvos

Os alvos potenciais do composto **15** em *C. albicans* foram identificados usando a metodologia de pesca de alvo computacional baseada em homologia (Ferreira *et al.*, 2022; Lopes *et al.*, 2020). Para isso, alvos moleculares para o composto **15** foram previstos com o servidor web Similarity Ensemble Approach (SEA) (Keiser *et al.*, 2007). As abordagens computacionais de pesca de alvos dependem principalmente das interações ligante-receptor relatadas em bancos de dados como o ChEMBL. Esses bancos de dados são conhecidos por conter informações para interações tendenciosas contra proteínas do *H. sapiens*. Por causa disso, os alvos potenciais identificados pelo SEA foram usados como consulta em uma pesquisa Blast contra o proteoma de *C. albicans* (ID de imposto: 5476) relatado no banco de dados de proteínas de referência (refseq_protein). Proteínas do fungo idênticas em pelo menos 45% a qualquer alvo previsto pela SEA e com suas sequências cobertas em pelo menos 75% pelo alinhamento Blast foram consideradas como potenciais alvos do composto **15** em *C. albicans*.

8.5.2. Ancoragem molecular

Uma conformação 3D inicial foi gerada para o composto **15** e todos os átomos de hidrogênio foram adicionados a ele com o Omega da OpenEye (Hawkins; Hawkins *et al.*, 2010). A conformação 3D do composto foi obtida com o Merck Molecular Force Field (MMFF94) como implementado ao Omega usando parâmetros padrão. Cargas atômicas parciais do tipo am1bcc foram adicionadas ao composto conforme o MolCharge (OpenEye Scientific Software). Dentre as proteínas estudadas, apenas FBA1 possui coordenadas 3D depositadas no banco de dados Protein Data Bank (PDB). Para este receptor, a estrutura de raios X depositada com o código 7V6F no PDB foi selecionada para estudos de modelagem. As demais proteínas não possuem estrutura resolvida e para estes modelos de homologia foram gerados com o servidor web SwissModel (Waterhouse *et al.*, 2018). Diferentes modelos de homologia foram construídos para cada sequência alvo e, dentre eles, aquele com maior pontuação global QMEANDisCo foi selecionado para estudos de modelagem.

O encaixe molecular do composto **15** aos seus potenciais alvos foi realizado com o software Gold (Jones *et al.*, 1997) através de sua interface gráfica Hermes. Átomos de hidrogênio foram adicionados ao receptor e apenas cofatores funcionais relevantes e íons metálicos foram mantidos no receptor para ancoragem. A cavidade de encaixe do FBA1 foi definida a partir dos ligantes cocrystalizados. Para o restante dos receptores, as bolsas de ligação foram definidas a partir dos ligantes presentes nos modelos de homologia. O software Gold foi executado com o parâmetro de eficiência de pesquisa definido como 200%. Um total de 30 soluções de encaixe diferentes foram gerados. A função de pontuação GoldScore foi selecionada para pontuação primária e todas as poses previstas foram remarcadas com a função ChemScore. As três melhores poses pontuadas do ligante por alvo, de acordo com o ChemScore, foram selecionadas para análises adicionais.

8.5.3. Simulações de dinâmica molecular (MD) e estimativa das energias de ligação

Simulações de dinâmica molecular foram realizadas com Amber 22 (Case *et al.*, 2022) seguindo o protocolo descrito anteriormente (Morais *et al.*, 2021; Perez-Castillo *et al.*, 2022). Todos os sistemas foram submetidos ao mesmo protocolo de minimização de energia, aquecimento, equilíbrio e execuções de produção. Em resumo, os campos de força ff19SB e gaff2 foram usados para parametrizar aminoácidos e o ligante,

respectivamente. Os parâmetros para cofatores foram extraídos do banco de dados de parâmetros Amber (Amber, 2022). O cátion zinco foi tratado de acordo com a Abordagem do Átomo Cationic Dummy (Pang *et al.*, 2000; Zinc Protein Simulations Using the Cationic Dummy Atom (CaDA) Method). Por outro lado, os centros de di-cátion presentes no MAP2 e PPH3 foram parametrizados com o utilitário Metal Center Parameter Builder (MCPB) da Amber 22 (Li, 2016). Cada complexo foi encerrado em uma caixa octaedro truncada que foi solvatada com moléculas de água OPC. Os íons Na⁺ e Cl⁻ foram adicionados na concentração de 150 mM para neutralizar o excesso de carga de acordo com o protocolo descrito (Machado; Pantano, 2020).

A minimização de energia foi realizada em duas etapas, com o soluto restringido durante a primeira delas. Nenhuma restrição foi aplicada para a segunda etapa de minimização de energia. Ambas as etapas de minimização de energia consistiram na aplicação do método de descida mais íngreme, 500 passos, seguido de gradiente conjugado. O número de ciclos de gradiente conjugado foi ajustado para 500 e 1000 para a primeira e segunda minimização de energia, respectivamente. Em seguida, o complexo foi aquecido gradualmente de 0 K a 300 K durante 20 ps. A última etapa da preparação do sistema consistiu no seu equilíbrio a temperatura (300 K) e pressão (1 bar) constantes durante 100 ps. Finalmente, o sistema equilibrado foi usado como entrada para cinco corridas de produção, cada uma inicializada com diferentes velocidades iniciais aleatórias. Cada corrida de produção durou 4 ns. As energias livres de ligação do composto **15** aos seus alvos potenciais foram estimadas com o método de área de superfície de Mecânica Molecular Poisson-Boltzmann (MM-PBSA) como implementado em Amber 22 (Miller *et al.*, 2012). Os cálculos de MM-PBSA foram realizados a partir de 100 instantâneos MD extraídos uniformemente do intervalo de tempo de 1 ns – 4 ns das cinco execuções de produção de cada sistema. A força iônica para calcular as energias de ligação foi ajustada para 150 mM.

REFERÊNCIAS

AHMED, Muhammad Naeem; AHMAD, Khalil; YASIN, Khawaja Ansar; FAROOQ Tayyaba; KHANA, Bilal Ahmad; ROY, Soumendra K. Ligand-free Cu (ii)-catalyzed aerobic etherification of aryl halides with silanes: an experimental and theoretical approach. **New Journal of Chemistry**, v. 43, n. 28, p. 11316-11333, 2019. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2019/nj/c9nj01777a/unauth>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ALISSA, Siham A.; ALGHULIKAH, Hanan A.; ALOTHMAN, Zeid A.; OSMAN, Sameh M.; PRETE, Sonia Del; CAPASSO, Clemente; NOCENTINI, Alessio; SUPURAN, Claudiu T. Inhibition survey with phenolic compounds against the δ - and η -class carbonic anhydrases from the marine diatom *thalassiosira weissflogii* and protozoan *Plasmodium falciparum*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 35, n. 1, p. 377-382, 2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/citedby/10.1080/14756366.2019.1706089?scroll=top&needAccess=true&role=tab>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ALVES, Danielle da Nóbrega; FERREIRA, Alana Rodrigues; DUARTE, Allana Brunna Sucupira; MELO, Ana Karoline Vieira; DE SOUSA, Damião Pergentino; DE CASTRO, Ricardo Dias. Breakpoints for the classification of anti-*Candida* compounds in antifungal screening, **BioMed Research International**, v. 2021, Article ID 6653311, 8 pages, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2021/6653311/>. Acesso em: 25 ago. 2023.

AMBER parameter database (Bryce Group: Computational Biophysics and Drug Design - University of Manchester). Disponível em: <http://amber.manchester.ac.uk/index.html>. Acesso em: 7 Set. 2022.

ANANTHARAJU, Preethi G.; GOWDA, Prathima C.; VIMALAMBIKE, Manjunatha G.; MADHUNAPANTULA, SubbaRao V. An overview on the role of dietary phenolics for the treatment of cancers. **Nutrition journal**, v. 15, n. 1, p. 1-16, 2016. Disponível em: <https://nutritionj.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12937-016-0217-2>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ANVERSA, Laís; TIBURCIO, Monique Gomes Salles; RICHINI-PEREIRA, Virgínia Bodelão; RAMIREZ, Luis Eduardo. Human leishmaniasis in Brazil: a general review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 64, p. 281-289, 2018. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/wwhKNdvWPwzG45FYr9dHWXQ/?lang=en#>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ANTWI, Christine Achiaa; AMISIGO, Cynthia Mmalebna; ADJIMANI, Jonathan Partt; GWIRA, Theresa Manful. In vitro activity and mode of action of phenolic compounds on *Leishmania donovani*. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 2, e0007206, 2019. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0007206>. Acesso em: 25 ago. 2023.

APONTE, José C.; JIN, Zhuang; VAISBERG, Abraham J.; CASTILLO, Denis; MÁLAGA, Edith; LEWIS, Walter H.; SAUVAIN, Michel; GILMAN, Robert H.; HAMMOND, Gerald B. Cytotoxic and anti-infective phenolic compounds isolated from *Mikania decora* and *Crematosperma microcarpum*. **Planta Medica**, v. 77, n. 14, p.

1597–1599, 2011. Disponível em: <https://www.thieme-connect.com/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0030-1270960>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ARGOMEDO, Luis M. Z.; BARROSO, Vinicius M.; BARREIRO, Cristiane S.; DARBEM, Mariana P.; ISHIDA, Kelly; STEFANI, Hélio A. Novel 2-aryloxazoline compounds exhibit an inhibitory effect on *Candida* spp., including antifungal-resistant isolates. **ACS medicinal chemistry letters**, v. 11, n. 12, p. 2470-2475, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acsmchemlett.0c00449>. Acesso em: 25 ago. 2023.

ASGHARI, Mohammadreza; AGHDAM, Morteza Soleimani. Impact of salicylic acid on post-harvest physiology of horticultural crops. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 10, p. 502-509, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S092422441000172X>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BAMOHARRAM, Fatemeh F.; Heravi, Majid M.; ROSHANI, Mina; JAHANGIR Manochehr; GHARIB Ali. Preyssler catalyst, [NaP5W30O110] 14–: A green, efficient and reusable catalyst for esterification of salicylic acid with aliphatic and benzylic alcohols. **Applied Catalysis A: General**, v. 302, n. 1, p. 42-47, 2006. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0926860X05009245>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BARBOSA, Ticiano P.; SOUSA, Suervy C. O.; AMORIM, Francianne M.; RODRIGUES, Yara K. S.; DE ASSIS, Priscilla A. C.; CALDAS, John P. A.; OLIVEIRA, Márcia R.; VASCONCELLOS, Mário L. A. A. Design, synthesis and antileishmanial in vitro activity of new series of chalcones-like compounds: a molecular hybridization approach. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 19, n. 14, p. 4250-4256, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089611004184>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BATOVSKA, Daniela I.; KISHIMOTO, Takao; BANKOVA, Vassya S.; KAMENARSKA, Zornitsa G.; UBUKATA, Makoto. Synthesis of Some Phenylpropanoid Monoglycerides via the Mitsunobu Protocol. **Molecules**, p. 552-558, 2005. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/10/3/552>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BEGUM, Kohinur; SHAHID, Mashmum Shababa; JALIL, Reza Ul. Topical Nanoemulsion of Rifampicin with Benzoic Acid and Salicylic Acid: Activity Against *Staphylococcus aureus*, *S. epidermis* and *Candida albicans*. **Bangladesh Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 1, p. 1-6, 2019. Disponível em: <https://www.banglajol.info/index.php/BPJ/article/view/40018>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BENZIGER, Catherine Pastorius; DO CARMO, Gabriel Assis Lopes; RIBEIRO, Antonio Luiz Pinho. Chagas cardiomyopathy: clinical presentation and management in the Americas. **Cardiology clinics**, v. 35, n. 1, p. 31-47, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27886788/>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BEZERRA, Juliana Maria Trindade; BARBOSA, David Soeiro; MARTINS-MELO, Francisco Rogerlândio; WERNECK, Guilherme Loureiro; BRAGA, Érika Martins; TAUIL, Pedro Luiz; CARNEIRO, Mariângela. Changes in malaria patterns in Brazil over 28 years (1990–2017): results from the Global Burden of Disease Study 2017. **Population Health Metrics**, v. 18, p. 1-15, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12963-020-00211-6>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BIELSKA, Ewa; LUCAS, Xavier; CZERWONIEC, Anna; KASPRZAK, Joanna M.; KAMINSKA, Katarzyna H.; BUJNICKI, Janusz M. Virtual screening strategies in drug design – methods and applications. **Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology**, v. 92, n. 3, p. 249-264, 2011. Disponível em: <https://discovery.dundee.ac.uk/en/publications/virtual-screening-strategies-in-drug-design-methods-and-applicati>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BONARDI, Alessandro; PARKKILA, Seppo; SUPURAN, Claudiu T. Inhibition studies of the protozoan α -carbonic anhydrase from *Trypanosoma cruzi* with phenols. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, v. 37, n. 1, p. 2417-2422, 2022. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14756366.2022.2119965>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BROWN, E. Jonathan; KHODR, Hicham; HIDER, C. Robert; RICE-EVANS, Catherine A. Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions: implications for their antioxidant properties. **Biochemical Journal**, v. 330 (Pt 3) p. 1173–1178, 1998. Disponível em: <https://portlandpress.com/biochemj/article-abstract/330/3/1173/34693/Structural-dependence-of-flavonoid-interactions?redirectedFrom=fulltext>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BUCKNER, F. S.; VERLINDE, C. L.; LA FLAMME, A. C.; VAN VOORHIS, W. C. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, 1996. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aac.40.11.2592>. Acesso em: 25 ago. 2023.

BUT, Tracy Yuen Sze; TOY, Patrick H. The Mitsunobu Reaction: Origin, Mechanism, Improvements, and Applications. **Chemistry - An Asian Journal**. p. 1340–1355, 2007. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/asia.200700182>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CALEJA, Cristina; RIBEIRO, Andreia; FILOMENA, Maria Barreiro; FERREIRA, Isabel C. F. R. Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients. **Current pharmaceutical design**, v. 23, n. 19, p. 2787-2806, 2017. Disponível em: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2017/00000023/00000019/art00008>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CAMP, David; ITZSTEIN, Mark von; JENKINS, Ian D. The mechanism of the first step of the Mitsunobu reaction. **Tetrahedron**. v. 71, p. 4946–4948, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004040201500808X>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CARCELLI, Mauro; ROGOLINO, Dominga; BACCHI, Alessia; RISPOLI, Gabriele; FISICARO, Emilia; COMPARI, Carlotta; SECHI, Mario; STEVAERT, Annelies; NAESENS, Lieve. “Metal-chelating 2-hydroxyphenyl amide pharmacophore for inhibition of influenza virus endonuclease”. **Molecular pharmaceutics**, v. 11, n. 1, p. 304-316, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/mp400482a>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CARDOSO, Mariana S; REIS-CUNHA, João Luís; BARTHOLOMEU, Daniella C. Evasion of the immune response by *Trypanosoma cruzi* during acute infection. **Frontiers in immunology**, v. 6, p. 659, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26834737/>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CASE, D.A. et al. AMBER 2022. University of California, San Francisco; 2022.

CALVALCANTE, Phelipe Matheus Moraes; DA SILVA, Renato Luiz; DE FREITAS, Jucleiton José Rufino; DE FREITAS, Juliano Carlo Rufino; FILHO, João Rufino de Freitas. Proposta na preparação e caracterização de ésteres: Um experimento de análise orgânica na graduação. **Educacion Quimica**, v. 26, n. 4, p. 319-329, 2015. Disponível em: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-893X2015000400319&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 25 ago. 2023.

CHAPADO, Laura; LINARES-PALOMINO, Pablo J.; SALIDO, Sofía; ALTAREJOS, Joaquín; ROSADO, Juan A.; SALIDO, Ginés M. Synthesis and evaluation of the platelet antiaggregant properties of phenolic antioxidants structurally related to rosmarinic acid. **Bioorganic Chemistry**, v. 38, p. 108-114, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0045206809000959>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CHUNG, Ill-Min; SEO, Su-Hyun; KANG, Eun-Young; PARK, Won-Hwan; MOON, Hyung-In. Anti-malarial activity of 6-(8'Z-pentadecenyl)-salicylic acid from *Viola websteri* in mice. **Malaria journal**, n. 8, v. 1, p. 1-4, 2009. Disponível em: <https://malariajournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2875-8-151>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S. **Organic chemistry**. Oxford university press, 2012.

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.

COLOMBO, Arnaldo Lopes; GUIMARÃES, Thaís; CAMARGO, Luis Fernando Aranha; RICHTMANN, Rosana; DE QUEIROZ-TELLES, Flavio; SALLES, Mauro José Costa; DA CUNHA Clóvis Arns; YASUDA, Maria Aparecida Shikanai; MORETTI, Maria Luiza; NUCCI, Marcio. Brazilian guidelines for the management of candidiasis—a joint meeting report of three medical societies: Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 3, p. 283-312, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1413867013000998>. Acesso em: 25 ago. 2023.

COOLEN, Hein K. A. C.; MEEUWIS, Johannes A. M.; VAN LEEUWEN, Piet W. M. N.; NOLTE, Roeland J. M. Substrate Selective Catalysis by Rhodium Metallohosts.

Journal of the American Chemical Society, v. 117, n. 48, pp. 11906-11913, 1995. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja00153a012>. Acesso em: 25 ago. 2023.

COSTA, Aratã Oliveira Cortez. Estudo in vitro e in silico da atividade antifúngica dos isômeros r-(+) e s-(-) citronelal sobre fungos do gênero *Cryptococcus*. 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufpb.br/jspui/bitstream/tede/9471/2/arquivototal.pdf>. Acesso em: 25 ago. 2023.

CZUB, Jacek; BAGINSKI, Maciej. Comparative molecular dynamics study of lipid membranes containing cholesterol and ergosterol. **Biophysical Journal**, v. 90, n. 7, p. 2368- 2382, 2006. Disponível em: [https://www.cell.com/fulltext/S0006-3495\(06\)72420-1#%20](https://www.cell.com/fulltext/S0006-3495(06)72420-1#%20). Acesso em: 25 ago. 2023.

DAS, Vidya Nand Ravi; PANDEY, Ravindra Nath; SIDDIQUI, Niyamat Ali; CHAPMAN, Lloyd A. C.; KUMAR, Vijay; PANDEY, Krishna; MATLASHEWSKI, Greg; DAS, Pradeep. Longitudinal study of transmission in households with visceral leishmaniasis, asymptomatic infections and PKDL in highly endemic villages in Bihar, India. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 12, p. e0005196, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005196>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DE MORAIS, Mayara Castro; PEREZ-CASTILLO, Yunierkis; SILVA, Valdenizia Rodrigues; SANTOS, Luciano de Souza; SOARES, Milena Botelho Pereira; BEZERRA, Daniel Pereira; DE CASTRO, Ricardo Dias; DE SOUSA, Damião Pergentino. Cytotoxic and Antifungal Amides Derived from Ferulic Acid: Molecular Docking and Mechanism of Action, **BioMed Research International**, 2021. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2021/3598000/>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DEV, Dharm; PALAKURTHY, Nani Babu; THALLURI, Kishore; CHANDRA, Jyoti; MANDAL, Bhubaneswar. “Ethyl 2-Cyano-2-(2-nitrobenzenesulfonyloxyimino) acetate (o-NosyloXY): a recyclable coupling reagent for racemization-free synthesis of peptide, amide, hydroxamate, and ester”, **The Journal of Organic Chemistry**, v. 79, n. 12, p. 5420-5431, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jo500292m>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DJURENDIĆ, Evgenija; VUJAŠKOVIĆ, Sanja Dojčinović; SAKAČ, Marija; AJDUKOVIĆ, Jovana; GAKOVIĆ, Andrea; KOJIĆ, Vesna; BOGDANOVIĆ, Gordana; KLISURIĆ, Olivera; GAŠIA, Katarina Penov. Synthesis and biological evaluation of some new 2-oxazoline and salicylic acid derivatives, **ARKIVOC**, p. 83-102, 2011. Disponível em: <https://www.arkat-usa.org/get-file/37175>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DOI, André Mario; PIGNATARI, Antonio Carlos Campos; EDMOND, Michael B.; MARRA, Alexandre Rodrigues; CAMARGO, Luis Fernando Aranha; SIQUEIRA, Ricardo Andreotti; DA MOTA, Vivian Pereira; COLOMBO, Arnaldo Lopes. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a Brazilian national surveillance program. **PloS one**, v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0146909>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DOMÍNGUEZ-AVILA, J. Abraham; WALL-MEDRANO, Abraham; VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, Gustavo R.; CHEN, C.-Y. Oliver; SALAZAR-LÓPEZ, Norma Julieta; ROBLES-SÁNCHEZ, Maribel; GONZÁLEZ-AGUILAR, Gustavo A. Gastrointestinal interactions, absorption, splanchnic metabolism and pharmacokinetics of orally ingested phenolic compounds. **Food & Function**, v. 8, n. 1, p. 15-38, 2017. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2017/fo/c6fo01475e>. Acesso em: 25 ago. 2023.

DURAZZO, Alessandra; LUCARINI, Massimo; SOUTO, Eliana B.; CICALA, Carla; CAIAZZO, Elisabetta; IZZO, Angelo A.; NOVELLINO, Ettore; SANTINI, Antonello. Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. **Phytotherapy Research**, v. 33, n. 9, p. 2221-2243, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.6419>. Acesso em: 27 ago. 2023.

EISENMANN, John. L. "Process of making hydroxy ester compounds", **United States. Patented 3.028.417** - April 3, 1962. Disponível em: <https://patentimages.storage.googleapis.com/fc/1e/2d/0c5dad6f85b42a/US3028417.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2023.

ESCALANTE, Andrea; GATTUSO, Martha; PÉREZ, Pilar; ZACCHINO, Susana. Evidence of the mechanism of action of the antifungal phytolaccoside B isolated from *Phytolacca tetramera* Hauman, **Journal of natural products**, v. 71, n. 10, p. 1720-1725, 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np070660i>. Acesso em: 27 ago. 2023.

FERREIRA, Alana R.; ALVES, Danielle da N.; DE CASTRO, Ricardo D.; PEREZ-CASTILLO, Yunierkis; DE SOUSA, Damião P. Synthesis of coumarin and homoisoflavonoid derivatives and analogs: The search for new antifungal agentes. **Pharmaceuticals**, v. 15, n. 6, p. 712, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/15/6/712>. Acesso em: 27 ago. 2023.

FINNEY, D. J. Statistical Method in Biological Assay (**Mathematics in Medicine series**) – November 23, 1978. Disponível em: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19810726635>. Acesso em: 27 ago. 2023.

FREIRES, Irlan de Almeida; MURATA, Ramiro Mendonça; FURLETTI, Vivian Fernandes; SARTORATTO, Adilson; DE ALENCAR, Severino Matias; FIGUEIRA, Glyn Mara; RODRIGUES, Janaina Aparecida de Oliveira; DUARTE, Marta Cristina Teixeira; ROSALEN, Pedro Luiz. *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. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0099086>. Acesso em: 27 ago. 2023.

FRIEDMAN, Mendel; HUANG, Vincent; QUIAMBAO, Quincel; NORITAKE, Sabrina; LIU, Jenny; KWON, Ohkun; CHINTALAPATI, Sirisha; YOUNG, Joseph; LEVIN, Carol E.; TAM, Christina; CHENG, Luisa W.; LAND, Kirkwood M. Potato peels and their bioactive glycoalkaloids and phenolic compounds inhibit the growth of pathogenic trichomonads. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 66, n. 30, p. 7942-7947, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jafc.8b01726>. Acesso em: 27 ago. 2023.

GAO, Biao; CHEN, Kaili; BI, Xiaoling; WANG, Jinxin. Intramolecular functionalization of C (sp³) H bonds adjacent to an amide nitrogen atom: Metal-free synthesis of 2-hydroxy-benzoxazinone derivatives”, **Tetrahedron**, v. 73, n. 50, p. 7005-7010, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040402017309146>. Acesso em: 27 ago. 2023.

GEDDES-MCALISTER, Jennifer; SHAPIRO, Rebecca S. New pathogens, new tricks: emerging, drug-resistant fungal pathogens and future prospects for antifungal therapeutics. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1435, n. 1, p. 57-78, 2019. Disponível em: <https://nyaspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/nyas.13739>. Acesso em: 27 ago. 2023.

GHORBANI, Masoud.; FARHOUDI, Ramin. Leishmaniasis in humans: drug or vaccine therapy? *Drug Des Devel Ther* 12: 25–40, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/DDDT.S146521>. Acesso em: 27 ago. 2023.

GOMES, Renata; PIMENTEL, Vitor; LOUSADA, Márcia; PIERONI, João Paulo; O novo cenário de concorrência na indústria farmacêutica brasileira, **BNDS Setorial – Complexo Industrial da Saúde**, v. 39, p. 97-134, 2014. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/4541/1/BS%2039%20o%20novo%20cen%c3%a1rio%20de%20concorr%C3%ancia_P.pdf. Acesso em: 28 ago. 2023.

GOULART, Herbert Rodrigues; KIMURA, Emília A.; PERES, Valnice J.; COUTO, Alicia S.; DUARTE, Fulgencio A. Aquino; KATZIN, Alejandro M. Terpenes arrest parasite development and inhibit biosynthesis of isoprenoids in *Plasmodium falciparum*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, n. 48, v. 7, p. 2502-2509, 2004. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/aac.48.7.2502-2509.2004>. Acesso em: 28 ago. 2023.

GRINTSEVICH, Sergey; SAPEGIN, Alexander; REUTSKAYA, Elena; PEINTNER, Stefan; ERDÉLYI Maté; KRASAVIN, Mikhail. An Alternative Approach to the Hydrated Imidazoline Ring Expansion (HIRE) of Diarene-Fused [1.4] Oxazepines. **European Journal of Organic Chemistry**, no. 35, pp. 5664-5676, 2020. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejoc.202000789>. Acesso em: 27 ago. 2023.

GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, p. 5-10, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1469-0691.12539>. Acesso em: 27 ago. 2023.

HAWKINS, Paul C. D.; SKILLMAN, A. Geoffrey; WARREN, Gregory L.; ELLINGSON, Benjamin A.; STAHL, Matthew T. OMEGA. Santa Fe, NM: OpenEye Scientific Software; Disponível em: <http://www.eyesopen.com>. Acesso em: 27 ago. 2023.

HAWKINS, Paul C. D.; SKILLMAN, A. Geoffrey; WARREN, Gregory L.; ELLINGSON, Benjamin A.; STAHL, Matthew T. Conformer generation with

OMEGA: algorithm and validation using high quality structures from the Protein Databank and Cambridge Structural Database. **Journal of chemical information and modeling**, v. 50, n. 4, p. 572-584, 2010. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/ci100031x>. Acesso em: 27 ago. 2023.

HELENO, Sandrina A.; MARTINS, Anabela; QUEIROZ, Maria João R. P.; FERREIRA, Isabel C. F. R. Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. **Food chemistry**, v. 173, p. 501-513, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814614016197>. Acesso em: 27 ago. 2023.

HERAVI, Majid M.; GHALAVAND, Nastaran; GHANBARIAN, Manizheh; MOHAMMADKHANI, Leyla. Applications of mitsunobu reaction in total synthesis of natural products. **Applied Organometallic Chemistry**, n. 32, v. 9, e4464, 2018. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/aoc.4464>. Acesso em: 27 ago. 2023.

HWANG, Eunson; LEE, Do-Gyeong; PARK, Sin Hee; OH, Myung Sook; KIM, Sun Yeou. Coriander Leaf extract exerts antioxidant activity and protects Against UVB-Induced photoaging of skin 28 by regulation of procollagen type i and MMP-1 expression. **Journal of Medicinal Food**, v. 17, n. 9, p. 985–995, 2014. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/jmf.2013.2999>. Acesso em: 27 ago. 2023.

INSUASTY, Daniel; ROBLEDO, Sara M.; VÉLEZ, Iván D.; CUERVO, Paola; INSUASTY, Baulio; QUIROGA, Jairo; NOGUERAS, Manuel; COBO, Justo; ABONIA, Rodrigo. A Schmidt rearrangement-mediated synthesis of novel tetrahydrobenzo[1,4]diazepin-5-ones as potential anticancer and antiprotozoal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 141, p. 567-583, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0223523417308164>. Acesso em: 27 ago. 2023.

ISHIKANE, Masahiro; HAYAKAWA, Kayoko; KUTSUNA, Satoshi; TAKESHITA, Nozomi; OHMAGARI, Norio. Epidemiology of blood stream infection due to *Candida* species in a tertiary care hospital in Japan over 12 years: importance of peripheral line-associated candidemia. **PLoS One**, v. 11, n. 10, p. e0165346, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0165346>. Acesso em: 27 ago. 2023.

ISLAN, German A.; DURÁN, Marcela; CACICEDO, Maximiliano L.; NAKAZATO, Gerson; KOBAYASHI, Renata K. T; MARTINEZ, Diego S. T.; CASTRO, Guillermo R; DURÁN, Nelson. Nanopharmaceuticals as a solution to neglected diseases: Is it possible? **Acta tropica**, v. 170, p. 16-42, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X16301917>. Acesso em: 27 ago. 2023.

JAGTAP, Shritesh D.; SARKATE, Aniket P.; KHANDARE, Arjun L.; NARULA, Ishudeep K.; KARNIK, Kshipra S.; PANSARE, Dattatraya N.; SHELKE, Rohini N. Thionyl chloride induced convenient synthesis of benzamides from 3-bromo-5-nitrobenzoic acid and amines under solvent free conditions. **Synthesis**, v. 121, n. 60.12, p. 42.43, 2019. Disponível em: http://epa.niif.hu/02200/02286/00072/pdf/EPA02286_european_chemical_bulletin_2019_04_123-127.pdf. Acesso em: 27 ago. 2023.

JAKOB, Clarissa G.; UPADHYAY, Anup K.; DONNER, Pamela L.; NICHOLL, Emily; ADDO, Sadiya N.; QIU, Wei; LING, Christopher; GOPALAKRISHNAN, Sujatha M.; TORRENT, Maricel; CEPA, Steven P.; SHANLEY, Jason; SHOEMAKER, Alexander R.; SUN, Chaohong C.; VASUDEVAN, Anil; WOLLER, Kevin R.; SHOTWELL, J. Brad; SHAW, Bailin; BIAN, Zhiguo; HUTTI, Jessica E. Novel modes of inhibition of wild-type isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1): direct covalent modification of His315. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 61, n. 15, p. 6647-6657, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jmedchem.8b00305>. Acesso em: 27 ago. 2023.

Ji, Xing-Yue; WANG, Hui-Qiang; HAO, Lan-Hu; HE, Wei-Ying; GAO, Rong-Mei; LI, Yan-Ping; LI, Yu-Huan; JIANG, Jian-Dong; LI, Zhuo-Rong. Synthesis and antiviral activity of N-phenylbenzamide derivatives, a novel class of enterovirus 71 inhibitors. **Molecules**, v. 18, n. 3, p. 3630-3640, 2013. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/18/3/3630>. Acesso em: 27 ago. 2023.

JONES, Gareth; WILLETT, Peter; GLEN, Robert C.; LEACH, Andrew R.; TAYLOR, Robin. Development and validation of a genetic algorithm for flexible ligand docking. **Journal of Molecular Biology**, v. 267, p. 727-748, 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022283696908979>. Acesso em: 27 ago. 2023.

JUNIOR; Policarpo Ademar Sales; MOLINA, Israel; MURTA, Silvane Maria Fonseca; SÁNCHEZ-MONTALVÁ, Adrián; SALVADOR, Fernando; CORRÊA-OLIVEIRA, Rodrigo; CARNEIRO, Cláudia Martins. Experimental and clinical treatment of Chagas disease: A review. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v. 97, n. 5, p. 1289-1303, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5817734/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

KARASAWA, Marines Marli Gniech; MOHAN, Chakravarthi. Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: a review. **Natural products and bioprospecting**, v. 8, n. 5, p. 335-346, 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13659-018-0186-6>. Acesso em: 27 ago. 2023.

KEISER, Michael J.; ROTH, Bryan L.; ARMBRUSTER, Blaine N.; ERNSBERGER, Paul; IRWIN, John J.; SHOICHET, Brian K. Relating protein pharmacology by ligand chemistry. **Nature biotechnology**, v. 25, n. 2, p. 197-206, 2007. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nbt1284>. Acesso em: 27 ago. 2023.

KUMAR, Naresh; GOEL, Nidhi. Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. **Biotechnology Reports**, v. 24, p. e00370, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2215017X19302383>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LAPILLO, Margherita; TUCCINARDI, Tiziano; MARTINELLI, Adriano; MACCHIA, Marco; GIORDANO, Antonio; POLI, Giulio. Extensive reliability evaluation of docking-based target-fishing strategies. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 5, p. 1023, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/5/1023>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LAWOSKI, Roman A.; SWINDELLS, Mark B. LigPlot+: multiple ligand-protein interaction diagrams for drug Discovery. **Journal of Chemical Information and**

Modeling, v. 51, n. 10, p. 2778-2786, 2011. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/CI200227U>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LEAL, Sandra M.; AMADO, Diego F.; KOUZNETSOV, Vladimir V.; ESCOBAR, Patricia. In Vitro Antileishmanial, Trypanocidal, and Mammalian Cell Activities of Diverse N,N'-Dihetaryl Substituted Diamines and Related Compounds. **Scientia Pharmaceutica**, v. 81, n. 1, p. 43-56, 2013. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-0532/81/1/43>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LE, Thanh Binh; BEAUFAY, Claire; BONNEAU, Natacha; MINGEOT-LECLERCQ, Marie-Paule; QUETIN-LECLERCQ, Joëlle. Anti-protozoal activity of essential oils and their constituents against *Leishmania*, *Plasmodium* and *Trypanosoma*. **Phytochimie**, v. 1, p. 1-33, 2018. Disponível em: https://dial.uclouvain.be/pr/boreal/object/boreal%3A199166/datastream/PDF_01/view. Acesso em: 27 ago. 2023.

LEE, Sung J.; PARK, Won-Hwan; MOON, Hyung-In. Bioassay-guided isolation of antiplasmodial anacardic acids derivatives from the whole plants of *Viola websteri* Hemsl. **Parasitology research**, v. 104, p. 463-466, 2009. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-008-1205-z>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LEWIS, Michael D.; KELLY, John M. Putting infection dynamics at the heart of Chagas disease. **Trends in parasitology**, v. 32, n. 11, p. 899-911, 2016. Disponível em: [https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922\(16\)30126-X](https://www.cell.com/trends/parasitology/fulltext/S1471-4922(16)30126-X). Acesso em: 27 ago. 2023.

LEITE, Maria Clerya Alvino; André Parente de Brito Bezerra; DE SOUSA, Janiere Pereira; LIMA, Edeltrudes de Oliveira. Investigating the antifungal activity and mechanism (s) of geraniol against *Candida albicans* strains. **Medical mycology**, v. 53, n. 3, p. 275-284, 2015. Disponível em: <https://academic.oup.com/mmy/article/53/3/275/2579442?login=false>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LI, Weixia; LI, Nianguang; TANG, Yuping; LI, Baoquan; LIU, Li; ZHANG, Xu; FU, Haiyan; DUAN, Jin-ao. Biological activity evaluation and structure – activity relationships analysis of ferulic acid and caffeic acid derivatives for anticancer. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 19, p. 6085–6088, 2012a. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960894X12010384>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LI, Pengfei; MERZ, Jr. Kenneth M. MCPB. py: a python based metal center parameter builder. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 56, n. 4, p. 599–604, 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jcim.5b00674>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LIMA, Lídia M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Revista Química Nova**. Rio de Janeiro, v.30, n.6, p.1456-1468, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/z9ZYt7BxsMVCgLv8Wp7Fvnd/?lang=pt&format=html>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LIMA, Igara Oliveira; PEREIRA, Fillipe de Oliveira; DE OLIVEIRA, Wylly Araújo; LIMA, Edeltrudes de Oliveira; MENEZES, Everardo Albuquerque; CUNHA, Francisco

Afrânio; DINIZ, Margareth de Fátima Formiga Melo. Antifungal activity and mode of action of carvacrol against *Candida albicans* strains,. **Journal of essential oil research**, v. 25, n. 2, p. 138-142, 2013. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10412905.2012.754728>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LIU, Jun; SHAO, Changdong; ZHANG, Yanghui; SHIA, Guangfa; PANA, Shulei. Copper-catalyzed highly eficiente ester formation from carboxylic acids / esters and formates. **Organic and Biomolecular Chemistry**. v. 2, 2014. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ob/c4ob00193a/unauth>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LOPES, Susiany P.; PÉREZ-CASTILLO, Yunierkis; MONTEIRO, Marilia L.; DE MENEZES, Ramon R. P. P. B.; ALMEIDA, Reinaldo N.; MARTINS, Alice M. C.; DE SOUSA, Damião P. Trypanocidal Mechanism of Action and in silico Studies of *p*-Coumaric Acid Derivatives. **International journal of molecular sciences**, v. 20, n. 23, p. 5916, 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/23/5916>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LOPES, Susiany P.; YEPES, Lina M.; PÉREZ-CASTILLO, Yunierkis; ROBLEDO, Sara M.; DE SOUSA, Damião P. Alkyl and aryl derivatives based on P-coumaric acid modification and inhibitory action against *Leishmania braziliensis* and *Plasmodium falciparum*. **Molecules**, v. 25, n. 14, p. 3178, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/14/3178>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LÓPEZ-MUÑOZ, Rodrigo; FAÜNDEZ, Mario; KLEIN, Sebastián; ESCANILLA, Sebastián; TORRES, Gloria; LEE-LIU, Dasfne; FERREIRA, Jorge; KEMMERLING, Ulrike; ORELLANA, Myriam; MORELLO, Antonio; FERREIRA, Arturo; MAYA, Juan D. *Trypanosoma cruzi*: In vitro effect of aspirin with nifurtimox and benznidazole. **Experimental parasitology**, v. 124, n. 2, p. 167-171, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489409002604>. Acesso em: 27 ago. 2023.

LUO, Qiyao; ZHAO, Liang; HU, Jianxing; LIU, Zhenming; ZHANG, Liangren. The scoring bias in reverse docking and the score normalization strategy to improve success rate of target fishing. **PLoS One**, v. 12, n. 2, p. e0171433, 2017. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0171433>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MACHADO, Matías R.; PANTANO, Sergio. Split the charge difference in two! A rule of thumb for adding proper amounts of ions in MD simulations, **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 16, n. 3, p. 1367-1372, 2020. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jctc.9b00953>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MADASAMY, Kanagaraj; BALAKRISHNAN, Madasamy Hari; KORIVI, Ramaraju; MANNATHAN, Subramaniyan. Trifluoroacetic Acid-Mediated Denitrogenative ortho-Hydroxylation of 1, 2, 3-Benzotriazin-4 (3H)-ones: A Metal-Free Approach, **The Journal of Organic Chemistry**, v. 87, n. 13, p. 8752-8756, 2022. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.joc.2c00354>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MAGALHÃES, Yankee C.; BOMFIM, Maria Rosa Q.; MELÔNIO, Luciane C.; RIBEIRO, Patrícia C. S.; COSME, Lécia M.; RHODEN, Cristianne R.; MARQUES,

Sirlei G. Clinical significance of the isolation of *Candida* species from hospitalized patients. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 117-123, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4512074/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MALAK, Lourin G.; IBRAHIM, Mohamed Ali; BISHAY, Daoud W.; ABDEL-BAKY, Afaf M.; MOHARRAM, Ahmed M.; TEKWANI, Babu; CUTLER, Stephen J.; ROSS, Samir A. Antileishmanial metabolites from *Geosmithia langdonii*. **Journal of Natural Products**, v. 77, n. 9, p. 1987-1991, 2014. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/np5000473>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MARAK, Munmun B.; DHANASHREE, Biranthabail. Antifungal susceptibility and biofilm production of *Candida* spp. isolated from clinical samples, **International Journal of Microbiology**, 2018. Disponível em: <https://downloads.hindawi.com/journals/ijmicro/2018/7495218.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MALVEZI, Aparecida D.; DA SILVA, Rosiane V.; DE FREITAS, Rafael Carvalho; LOVO-MARTINS, Maria I.; TATAKIHARA, Vera L. H.; ZANLUQUI, Nágela G. Inhibition of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 impairs *Trypanosoma cruzi* entry into cardiac cells and promotes differential modulation of the inflammatory response. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 58, n. 10, p. 6157-6164, 2014. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.02752-14>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MALVEZI, Aparecida Donizette; DA SILVA, Rosiane Valeriano; PANIS, Carolina; YAMAUCHI, Lucy Megumi; LOVO-MARTINS, Maria Isabel; ZANLUQUI, Nágela Ghabdan; TATAKIHARA, Vera Lúcia Hideko; RIZZO, Luiz Vicente; VERRI, Waldiceu A.; MARTINS-PINGE, Marli Cardoso; YAMADA-OGATTA, Sueli Fumie; PINGE-FILHO, Phileno. Aspirin modulates innate inflammatory response and inhibits the entry of *Trypanosoma cruzi* in mouse peritoneal macrophages. **Mediators of inflammation**, 2014. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/mi/2014/580919/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MASETTO, Eduardo Vivian; LAZAROTO, Ana Claudia.; OLEINIK, Giovanna; LIMA, Fernanda Oliveira; GALLINA, André Lazarin; SOARES, Letiére C. Salicilatos como inibidores do processo oxidativo mediado por cobre e ferro no biodiesel B100, **Química Nova**, v. 45, p. 1053-1059, 2022. Disponível em: <https://s3.sa-east-1.amazonaws.com/static.sites.s bq.org.br/quimicanova.s bq.org.br/pdf/AR2022-0063.pdf>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MEDICI, Natasha P.; Del Poeta, Maurizio. New insights on the development of fungal vaccines: from immunity to recent challenges, **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 966-973, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4708015/>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MEJRI, Samara; SIAH, Ali; ABUHAIE, Cristina-Maria; HALAMA, Patrice; MAGNIN-ROBERT, Maryline; RANDOUX, Béatrice; REIGNAULT, Philippe; RIGO, Benoît; GHINET, Alina. New salicylic acid and pyroglutamic acid conjugated derivatives confer protection to bread wheat against *Zymoseptoria tritici*. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 99, n. 4, p. 1780-1786, 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jsfa.9370>. Acesso em: 27 ago. 2023.

MICHELIN, M. A.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. C. Inducible cyclooxygenase released prostaglandin mediates immunosuppression in acute phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Experimental parasitology**, v. 111, n. 2, p. 71-79, 2005. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014489405001451>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MILLER, William H. Perspective: Quantum or classical coherence?, **The Journal of Chemical Physics**, v. 136, p. 1-6, 2012. Disponível em: <https://pubs.aip.org/aip/jcp/article/136/21/210901/70529>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MILLER III, Bill R.; MCGEE, T. Dwight Jr; SWAILS, Jason M.; HOMEYER, Nadine; GOHLKE, Holger; ROITBERG, Adrian E.; MMPBSA. py: an efficient program for end-state free energy calculations, **Journal of chemical theory and computation**, v. 8, n. 9, p. 3314-3321, 2012. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ct300418h>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MOHANDAS, Narla; AN, Xiuli. Malaria and human red blood cells. **Medical microbiology and immunology**, v. 201, n. 4, p. 593-598, 2012. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00430-012-0272-z>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MOLINA-BERRÍOS, Alfredo; CAMPOS-ESTRADA, Carolina; LAPIER, Michel; DUASO, Juan; KEMMERLING, Ulrike; GALANTI, Norbel; FERREIRA, Jorge; MORELLO, Antonio; LÓPEZ-MUÑOZ, Rodrigo; MAYA, Juan Diego. Protection of vascular endothelium by aspirin in a murine model of chronic Chagas' disease. **Parasitology research**, v. 112, p. 2731-2739, 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-013-3444-x>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MOLINA-BERRÍOS, Alfredo; CAMPOS-ESTRADA, Carolina; HENRIQUEZ, Natalia; FAÚNDEZ, Mario; TORRES, Gloria; CASTILLO, Christian; ESCANILLA, Sebastián; KEMMERLING, Ulrike; MORELLO, Antonio; LÓPEZ-MUÑOZ, Rodrigo; MAYA, Juan Diego. Protective role of acetylsalicylic acid in experimental *Trypanosoma cruzi* infection: evidence of a 15-epi-lipoxin A4-mediated effect. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 4, e2173, 2013. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0002173>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MONTRIEUX, Elly; PERERA, Wilmer H.; GARCÍA, Marley; MAES, Louis; COS, Paul; MONZOTE, Lianet. In vitro and in vivo activity of major constituents from *Pluchea carolinensis* against *Leishmania amazonensis*. **Parasitology Research**, v. 113, n. 8, p. 2925-2932, 2014. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-014-3954-1>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MONZOTE, Lianet; JIMÉNEZ, Jenny; CUESTA-RUBIO, Osmany; MÁRQUEZ, Ingrid; GUTIÉRREZ, Yamile; DA ROCHA, Cláudia Quintino; MARCHI, Mary; SETZER, William N.; VILEGAS, Wagner. In vitro assessment of plants growing in Cuba belonging to Solanaceae family against *Leishmania amazonensis*. **Phytotherapy Research**, v. 30, n. 11, p. 1785-1793, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ptr.5681>. Acesso em: 28 ago. 2023.

MUÑOZ, Betsy Yaneth; MANTILLA, Julio Cesar; ESCOBAR, Patricia. Therapeutic response and safety of the topical, sequential use of antiseptic, keratolytic, and

pentamidine creams (3-PACK) on *Leishmania (Viannia) braziliensis*-infected mice. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 114, 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31090861/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NAHREVANIAN, H.; JALALIAN, M.; FARAHMAND, M.; ASSMAR, M.; RASTAGHI, A. E; SAYYAH, M. Inhibition of murine systemic leishmaniasis by acetyl salicylic acid via nitric oxide immunomodulation. **Iranian journal of parasitology**, v. 7, n. 2, p. 21, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3469184/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NAMI, Sanam; MOHAMMADI, Rasoul; VAKILI, Mahshid; KHEZRIPOUR, Kimia; MIRZAEI, Hamed; MOROVATI, Hamid. Fungal vaccines, mechanism of actions and immunology: a comprehensive review, **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 109, p. 333-344, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332218353903>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NEISES, Bernhard; STEGLICH, Wolfgang. Simple Method for the Esterification of Carboxylic Acids. **Angewandte Chemie International Edition in English** v. 553, n. 7, p. 12–14, 1978. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.197805221>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NETT, Jeniel E. Future directions for anti-biofilm therapeutics targeting *Candida*. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 12, n. 3, p. 375-382, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1586/14787210.2014.885838>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NÓBREGA, Flávio R.; SILVA, Larisse V.; BEZERRA, Carlos da Silva M. Filho; LIMA, Tamires C.; PÉREZ-CASTILLO, Yunierkis; BEZERRA, Daniel P.; LIMA, Tatjana K. Souza; DE SOUSA, Damião P. Design, Antileishmanial Activity, and QSAR Studies of a Series of Piplartine Analogues. **Journal of Chemistry**, 2019. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/jchem/2019/4785756/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NOGUEIRA-TORRES, B.; RODRÍGUEZ-PÁEZ, L.; BAEZA, R. I.; WONG, R. C. Trypanocidal activity of 4 isopropyl salicylaldehyde and 4-isopropyl salicylic acid on *Trypanosoma cruzi*. **Revista latinoamericana de microbiologia**, n. 43, v. 1, p. 1-6, 2001. Disponível em: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumenI.cgi?IDARTICULO=10544>. Acesso em: 28 ago. 2023.

NUNES, Maria Carmo Pereira; BEATON, Andrea; ACQUATELLA, Harry; BERN, Caryn; BOLGER, Ann F.; ECHEVERRÍA, Luis E.; DUTRA, Walderez O.; GASCON, Joaquim; MORILLO, Carlos A.; OLIVEIRA-FILHO, Jamarly; RIBEIRO, Antonio Luiz Pinho; MARIN-NETO, Jose Antonio. Chagas cardiomyopathy: an update of current clinical knowledge and management: a scientific statement from the American Heart Association. **Circulation**, v. 138, n. 12, p. e169-e209, 2018. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIR.0000000000000599>. Acesso em: 28 ago. 2023.

OGUNGBE, Ifedayo Victor; ERWIN, William R.; SETZER, William N. Antileishmanial phytochemical phenolics: molecular docking to potential protein

targets. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 48, p. 105–117, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1093326314000035>. Acesso em: 28 ago. 2023.

OKOMBO, John; CHIBALE, Kelly. Recent updates in the discovery and development of novel antimalarial drug candidates. **MedChemComm**, v. 9, n. 3, p. 437-453, 2018. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/md/c7md00637c/unauth>. Acesso em: 28 ago. 2023.

OLIVEIRA, Camila A.; SOUZA, Aline C. J.; SANTOS, Ana Paula B.; SILVA, Bárbara V.; LACHTER, Elizabeth R.; PINTO, Angelo C. Síntese de ésteres de aromas de frutas: Um experimento para curso de graduação dentro de um dos princípios da química verde. **Revista Virtual de Química**. V. 6, n. 1, p. 152-167, 2014. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/596>. Acesso em: 28 ago. 2023.

OLLIARO, Piero L.; KUESEL, Annette C.; REEDER, JOHN C. A changing model for developing health products for poverty-related infectious diseases. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 1, 2015. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003379>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PACE, David. Leishmaniasis. **Journal of Infection**. v. 69, p. 1-9, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25238669/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PAHWA, N.; Kumar, R.; Nirkhiwale, S.; Bandi, A. Species distribution and drug susceptibility of *Candida* in clinical isolates from a tertiary care centre at Indore. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 32, n. 1, p. 44-48, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255085721005521?via%3Dihub>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PANAHIRAD, Sima; ZAARE-NAHANDI, Fariborz; SAFARALIZADEH, Raziéh; ALIZADEH-SALTEH, Saeedeh. Postharvest Control of *Rhizopus stolonifer* in Peach (*Prunus persica* L. B atsch) Fruits Using Salicylic Acid. **Journal of Food Safety**, v. 32, n. 4, p. 502-507, 2012. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jfs.12013>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PANG, Yuan-Ping; Xu, KUN; EL YAZAL, Jamal; PRENDERGAST, Franklyn G. Successful molecular dynamics simulation of the zinc-bound farnesyltransferase using the cationic dummy atom approach. **Protein Science**, v. 9, n. 10, p. 1857-1865, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11106157/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PARASKEVOPOULOS, Georgios; KRÁTKÝ, Martin; MANDÍKOVÁ, Jana; TREJTNAR, František; STOLAŘÍKOVÁ, Jiřina; PÁVEK, Petr; BESRA, Gurdyal; VINŠOVÁ, Jarmila. Novel derivatives of nitro-substituted salicylic acids: Synthesis, antimicrobial activity and cytotoxicity. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 23, n. 22, p. 7292-7301, 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0968089615301085>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PAVIA, Donald L.; LAMPMAN, Gary M.; KRIZ, George S.; VYVYAN, James R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

PEREZ-CASTILLO, Yunierkis; MONTES, Ricardo Carneiro; DA SILVA, Cecília Rocha; DE ANDRADE NETO, João Batista; DIAS, Celidarque da Silva; DUARTE, Allana Brunna Sucupira; NOBRE JÚNIOR, Hélio Vitoriano; DE SOUSA, Damião Pergentino. Antifungal Activity of N-(4-Halobenzyl) amides against *Candida* spp. and Molecular Modeling Studies, **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 1, p. 419, 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/1/419>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PETTERSEN, Eric F.; GODDARD, Thomas D.; HUANG, Conrad C.; COUCH, Gregory S.; GREENBLATT, Daniel M.; MENG, Elaine C.; FERRIN, Thomas E. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis, **Journal of computational chemistry**, v. 25, n. 13, p. 1605-1612, 2004. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcc.20084>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PIMENTEL, Vitor; GOMES, Renata; LANDIM, André; PIERONI, João, PALMEIRA FILHO, Pedro; Saúde como desenvolvimento: perspectivas para atuação do BNDS no complexo industrial da saúde, **BNDS Setorial – Complexo Industrial da Saúde**, p. 301-332, 2012. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/5461/1/Sa%c3%bade%20como%20desenvolvimento%20perspectivas%20para%20a%20atua%c3%a7%c3%a3o%20do%20BNDES_P_BD.pdf. Acesso em: 28 ago. 2023.

POLI, Giulio; GRANCHI, Carlotta; RIZZOLIO, Flavio; TUCCINARDI, Tiziano. Application of MM-PBSA methods in virtual screening, **Molecules**, v. 25, n. 8, p. 1971, 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/8/1971>. Acesso em: 28 ago. 2023.

PULIDO, Sergio A.; MUÑOZ, Diana L.; RESTREPO, Adriana M.; MESA, Carol V.; ALZATE, Juan F.; VÉLEZ, Iván D.; ROBLEDO, Sara M. Improvement of the green fluorescent protein reporter system in *Leishmania* spp. for the in vitro and in vivo screening of antileishmanial drugs, **Acta Tropica**, v. 122, n.1, p. 36-45, 2012. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X1100341X>. Acesso em: 28 ago. 2023.

RAINSFORD, Kim D. Aspirin and related drugs. **CRC Press**, 2004.

RODRIGUES, Ricardo P.; MANTOANI, Susimair P.; DE ALMEIDA, Jonathan R.; PINSETTA, Flávio Roberto; SEMIGHINI, Evandro P.; DA SILVA, Vinicius B.; DA SILVA, Carlos Henrique T. P. Estratégias de Triagem Virtual no Planejamento de Fármacos, **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 6, p.739- 736, dez., 2012. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/295>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SADEGHIAN, Hamid; SEYEDI, Seyed Mohammad; SABERI, Mohammad Reza; ARGHIANI, Zahra; RIAZI, Mehdi. Design and synthesis of eugenol derivatives, as potent 15-lipoxygenase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 890-901, 2008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0968089607008826>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SAHOO, Jyotirmaya; PAIDSETTY, Sudhir Kumar. Antimicrobial, analgesic, antioxidant and in silico study of synthesized salicylic acid congeners and their

structural interpretation, **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 268-280, 2015. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1016/j.ejbas.2015.07.006>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SAKAGAMI, Toru; KAWANO, Takaki; YAMASHITA, Kohei; YAMADA, Eio; FUJINO, Noritomo; KAERIYAMA, Makoto; FUKUDA, Yoshiko; NOMURA, Nobuhiko; MITSUYAMA, Junichi; SUEMATSU, Hiroyuki; WATANABE, Hiroki; ASAI, Nobuhiro; KOIZUMI, Yusuke; YAMAGISHI, Yuka; MIKAMO, Hiroshige. Antifungal susceptibility trend and analysis of resistance mechanism for *Candida* species isolated from bloodstream at a Japanese university hospital. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 25, n. 1, p. 34-40, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1341321X18303994>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SANDERSON, J. Thomas; CLABAULT, Hélène; PATTON, Cody; LASSALLE-CLAUX, Grégoire; JEAN-FRANÇOIS, Jacques; PARÉ, Aurélie F.; HÉBERT, Martin J. G.; SURETTE, Marc E.; TOUAIBIA, Mohamed. Antiproliferative, antiandrogenic and cytotoxic effects of novel caffeic acid derivatives in LNCaP human androgen-dependent prostate cancer cells. **Bioorganic & Medical Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 7182–7193, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0968089613007608>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SCARIM, Cauê Benito; JORNADA, Daniela Hartmann; MACHADO, Marcella Gabrielle Mendes; FERREIRA, Carla Maria Riberio; DOS SANTOS, Jean Leandro; CHUNG, Man Chin. Thiazole, thio and semicarbazone derivatives against tropical infective diseases: Chagas disease, human African trypanosomiasis (HAT), leishmaniasis, and malaria. **European journal of medicinal chemistry**, v. 162, p. 378-395, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S022352341830967X>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SHARMA, Yukti; CHUMBER, Susheel Kumar; KAUR, Mandeep. Studying the prevalence, species distribution, and detection of in vitro production of phospholipase from *Candida* isolated from cases of invasive candidiasis. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 8, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5330047/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SIDDIQUI, Zeba N.; FAROOQ, Farheen; MUSTHAFI, T. N. Mohammed; AHMAD, Anis; KHAN, Asad U. Synthesis, characterization and antimicrobial evaluation of novel halopyrazole derivatives, **Journal of Saudi Chemical Society**, v. 17, n. 2, p. 237-243, 2013. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S131961031100069X>. Acesso em: 28 ago. 2023.

SILVERSTEIN, Robert Milton; WEBSTER, Francis X.; KIEMLE, David J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. In: **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**, p. 1-490, 2007.

- SOLOMONS, Graham; FRYHLE, Craig. Ácidos Carboxílicos e seus Derivados. Adição-Eliminação Nucleofílica do Carbono Acílico. In: SOLOMONS, Graham; FRYHLE, Craig. **Química Orgânica**. v. 2, 10^o ed: LTC, 2012. Cap. 17, p. 795-799.
- SOURMAGHI, Mohammad Hossein Salehi; KIAEE, Gita; GOLFAKHRABADI, Fereshteh; JAMALIFAR, Hossein; KHANAVI, Mahnaz. Comparison of essential oil composition and antimicrobial activity of *Coriandrum sativum* L. extracted by hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation. **Journal Food Science Technololy**, v. 52, n. 4, p. 2452–2457, 2015. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-014-1286-x>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- SOUSA, Janiere P.; QUEIROZ, Everton O.; GUERRA, Felipe Q. S.; MENDES, Juliana M.; PEDROSA, Zilmara V.; FILHO, Abrahão A. O.; PEREIRA, Fillipe O; TRAJANO, Vinicius N.; SOUZA, Fábio S.; LIMA, Edeltrudes O. Morphological alterations and time-kill studies of the essential oil from the leaves of *Coriandrum sativum* L. on *Candida albicans*. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**. v. 15, n. 6, p. 398-406, 2016. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85648040003.pdf>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- SPAMPINATO, Claudia; LEONARDI, Darío. *Candida* infections, causes, targets, and resistance mechanisms: traditional and alternative antifungal agents. **BioMed research international**, 2013. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/204237/>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- SUN, Ya Nan; NO, Joo Hwan; LEE, Ga Young; LI, Wei; YANG, Seo Young; YANG, Gyongseon; SCHMIDT, Thomas J.; KANG, Jong Seong; KIM, Young Ho. Phenolic constituents of medicinal plants with activity against *Trypanosoma brucei*. **Molecules**, v. 21, n. 4, p. 480, 2016. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/21/4/480>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- STEVERDING, Dietmar. The history of leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 10, n. 82, p. 1-10, 2017. Disponível em: <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2028-5>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- STUPER-SZABLEWSKA, Kinga; PERKOWSKI, Juliusz. Phenolic acids in cereal grain: Occurrence, biosynthesis, metabolism and role in living organisms. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 59, n. 4, p. 664-675, 2019. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408398.2017.1387096>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- SWAMY, K. C. Kumara; KUMAR, N. N. Bhuvan; BALARAMAN, E.; KUMAR, K. V. P. Pavan. Mitsunobu and Related Reactions: Advances and Applications. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 6, p. 2551–2651, 2009. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/cr800278z>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- TAVARES, W. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. 3^a ed. São Paulo: Atheneu; 2001.
- TAYEH, Christine; RANDOUX, Béatrice; BOURDON, Natacha; REIGNAULT, Philippe. Lipid metabolism is differentially modulated by salicylic acid and heptanoyl salicylic acid during the induction of resistance in wheat against powdery mildew. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, n. 18, p. 1620-1629, 2013. Disponível

em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0176161713002721>. Acesso em: 28 ago. 2023.

TAYLOR, Viviana M.; CEDEÑO, David L.; MUÑOZ, Diana L.; JONES, Marjorie A.; LASH, Timothy D.; YOUNG, Alexandra M.; CONSTANTINO, Manuel H.; ESPOSITO, Nicholas; VÉLEZ, Iván D.; ROBLEDO, Sara M. In vitro and in vivo studies of the utility of dimethyl and diethyl carbaporphyrin ketals in treatment of cutaneous leishmaniasis, **Antimicrobial Agents Chemother.** v. 55, 2011. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.00671-11>. Acesso em: 28 ago. 2023.

TIAN, Shiping; QIN, Guozheng; LI, Boqiang; WANG, Qing; MENG, Xianghong. Effects of salicylic acid on disease resistance and postharvest decay control of fruits. **Stewart Postharvest Rev**, v. 6, n. 2, p. 1-7, 2007. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/233715854_Effects_of_salicylic_acid_on_disease_resistance_and_postharvest_decay_control_of_fruits. Acesso em: 28 ago. 2023.

TSCHERNER, Michael; SCHWARZMÜLLER, Tobias; KUCHLER, Karl. Pathogenesis and antifungal drug resistance of the human fungal pathogen *Candida glabrata*. **Pharmaceuticals**, v. 4, n. 1, p. 169-186, 2011. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1424-8247/4/1/169>. Acesso em: 28 ago. 2023.

URBANIAK, Michael D.; CAPES, Amy S.; CROSSMAN, Arthur; O'NEILL, Sandra; THOMPSON, Stephen; GILBERT, Ian H.; FERGUSON, Michael A. J. Fragment screening reveals salicylic hydroxamic acid as an inhibitor of *Trypanosoma brucei* GPI GlcNAc-PI de-N-acetylase. **Carbohydrate Research**, v. 387, p. 54–58, 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0008621513004382>. Acesso em: 28 ago. 2023.

VANDEPUTTE, Patrick; FERRARI, Selene; COSTE, Alix T. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. **Internacional Journal of Microbiology**, v. 2012, p. 1-26, 2012. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/ijmicro/2012/713687/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

VILLA, C.; BALDASSARI, S.; GAMBARO, R.; MARIANI, E.; LOUPY, A. Eco-friendly methodologies for the synthesis of some aromatic esters, well-known cosmetic ingredients, **International journal of cosmetic science**, v. 27, n. 1, p. 11-16, 2005. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1467-2494.2004.00246.x>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WAISSER, Karel; PEŘINA, Milan; KLIMEŠOVÁ, Věra; KAUSTOVÁB, Jarmila. On the relationship between the structure and antimycobacterial activity of substituted N-benzylsalicylamides, **Collection of Czechoslovak chemical communications**, v. 68, n. 7, p. 1275-1294, 2003. Disponível em: <http://cccc.uochb.cas.cz/68/7/1275/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WANG, Yu-Ying; LI, Bo-Qiang; QIN, Guo-Zheng; LI, Li; TIAN, Shi-Ping. Defense response of tomato fruit at different maturity stages to salicylic acid and ethephon. **Scientia Horticulturae**, v. 129, n. 2, p. 183-188, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304423811001294>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WANG, Ercheng; SUN, Huiyong; WANG, Junmei; WANG, Zhe; LIU, Hui; ZHANG, John Z. H.; HOU, Tingjun. End-point binding free energy calculation with MM/PBSA

and MM/GBSA: strategies and applications in drug design. **Chemical reviews**, v. 119, n. 16, p. 9478-9508, 2019. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.chemrev.9b00055>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WATERHOUSE, Andrew; BERTONI, Martino; BIENERT, Stefan; STUDER, Gabriel; TAURIELLO, Gerardo; GUMIENNY, Rafal; HEER, Florian T.; DE BEER, Tjaart A. P.; REMPFER, Christine; BORDOLI, Lorenza; LEPORE, Rosalba; SCHWEDE, Torsten. SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes, **Nucleic acids research**, v. 46, n. W1, p. W296-W303, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/nar/article/46/W1/W296/5000024?login=false>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WELLS, Timothy N. C.; VAN HUIJSDUIJNEN, Rob Hooft; VAN VOORHIS, Wesley C. Malaria medicines: a glass half full?. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 14, n. 6, p. 424-442, 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd4573>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WEN, Wuqiang; CAO, Hongxuan; HUANG, Yunyuan; TU, Jie; WAN, Chen; Wan, Jian; HAN, Xinya; CHEN, Han; LIU, Jiaqi; RAO, Li; SU, Chen; PENG, Chao; Sheng, Chunquan; REN, Yanliang. Structure-Guided Discovery of the Novel Covalent Allosteric Site and Covalent Inhibitors of Fructose-1, 6-Bisphosphate Aldolase to Overcome the Azole Resistance of Candidiasis. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 65, n. 3, p. 2656-2674, 2022. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jmedchem.1c02102>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WHITE, Nicholas J.; PUKRITTAYAKAMEE, Sasithon; HIEN, Tran Tinh; FAIZ, M. Abul; MOKUOLU, Olugbenga A.; DONDORP, Arjen M. Malaria. **The Lancet**, v. 383, n. 9918, p. 723-735, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23953767/>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WILLE, Marcos Paulo; GUIMARÃES, Thaís; FURTADO, Guilherme Henrique Campos; COLOMBO, Arnaldo Lopes. Historical trends in the epidemiology of candidemia: analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 3, p. 288-292, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/7dxbdcyyYXthdbQSmYwKmyM/abstract/?lang=en#>. Acesso em: 28 ago. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), in: R. Trans (Ed.), Guidelines for the Treatment of Malaria, third ed., 2015, p. 3e316.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), World malaria report. Disponível em: <http://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/report/en/>. Acesso em: 22 ago. 2022.

WORLD AND HEALTH ORGANIZATION (WHO), Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 22 ago. 2022.

XIE, Yufei; LIU, Xiaosong; ZHOU, Peiru. In vitro antifungal effects of berberine against *Candida* spp. in planktonic and biofilm conditions. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 14, p. 87, 2020. Disponível em:

<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/DDDT.S230857>. Acesso em: 28 ago. 2023.

YAMADA, Kohei; YOSHIDA, Saki; FUJITA, Hikaru; KITAMURA, Masanori; KUNISHIMA, Munetaka. *O*-Benzylation of Carboxylic Acids Using 2,4,6-Tris (benzyloxy)-1,3,5-triazine (TriBOT) under Acidic or Thermal Conditions. *European Journal of Organic Chemistry*, v. 2015, n. 36, p. 7997-8002, 2015. Disponível em: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ejoc.201501172>. Acesso em: 28 ago. 2023.

YAPAR, Nur. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. **Therapeutics and clinical risk management**, v. 10, p. 95, 2014. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2147/TCRM.S40160>. Acesso em: 28 ago. 2023.

YU, Ting; ZHENG, Xiao Dong. Salicylic acid enhances biocontrol efficacy of the antagonist *Cryptococcus laurentii* in apple fruit. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 25, n. 2, p. 166-174, 2006. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-005-0077-z>. Acesso em: 28 ago. 2023.

YU, Yuming; CHEN, Peng; GAO, Ming; LAN, Wei; SUN, Shijun; MA, Ziwei; SULTANI, Rome; CUI, Yincang; UMAR, Muhammad Naveed; KHAN, Sher Wali; CAI, Xiaodong; LIANG, Zhenjiang; TAN, Hui et al. Amphotericin B Tamed by Salicylic Acid. **ACS omega**, v. 7, n. 17, p. 14690-14696, 2022. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsomega.1c07201>. Acesso em: 28 ago. 2023.

ZARE-SHEHNEH, Masoud; ASKARFARASHAH, Mohammad; EBRAHIMI, Leila; KOR, Nasroallah Moradi; ZARE-ZARDINI, Hadi; SOLTANINEJAD, Hossein; HASHEMIAN, Zahra; JABINIAN, Fatemeh. Biological activities of a new antimicrobial peptide from *Coriandrum sativum*. **International Journal of Bioscience**, v. 4, n. 6, p. 89-99, 2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Hadi-Zardini/publication/261181366_Biological_activities_of_a_new_antimicrobial_peptide_from_Coriandrum_sativum/links/54bcc4340cf253b50e2d5cc1/Biological-activities-of-a-new-antimicrobial-peptide-from-Coriandrum-sativum.pdf. Acesso em: 28 ago. 2023.

ZHANG, Huixia; WANG, Jinbo; JI, Zhenmeng; SUN, Xinlin; TIAN, Qizhen; WEI, Shaopeng; JI, Zhiqin. Discovery, SAR, and putative mode of action of *N*-benzyl-2-methoxybenzamides as potential bleaching herbicides. **Pest Management Science**, v. 77, n. 6, p. 2804-2811, 2021. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.6313>. Acesso em: 28 ago. 2023.

ZHAO, Qian; CHU, Jinyu; JIANG, Tingshun; YIN, Hengbo. "Synthesis of isoamyl salicylate using a novel mesoporous titania superacid as a catalyst", **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 25, p. 1008-1013, 2008. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11814-008-0163-6>. Acesso em: 28 ago. 2023.

Zinc Protein Simulations Using the Cationic Dummy Atom (CaDA) Method. In: Mayo Clinic [Internet]. Disponível em: <https://www.mayo.edu/research/labs/computer-aided-molecular-design/projects/zinc-protein-simulations-using-cationic-dummy-atom-cada-approach>. Acesso em: 21 jan. 2021.

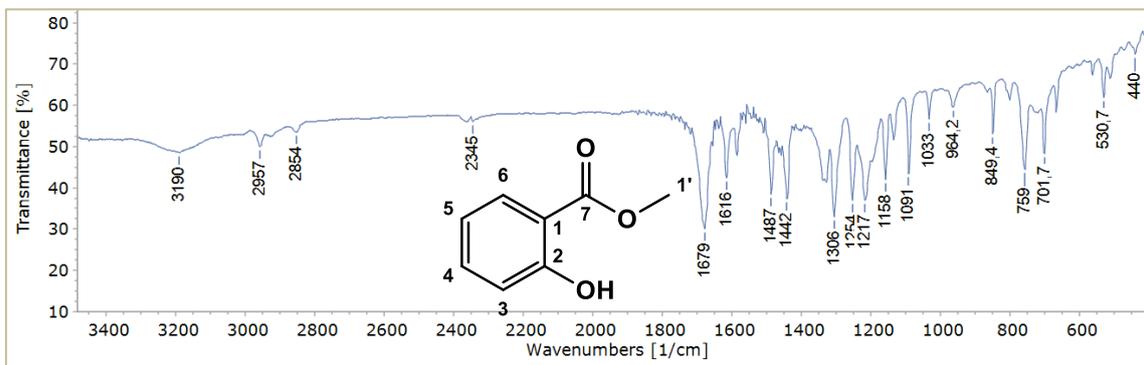
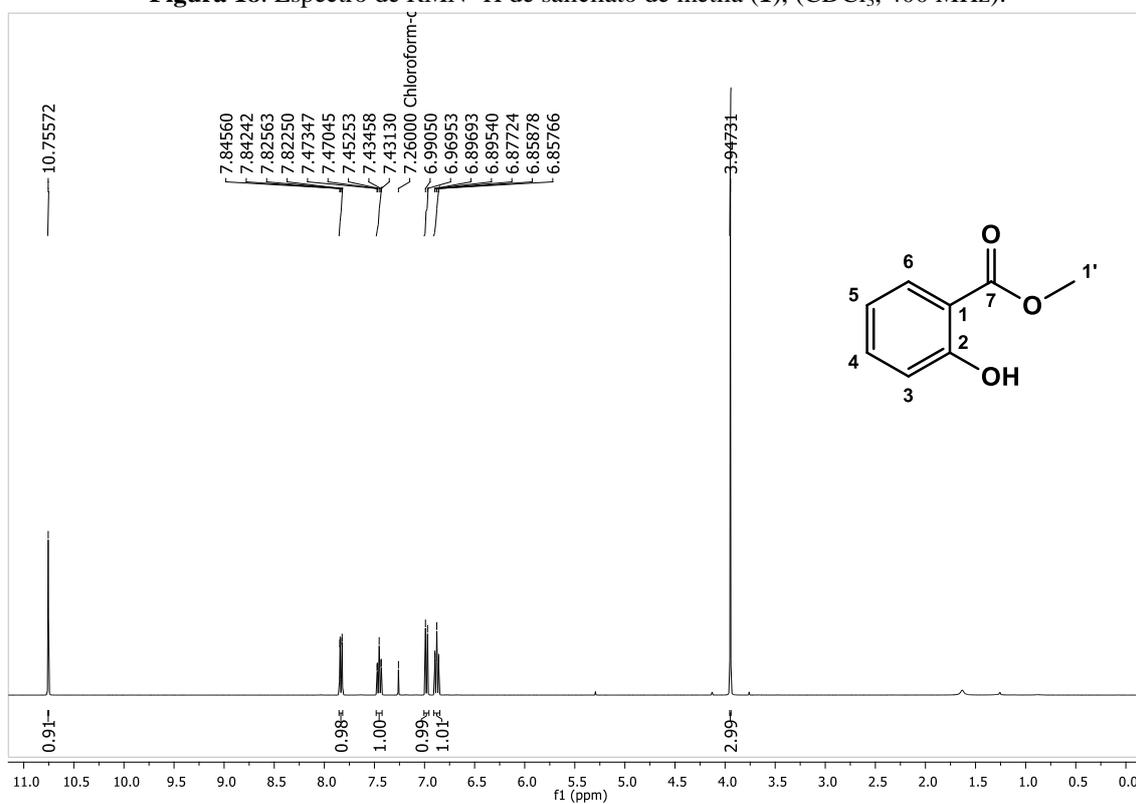
APÊNDICE – ESPECTROS DE RMN ^1H E ^{13}C , IV E EMAR.Figura 17. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de metila (1).Figura 18. Espectro de RMN ^1H de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 400 MHz).

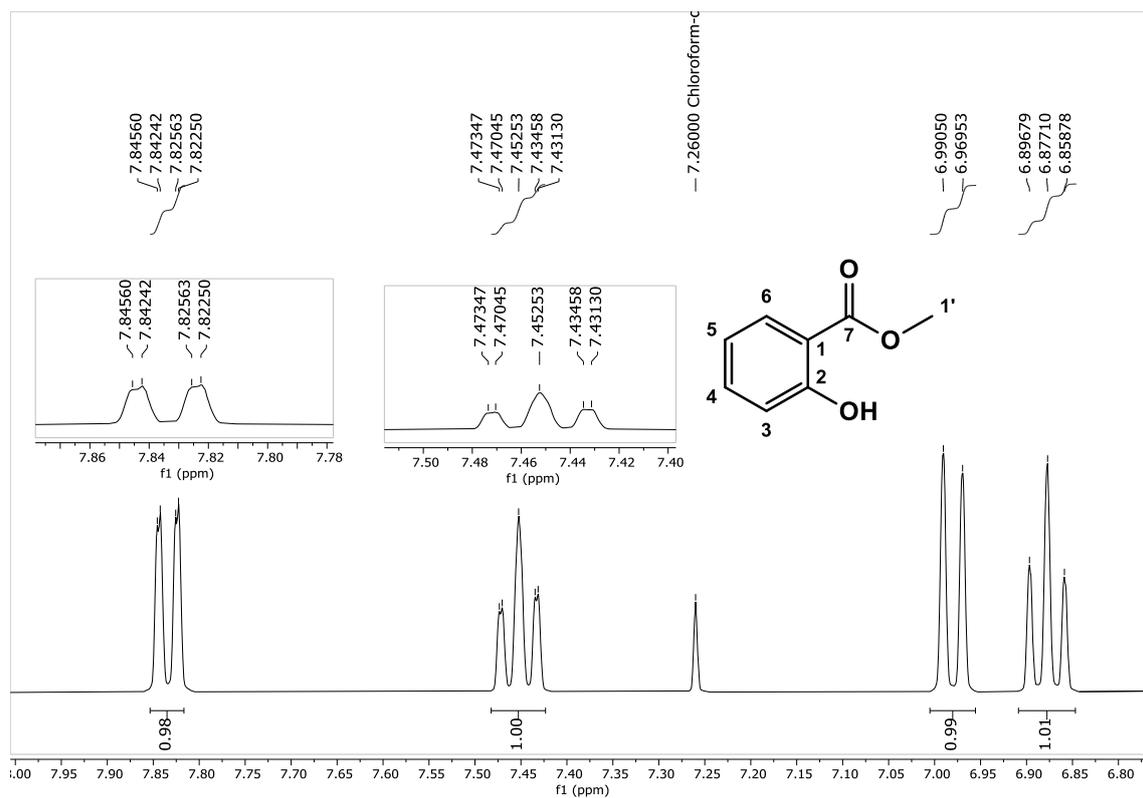
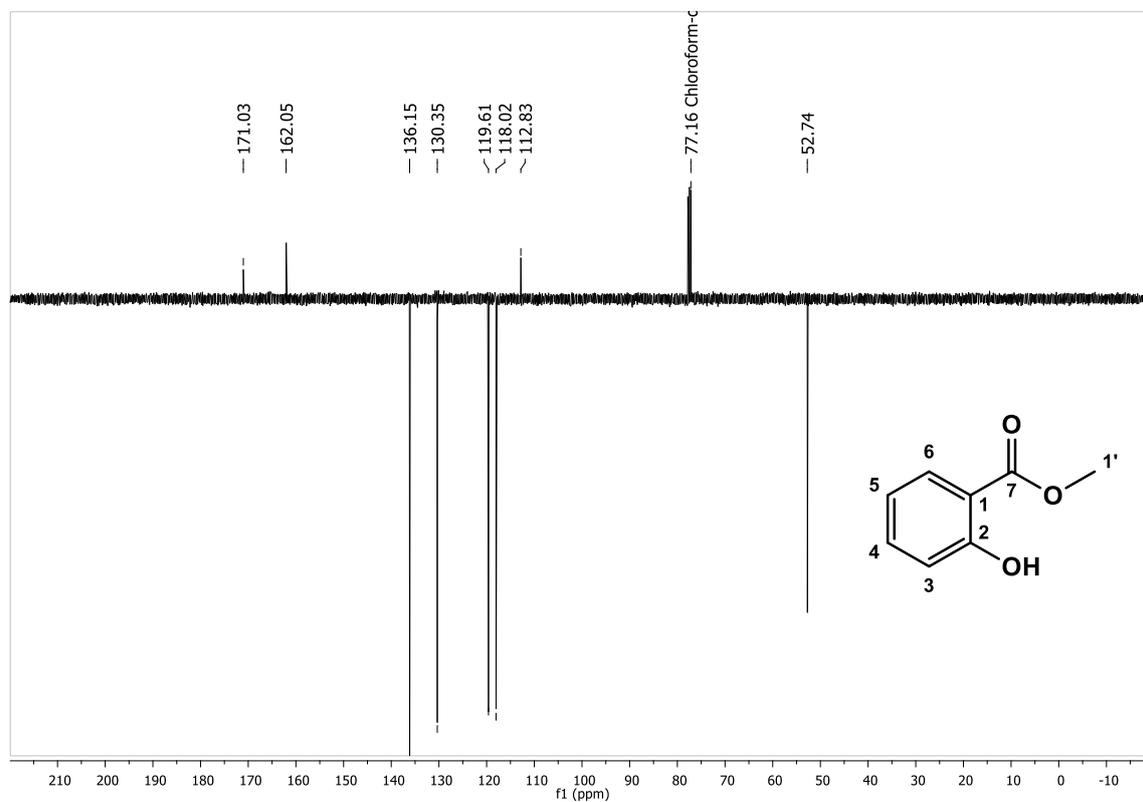
Figura 19. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 20.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de metila (1), (CDCl_3 , 100 MHz).

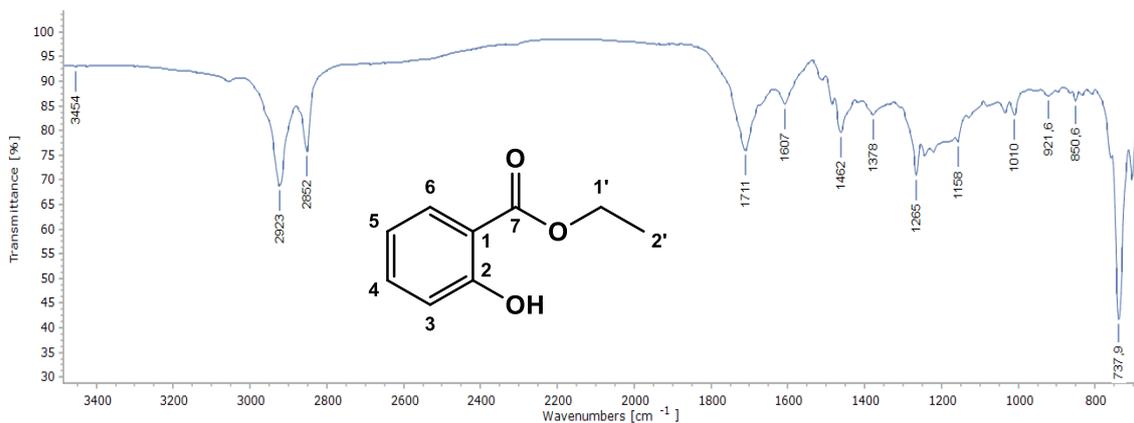
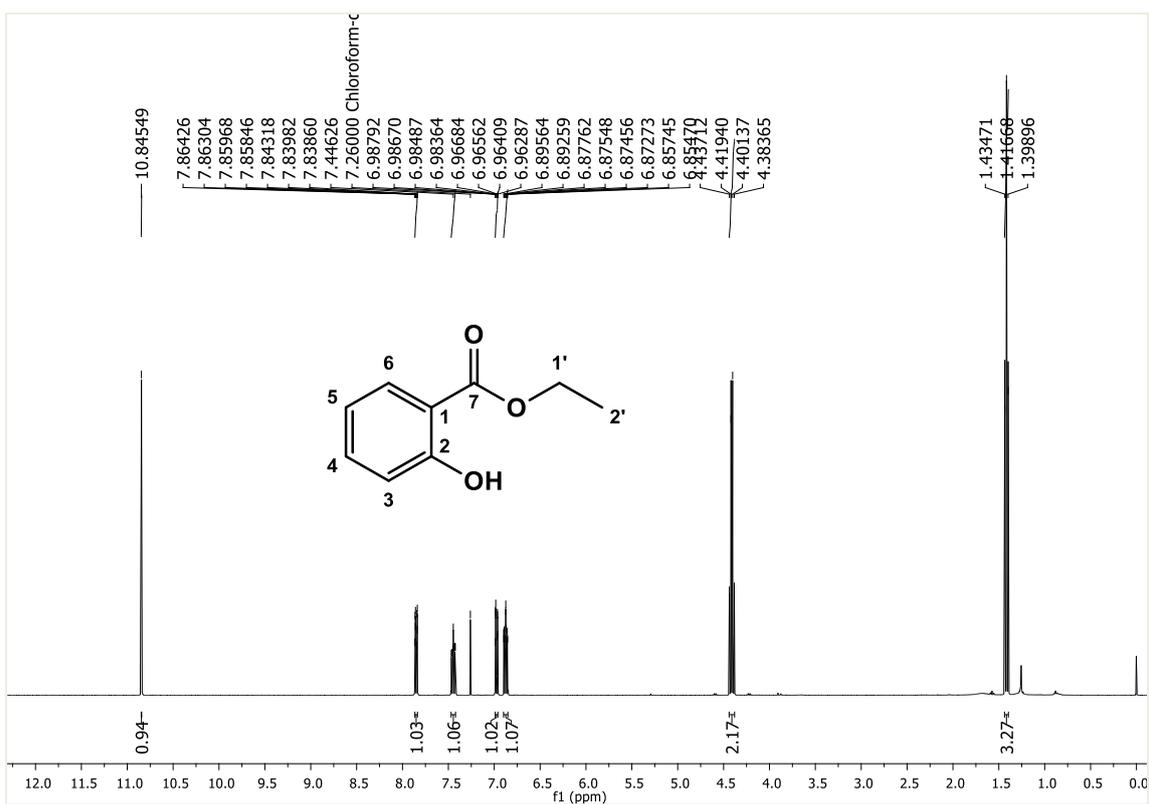
Figura 21. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Salicilato de etila (2).**Figura 22.** Espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (2), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 23. Expansão do espectro de RMN ¹H de Salicilato de etila (2), (CDCl₃, 400 MHz).

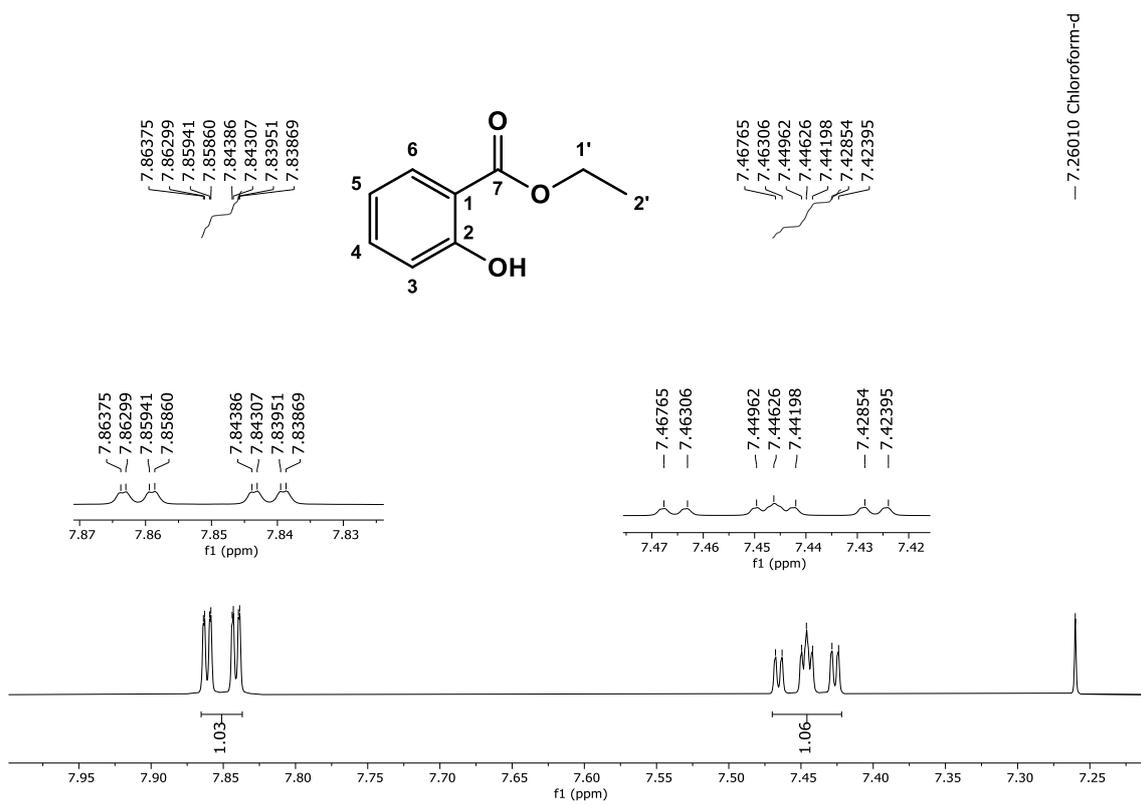


Figura 24. Expansão do espectro de RMN ¹H de Salicilato de etila (2), (CDCl₃, 400 MHz).

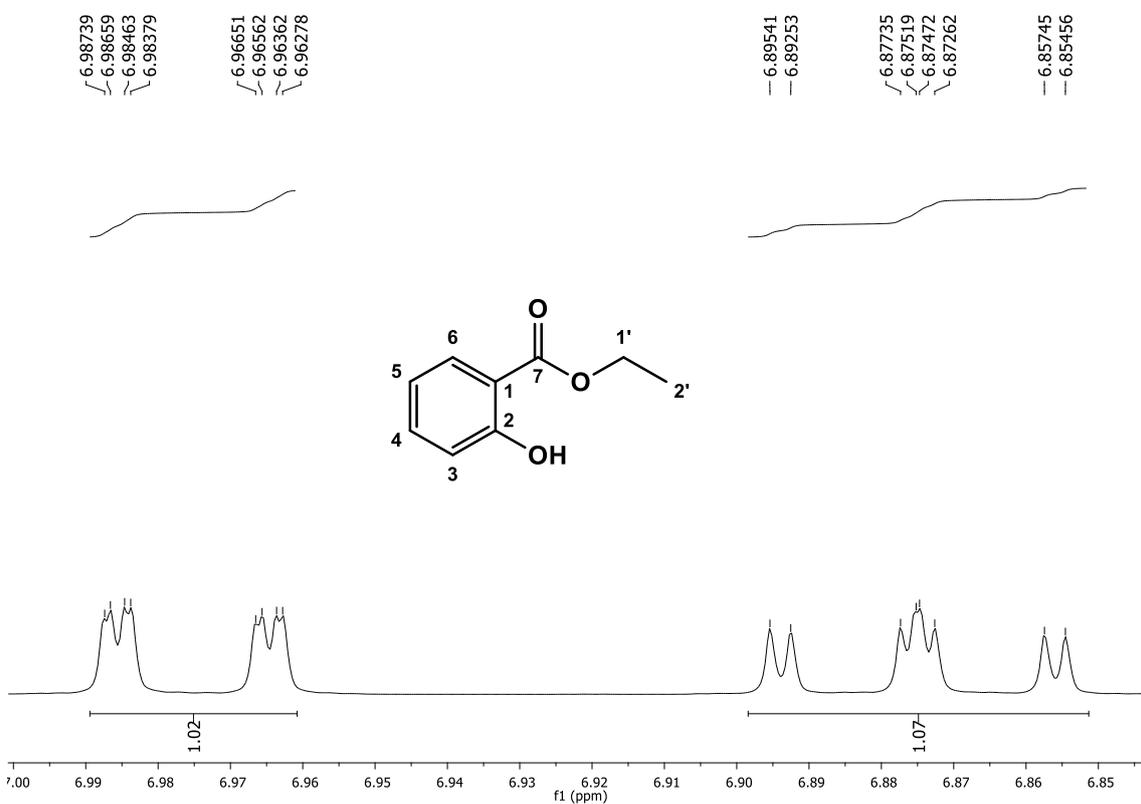


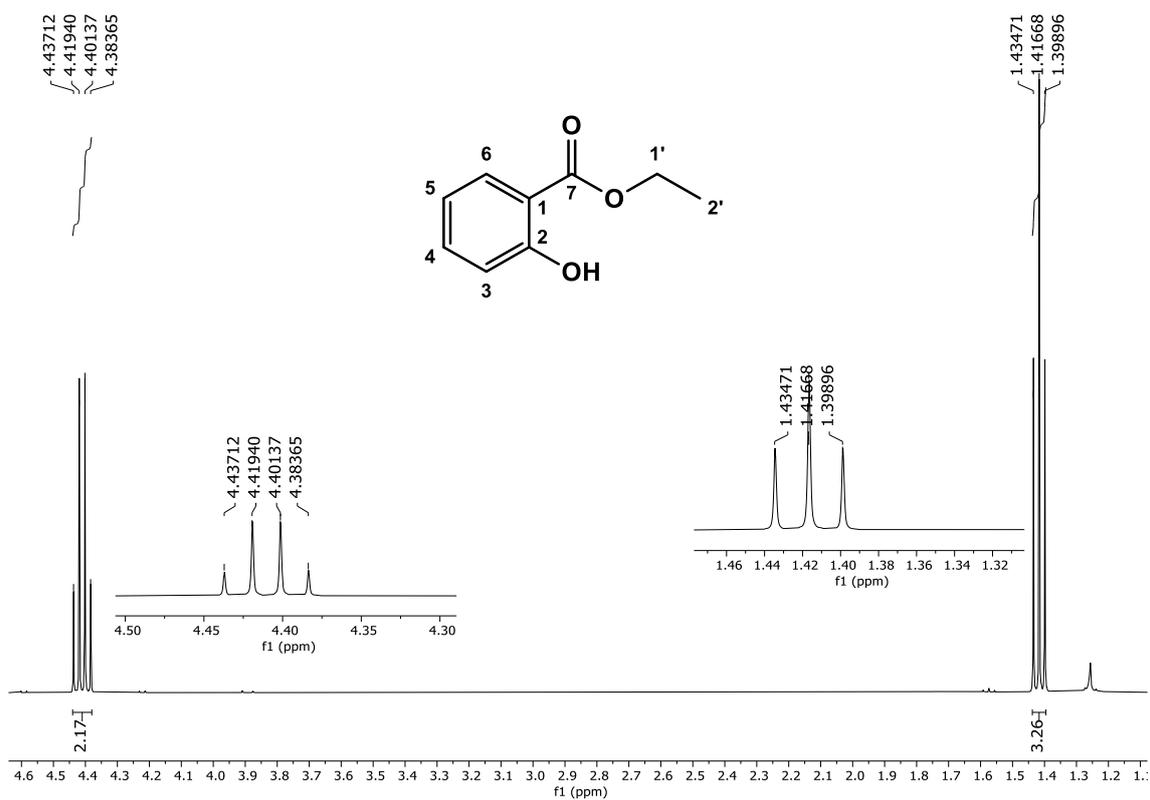
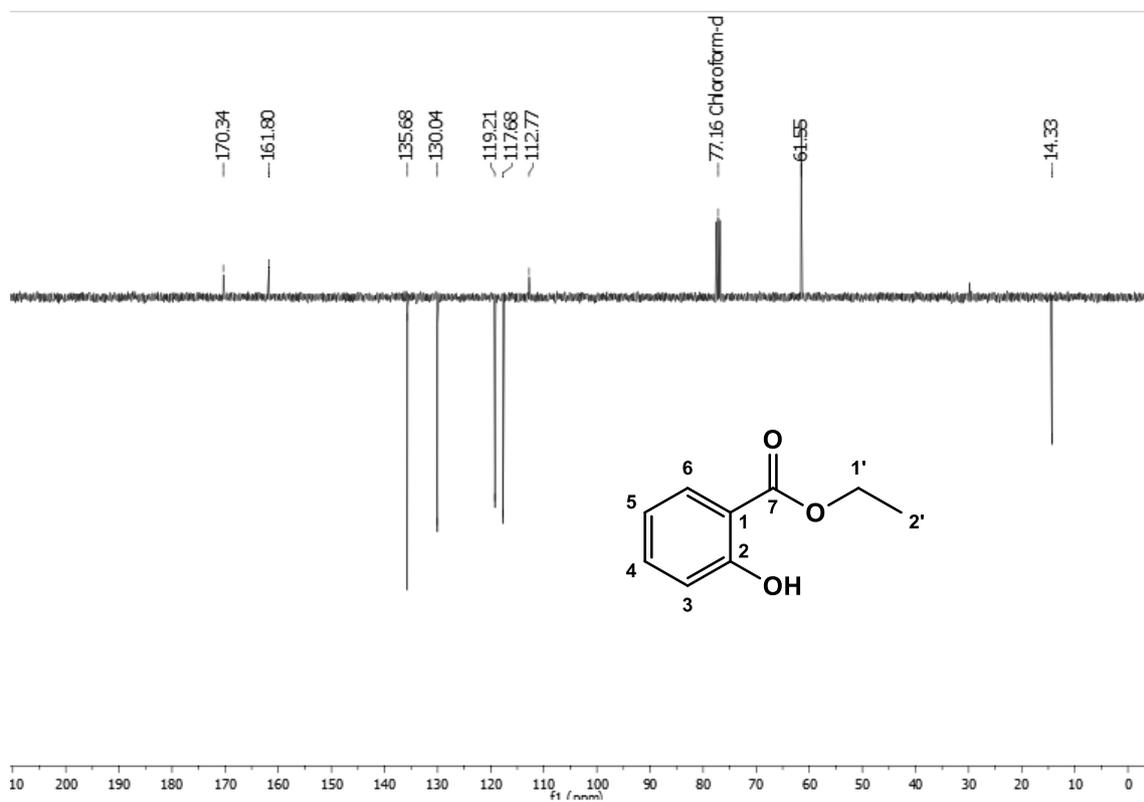
Figura 25. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de etila (**2**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 26.** Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de etila (**2**), (CDCl_3 , 100 MHz).

Figura 27. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de propila (**3**).

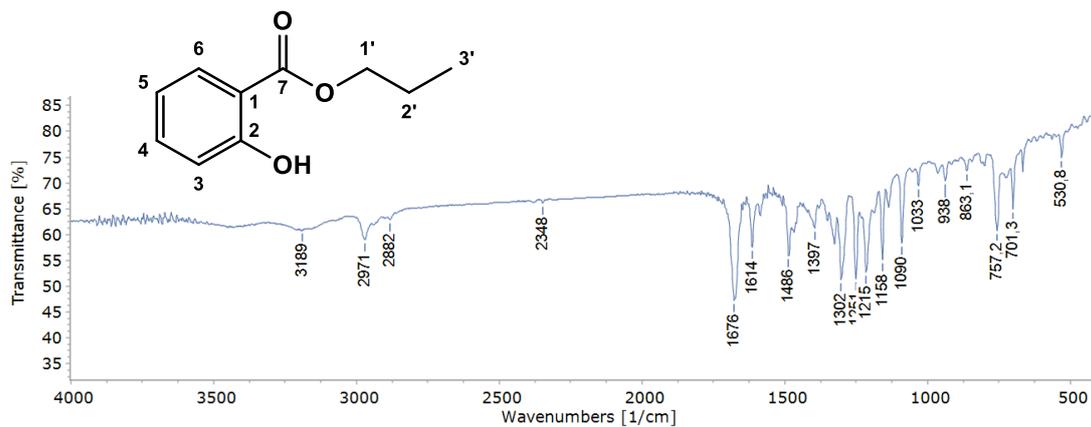


Figura 28. Espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (**3**), (CDCl_3 , 400 MHz).

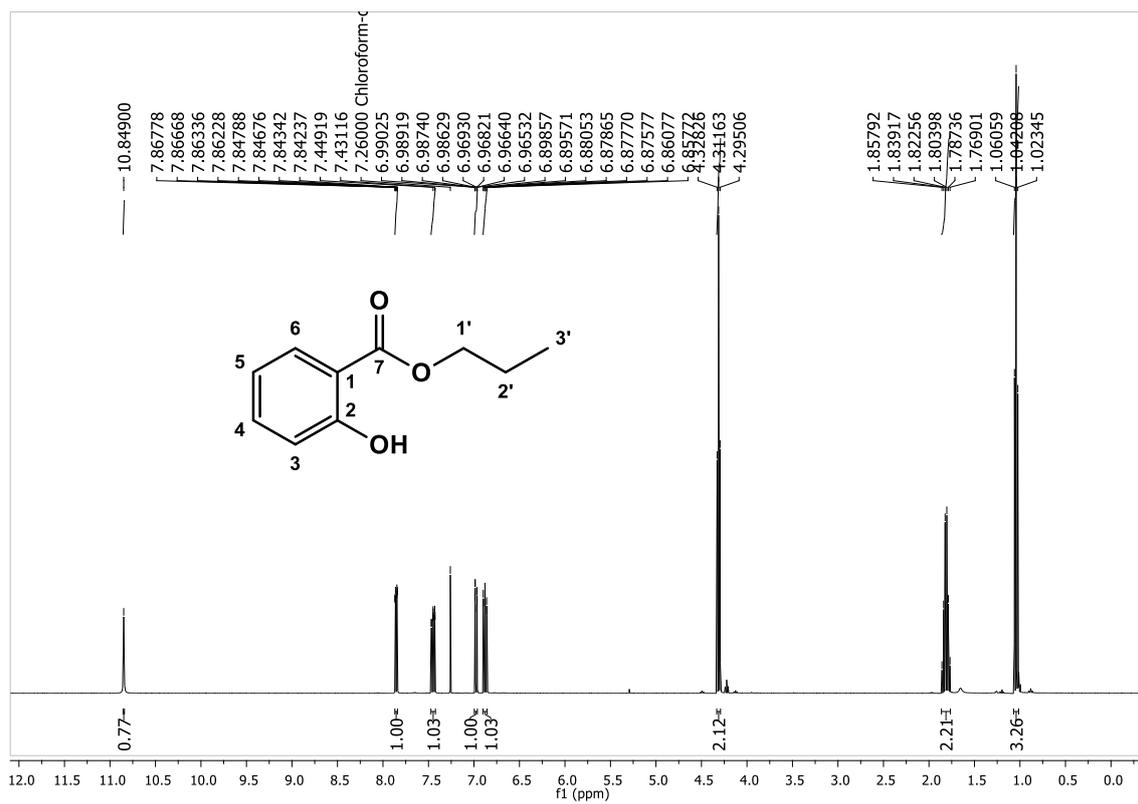


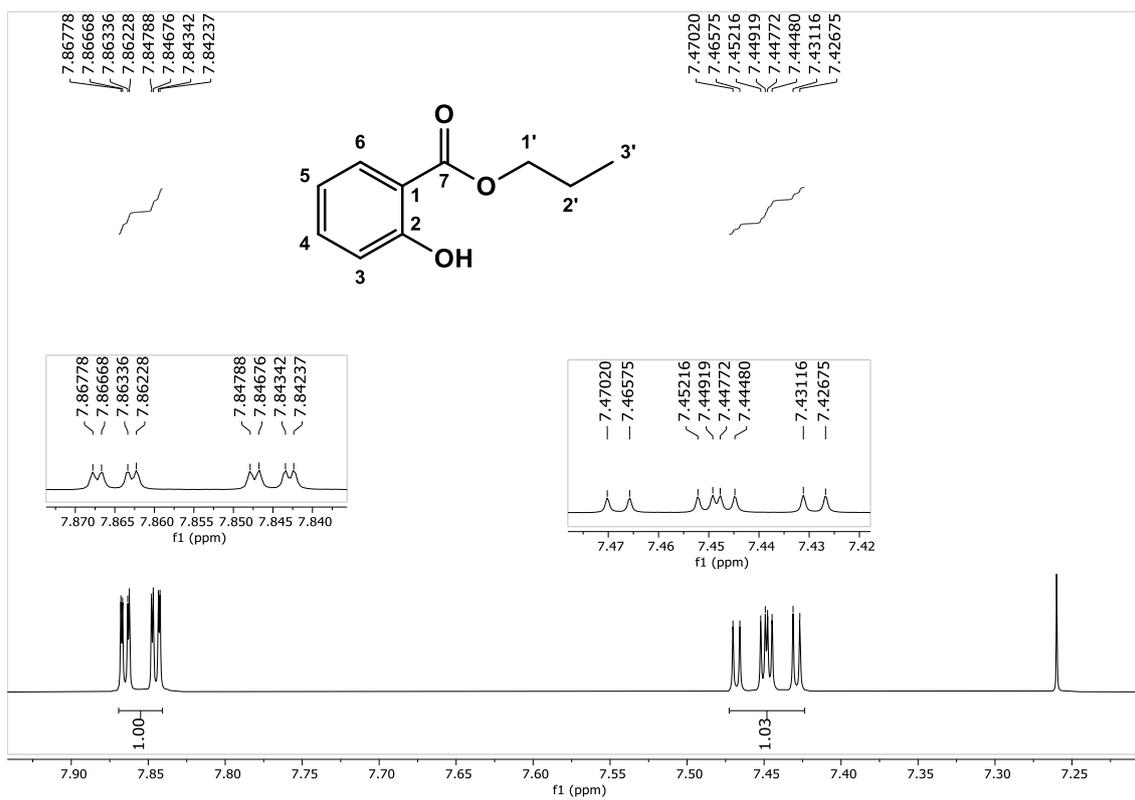
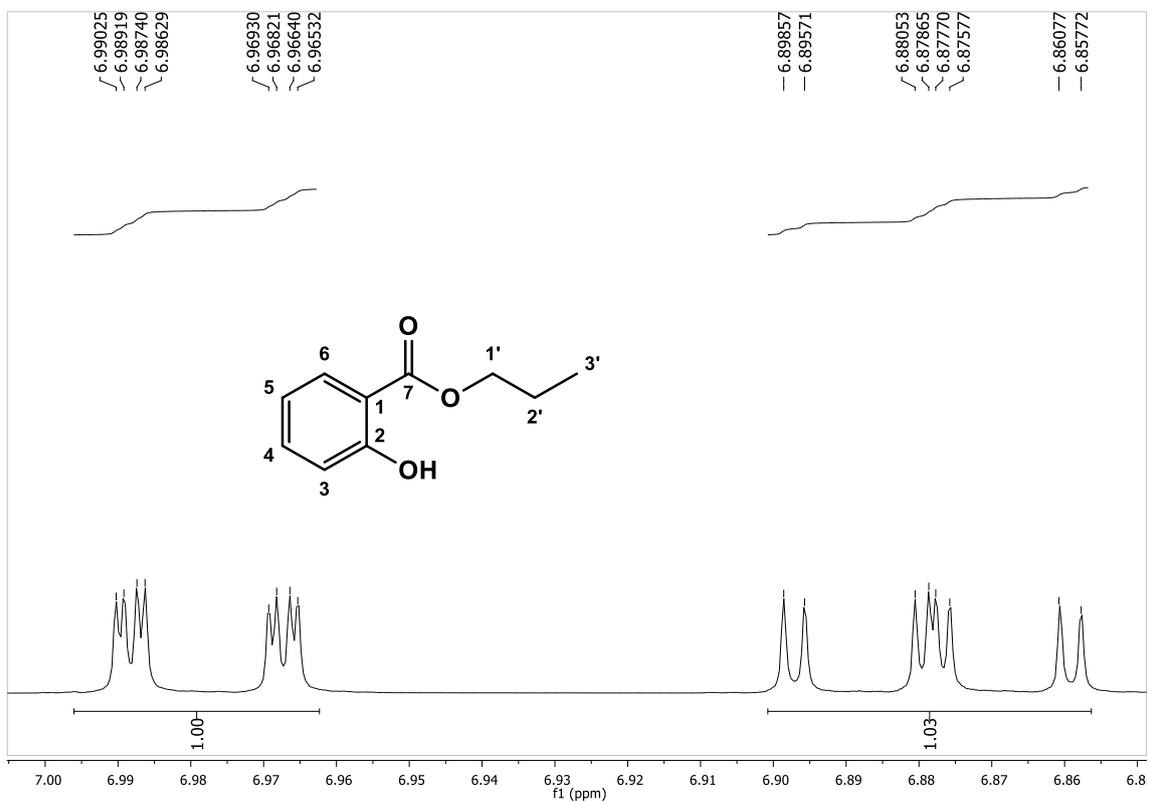
Figura 29. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 30.** Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (3), (CDCl_3 , 400 MHz).

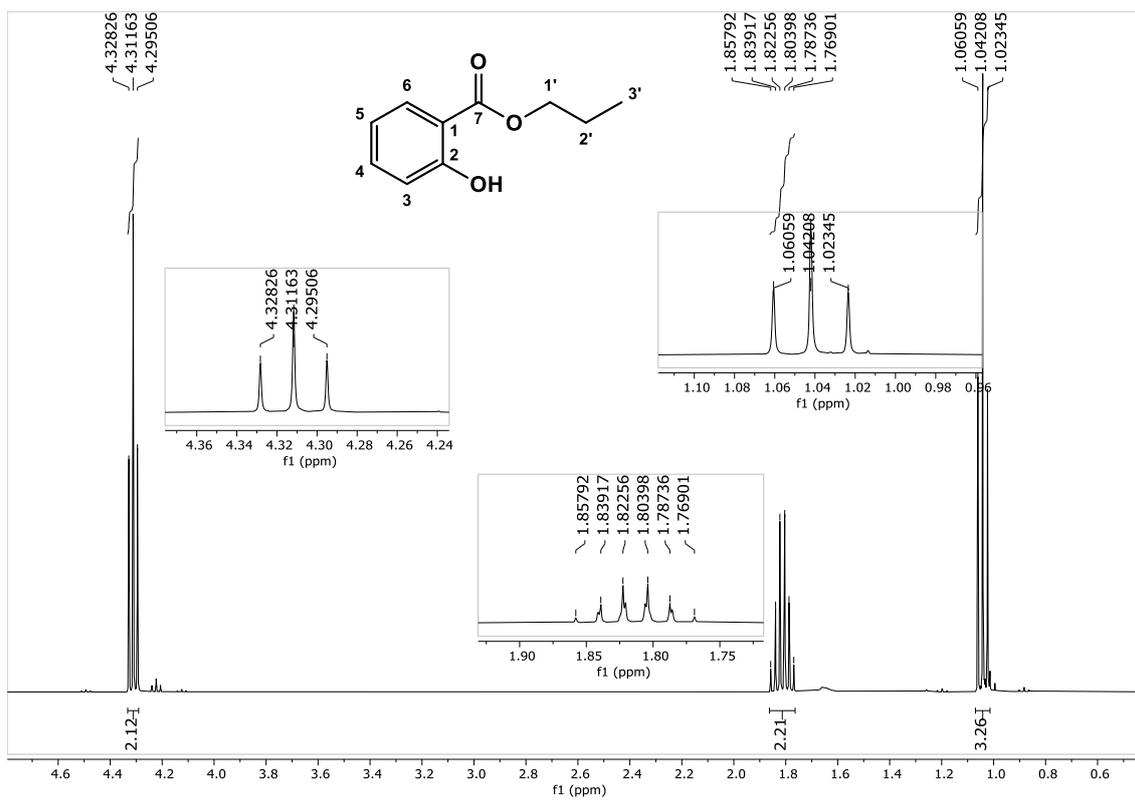
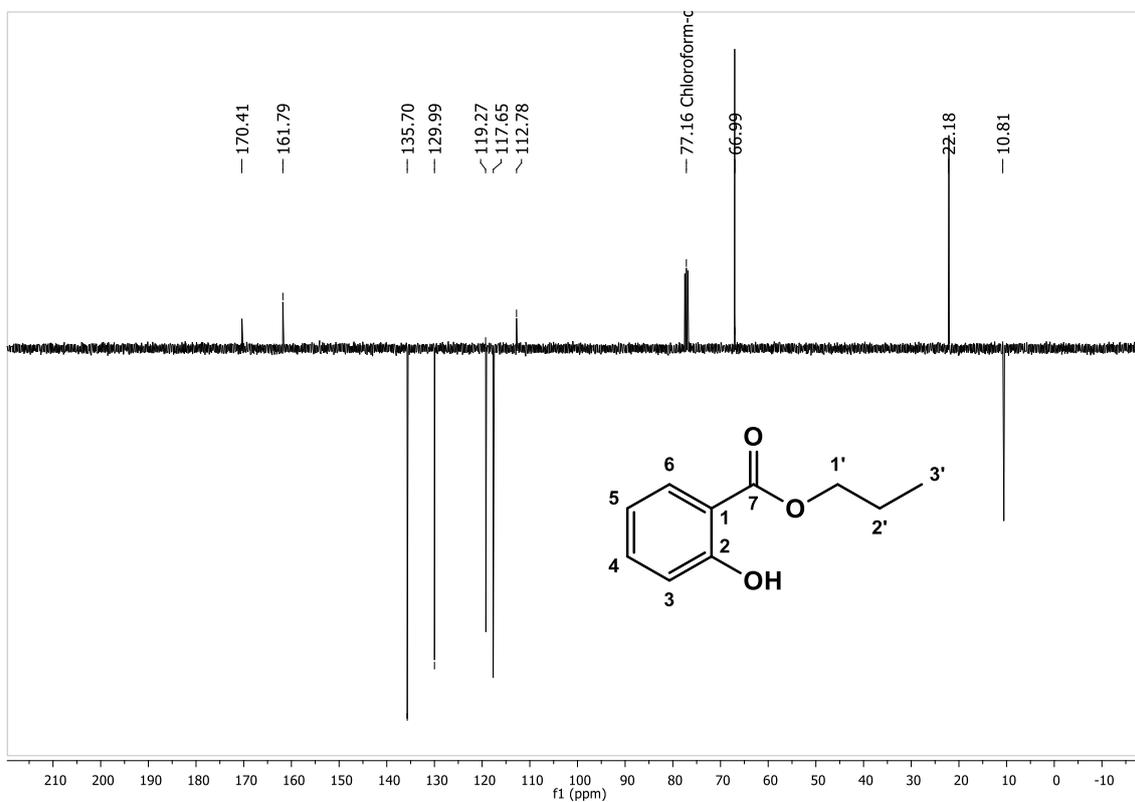
Figura 31. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de propila (**3**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 32.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de propila (**3**), (CDCl_3 , 100 MHz).

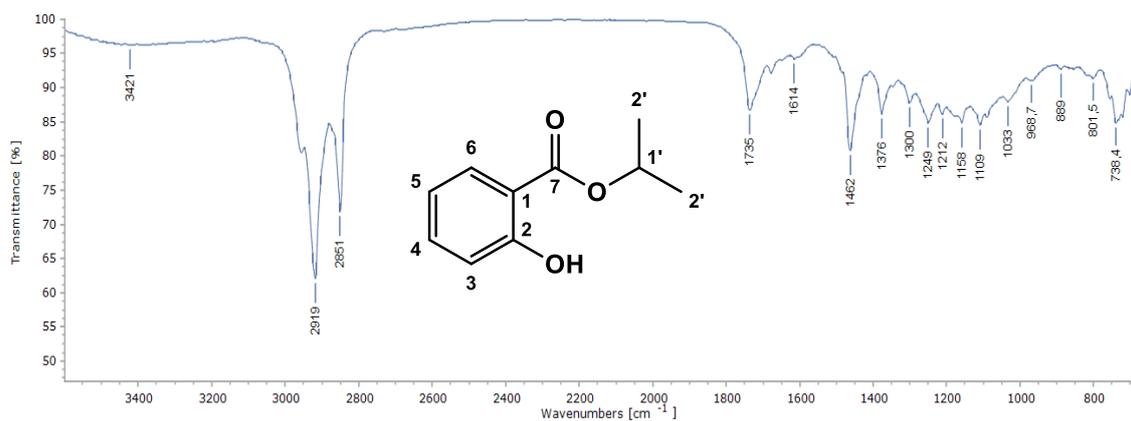
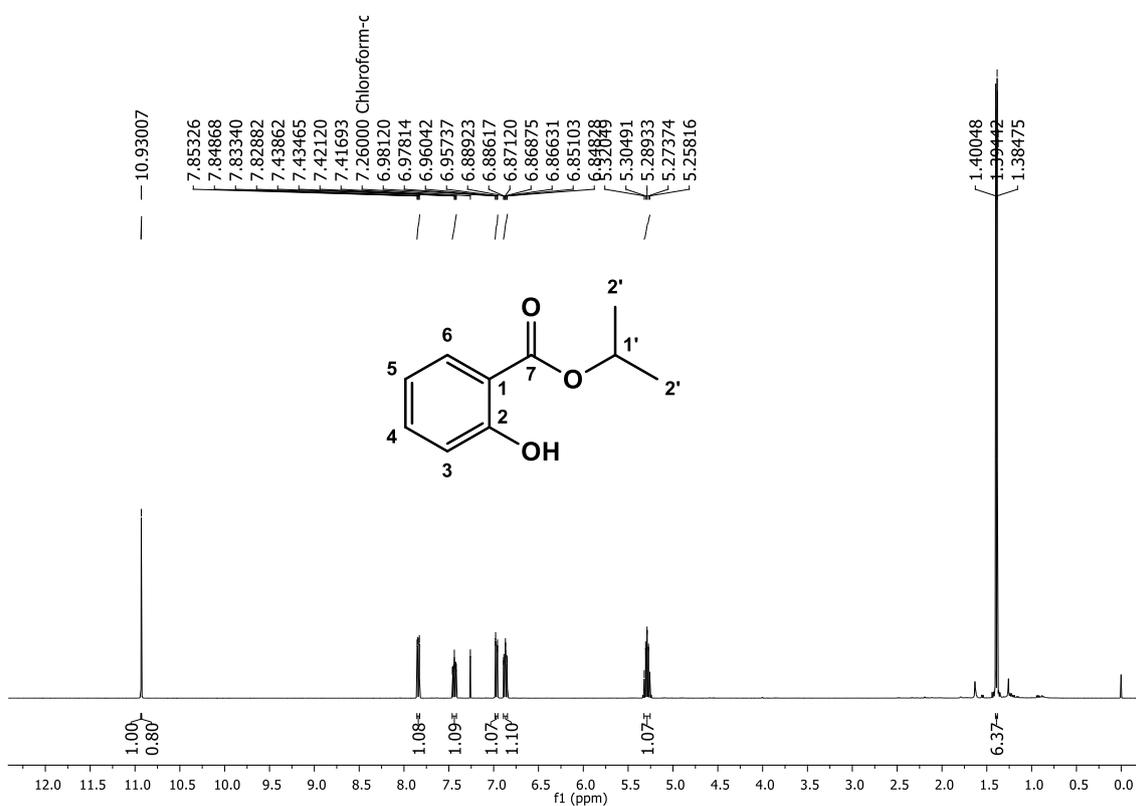
Figura 33. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Salicilato de isopropila (4).Figura 34. Espectro de RMN ¹H de Salicilato de isopropila (4), (CDCl_3 , 400 MHz).

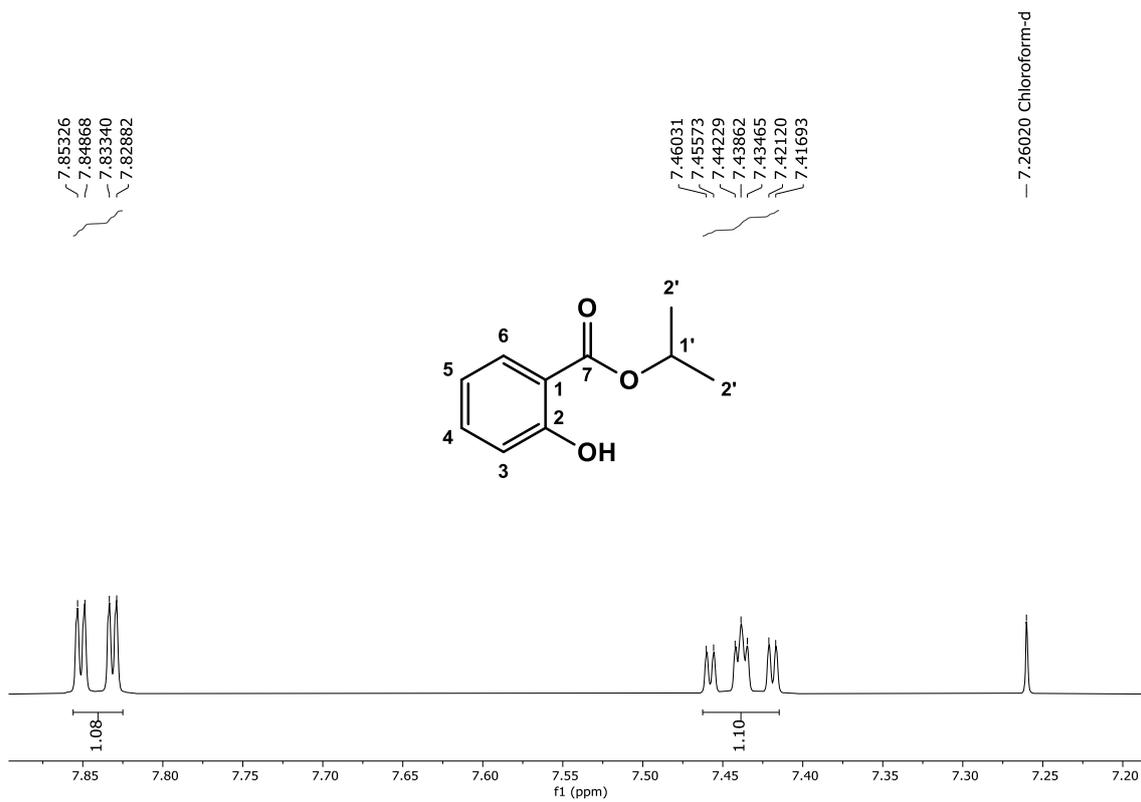
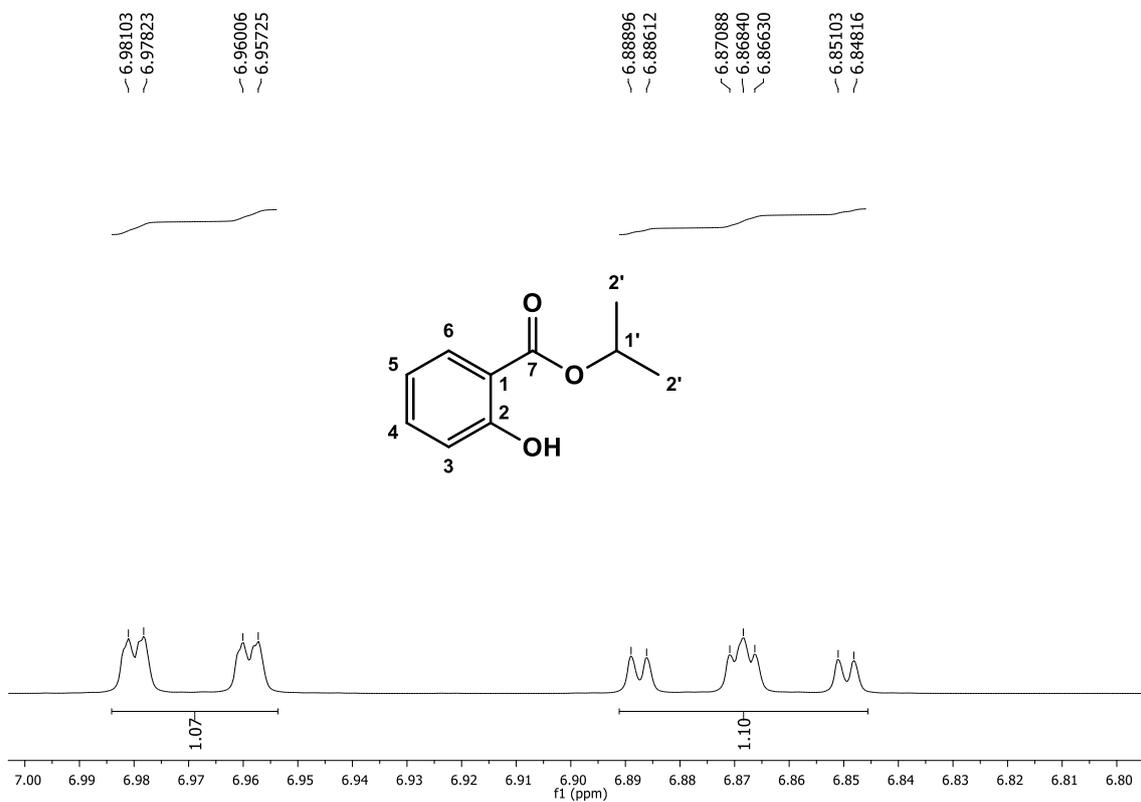
Figura 35. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (**4**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 36.** Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (**4**), (CDCl_3 , 400 MHz).

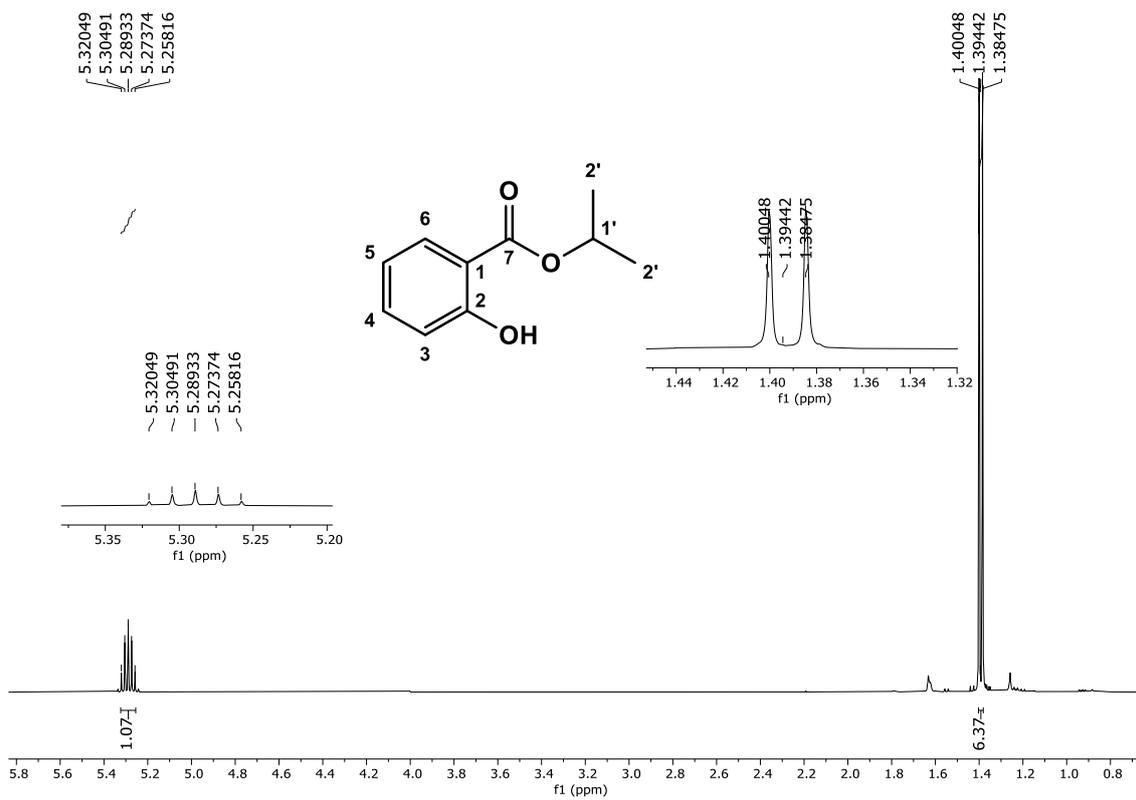
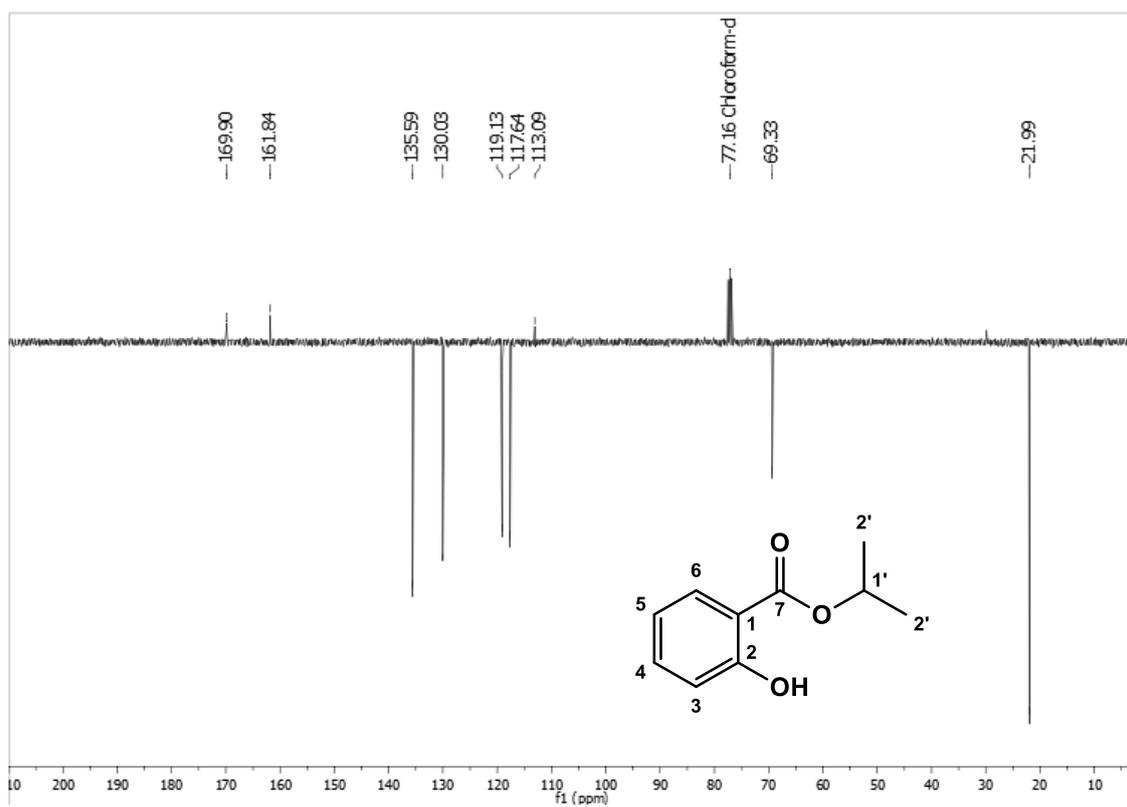
Figura 37. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de isopropila (**4**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 38.** Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de isopropila (**4**), (CDCl_3 , 100 MHz).

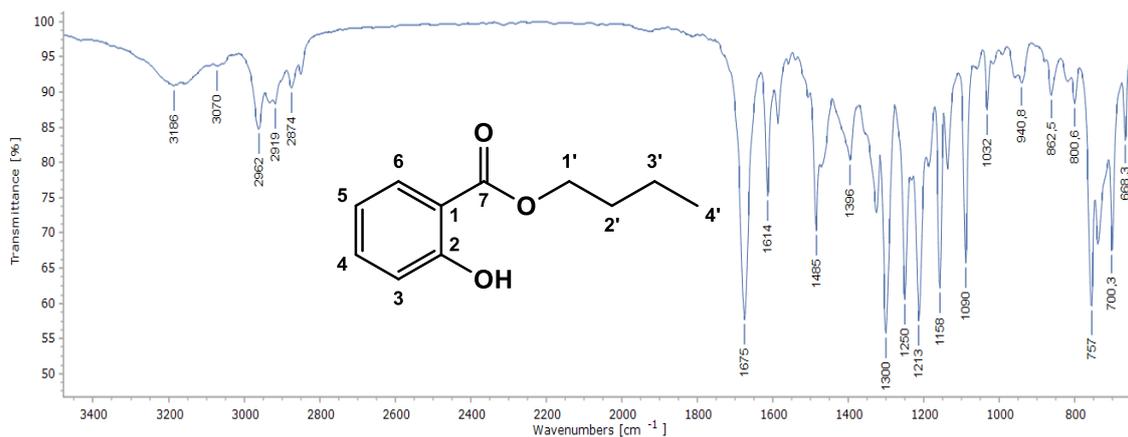
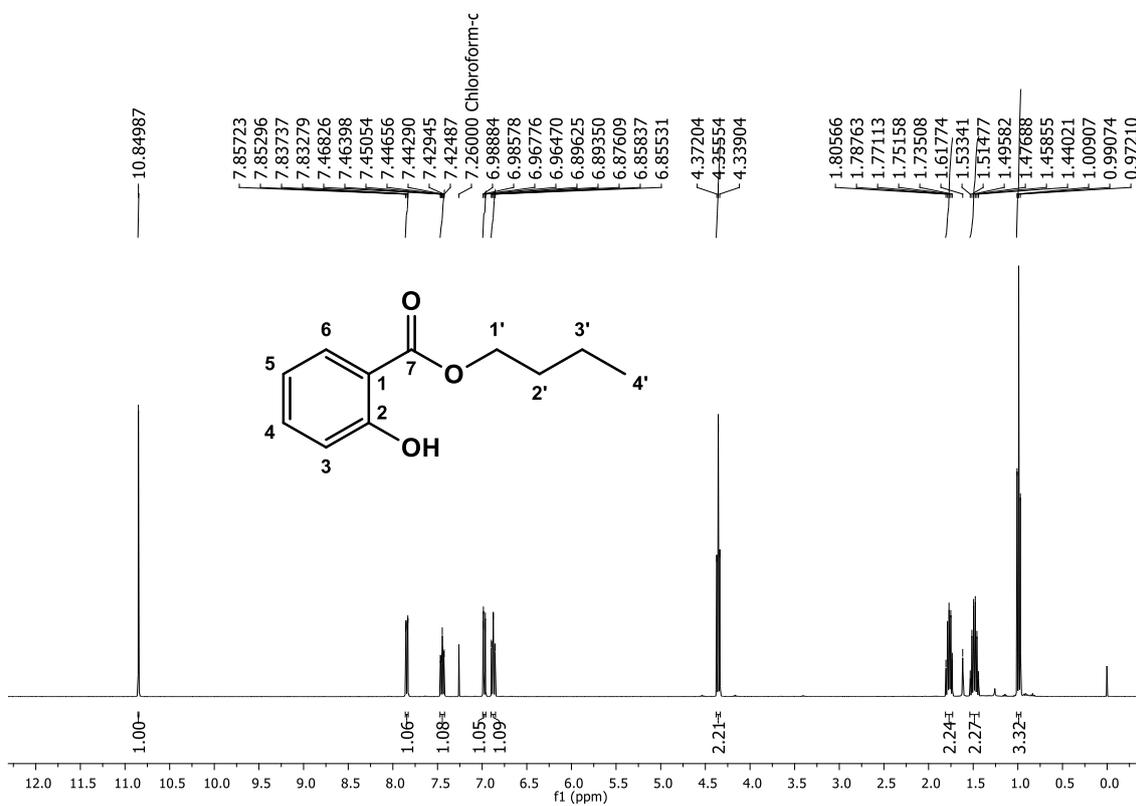
Figura 39. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Salicilato de butila (5).Figura 40. Espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl_3 , 400 MHz).

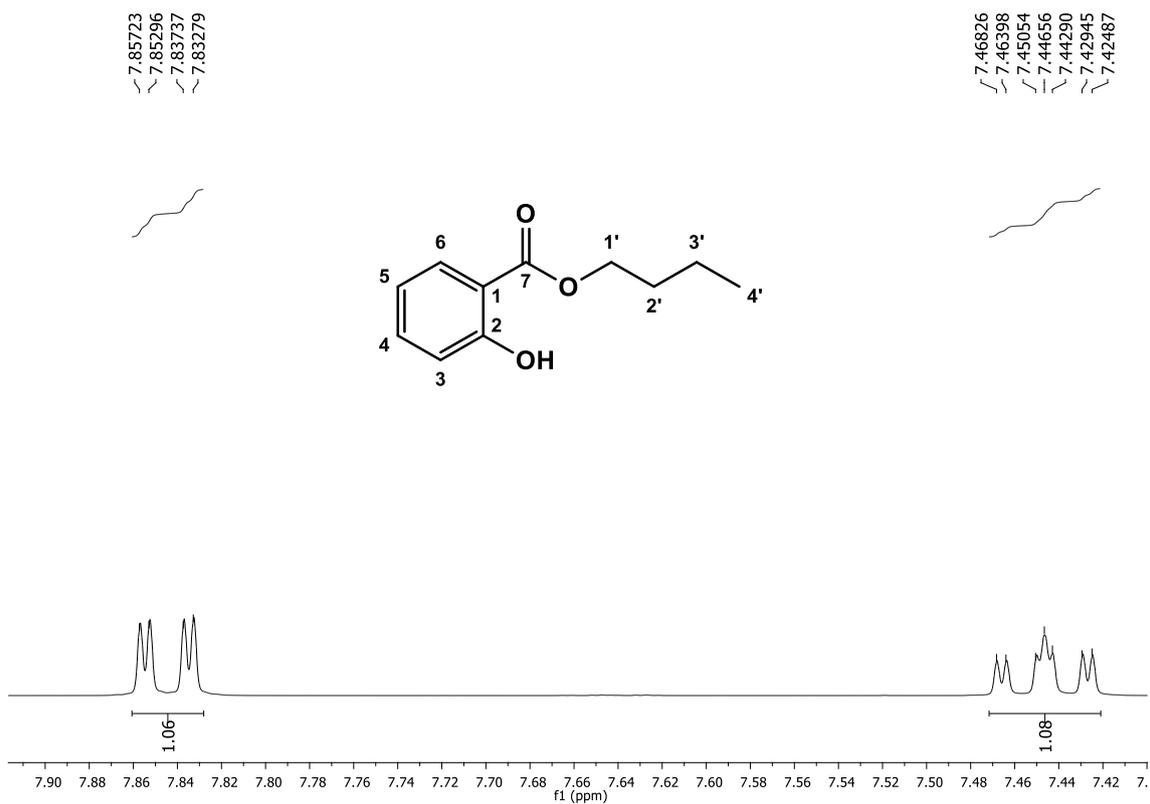
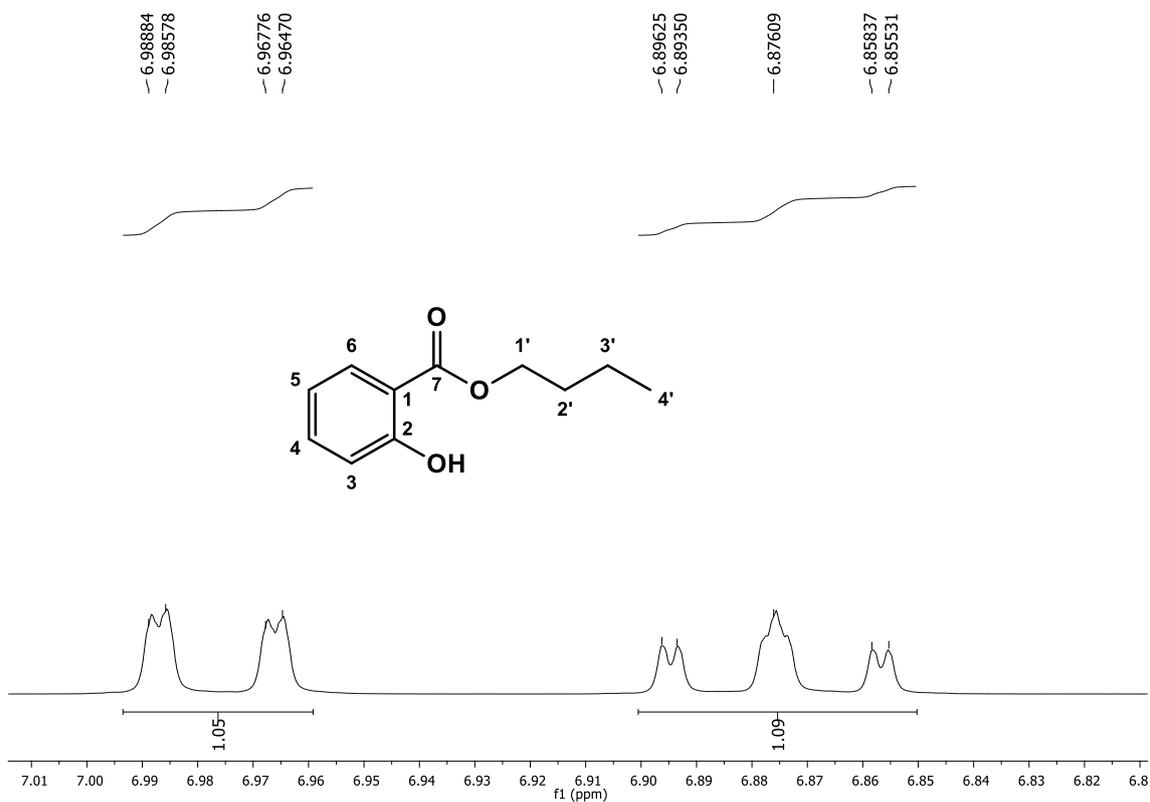
Figura 41. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (**5**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 42.** Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (**5**), (CDCl_3 , 400 MHz).

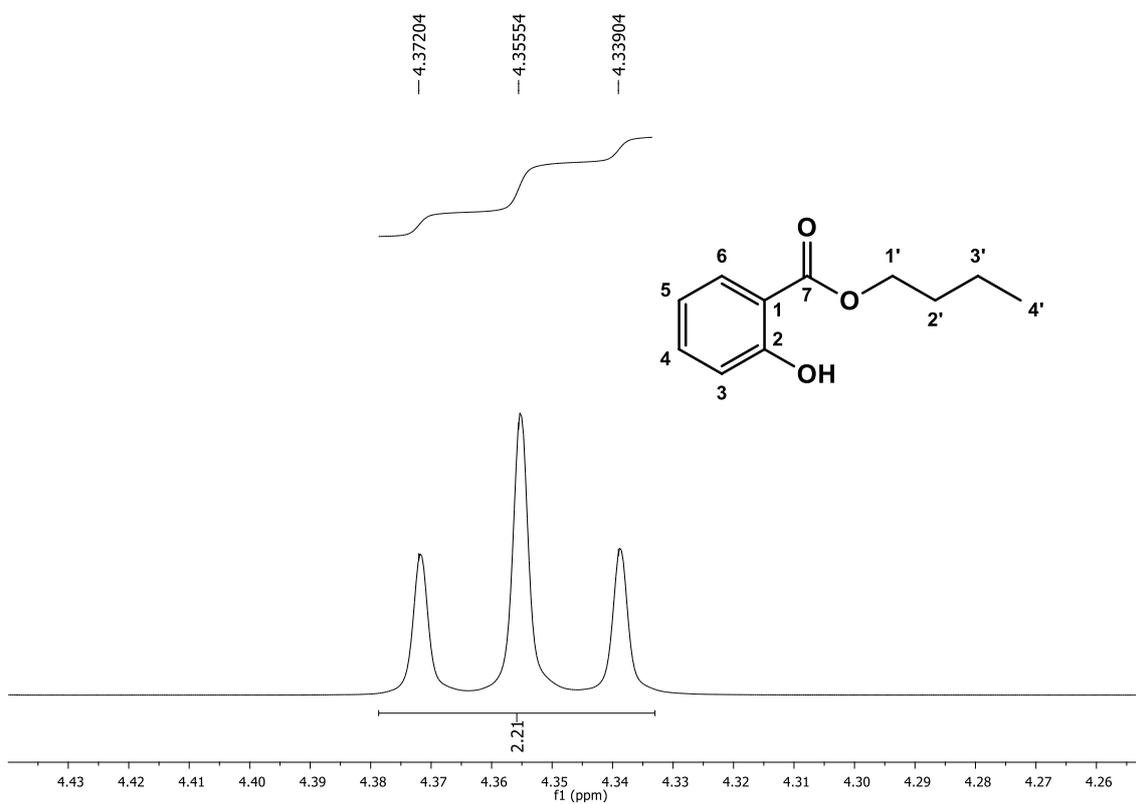
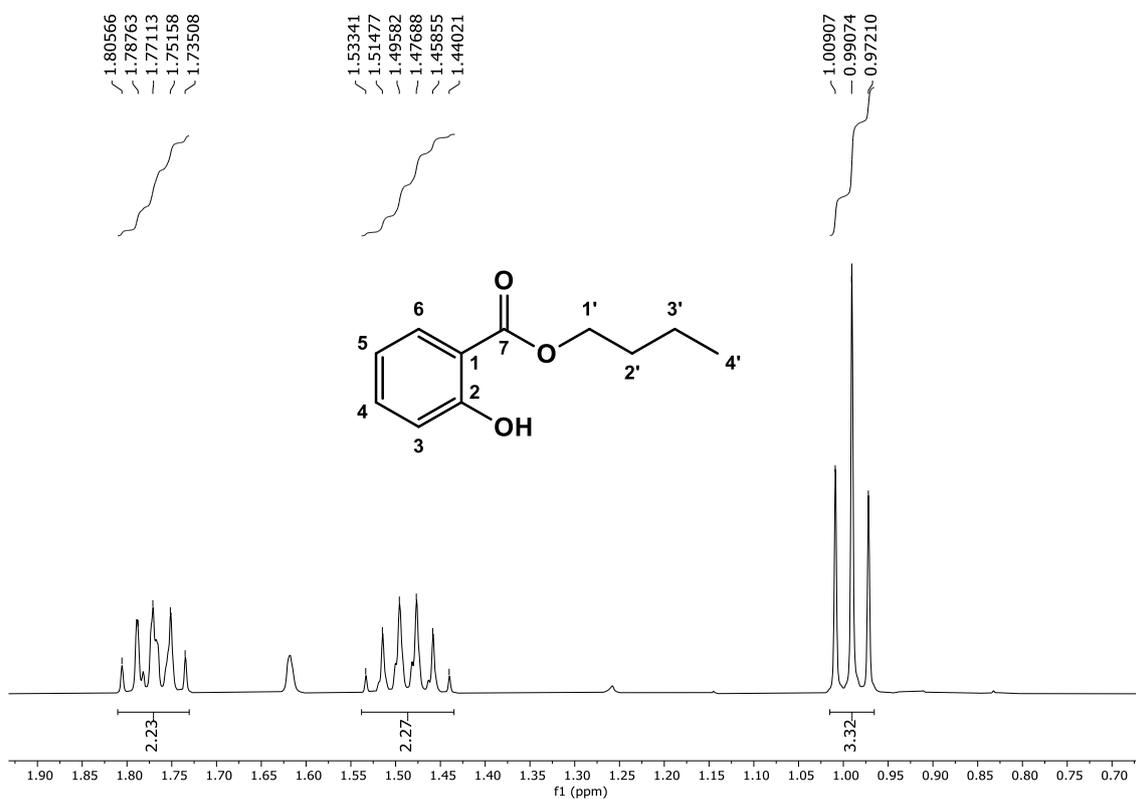
Figura 43. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 44.** Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de butila (5), (CDCl_3 , 400 MHz).

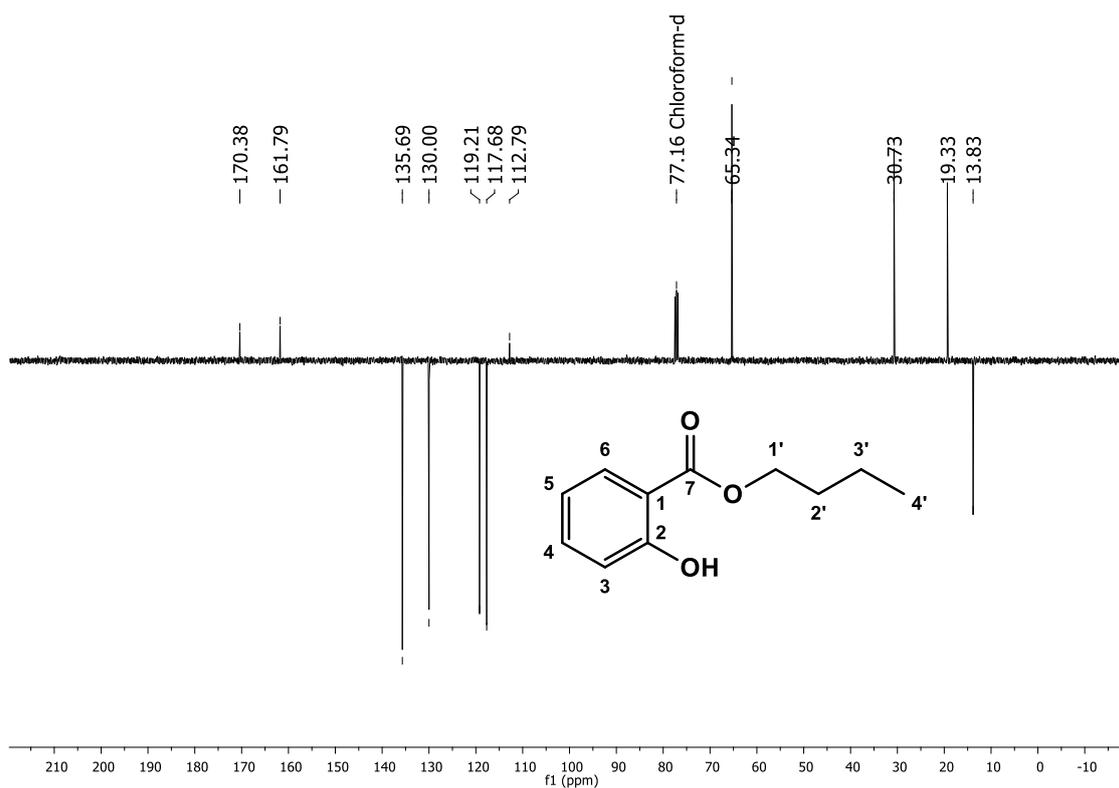
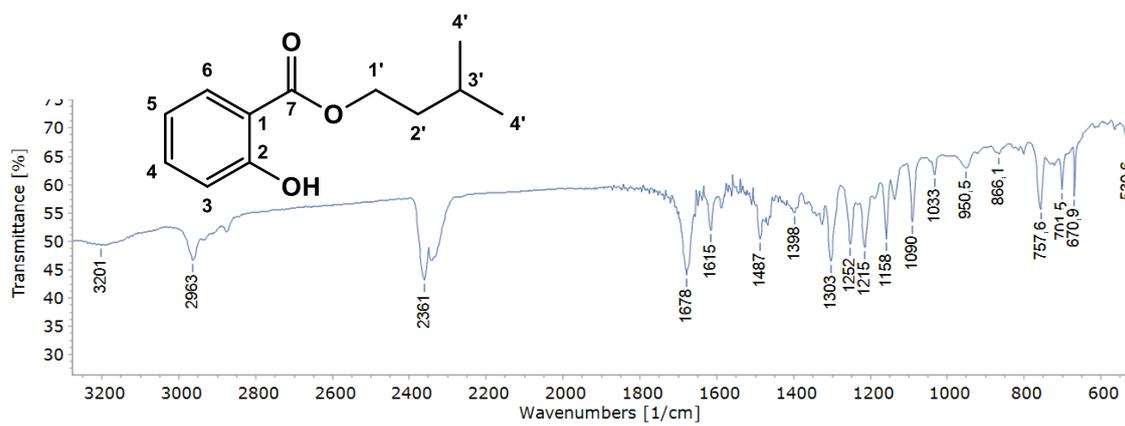
Figura 45. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de butila (5), (CDCl_3 , 100 MHz).**Figura 46.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de isoamila (6).

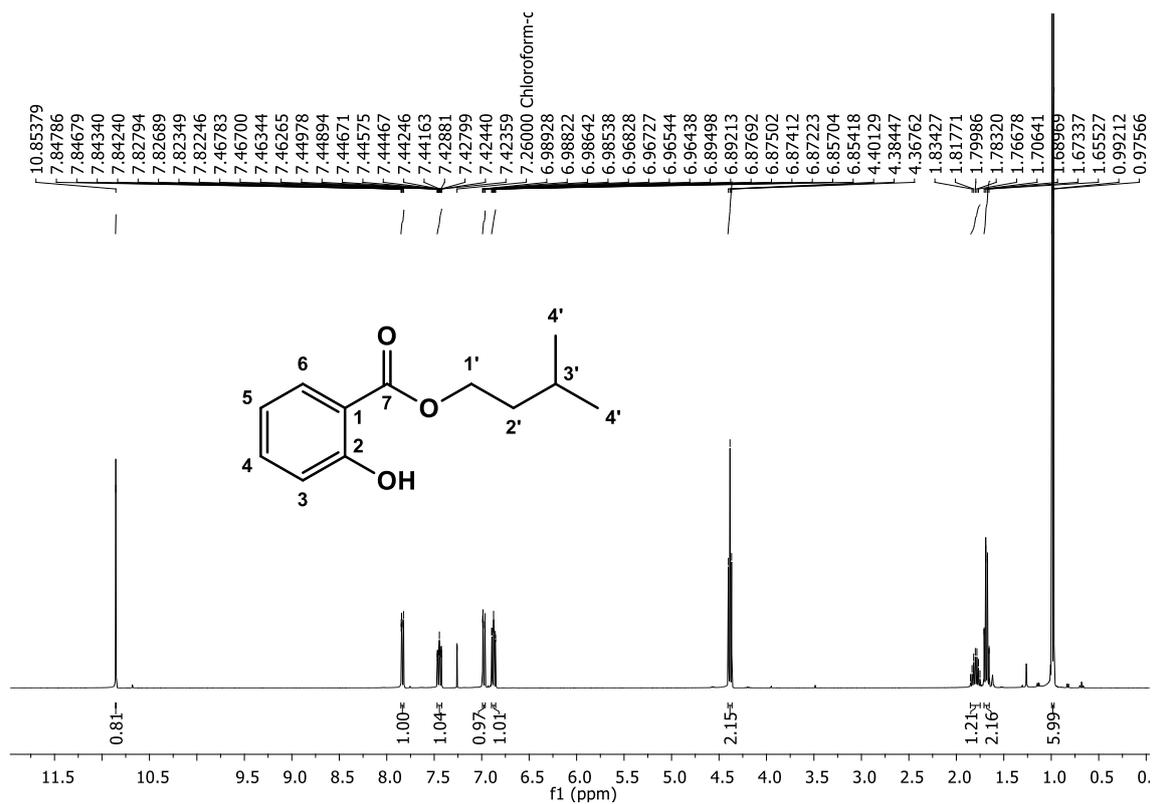
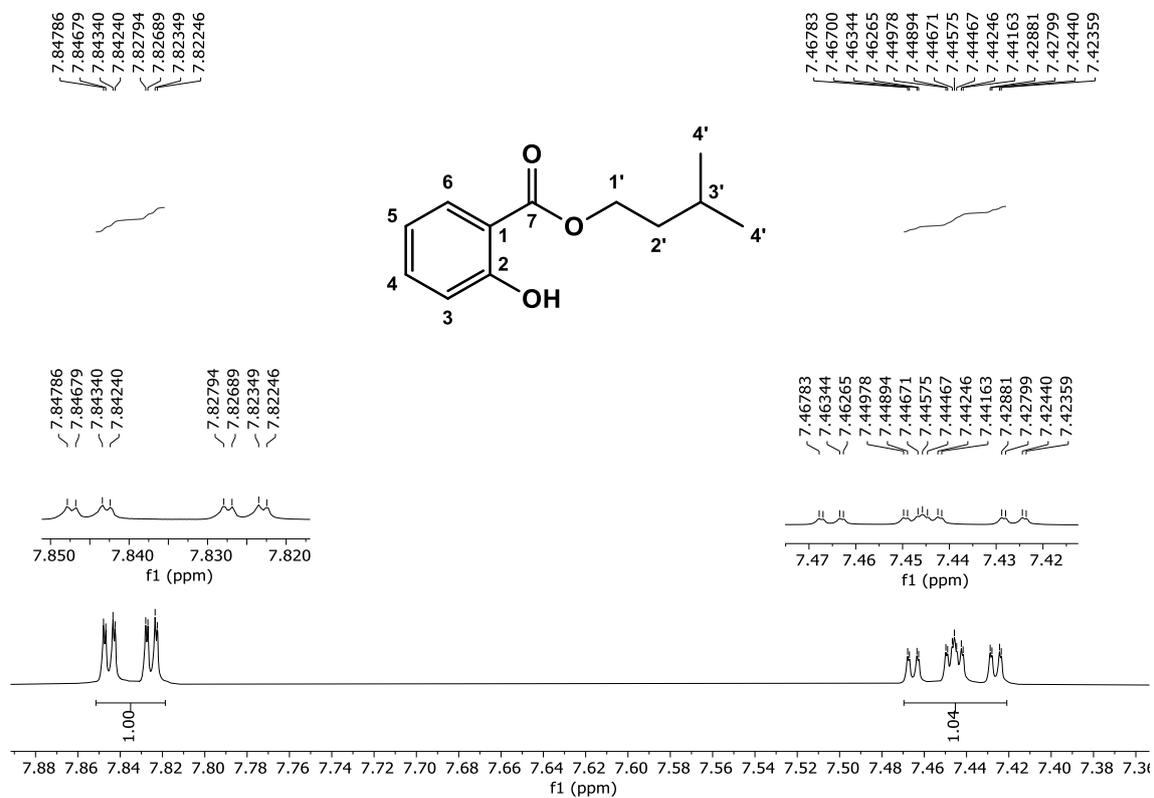
Figura 47. Espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl_3 , 400 MHz).Figura 48. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (6), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 49. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (**6**), (CDCl_3 , 400 MHz).

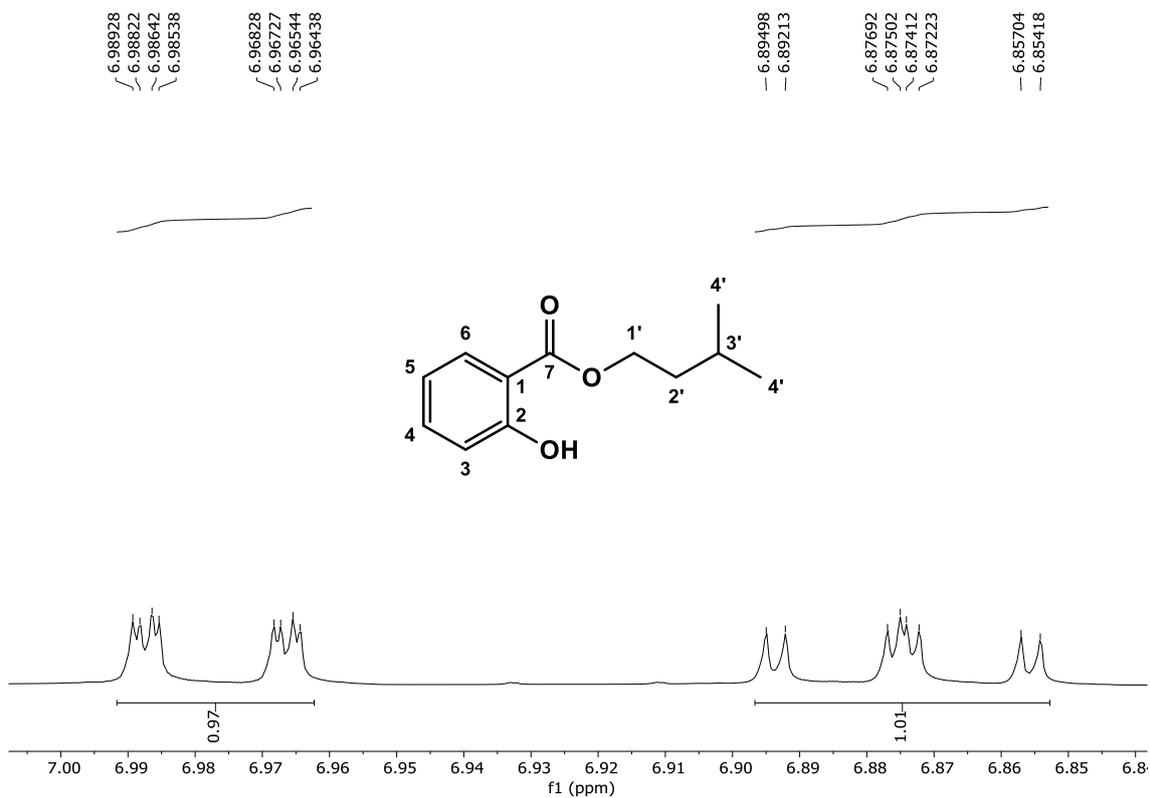


Figura 50. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (**6**), (CDCl_3 , 400 MHz).

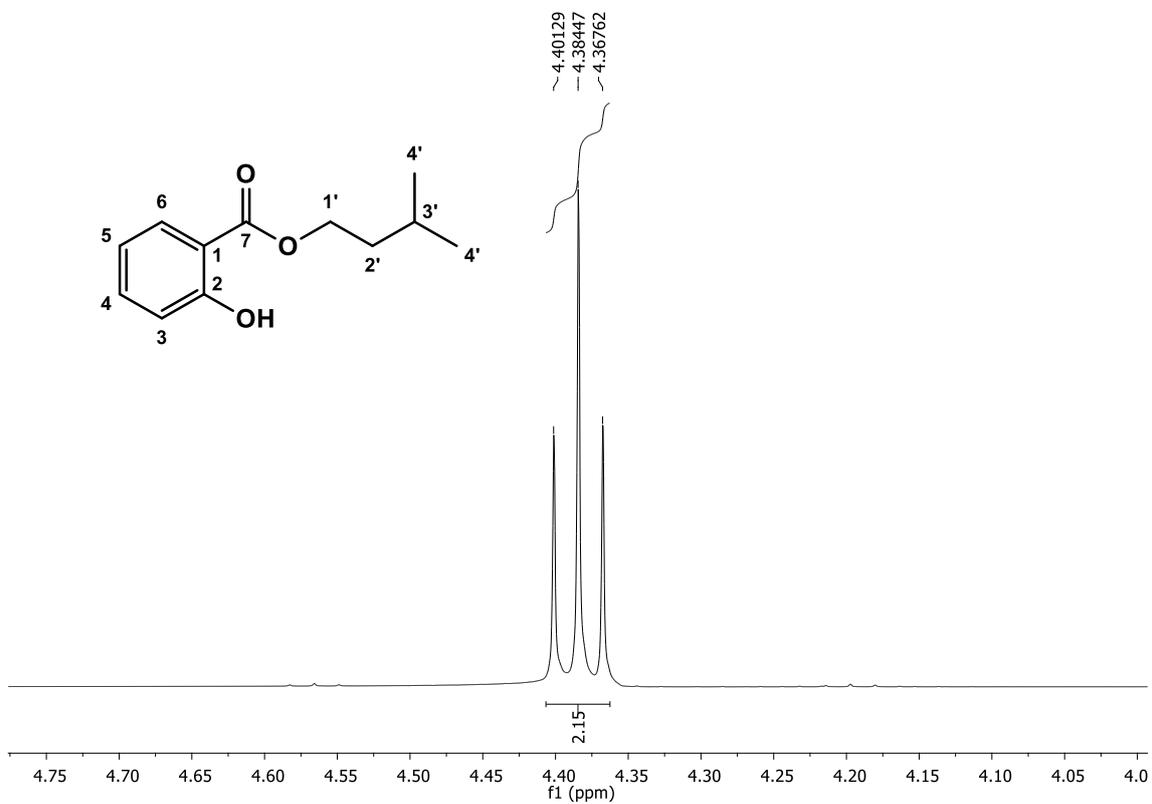


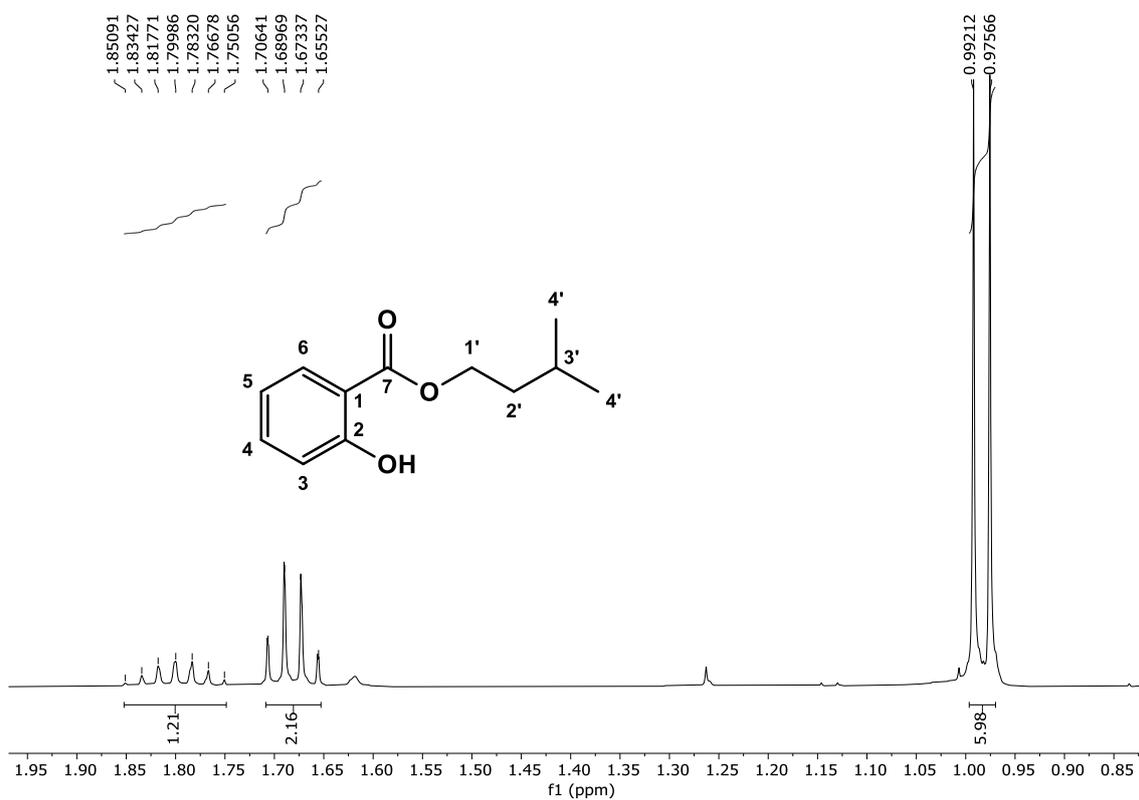
Figura 51. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de isoamila (**6**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 52.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de isoamila (**6**), (CDCl_3 , 100 MHz).

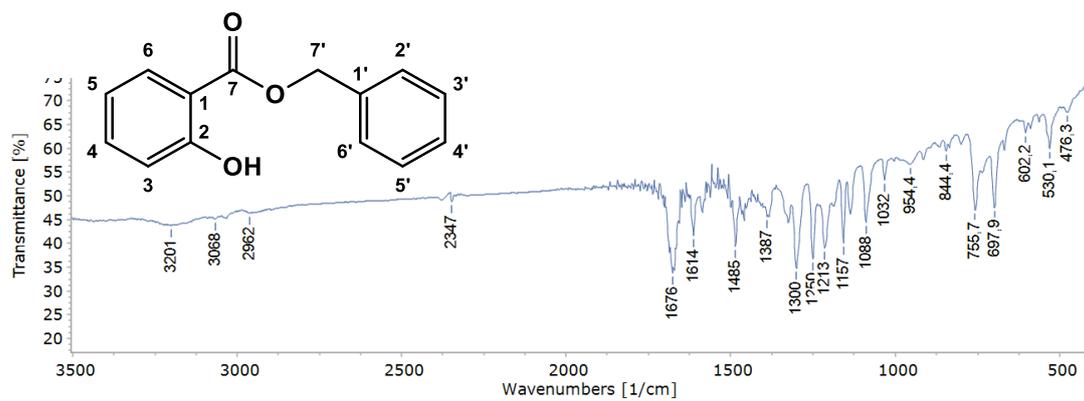
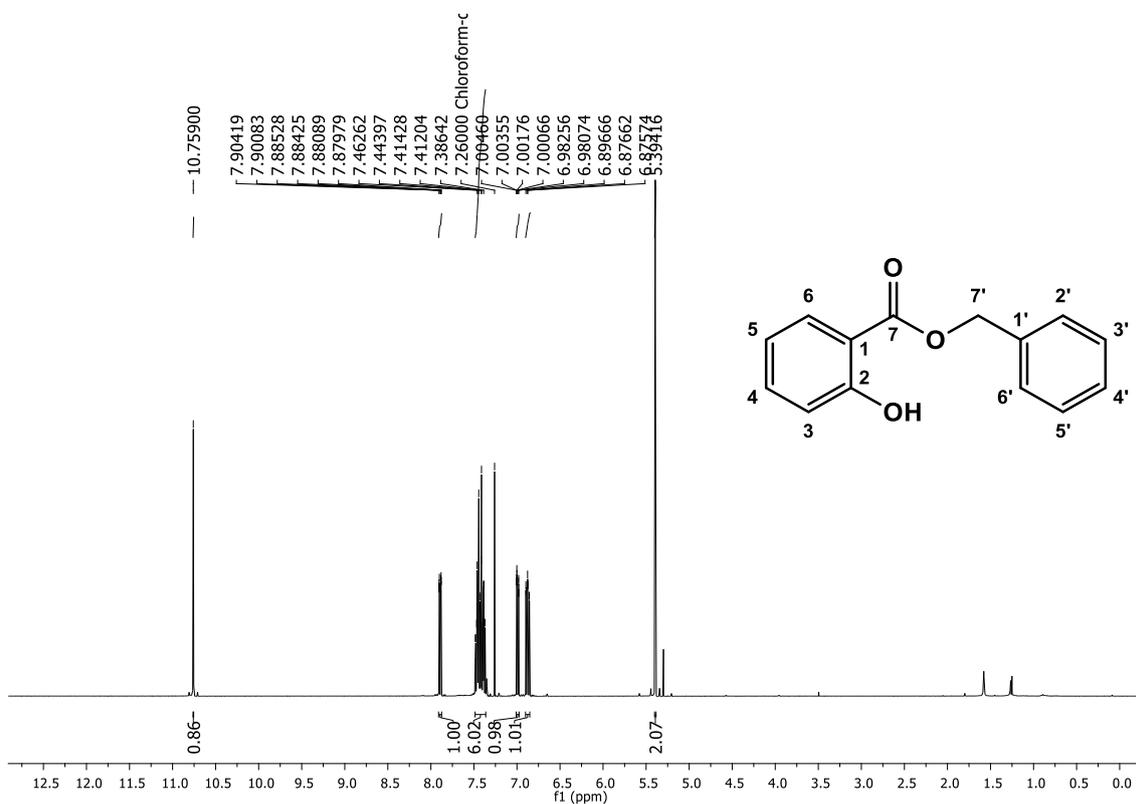
Figura 53. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de benzila (7).Figura 54. Espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (7), (CDCl_3 , 400 MHz).

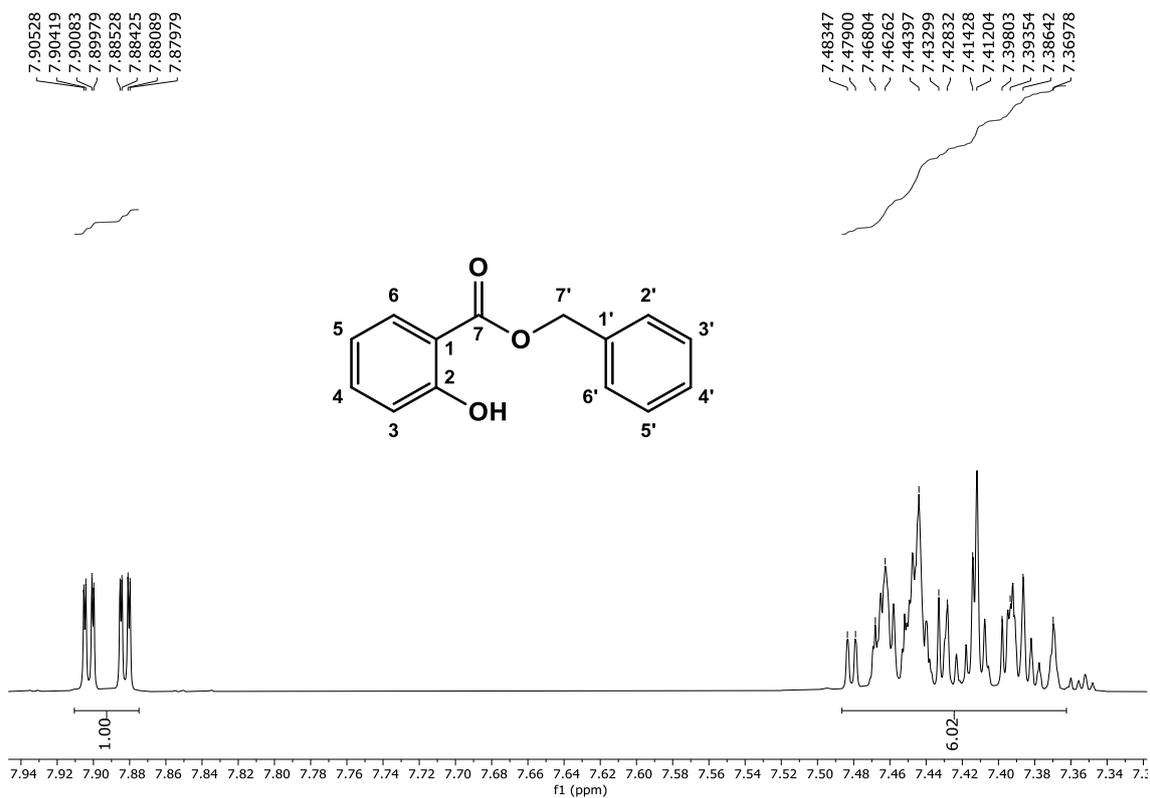
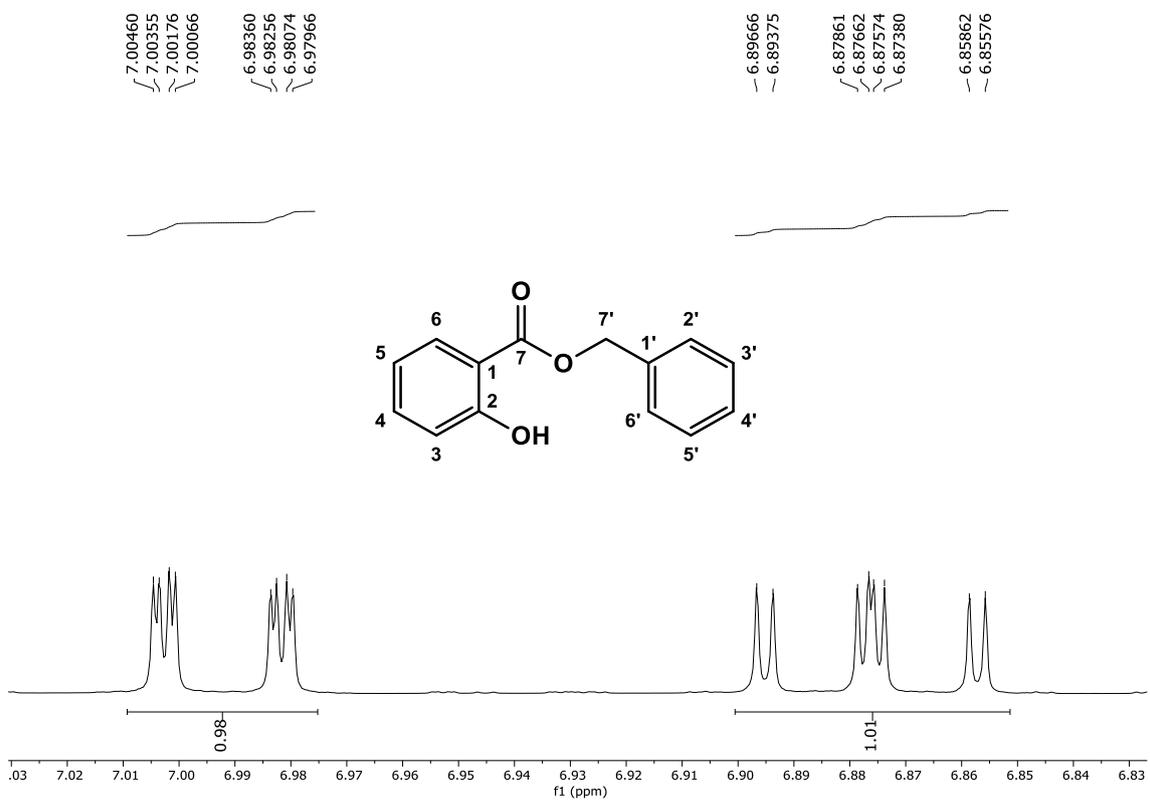
Figura 55. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (**7**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 56.** Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (**7**), (CDCl_3 , 400 MHz).

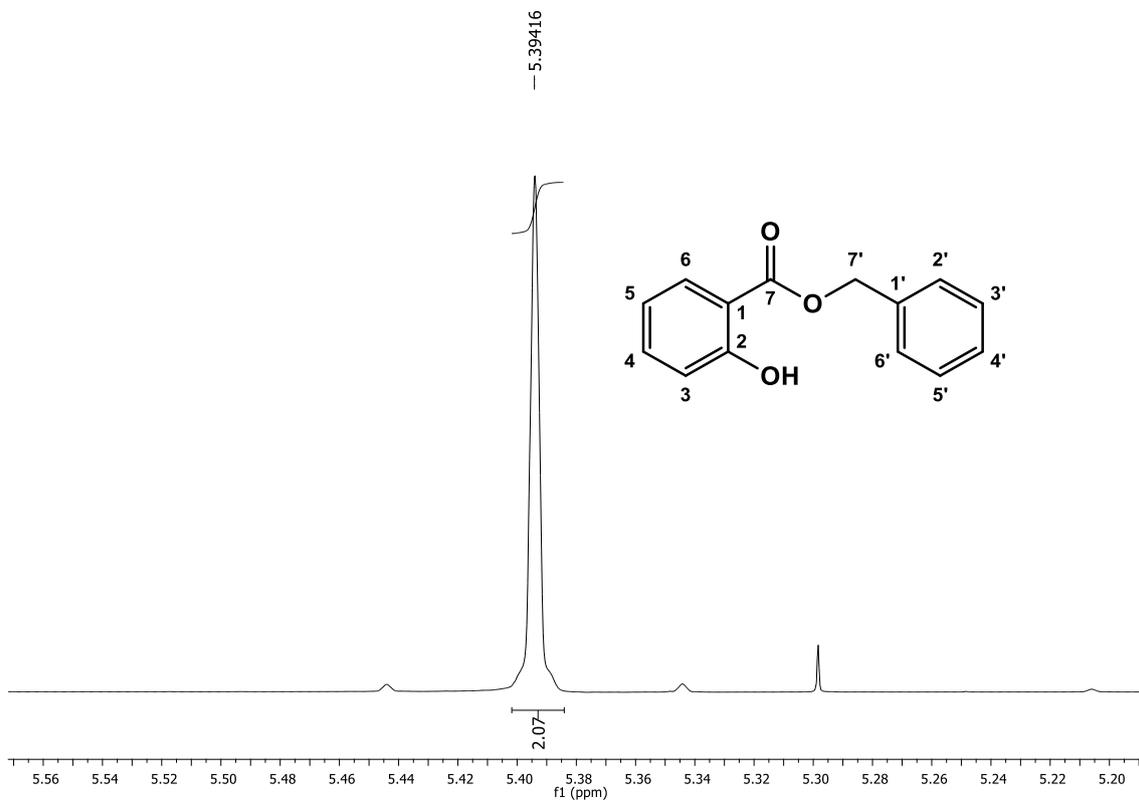
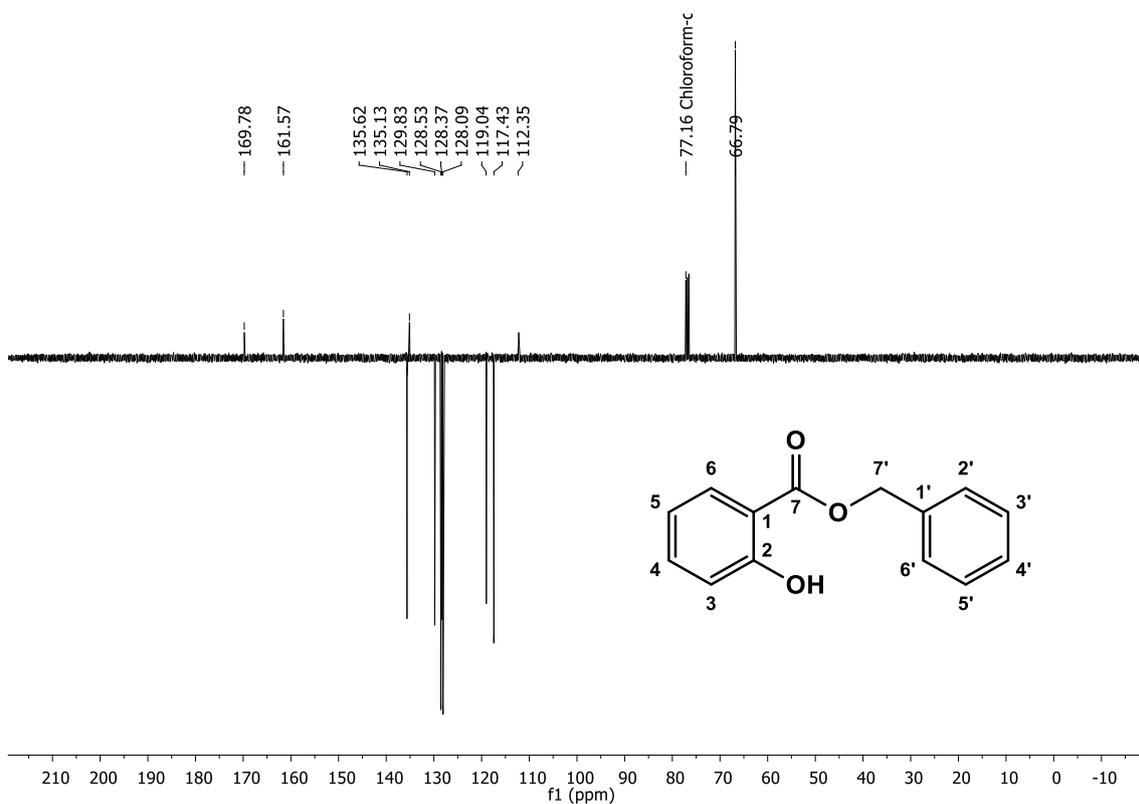
Figura 57. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de benzila (**7**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 58.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de benzila (**7**), (CDCl_3 , 100 MHz).

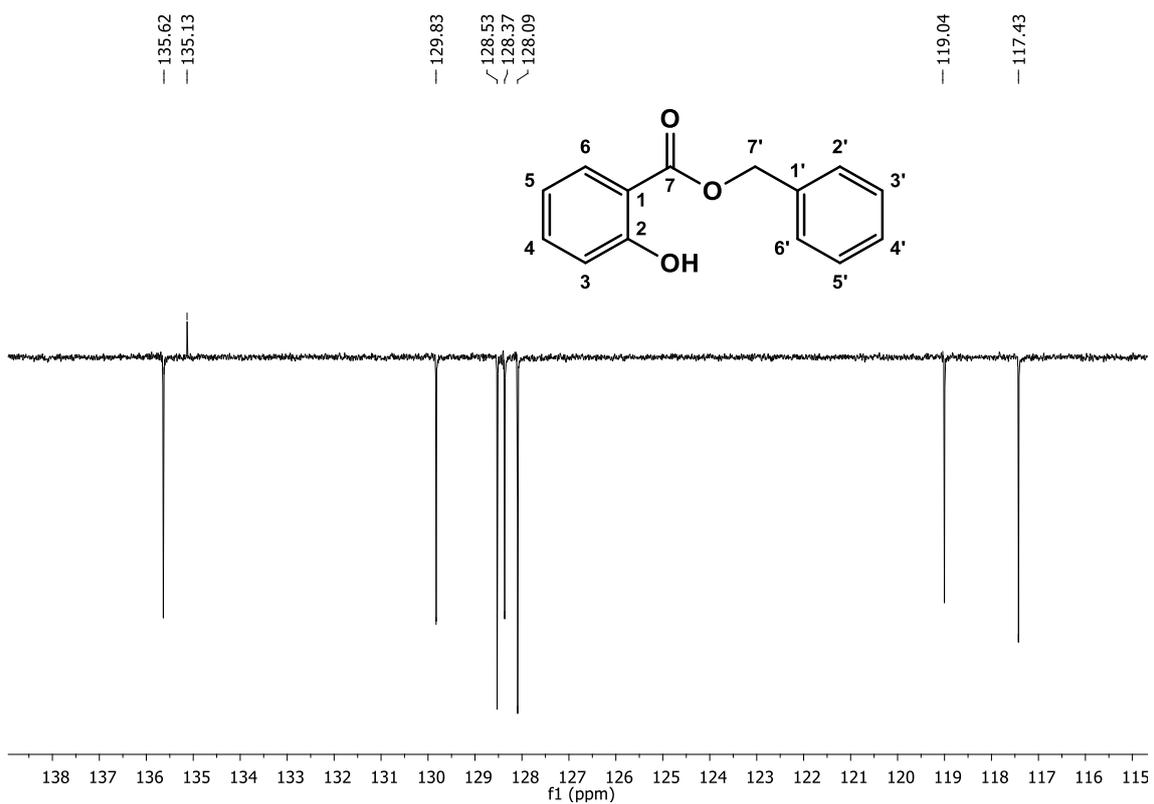
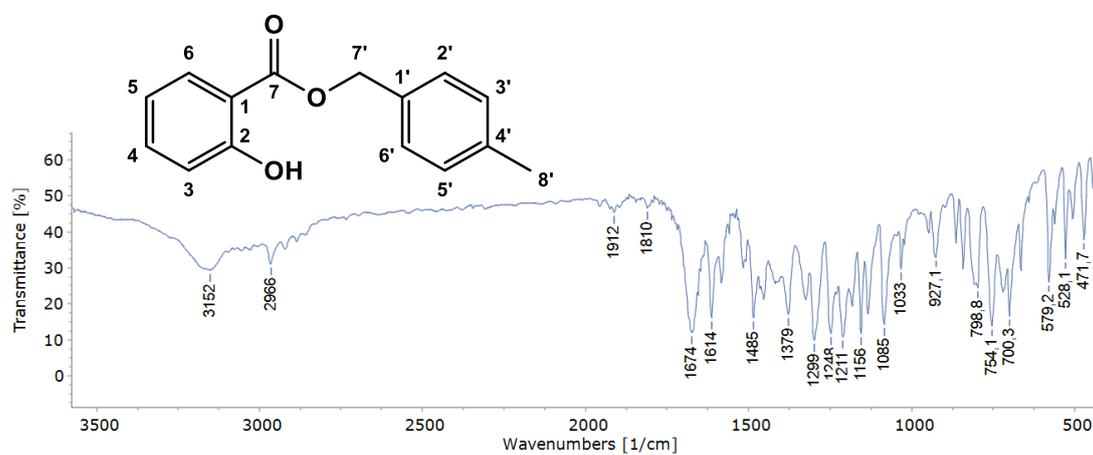
Figura 59. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de benzila (**7**), (CDCl_3 , 100 MHz).**Figura 60.** Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de salicilato de 4-metilbenzila (**8**).

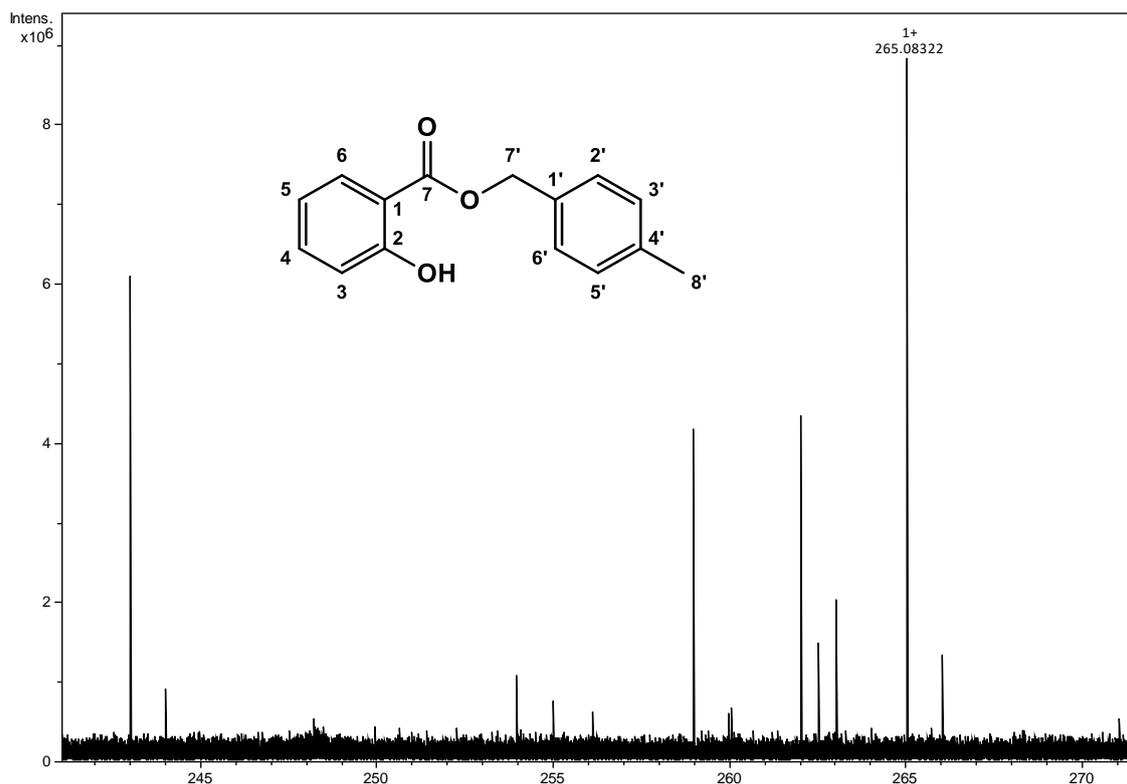
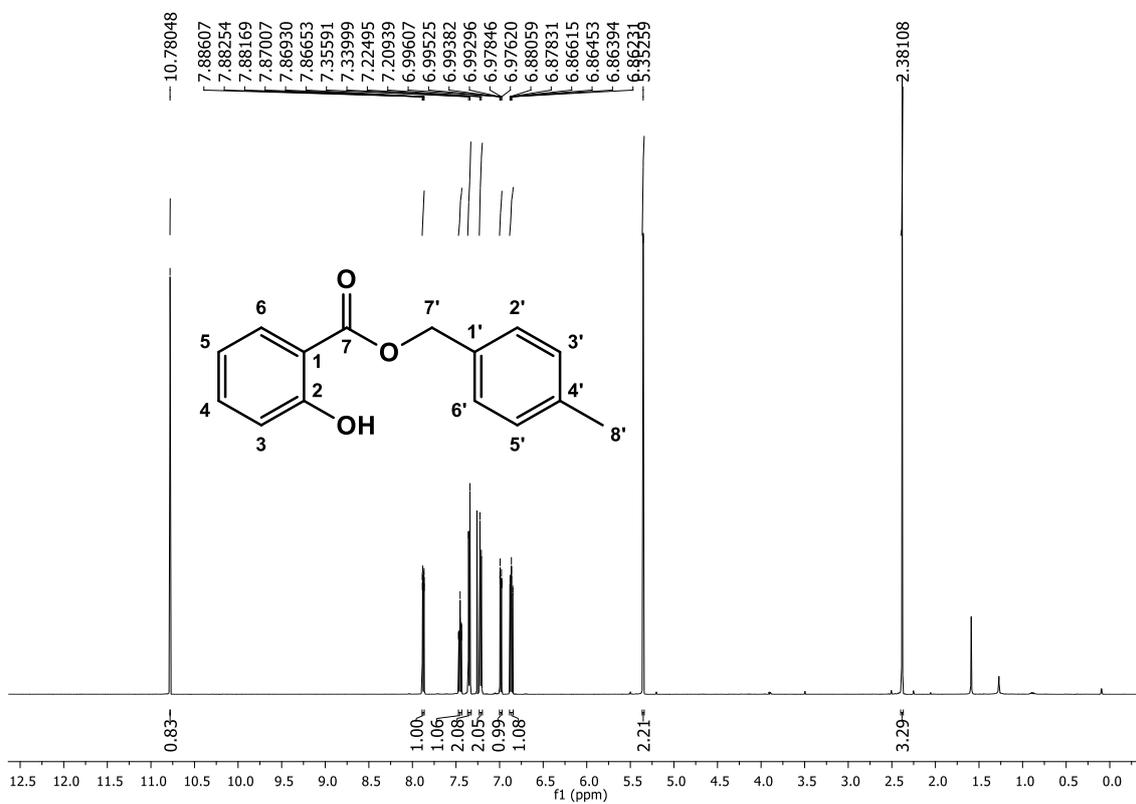
Figura 61. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI do salicilato de 4-metilbenzila (**8**).**Figura 62.** Espectro de RMN ¹H de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl₃, 500 MHz).

Figura 63. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl_3 , 500 MHz).

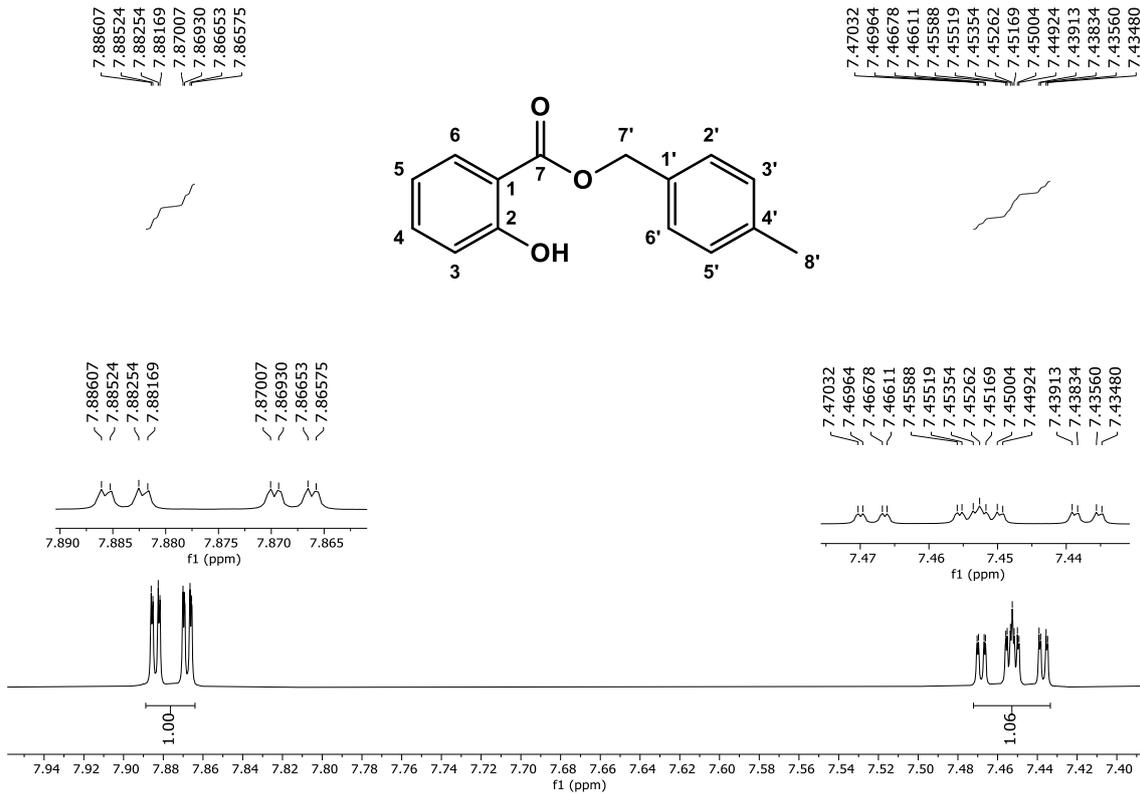


Figura 64. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl_3 , 500 MHz).

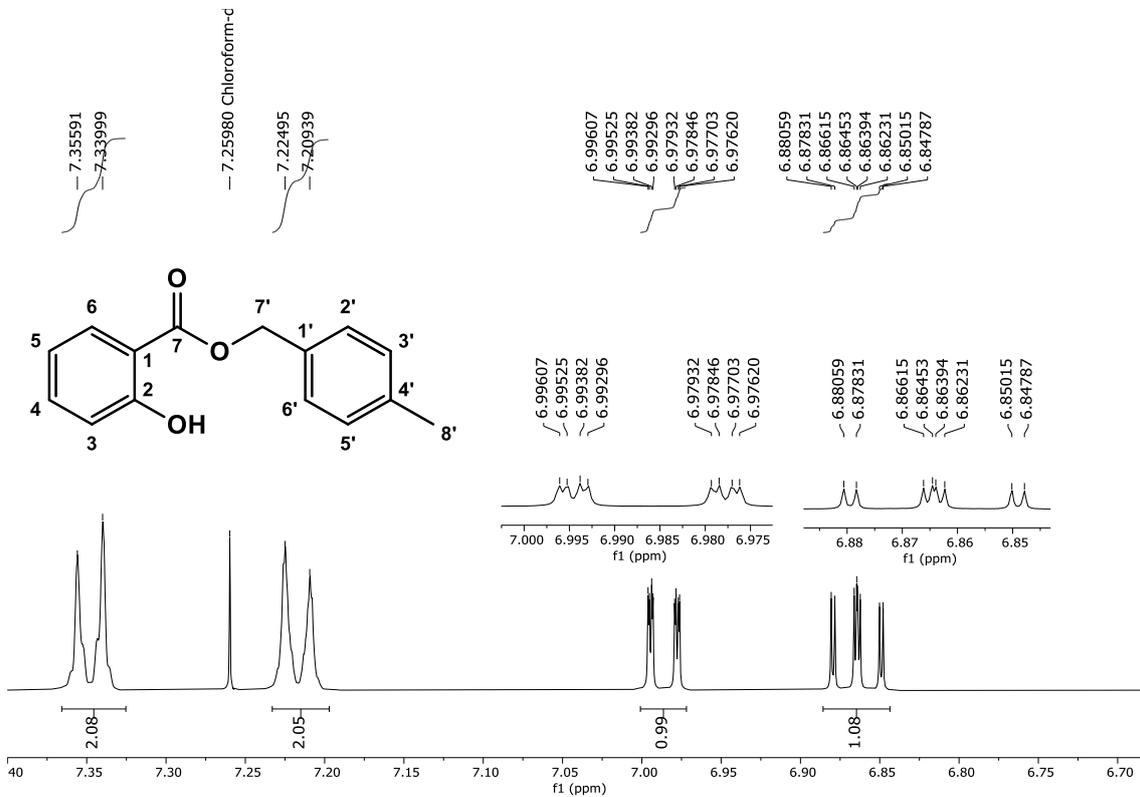


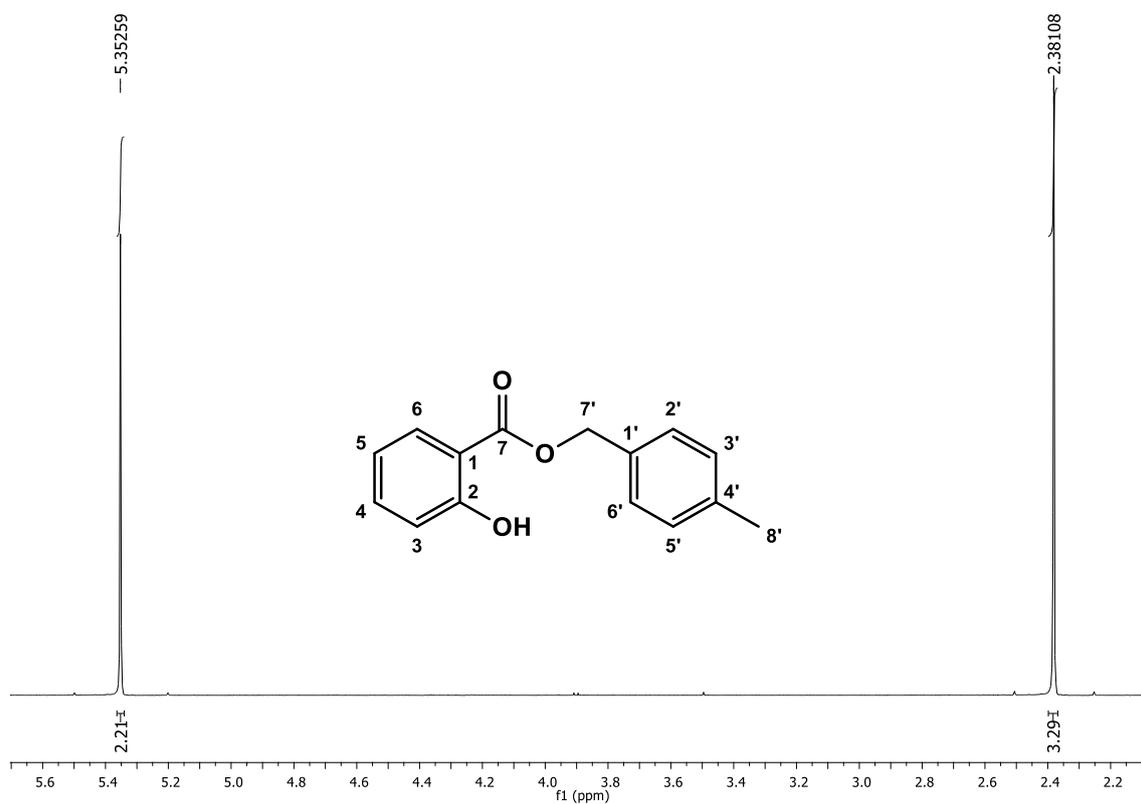
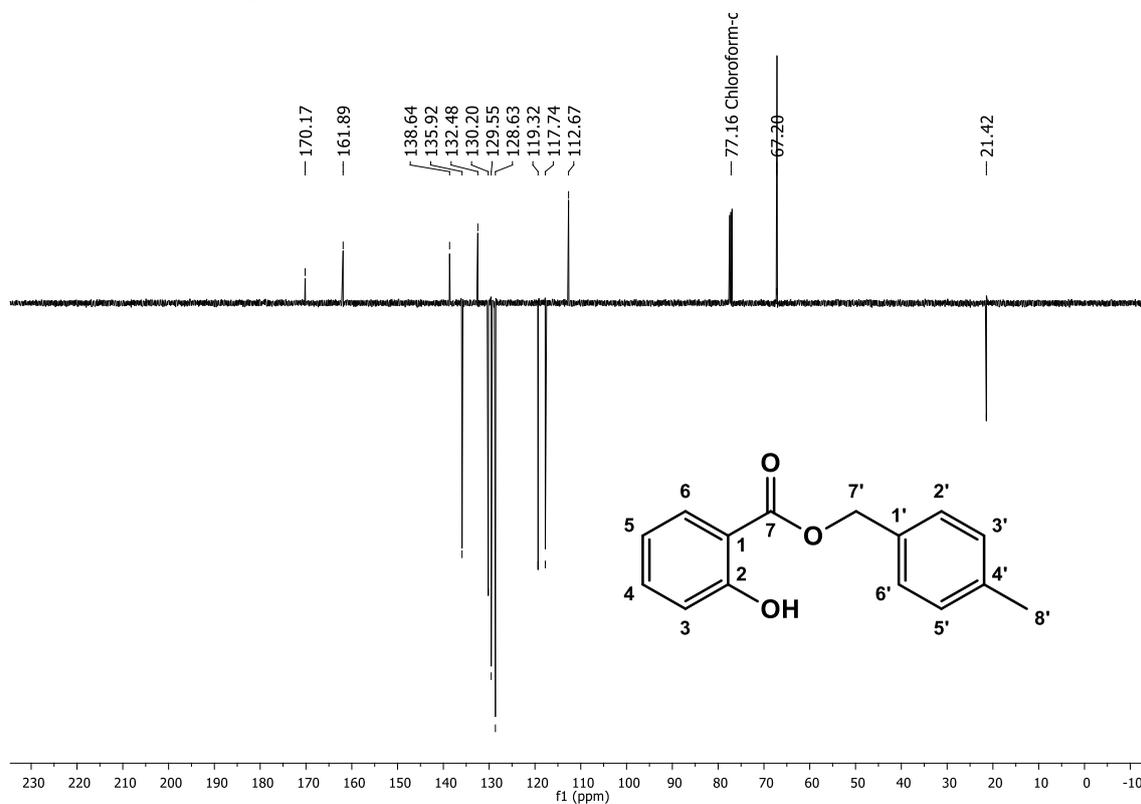
Figura 65. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 66.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl_3 , 125 MHz).

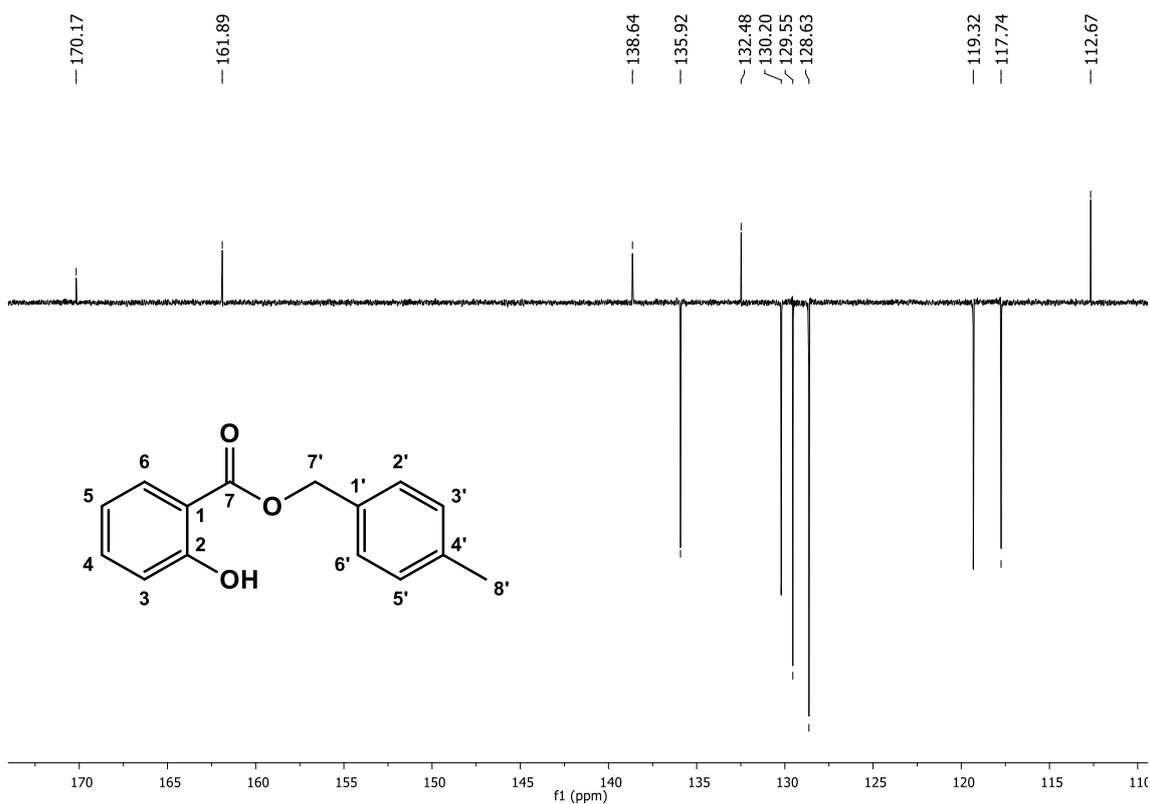
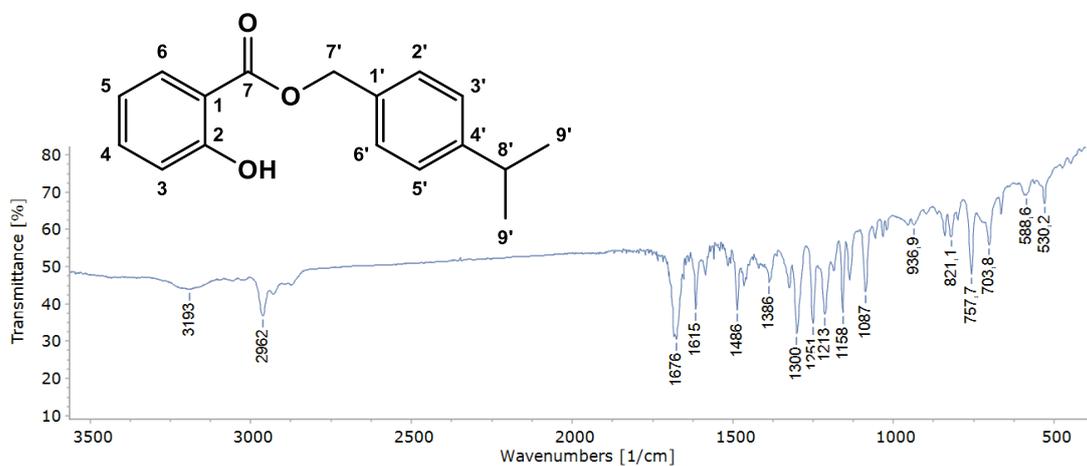
Figura 67. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metilbenzila (**8**), (CDCl_3 , 125 MHz).**Figura 68.** Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**).

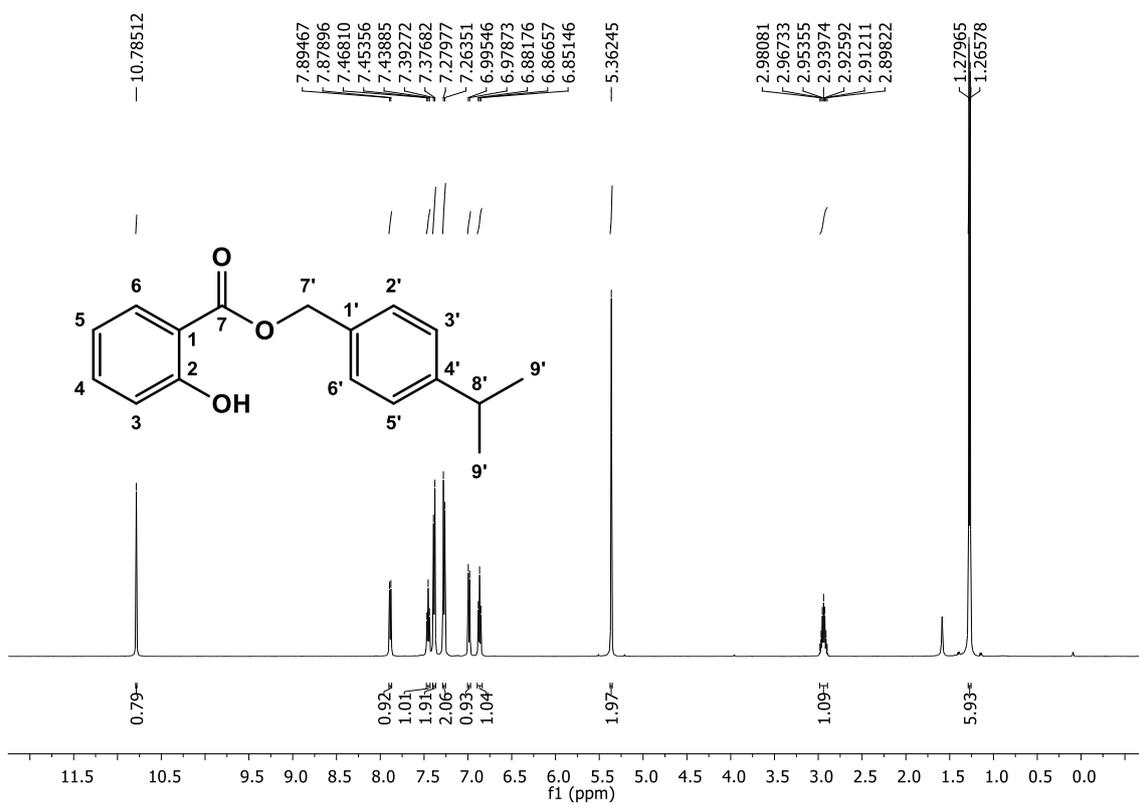
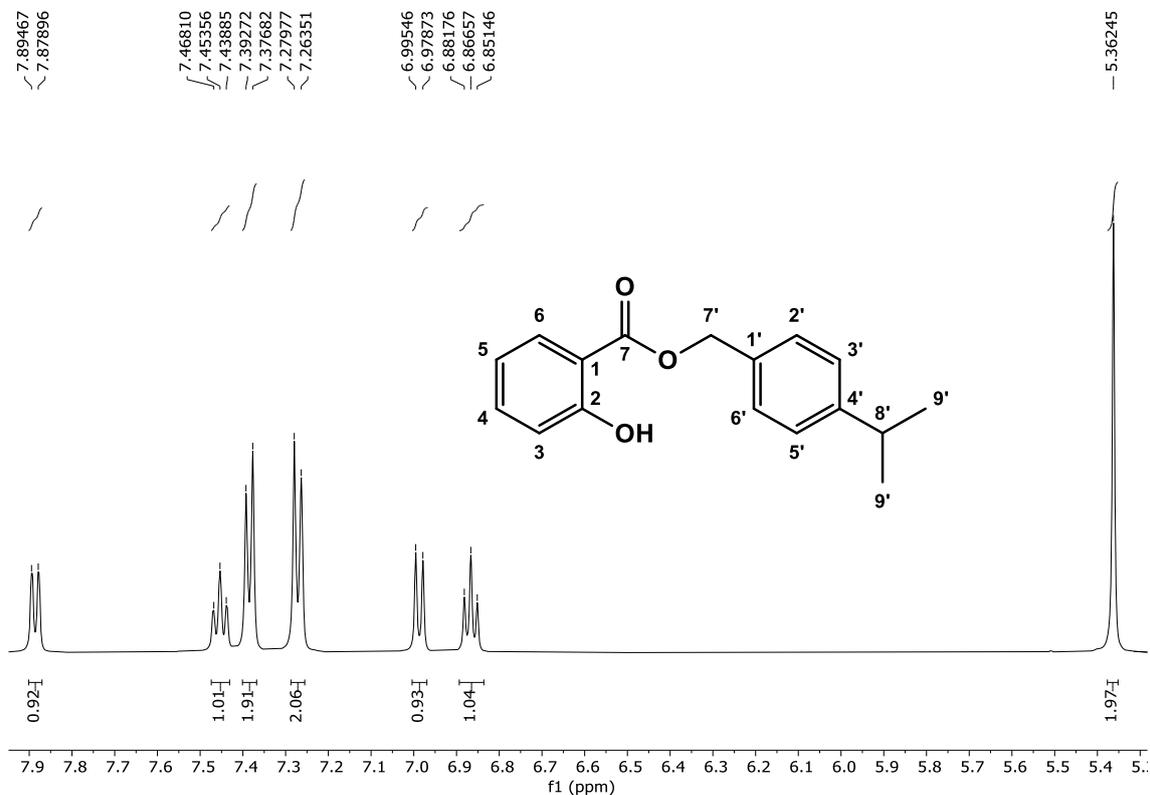
Figura 69. Espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 70.** Expansão de espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**), (CDCl_3 , 500 MHz).

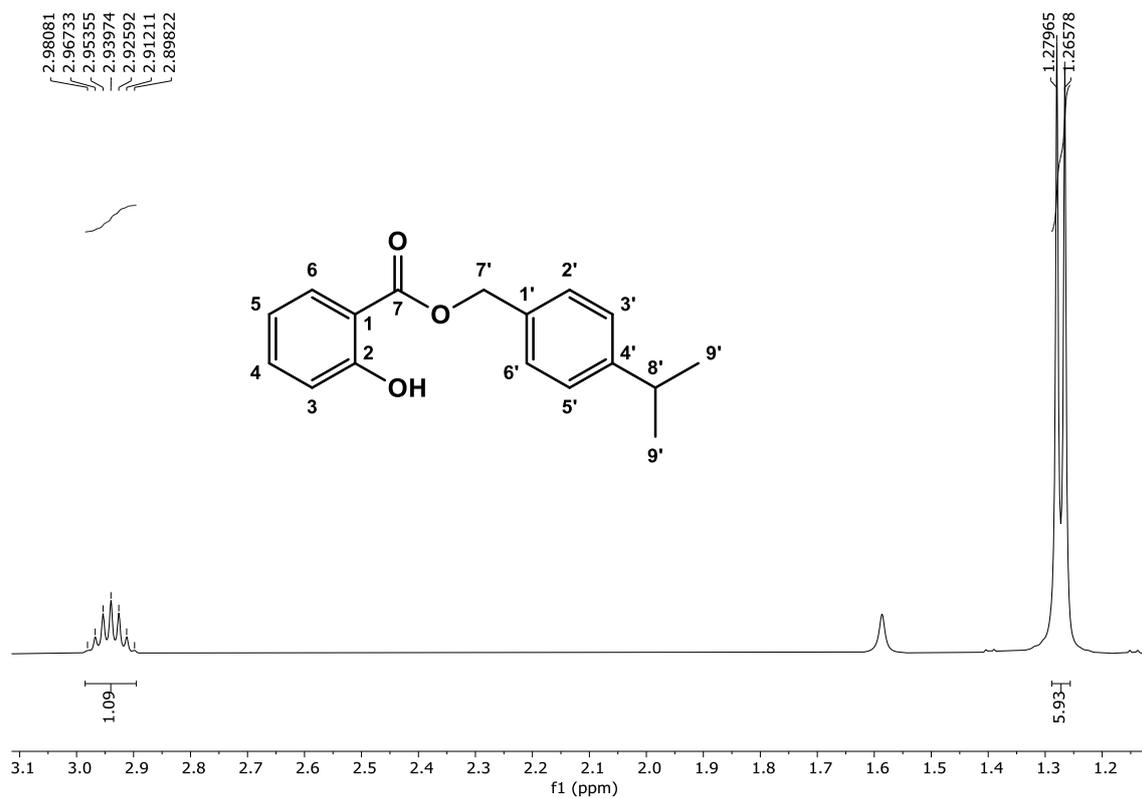
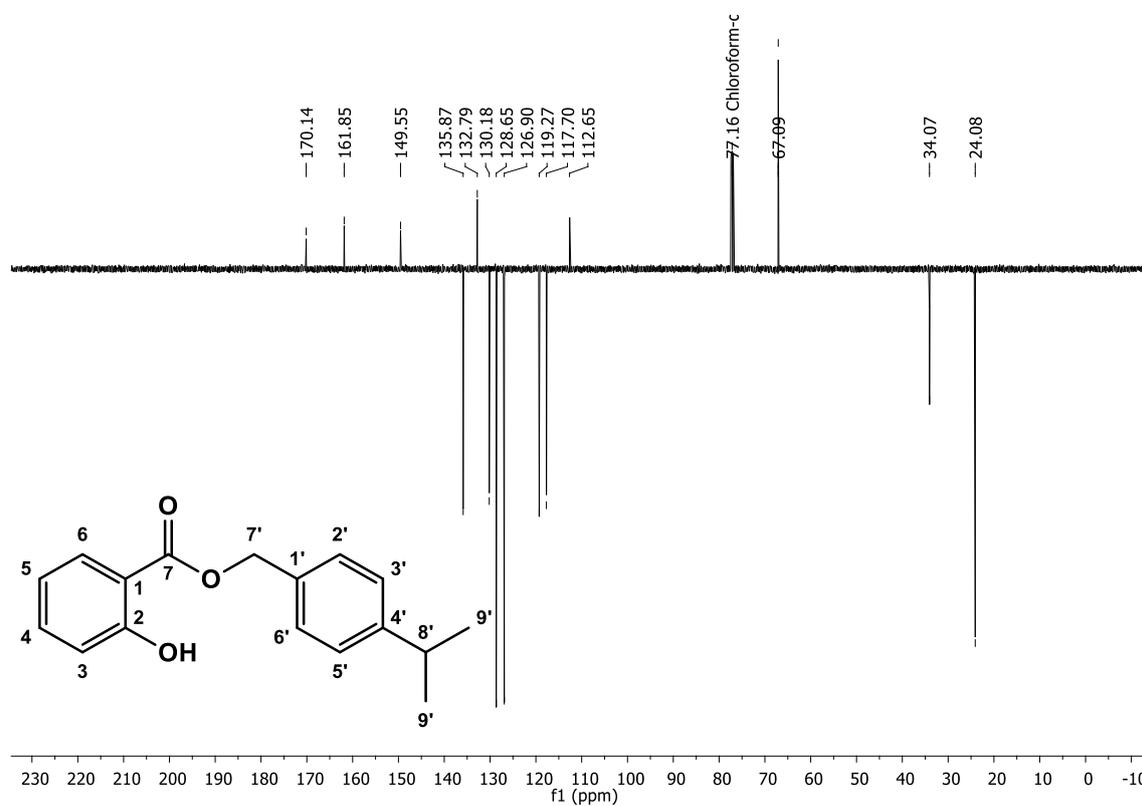
Figura 71. Expansão de espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 72.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**), (CDCl_3 , 125 MHz).

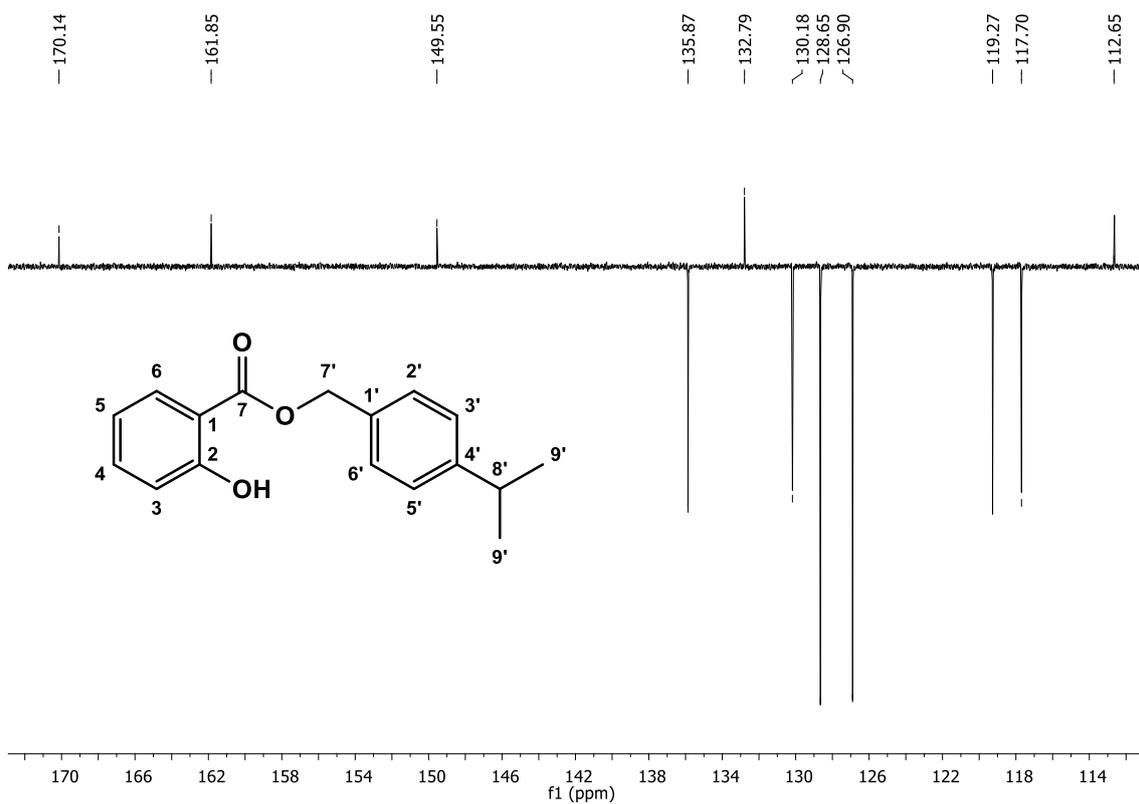
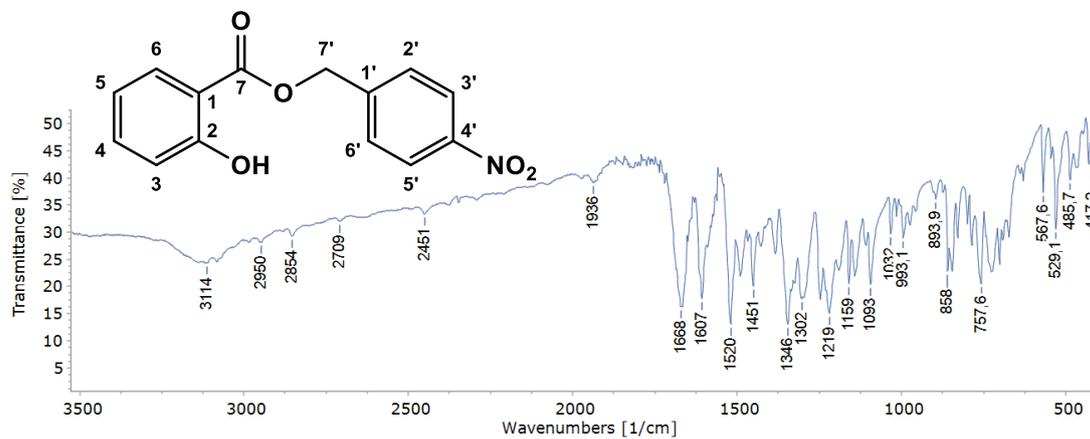
Figura 73. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-isopropilbenzila (**9**), (CDCl_3 , 125 MHz).**Figura 74.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de 4-nitrobenzila (**10**).

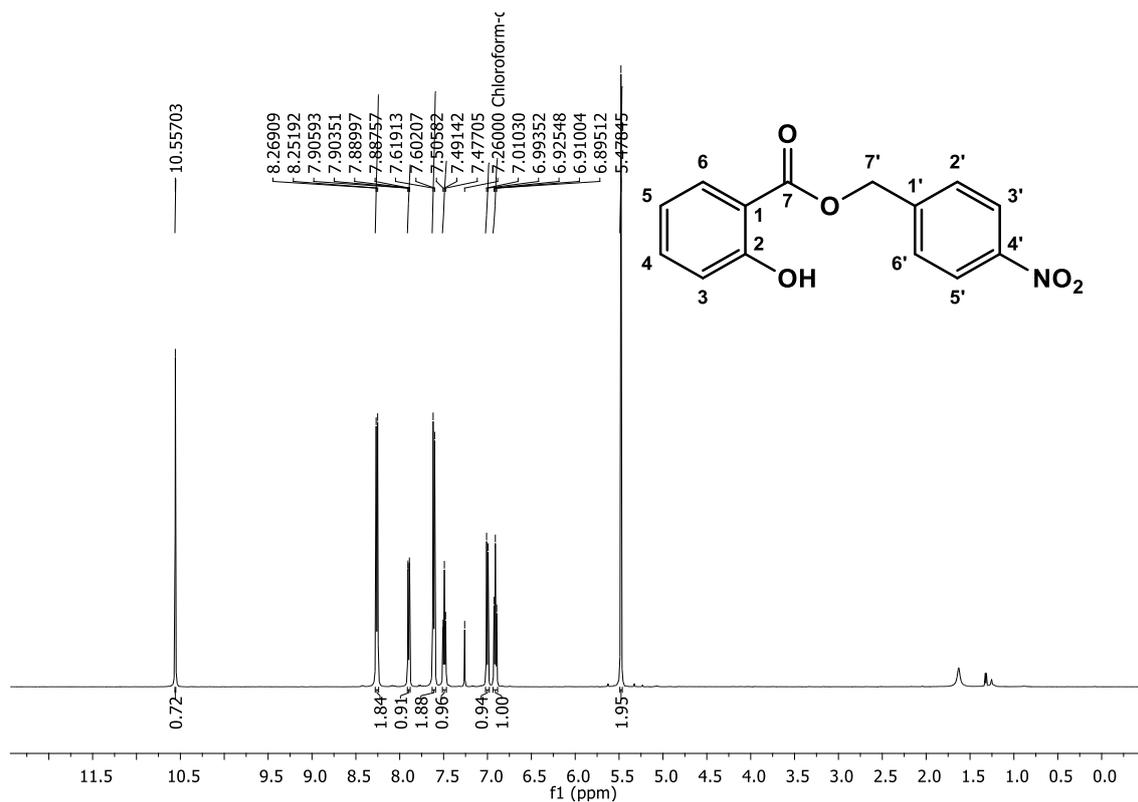
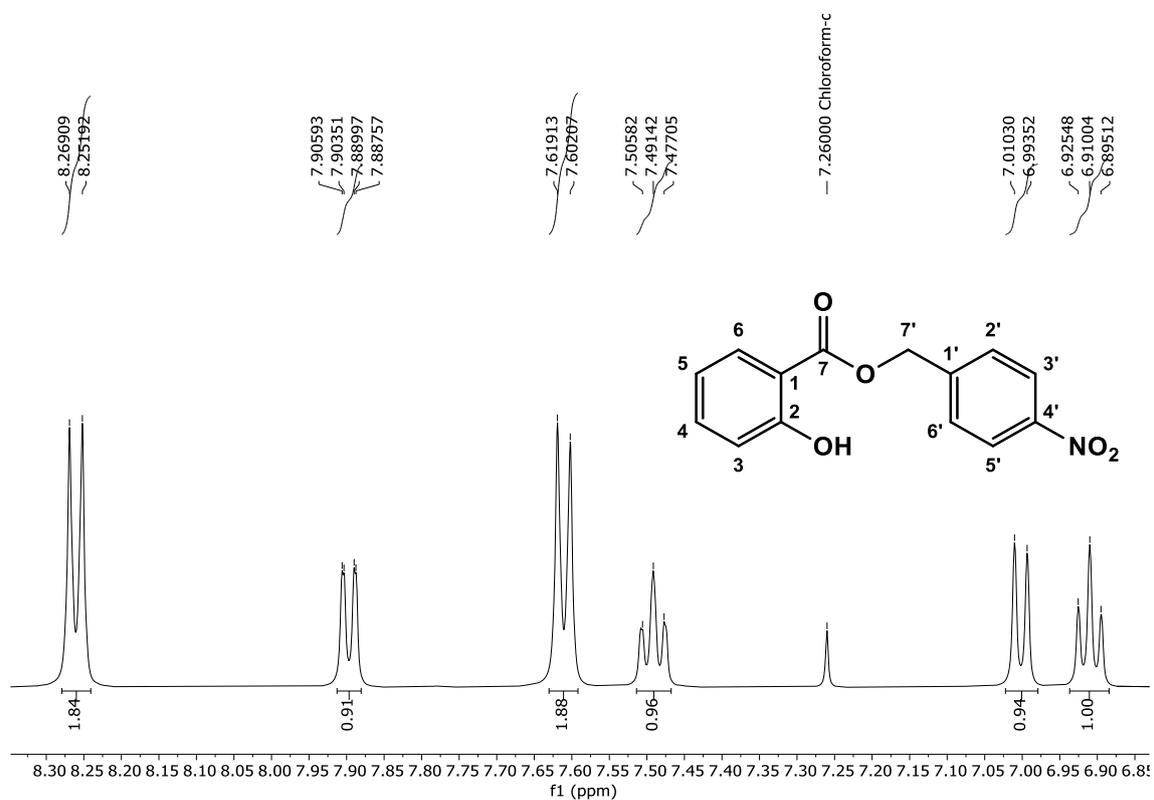
Figura 75. Espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-nitrobenzila (**10**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 76.** Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-nitrobenzila (**10**), (CDCl_3 , 500 MHz).

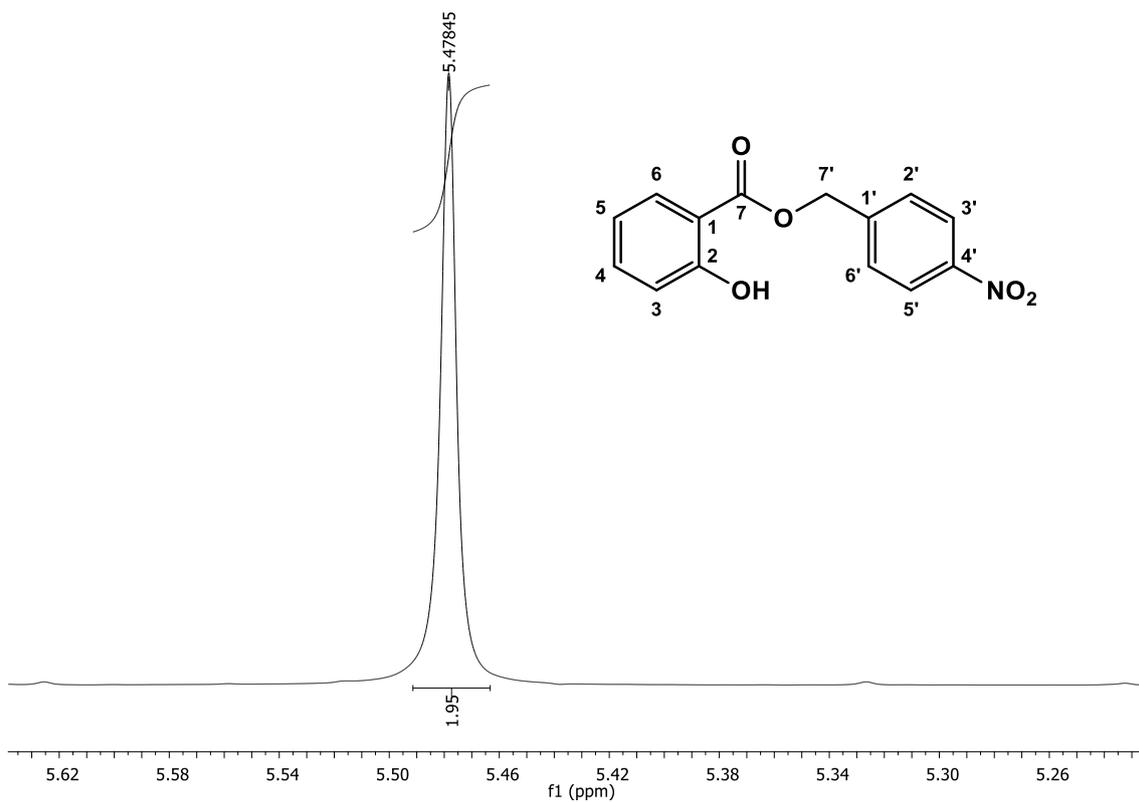
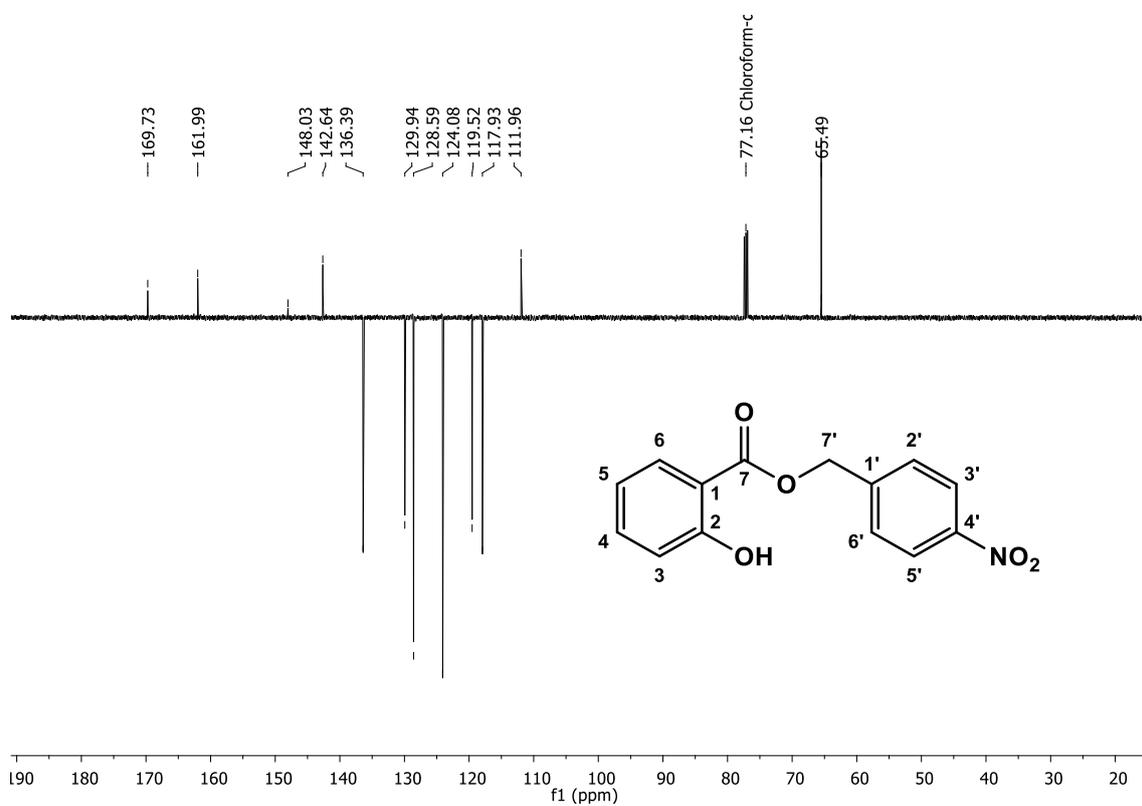
Figura 77. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-nitrobenzila (**10**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 78.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-nitrobenzila (**10**), (CDCl_3 , 125 MHz).

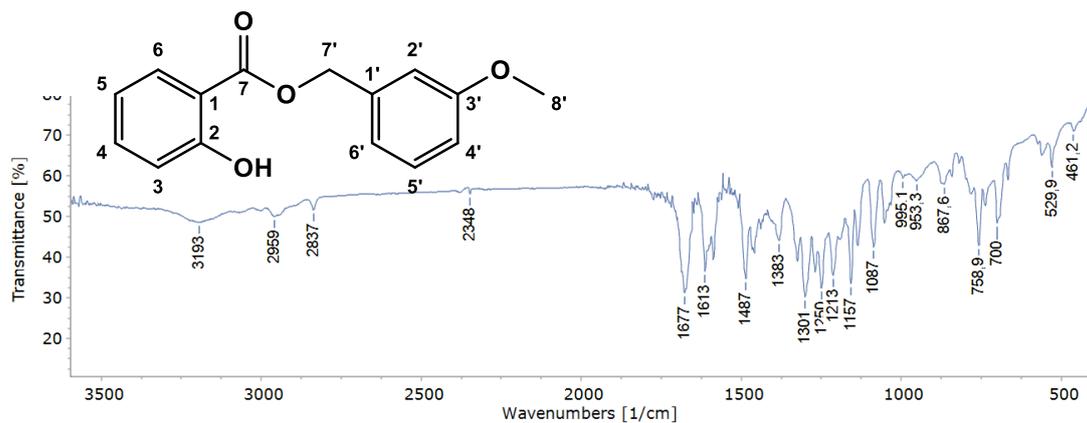
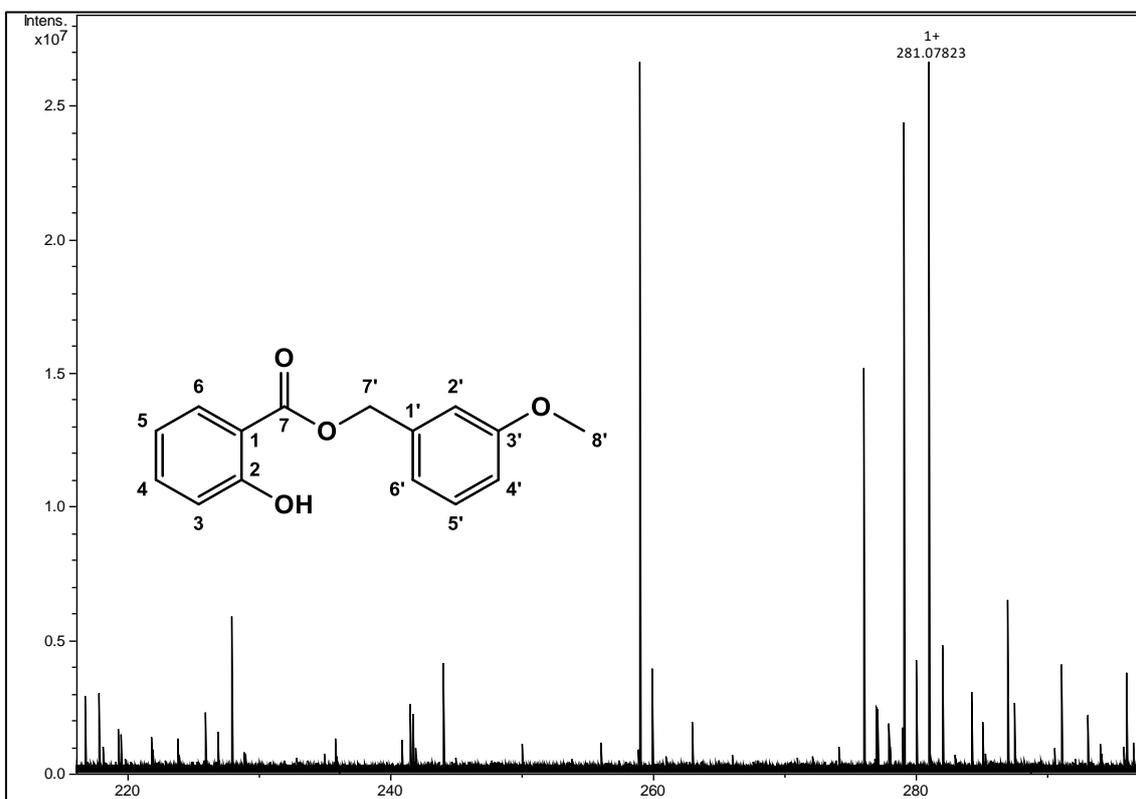
Figura 79. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**).**Figura 80.** Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**).

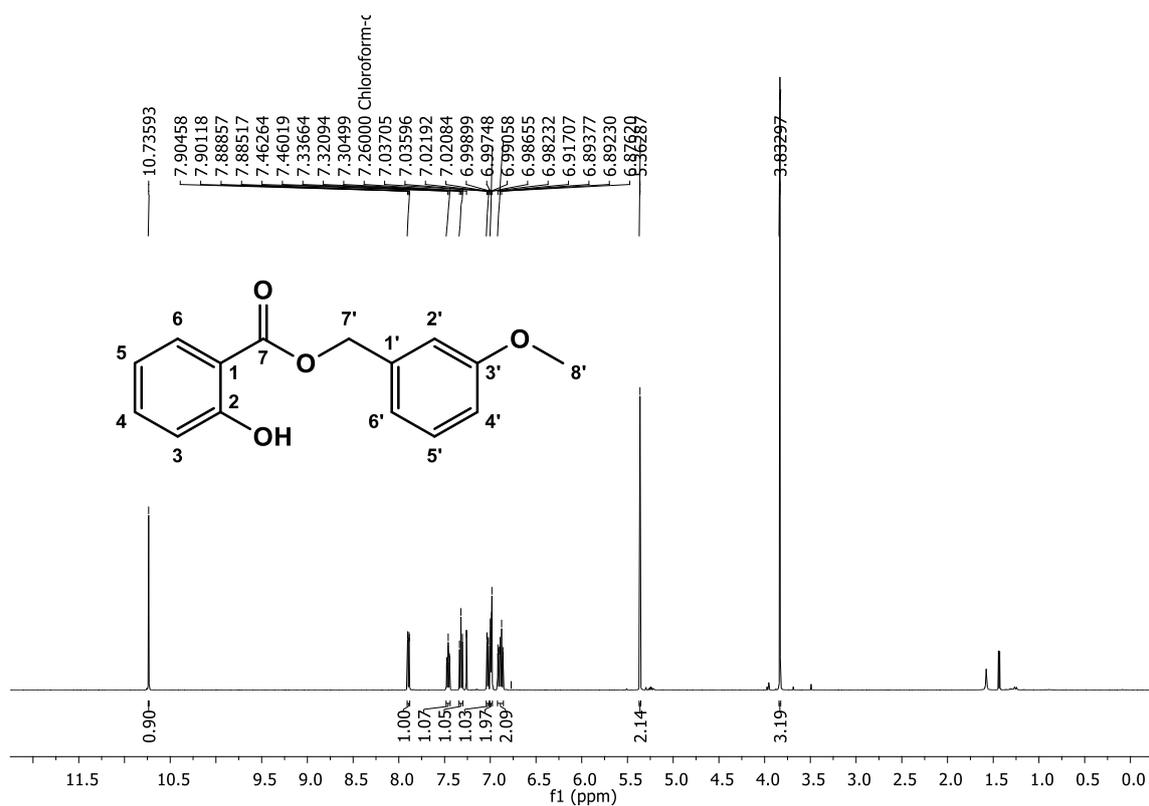
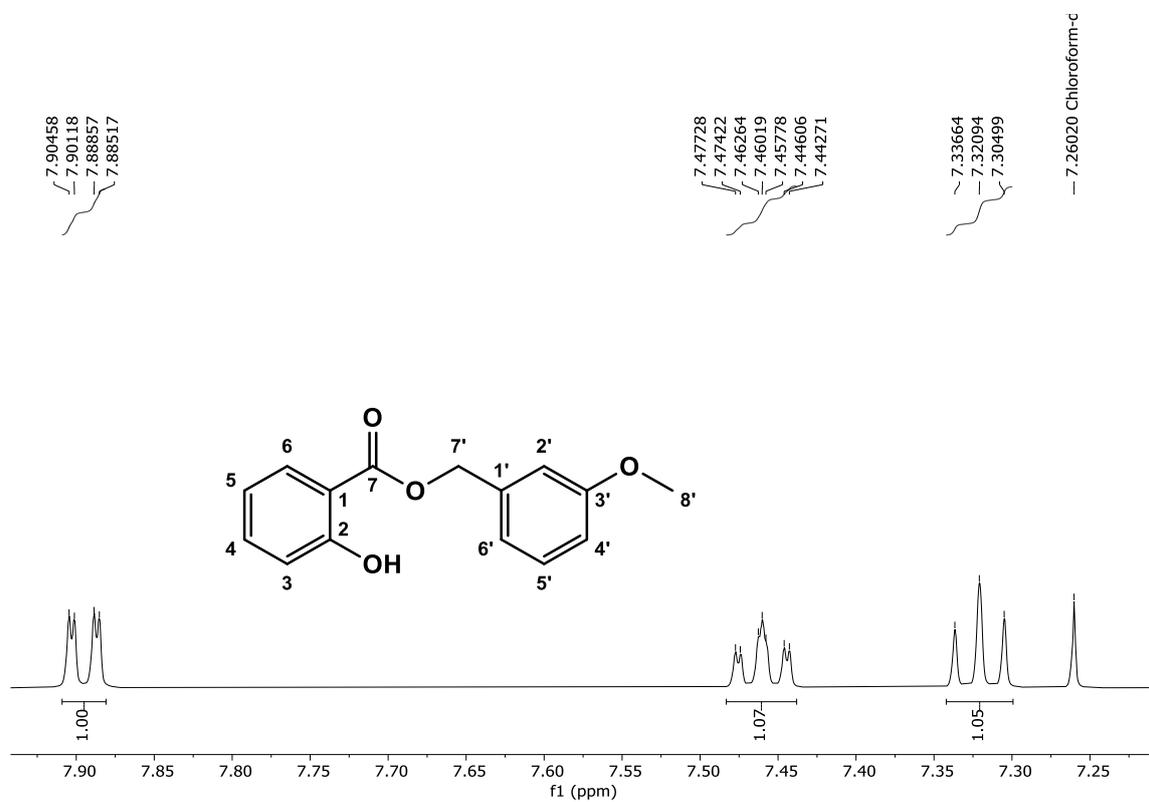
Figura 81. Espectro de RMN ^1H de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (500 MHz, CDCl_3).**Figura 82.** Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (500 MHz, CDCl_3).

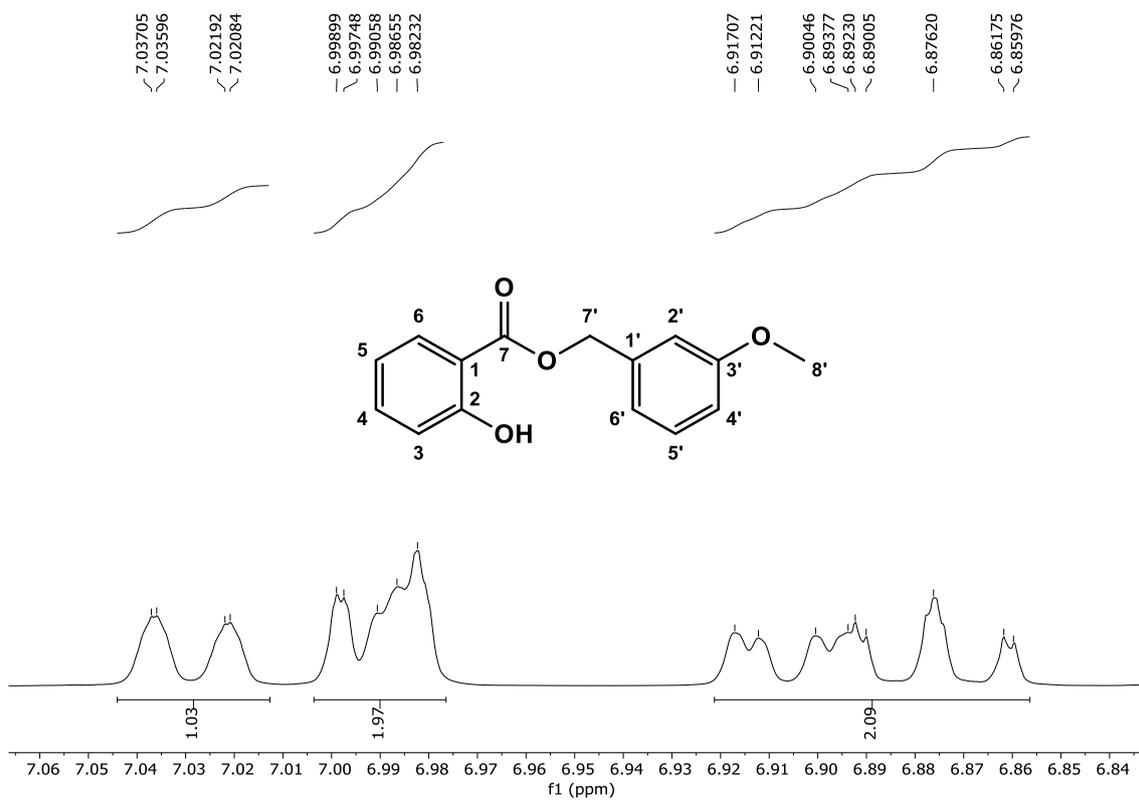
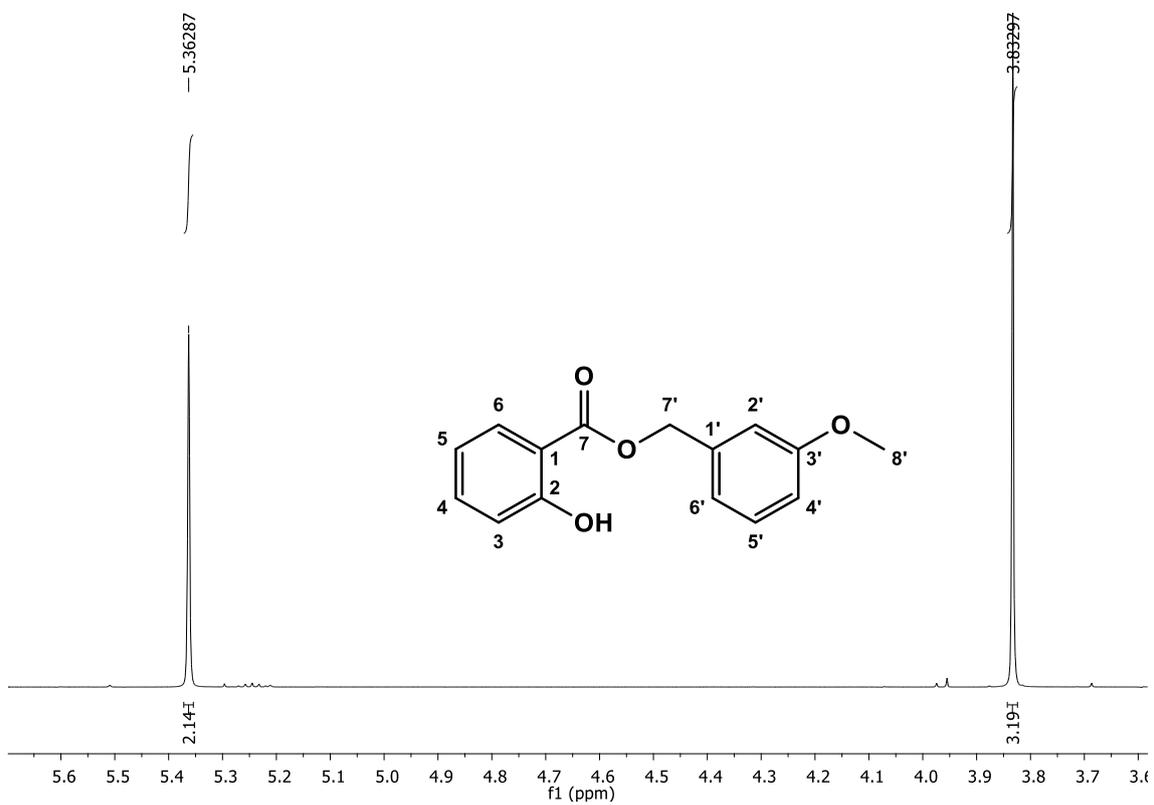
Figura 83. Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (500 MHz, CDCl_3).**Figura 84.** Expansão do espectro de RMN ^1H de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (500 MHz, CDCl_3).

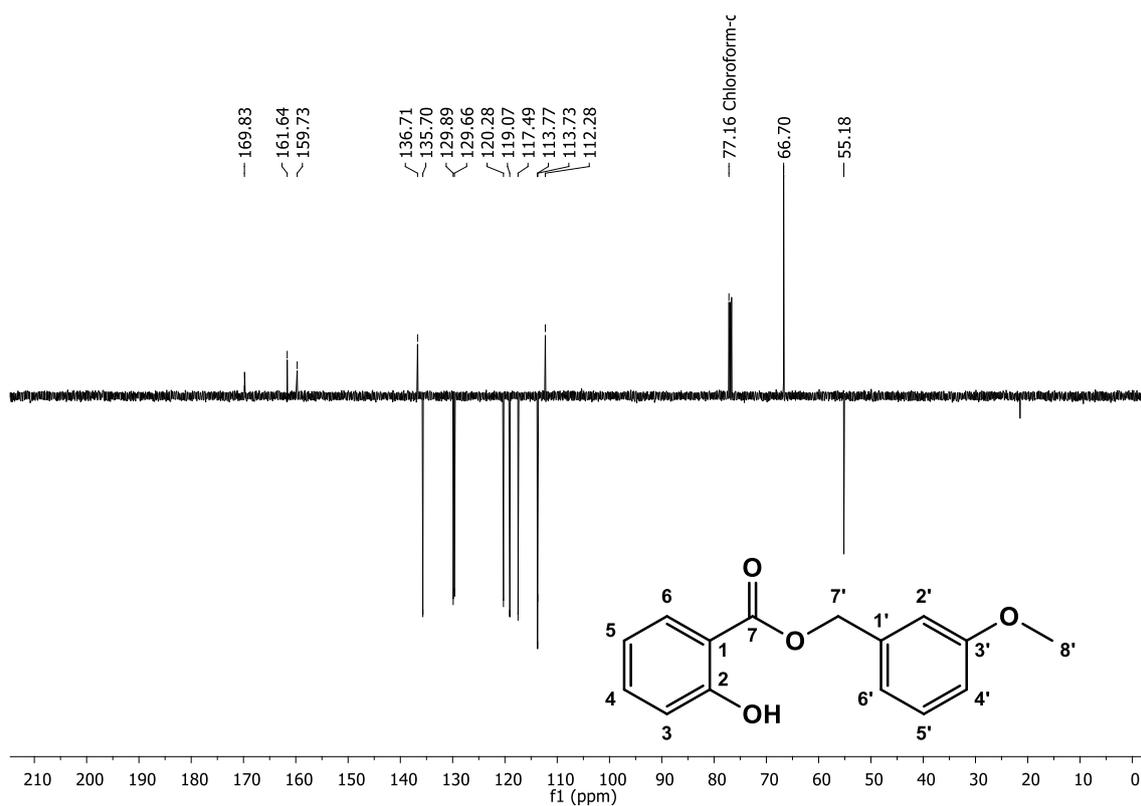
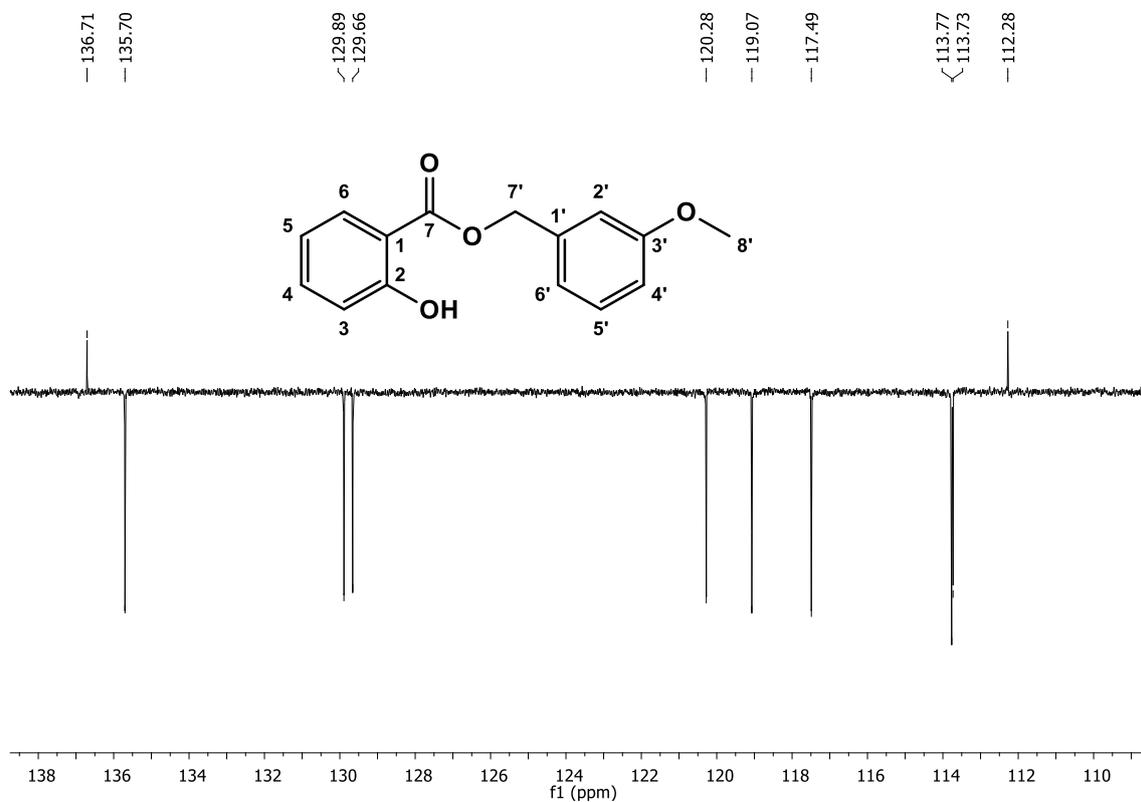
Figura 85. Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (125 MHz, CDCl_3).**Figura 86.** Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 3-metoxibenzila (**11**), (125 MHz, CDCl_3).

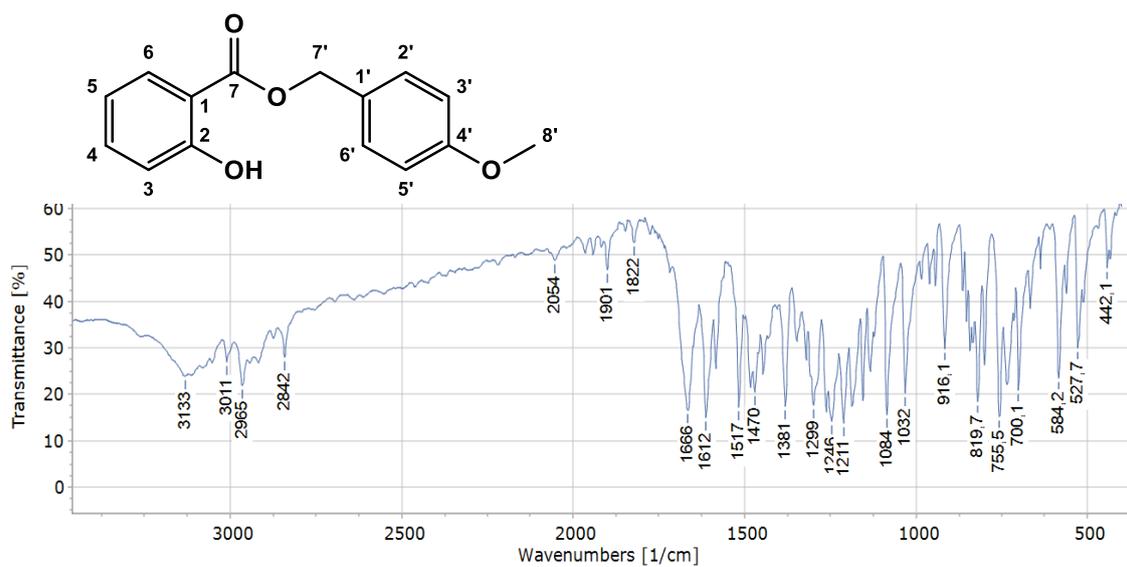
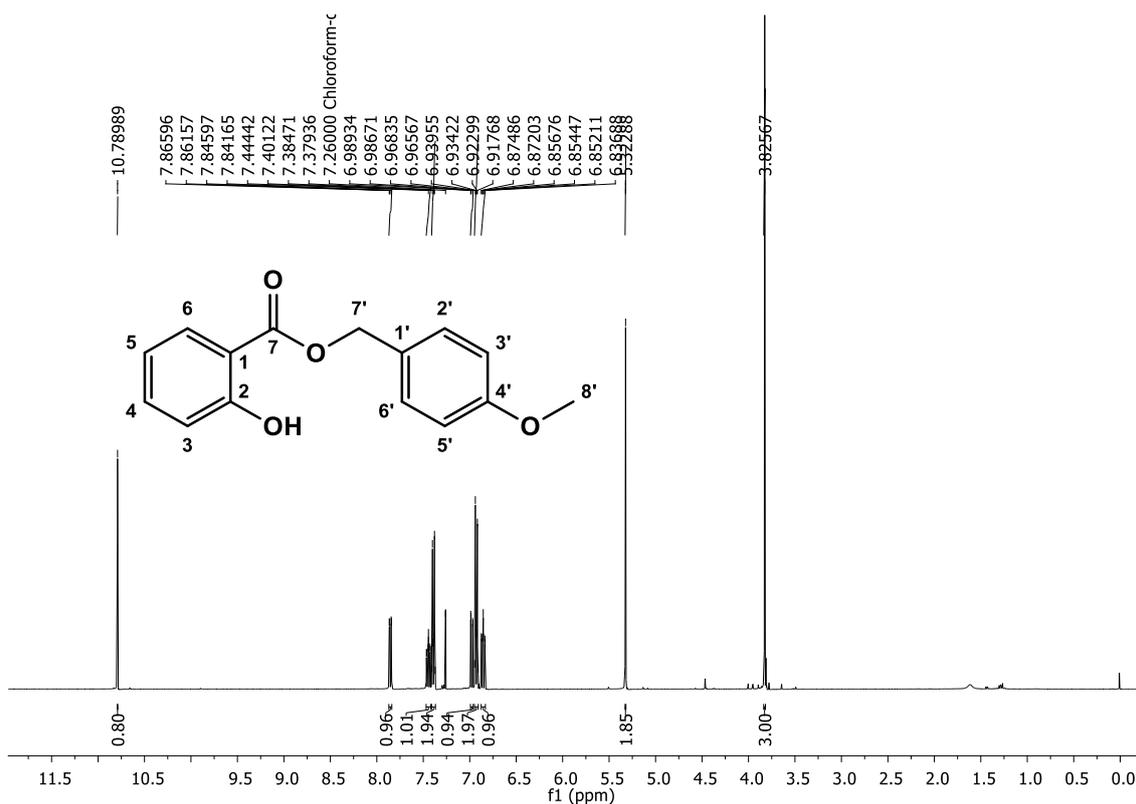
Figura 87. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**).**Figura 88.** Espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 89. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 400 MHz).

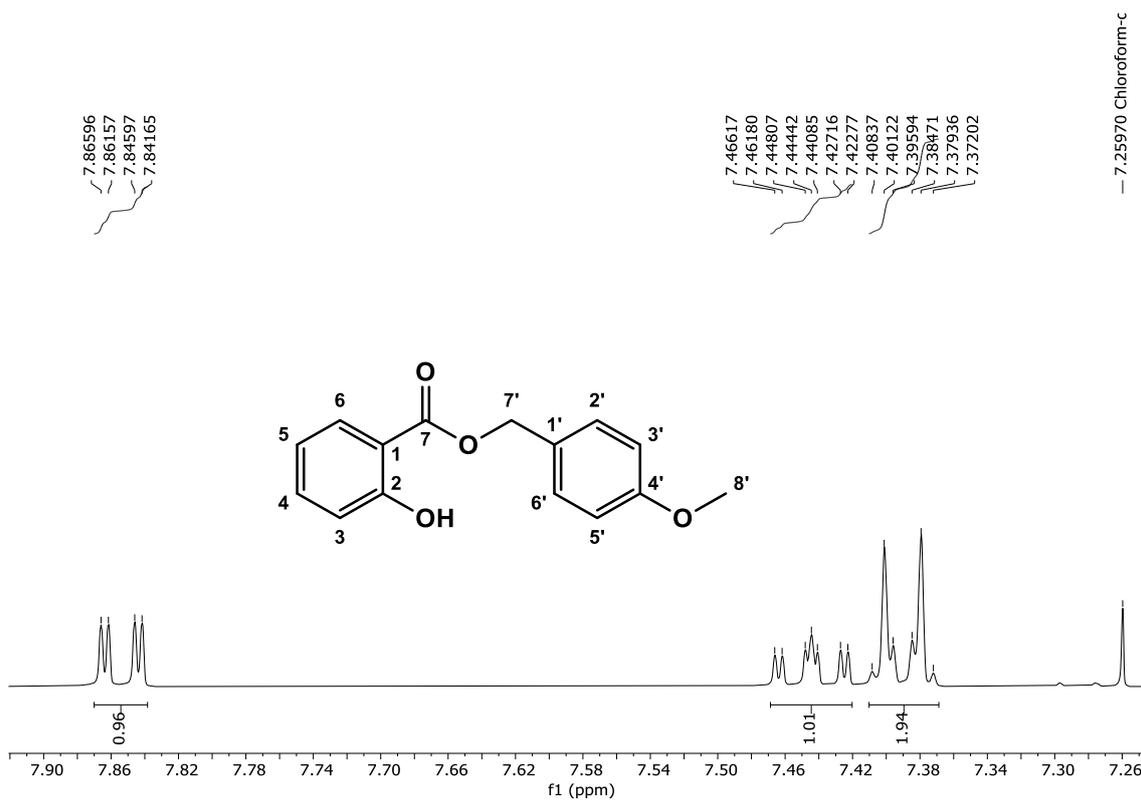


Figura 90. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 400 MHz).

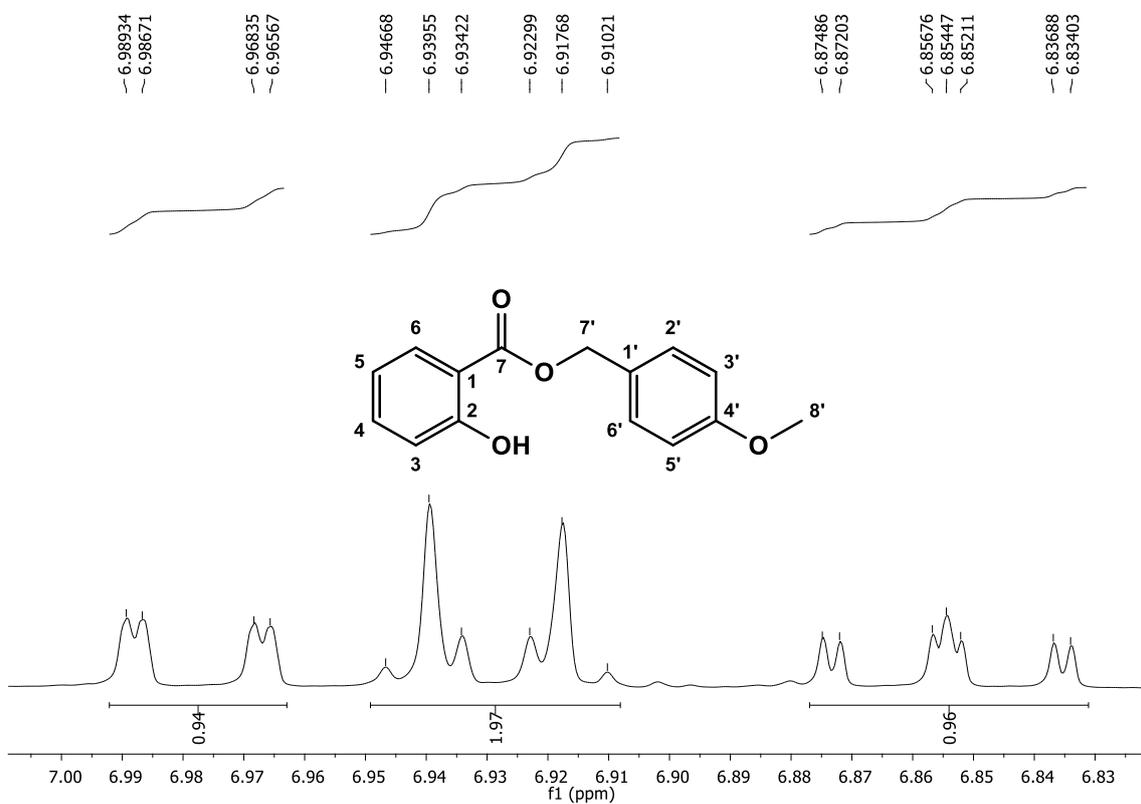


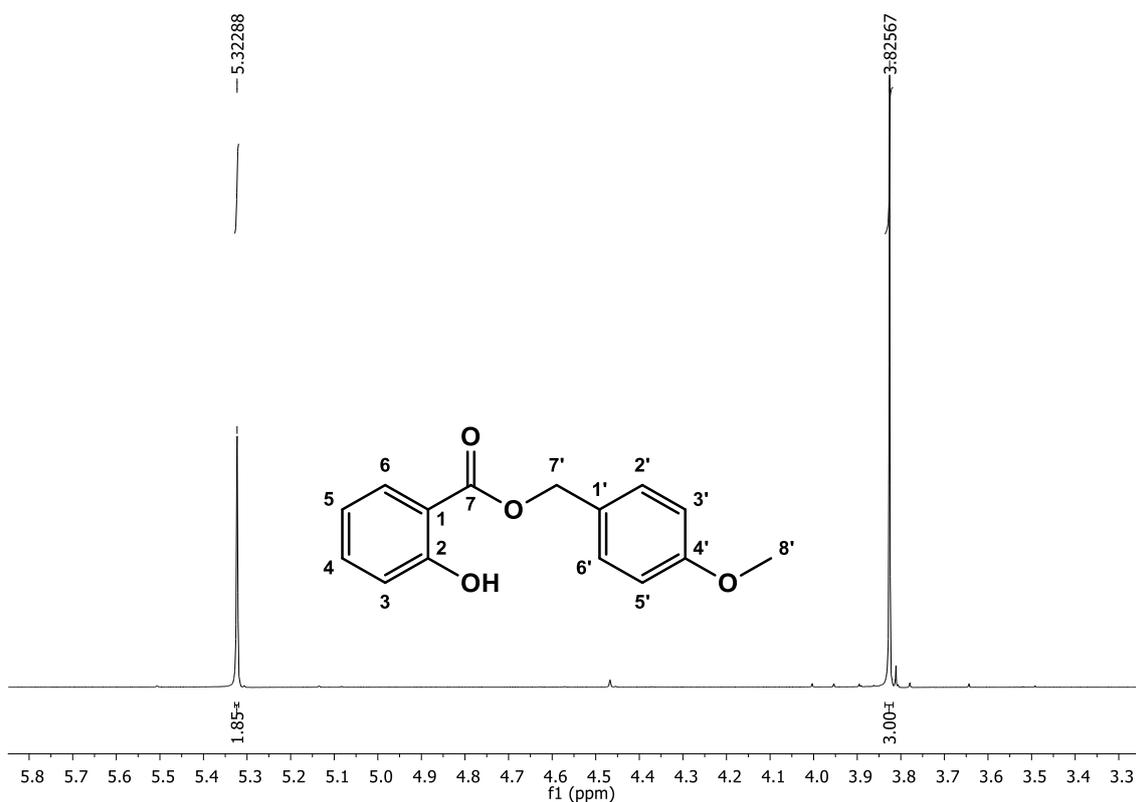
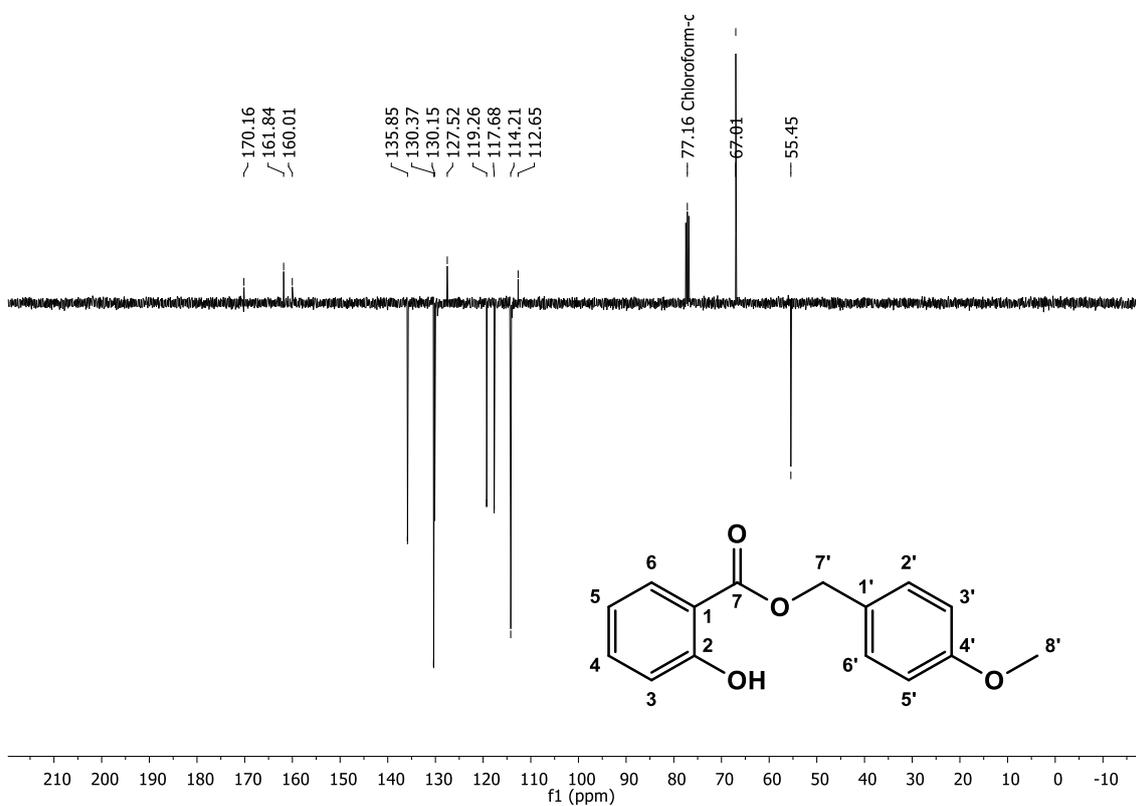
Figura 91. Expansão do espectro de RMN ^1H de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 92.** Espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 100 MHz).

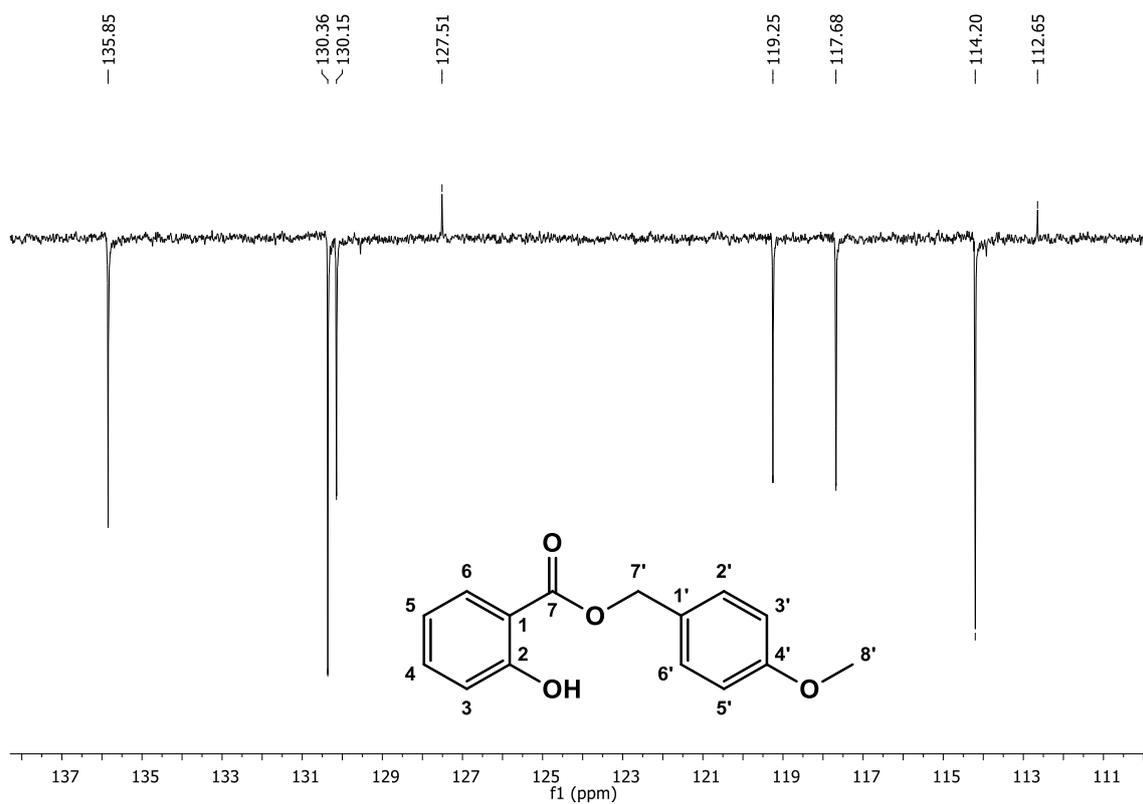
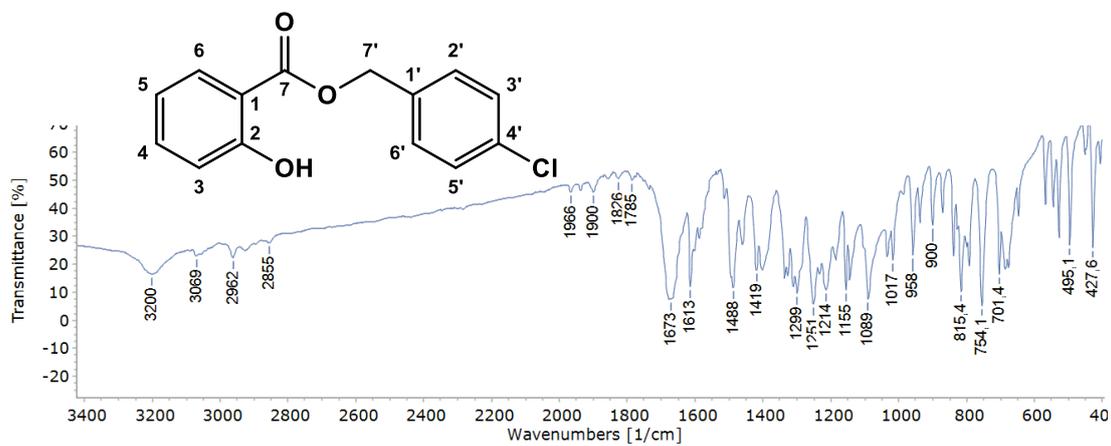
Figura 93. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de salicilato de 4-metoxibenzila (**12**), (CDCl_3 , 100 MHz).**Figura 94.** Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**).

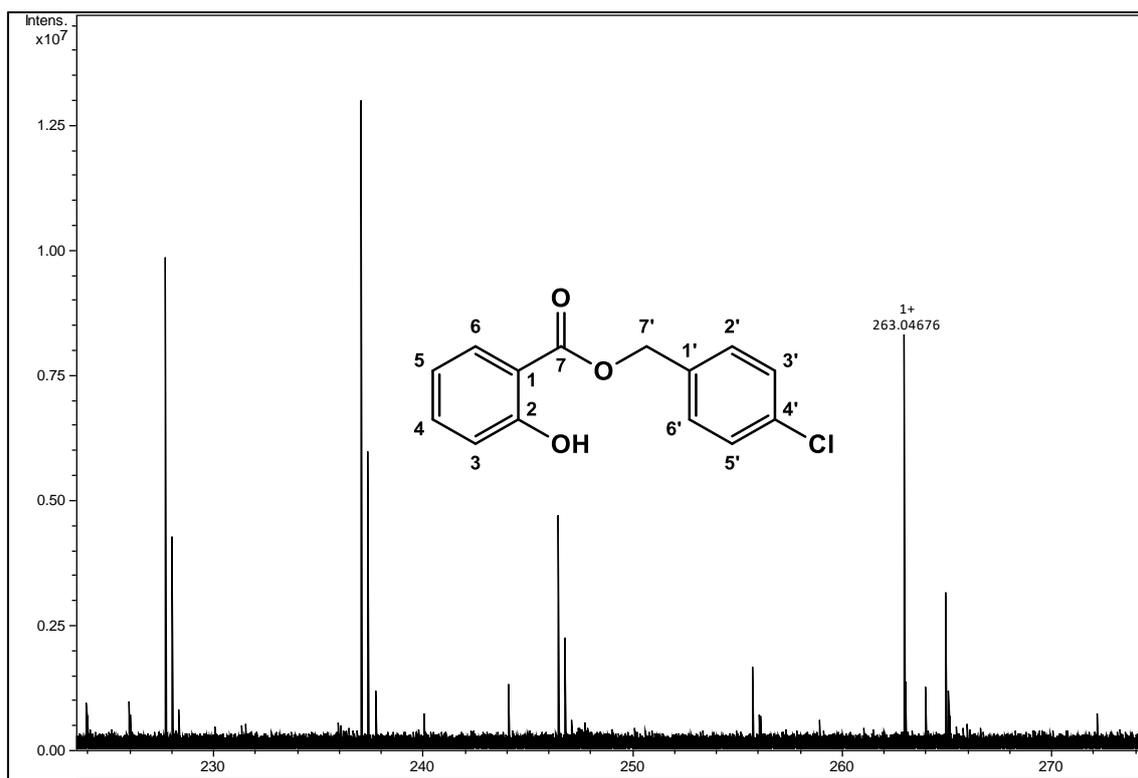
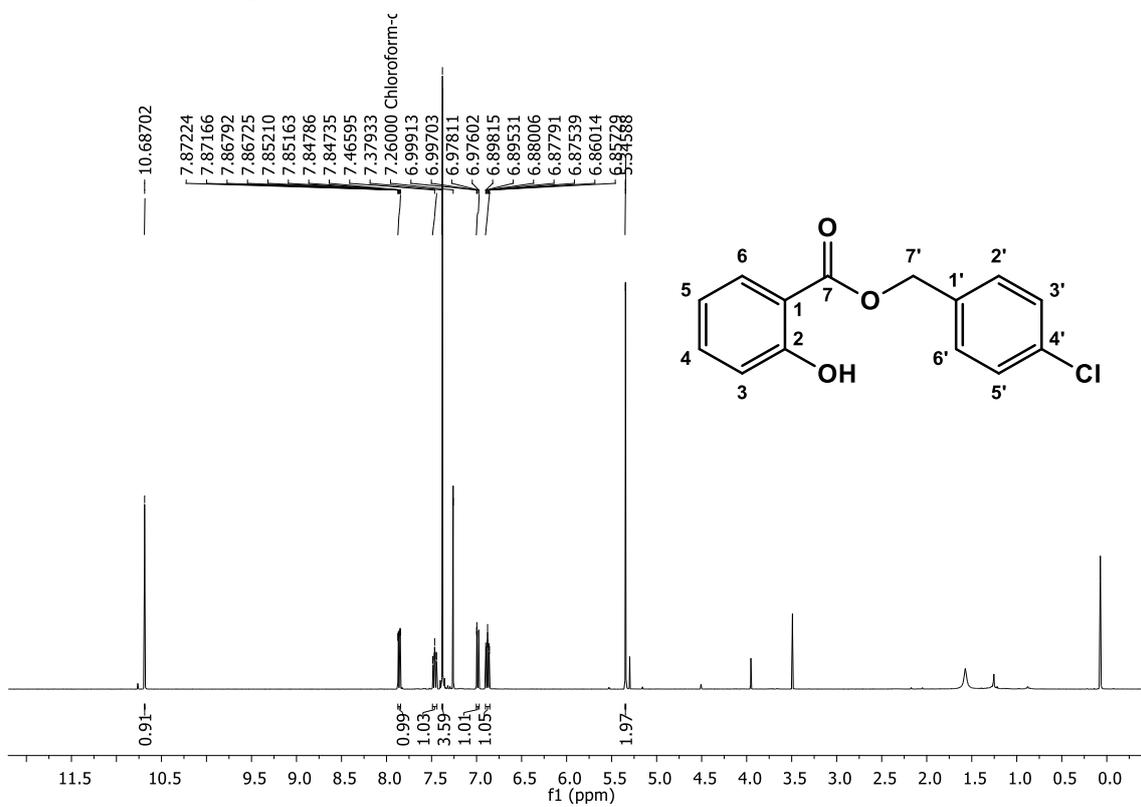
Figura 95. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**).**Figura 96.** Espectro de RMN ^1H de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**), (400 MHz, CDCl_3).

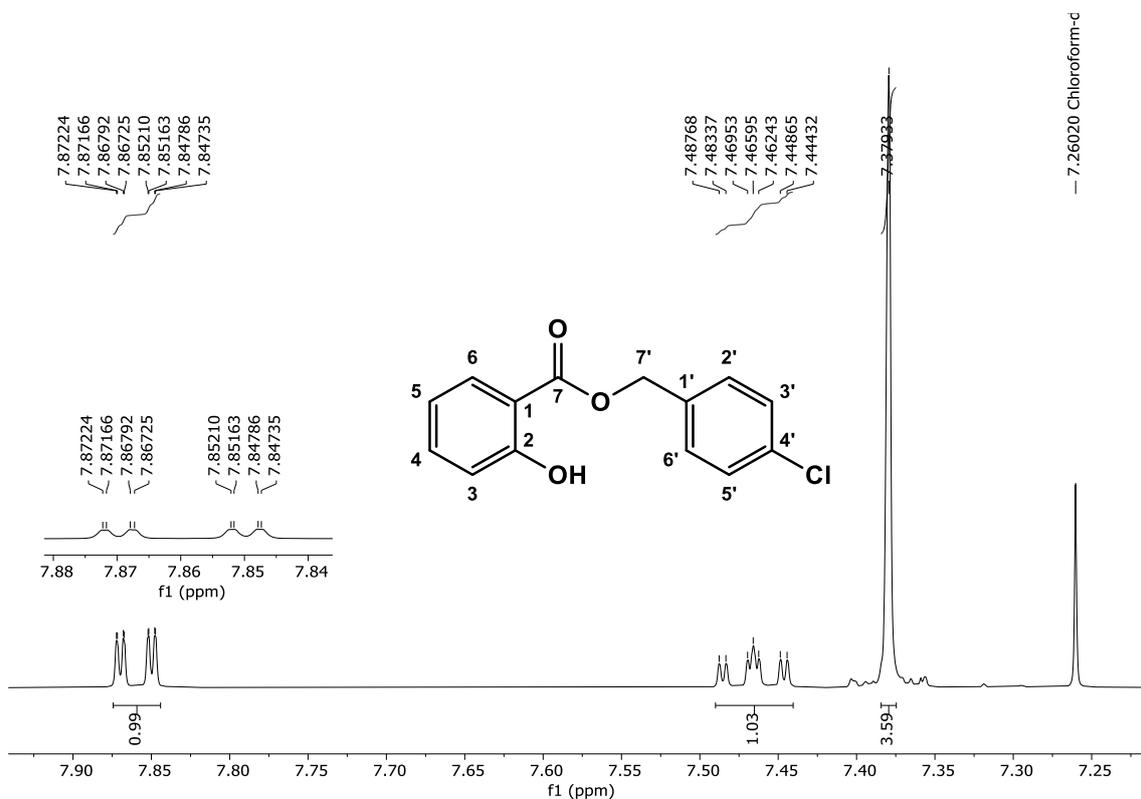
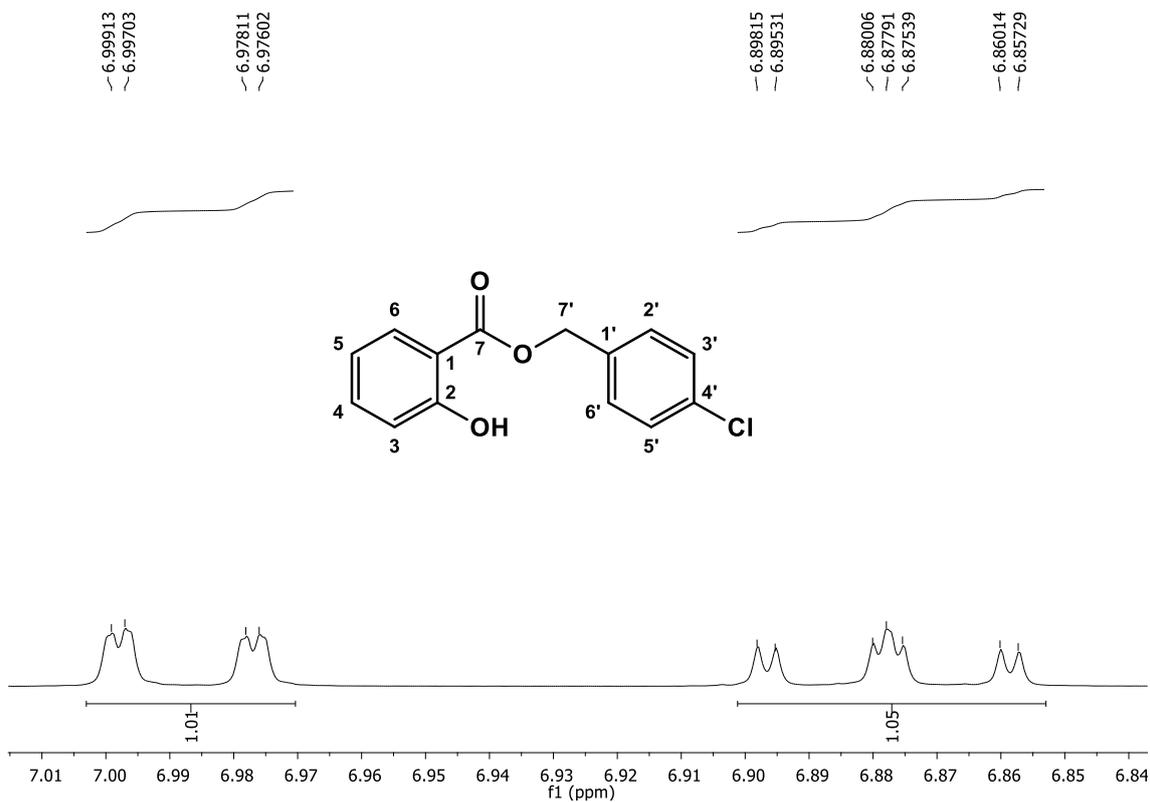
Figura 97. Expansão de espectro de RMN ^1H de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**) (400 MHz, CDCl_3).**Figura 98.** Expansão de espectro de RMN ^1H de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**), (400 MHz, CDCl_3).

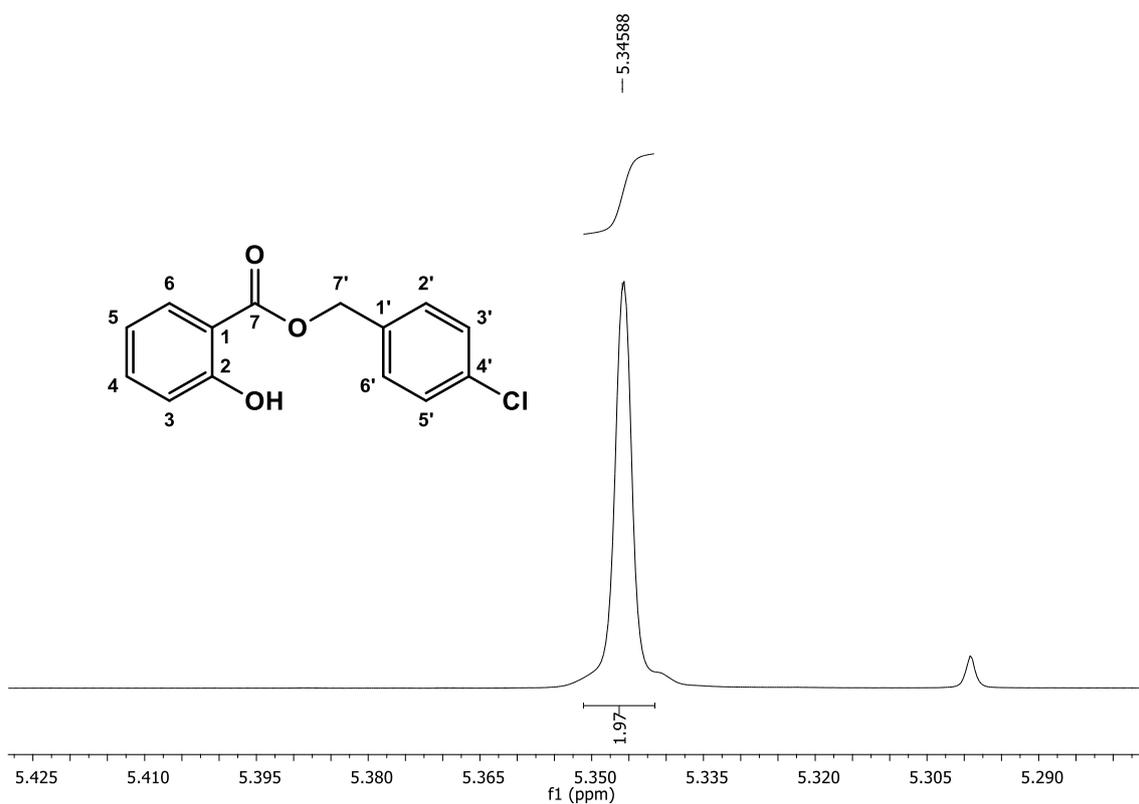
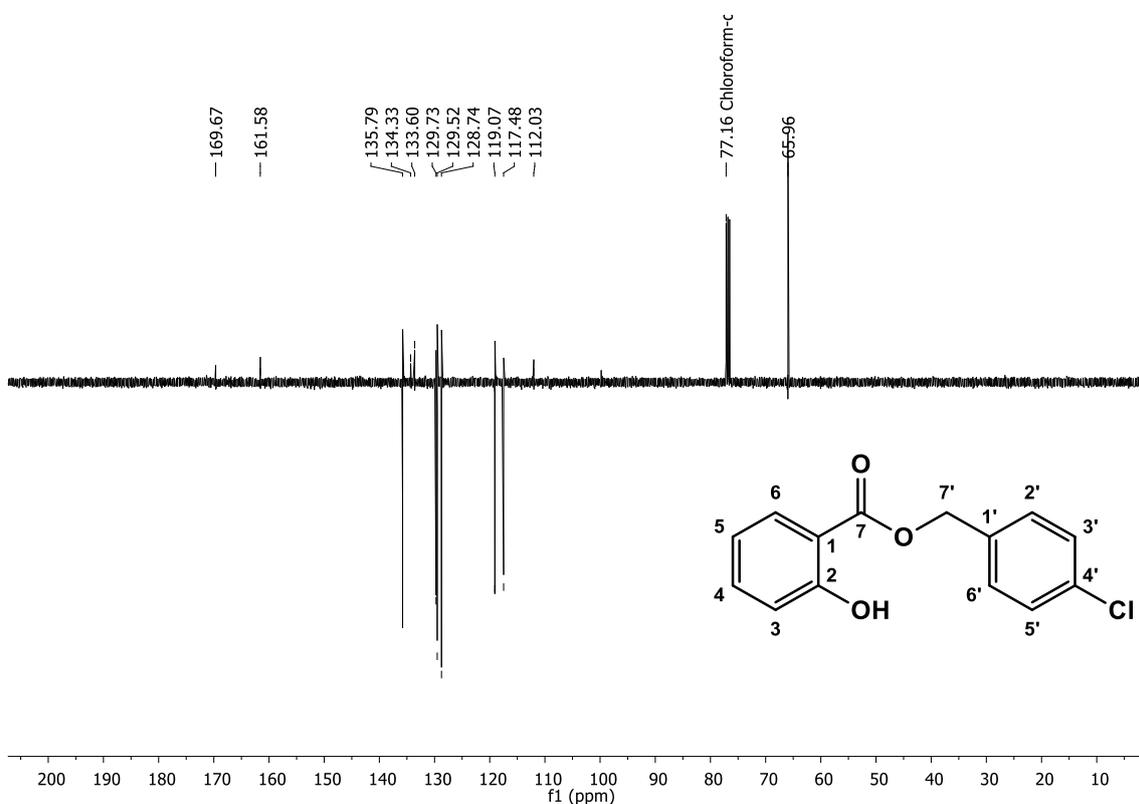
Figura 99. Expansão de espectro de RMN ^1H de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**), (400 MHz, CDCl_3).**Figura 100.** Espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**), (100 MHz, CDCl_3).

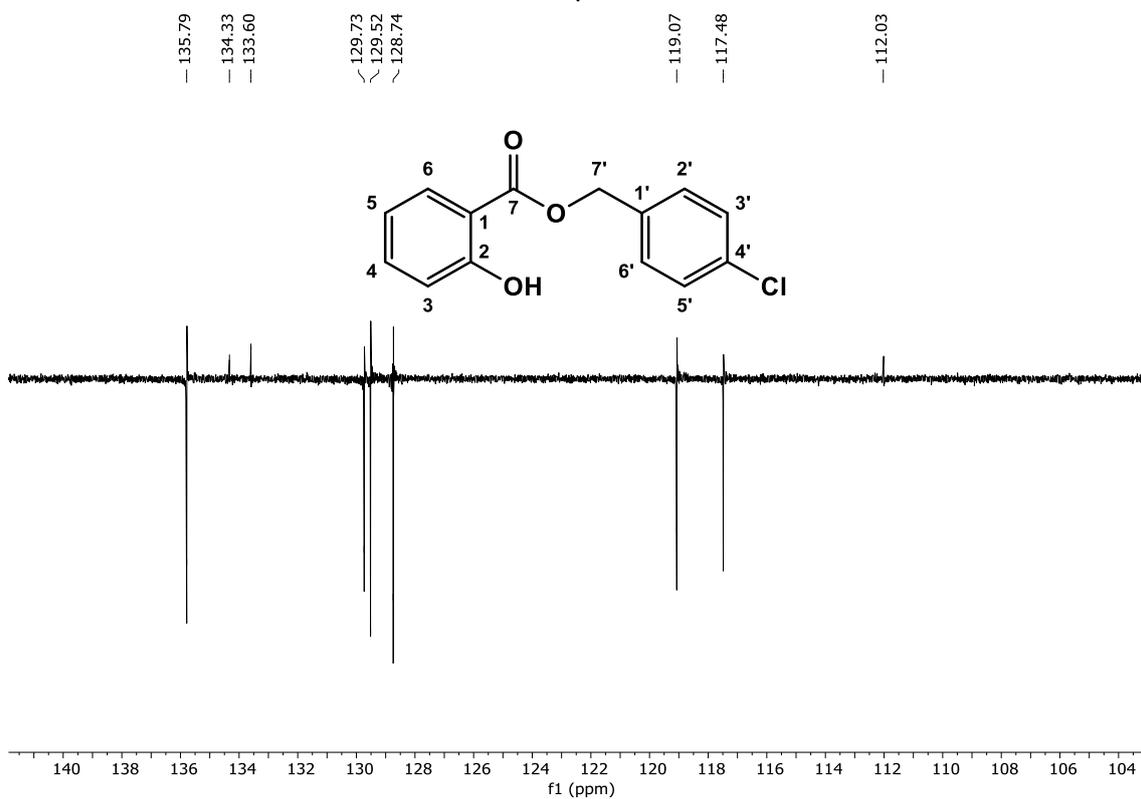
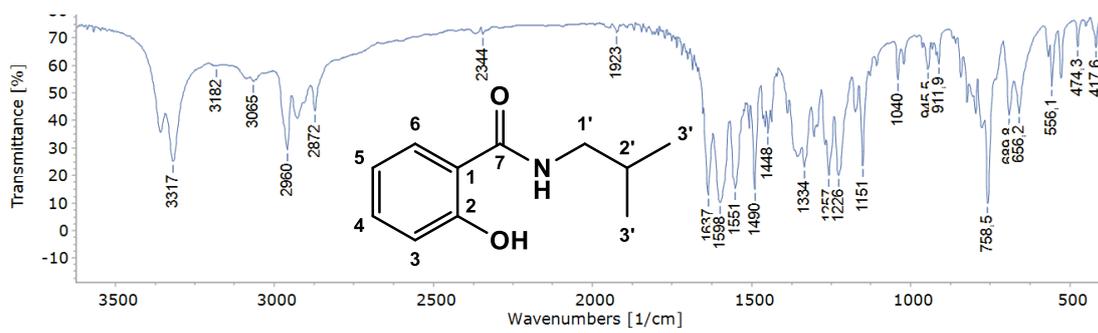
Figura 101. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de Salicilato de 4-clorobenzila (**13**), (100 MHz, CDCl_3).**Figura 102.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-isobutil-2-hidroxi-benzamida (**14**).

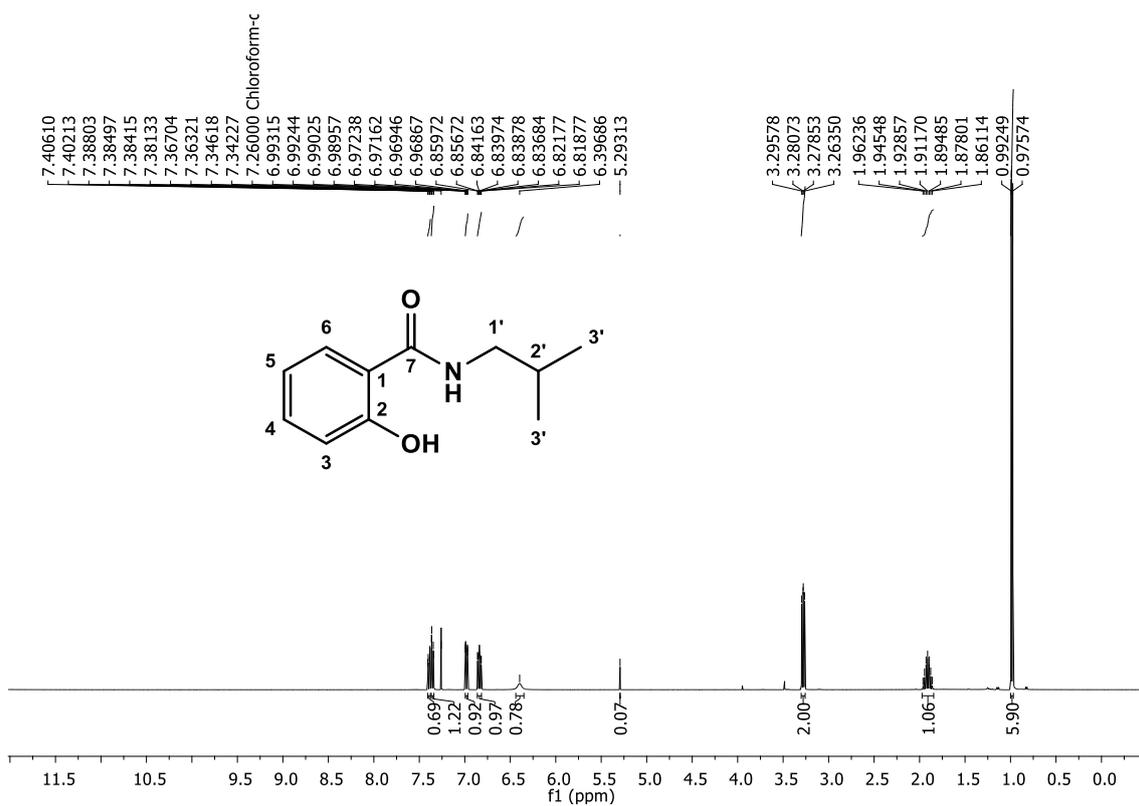
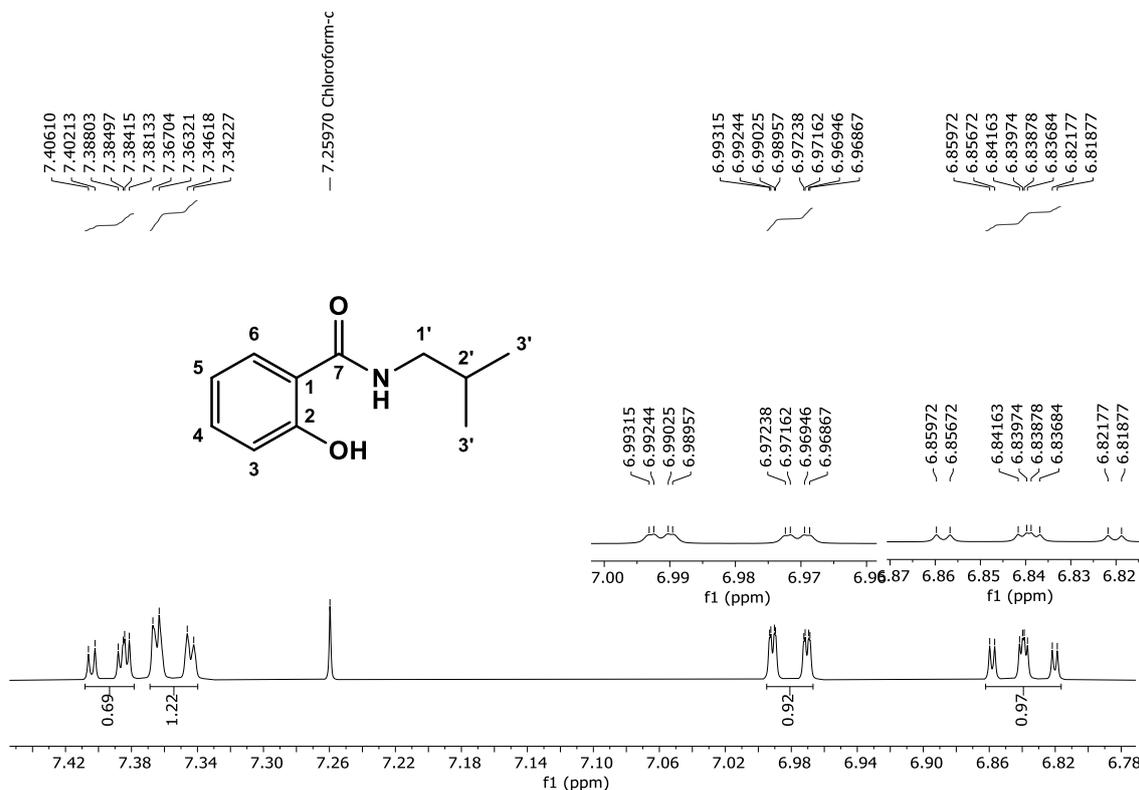
Figura 103. Espectro de RMN ^1H de *N*-isobutil-2-hidroxi-benzamida (**14**), (CDCl_3 , 400 MHz).**Figura 104.** Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-isobutil-2-hidroxi-benzamida (**14**), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 105. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-isobutil-2-hidroxibenzamida (**14**), (CDCl_3 , 400 MHz).

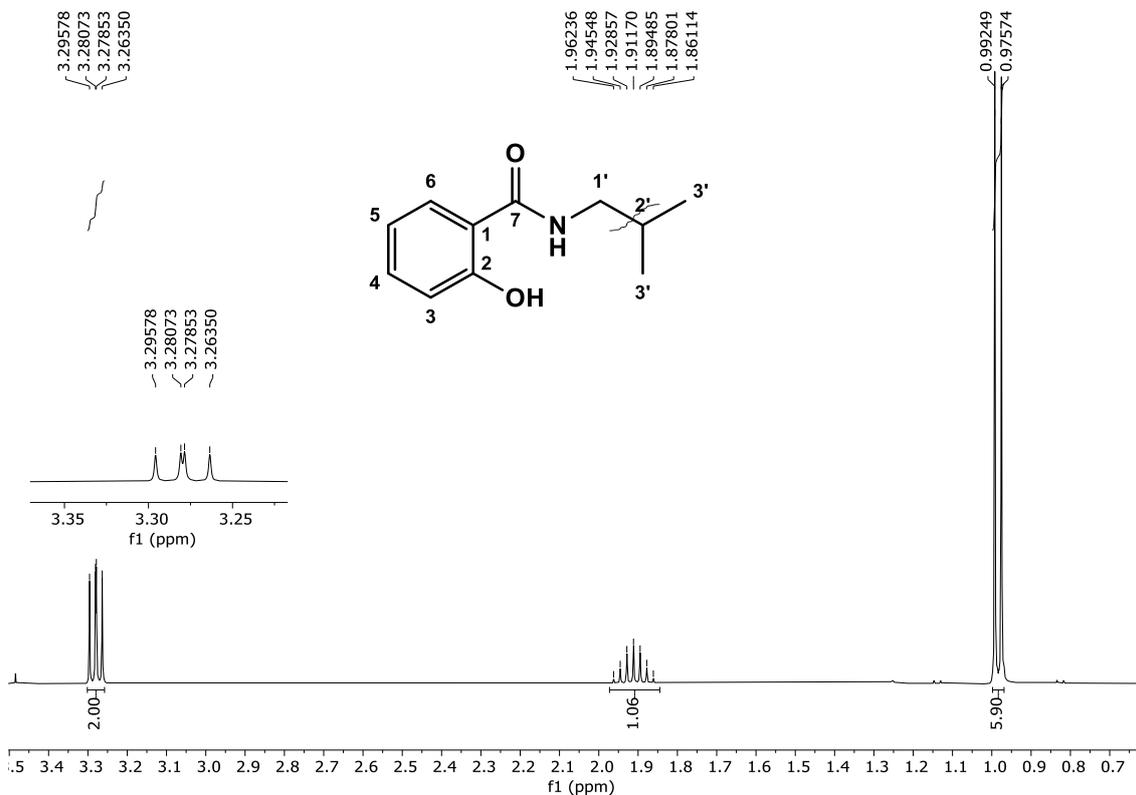


Figura 106. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-isobutil-2-hidroxibenzamida (**14**), (CDCl_3 , 100 MHz).

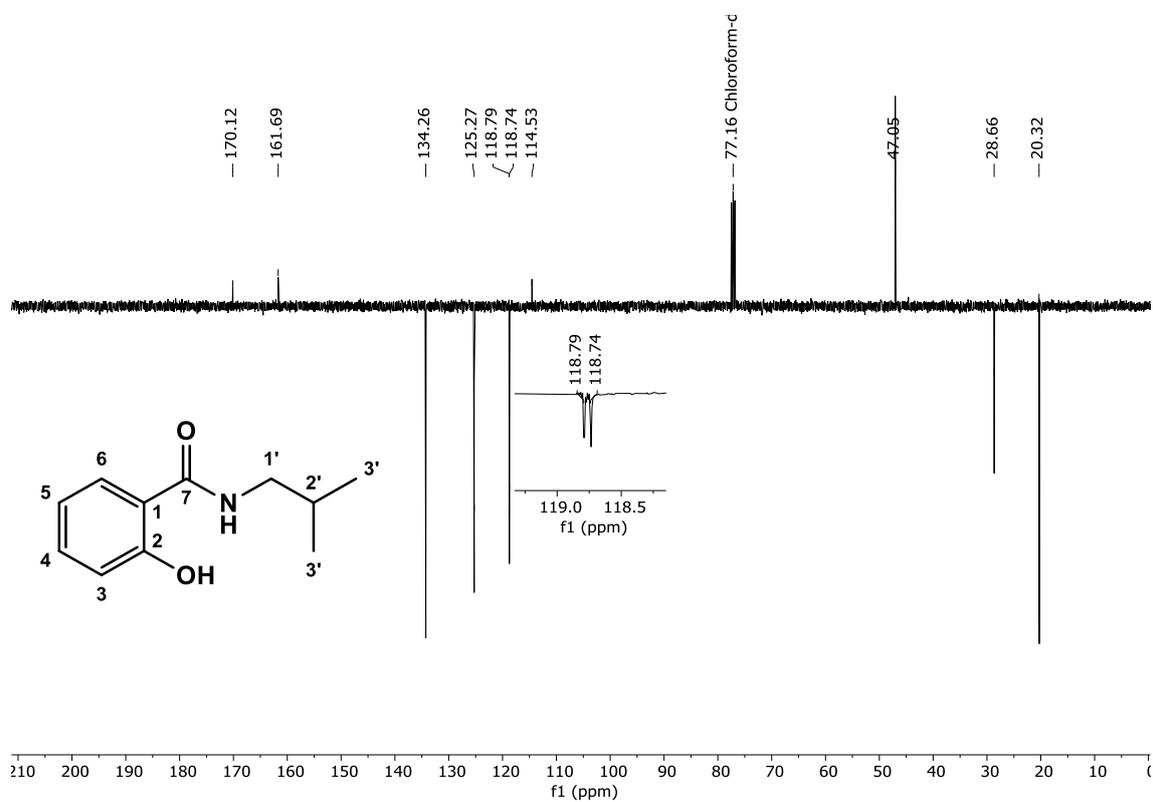


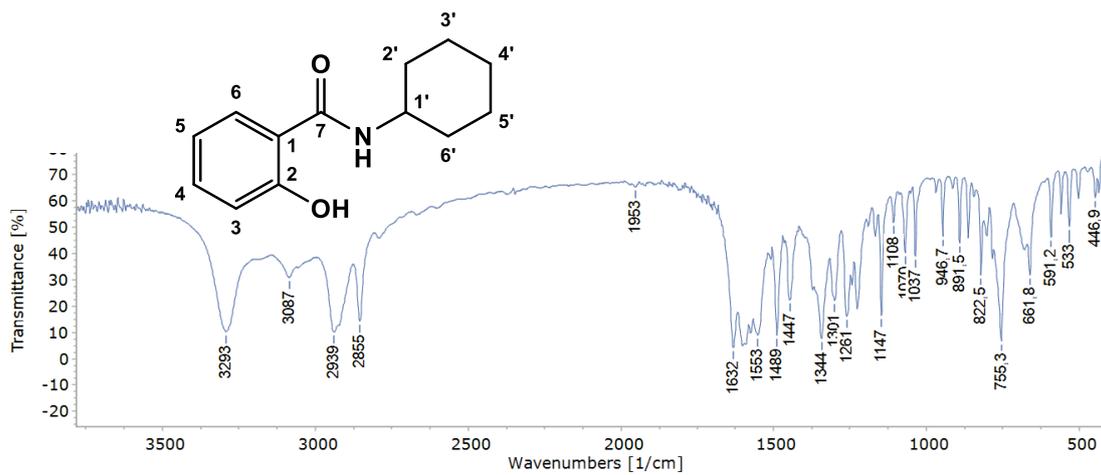
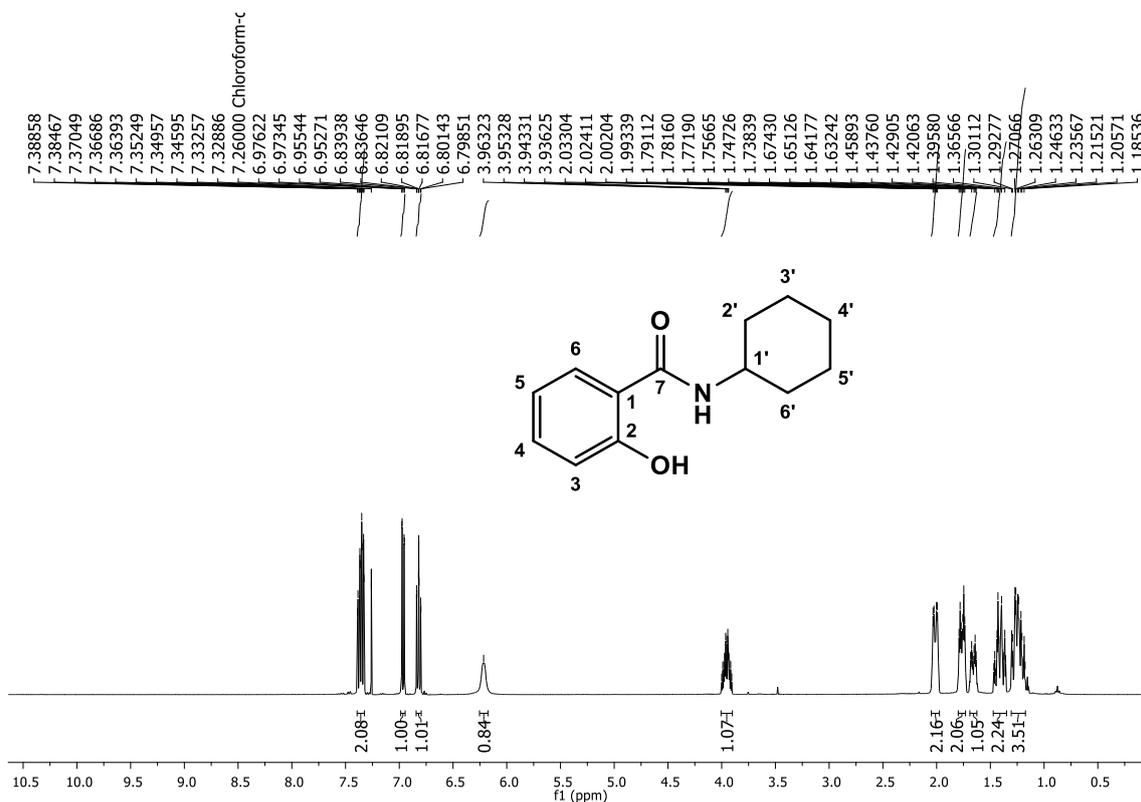
Figura 107. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-cicloexil-2-hidroxibenzamida (**15**).**Figura 108.** Espectro de RMN ^1H de *N*-cicloexil-2-hidroxibenzamida (**15**), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 109. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-cicloexil-2-hidroxibenzamida (**15**), (CDCl_3 , 400 MHz).

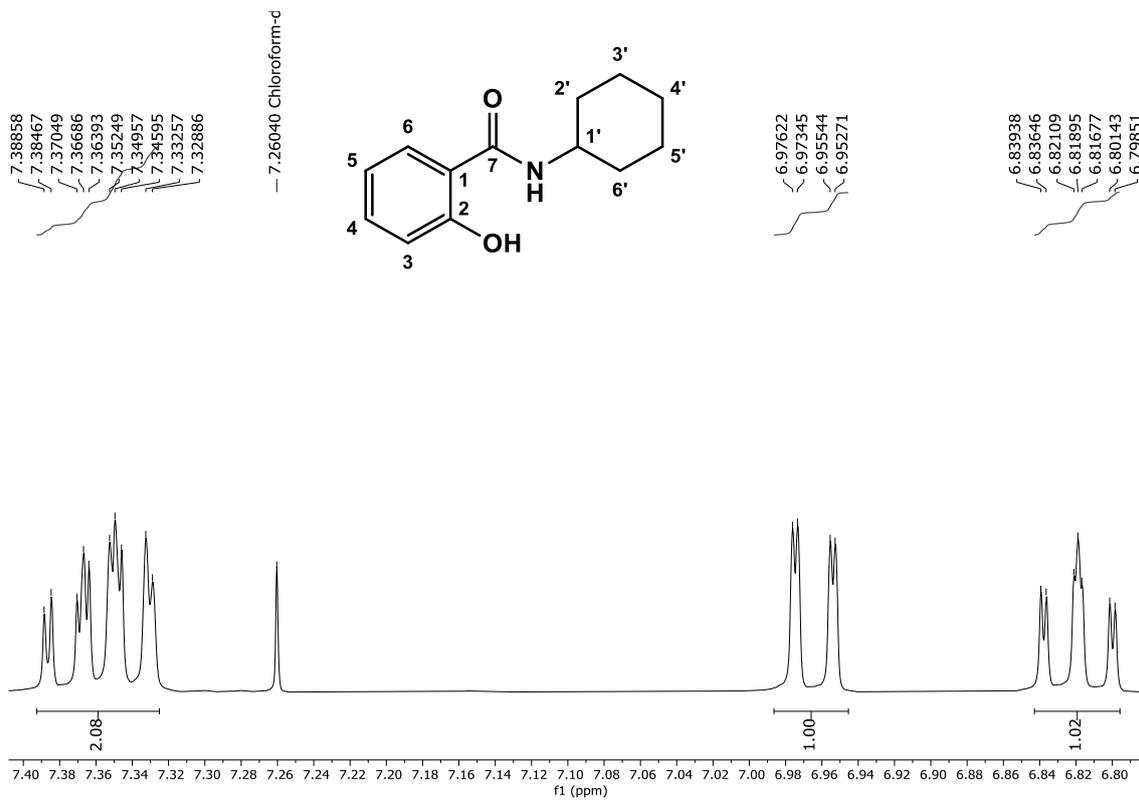


Figura 110. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-cicloexil-2-hidroxibenzamida (**15**), (CDCl_3 , 400 MHz).

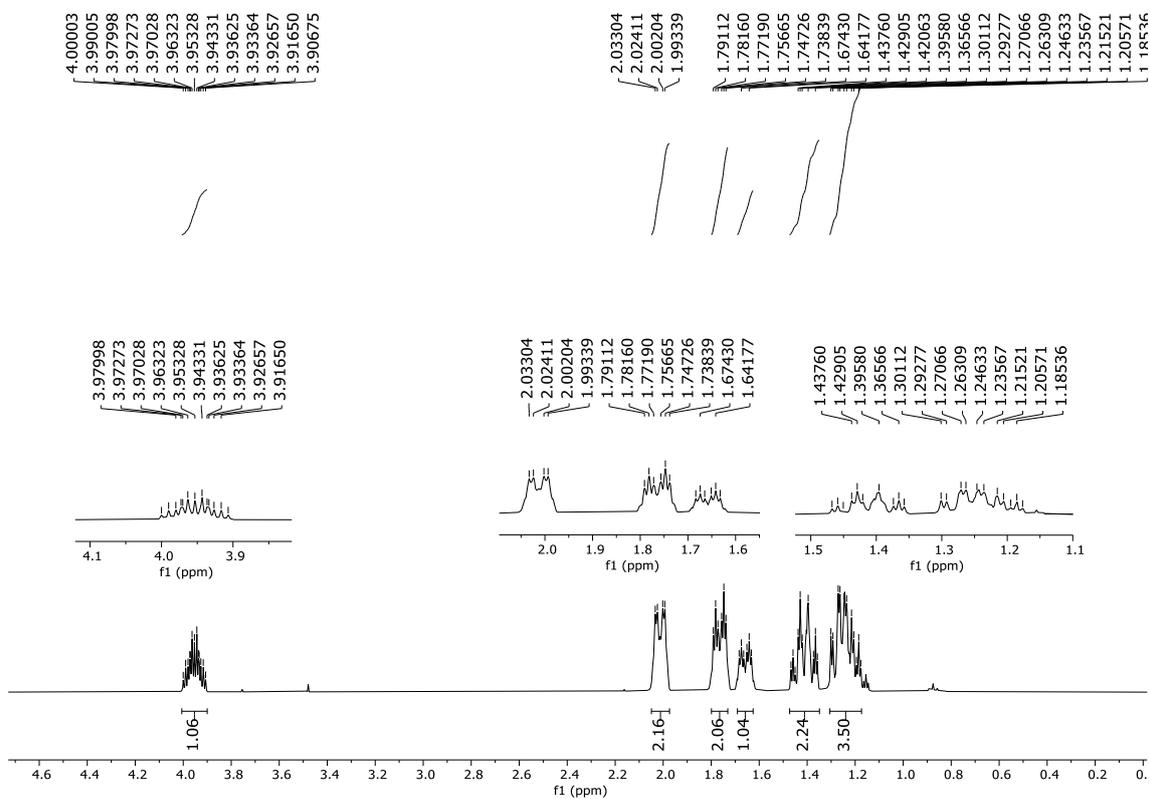


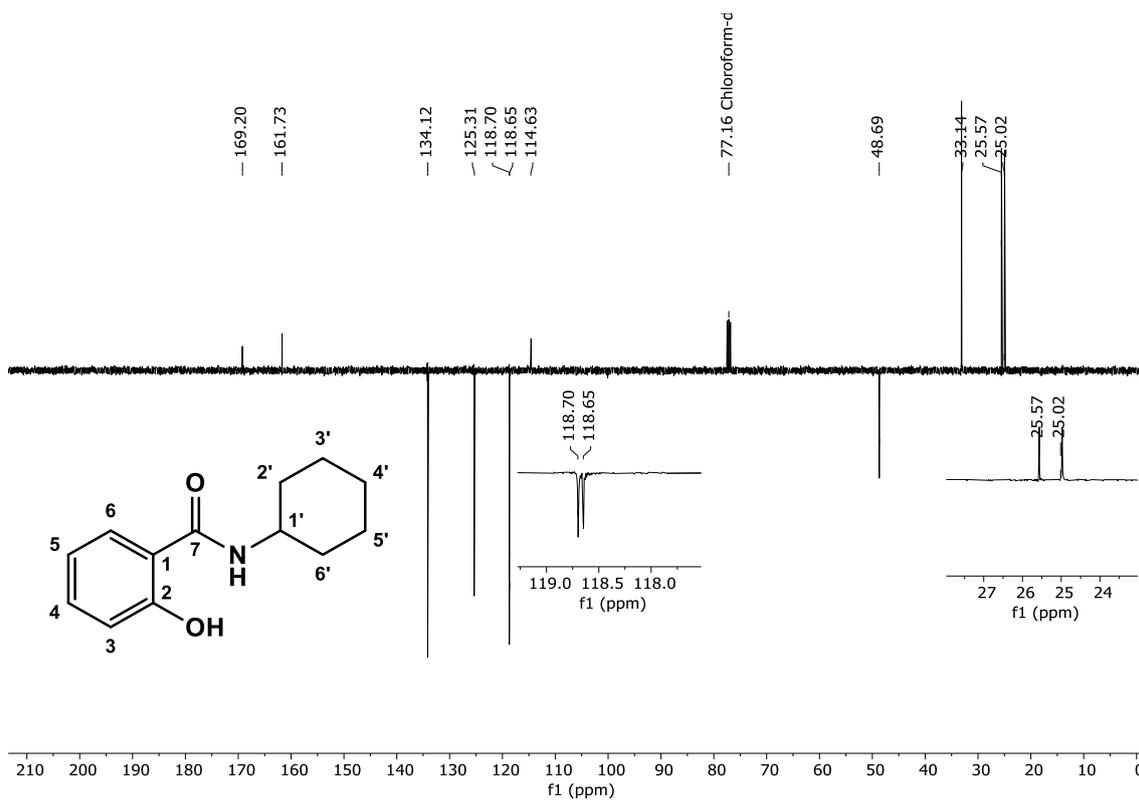
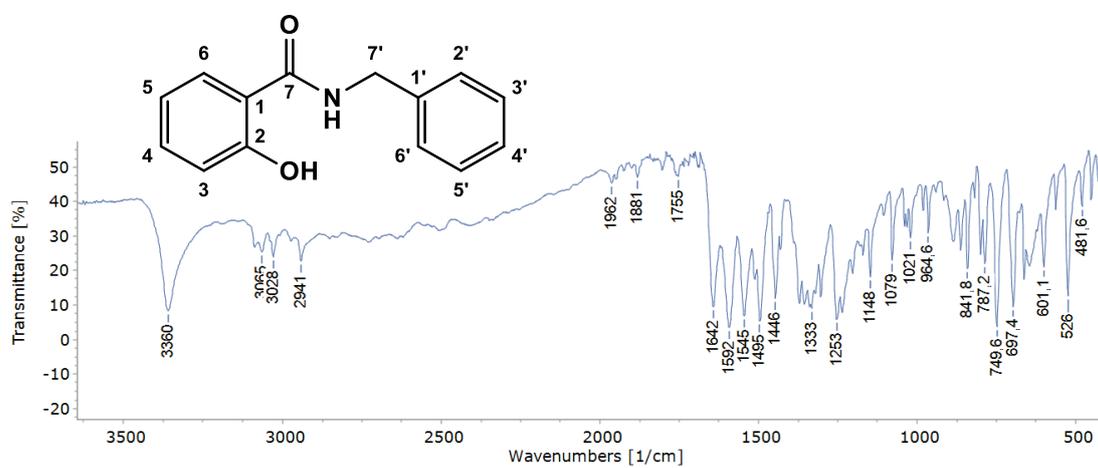
Figura 111. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-cicloexil-2-hidroxibenzamida (**15**), (CDCl_3 , 100 MHz).**Figura 112.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-benzil-2-hidroxibenzamida (**16**).

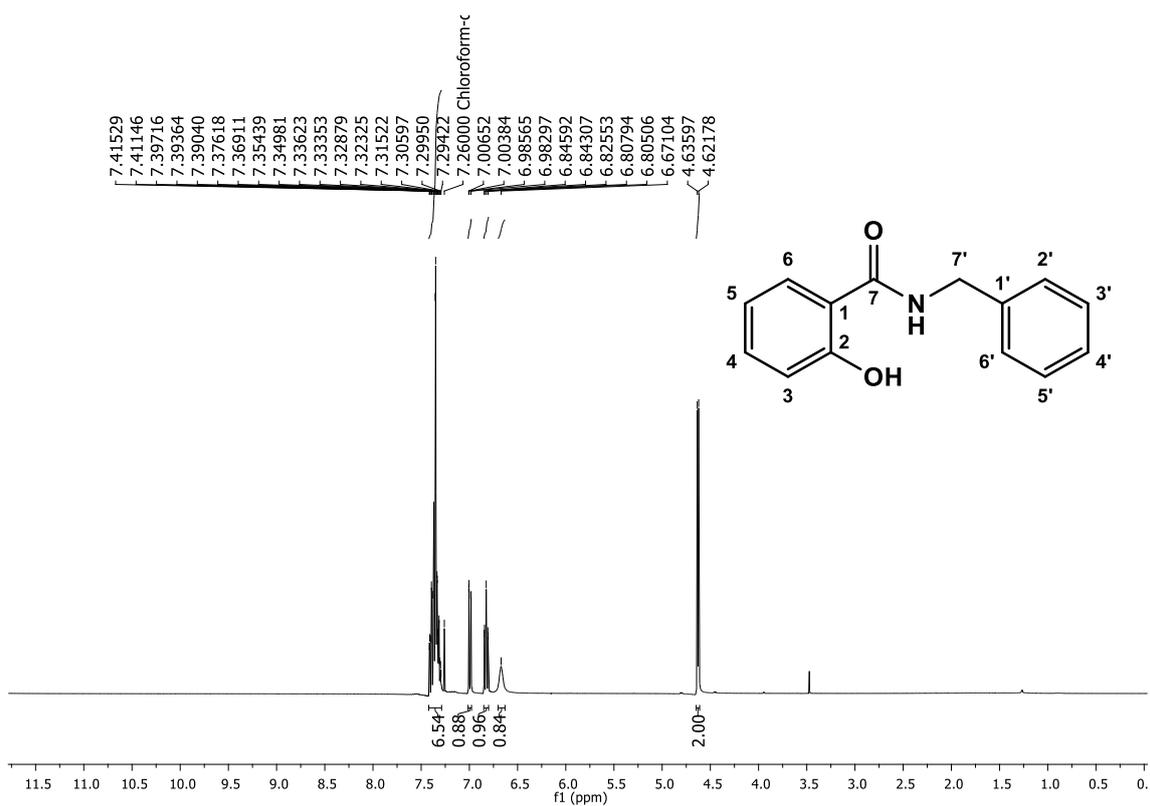
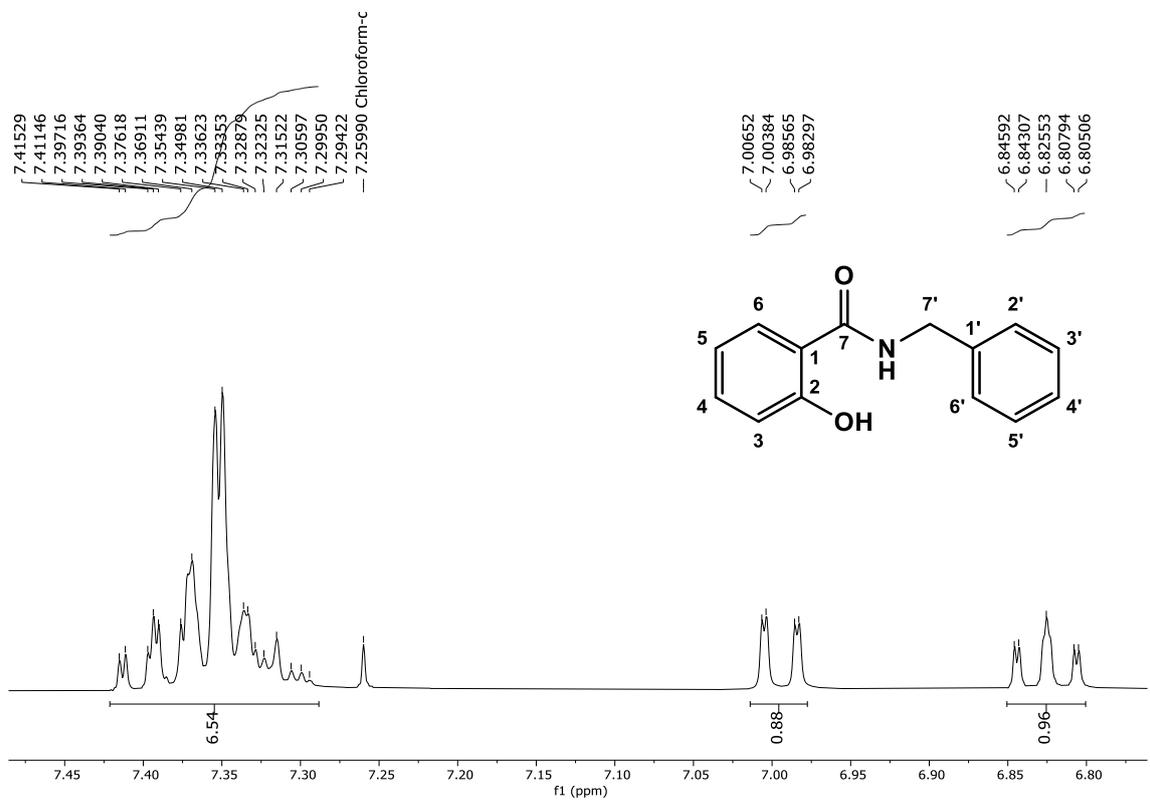
Figura 113. Espectro de RMN ^1H de *N*-benzil-2-hidroxibenzamida (**16**), (400 MHz, CDCl_3).**Figura 114.** Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-benzil-2-hidroxibenzamida (**16**), (400 MHz, CDCl_3).

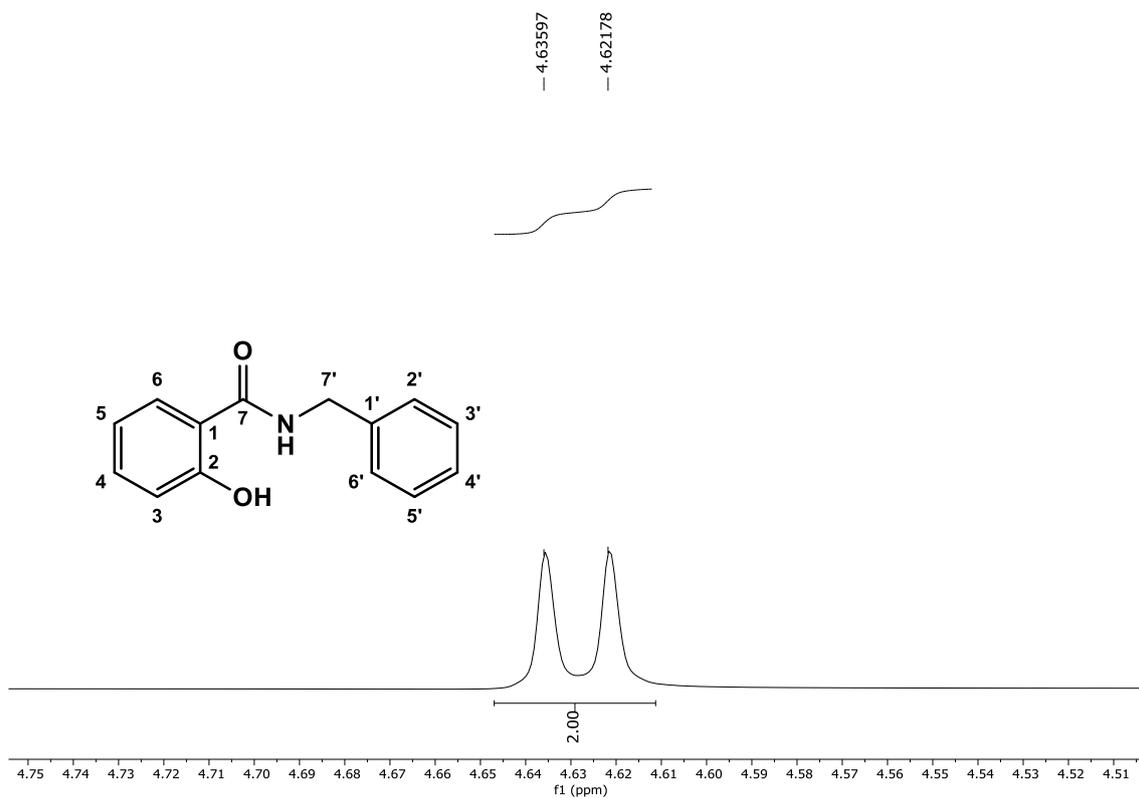
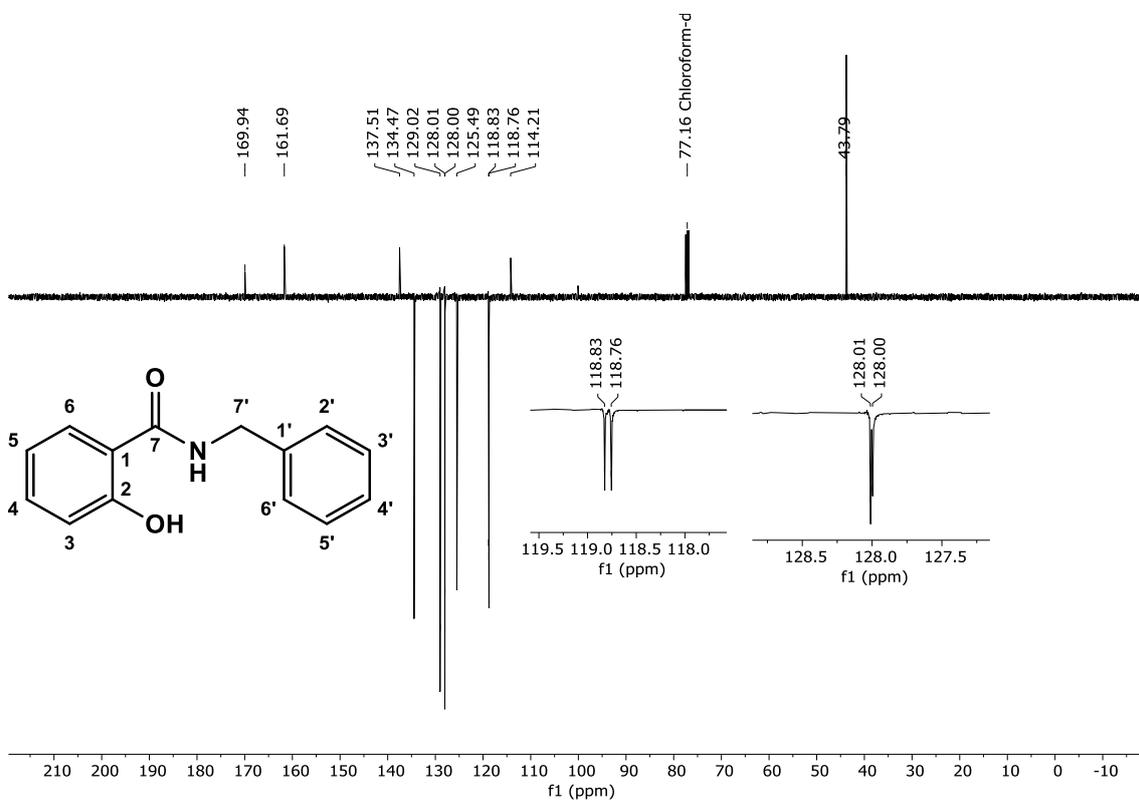
Figura 115. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-benzil-2-hidroxi-benzamida (**16**), (400 MHz, CDCl_3).**Figura 116.** Espectro de RMN ^{13}C de *N*-benzil-2-hidroxi-benzamida (**16**), (100 MHz, CDCl_3).

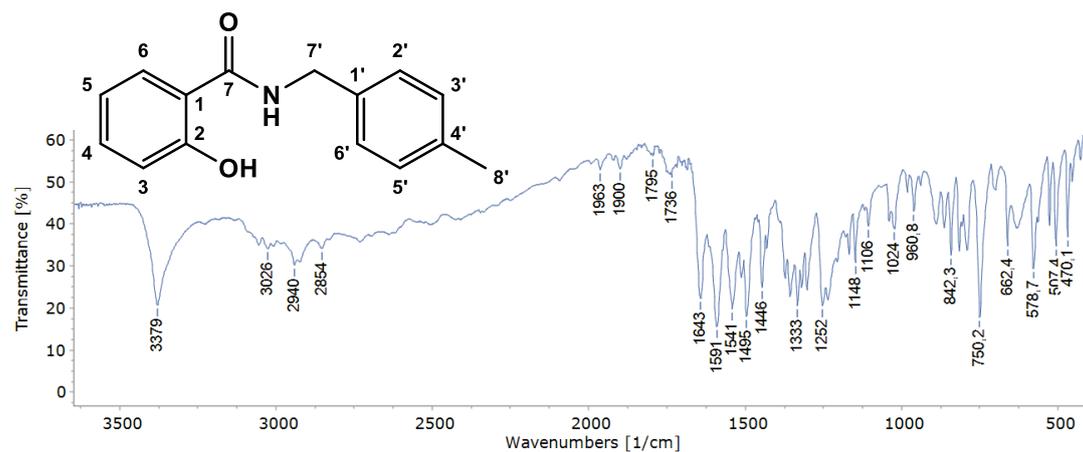
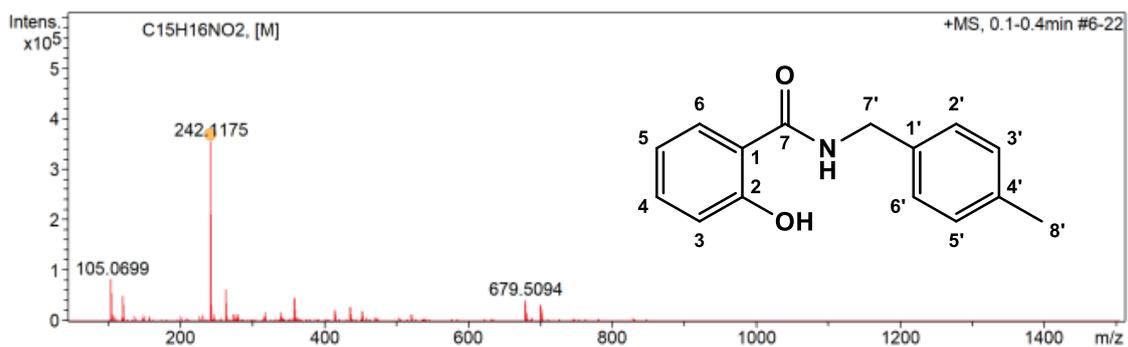
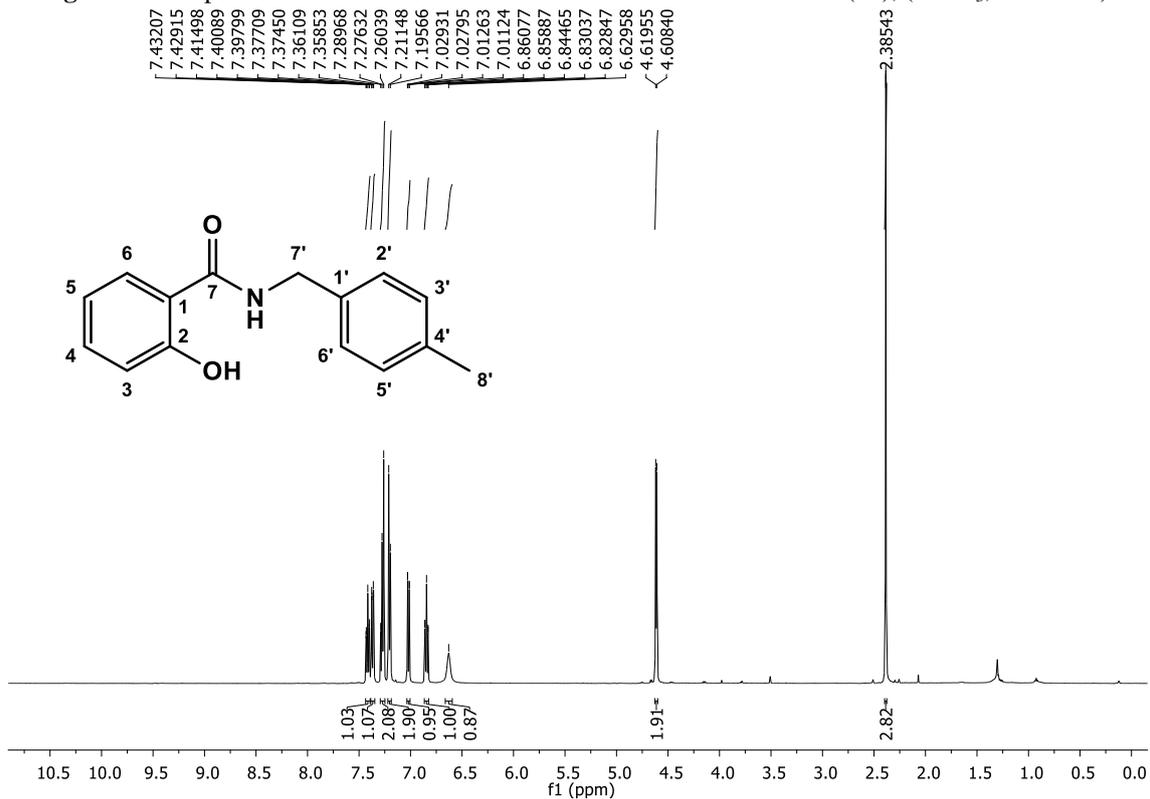
Figura 117. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**).**Figura 118.** Espectrometria de massas de alta resolução do tipo MALDI-TOF de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**).

Figura 119. Espectro de RMN ^1H de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**), (CDCl_3 , 500 MHz).**Figura 120.** Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**), (CDCl_3 , 500

MHz

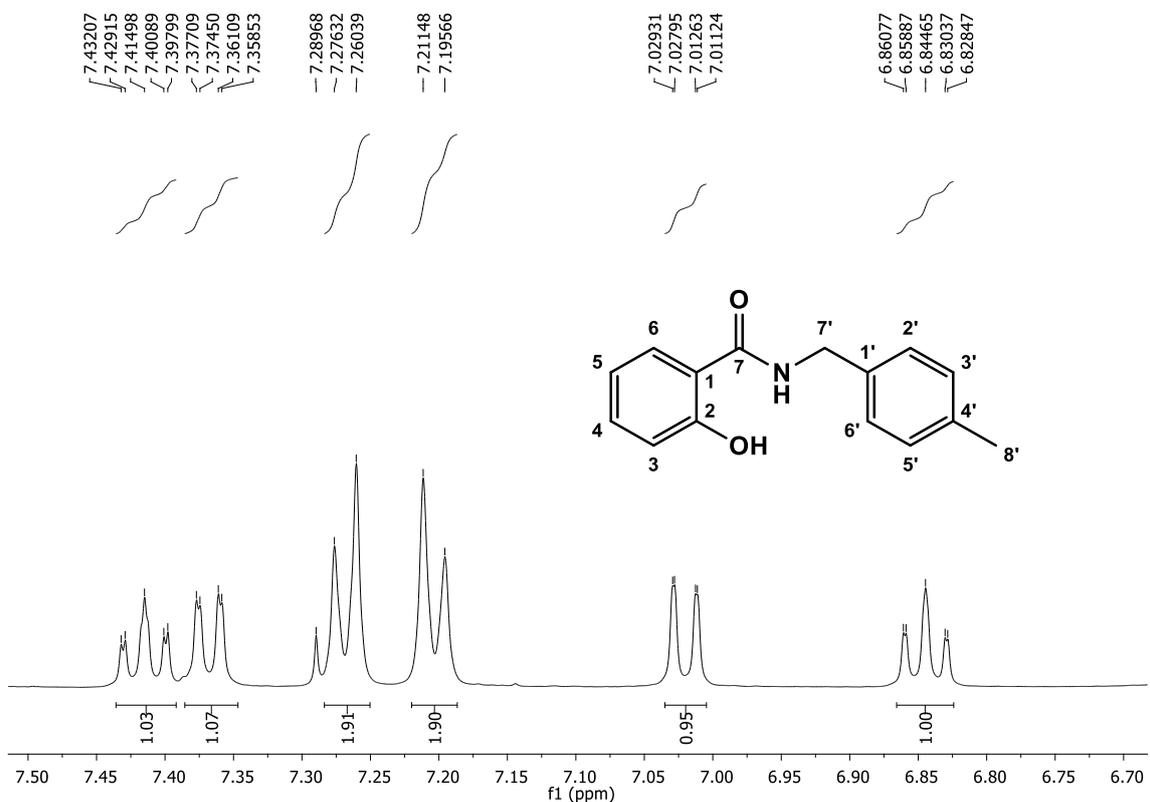


Figura 121. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**), (CDCl_3 , 500 MHz).

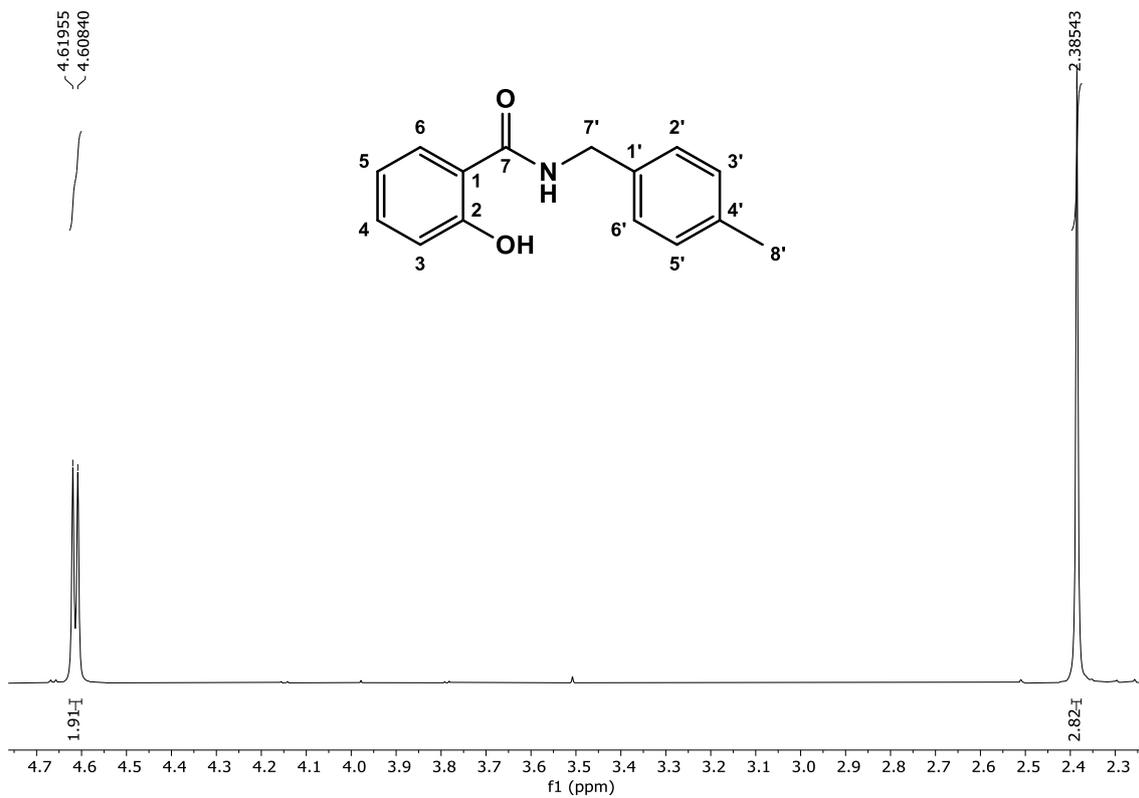


Figura 122. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-4-metilbenzil-2-hidroxibenzamida (**17**), (CDCl_3 , 125 MHz).

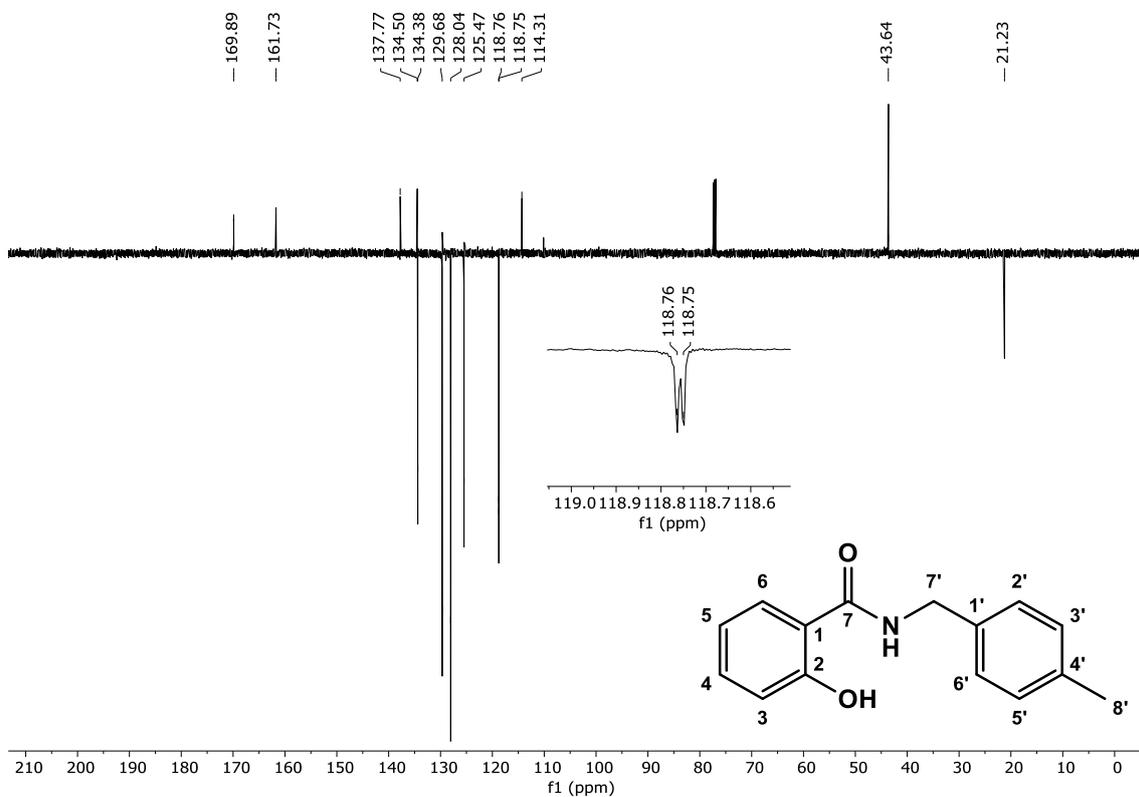


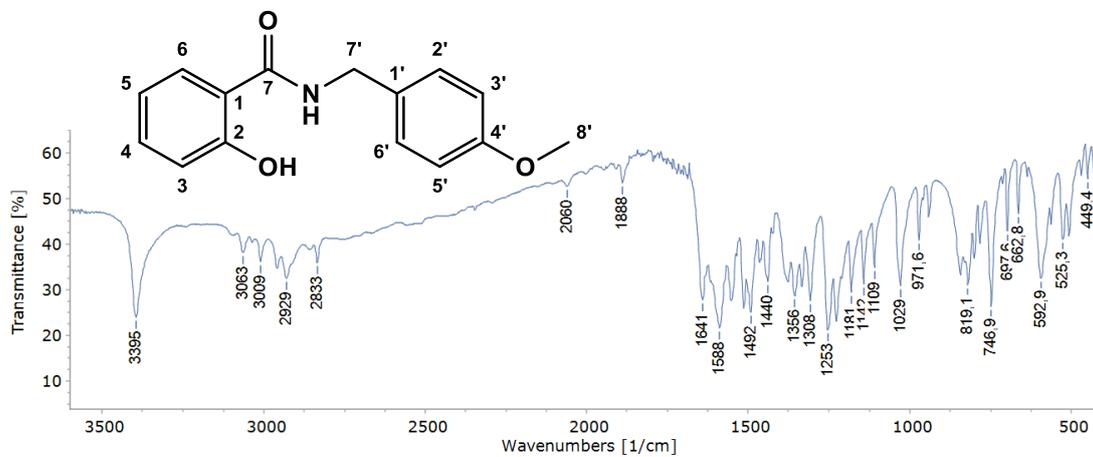
Figura 123. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxiacetamida (**18**).**Figura 124.** Espectro de RMN ^1H de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxiacetamida (**18**), (400 MHz, CDCl_3).

Figura 125. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**18**), (400 MHz, CDCl_3).

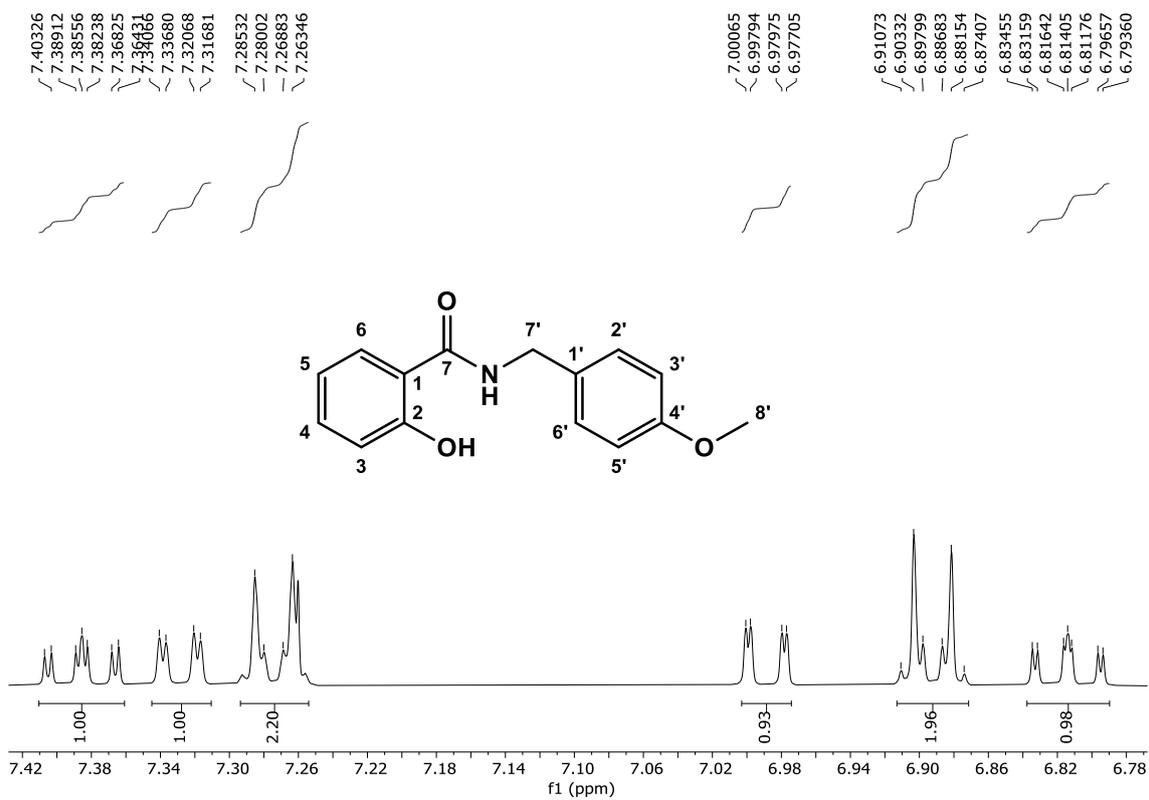


Figura 126. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**18**), (400 MHz, CDCl_3).

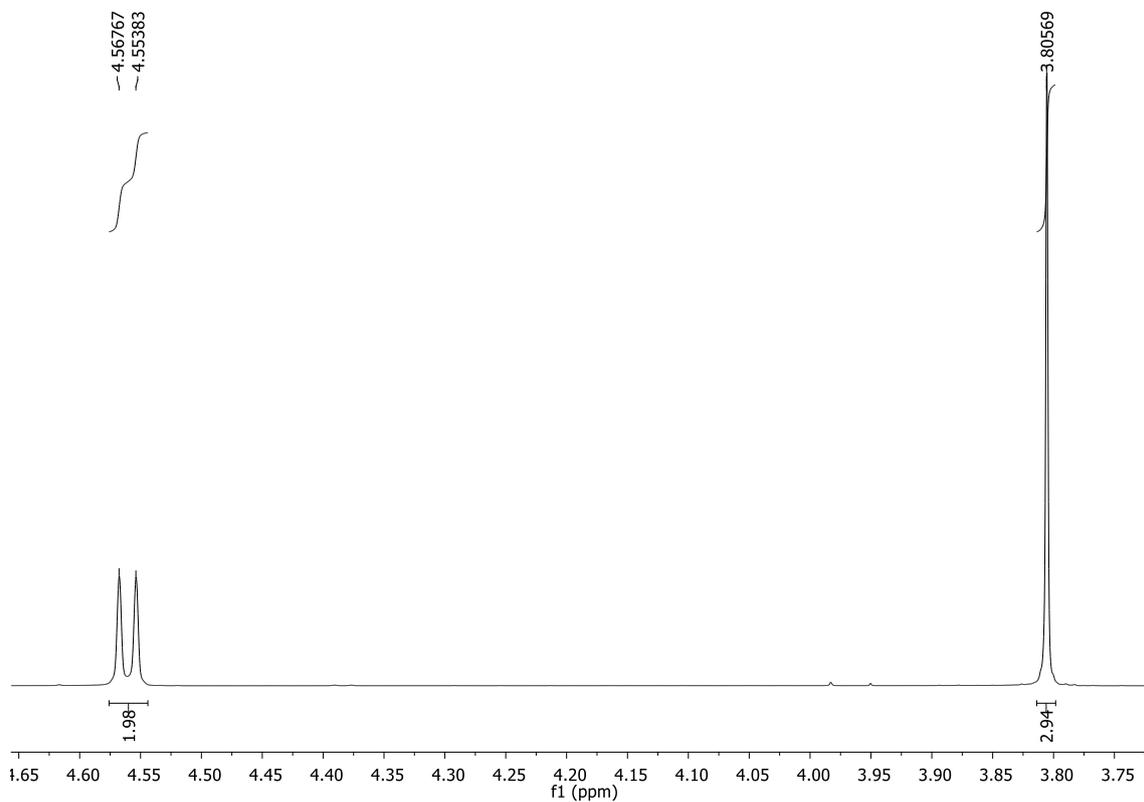


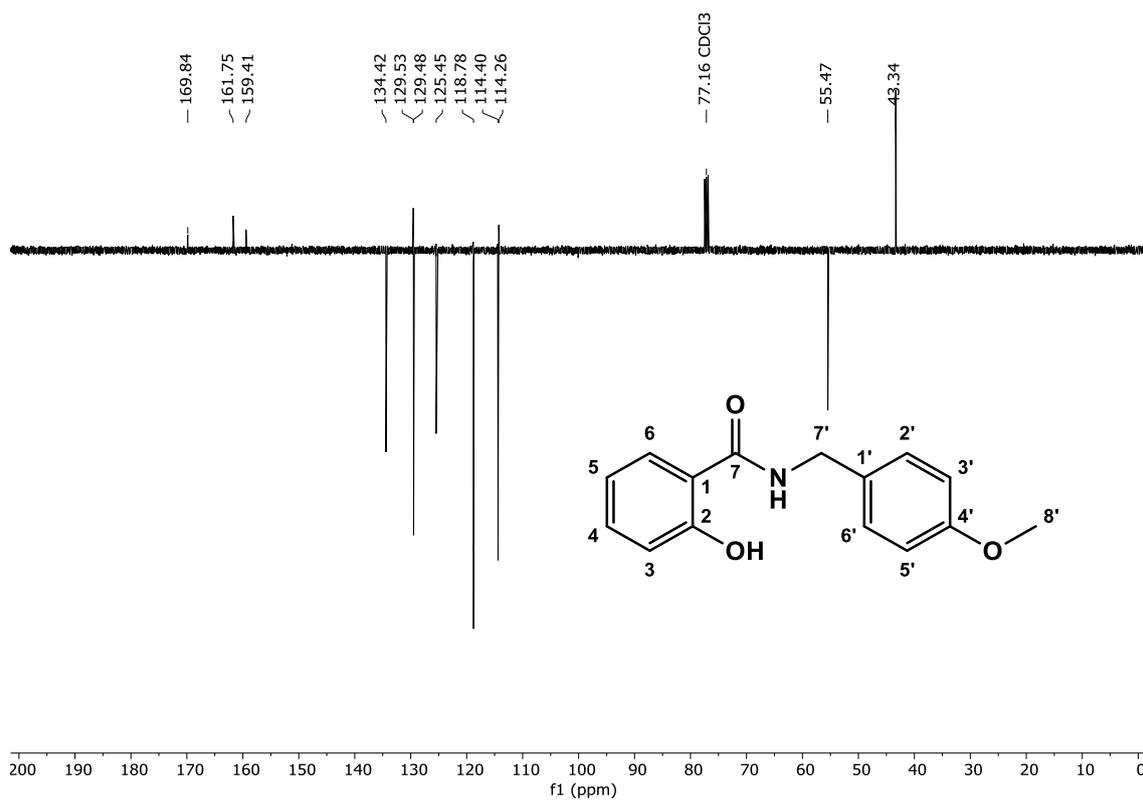
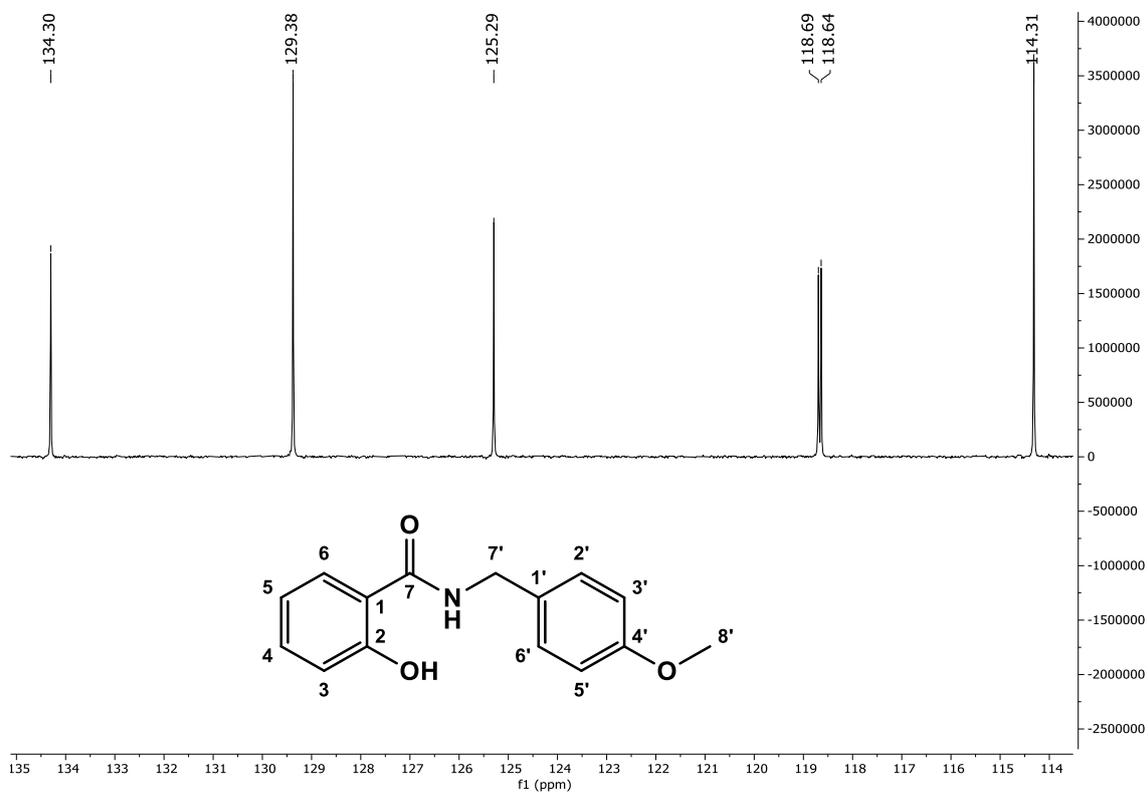
Figura 127. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**18**), (100 MHz, CDCl_3).**Figura 128.** Espectro de DEPT 135 de *N*-4-metoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**18**), (125 MHz, CDCl_3).

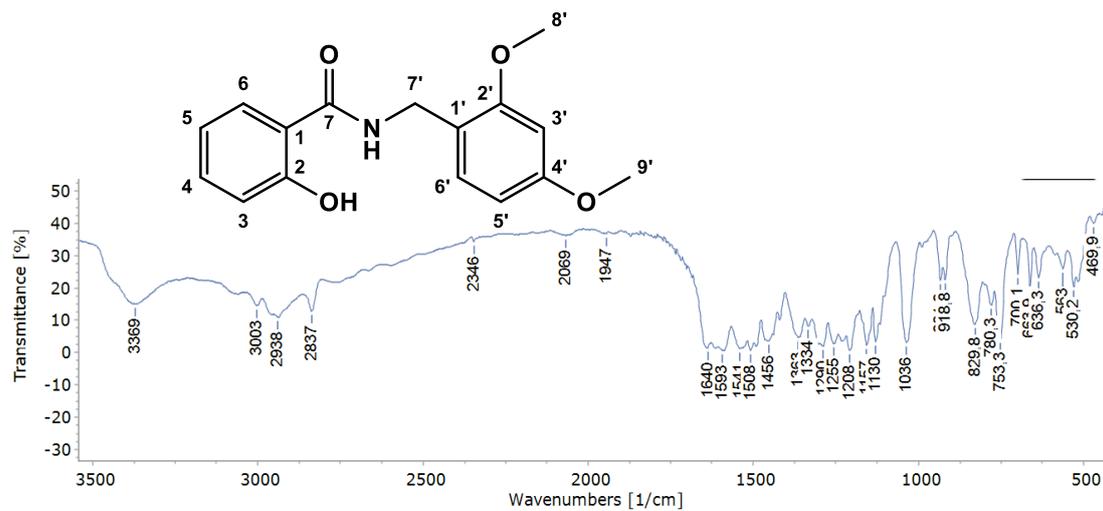
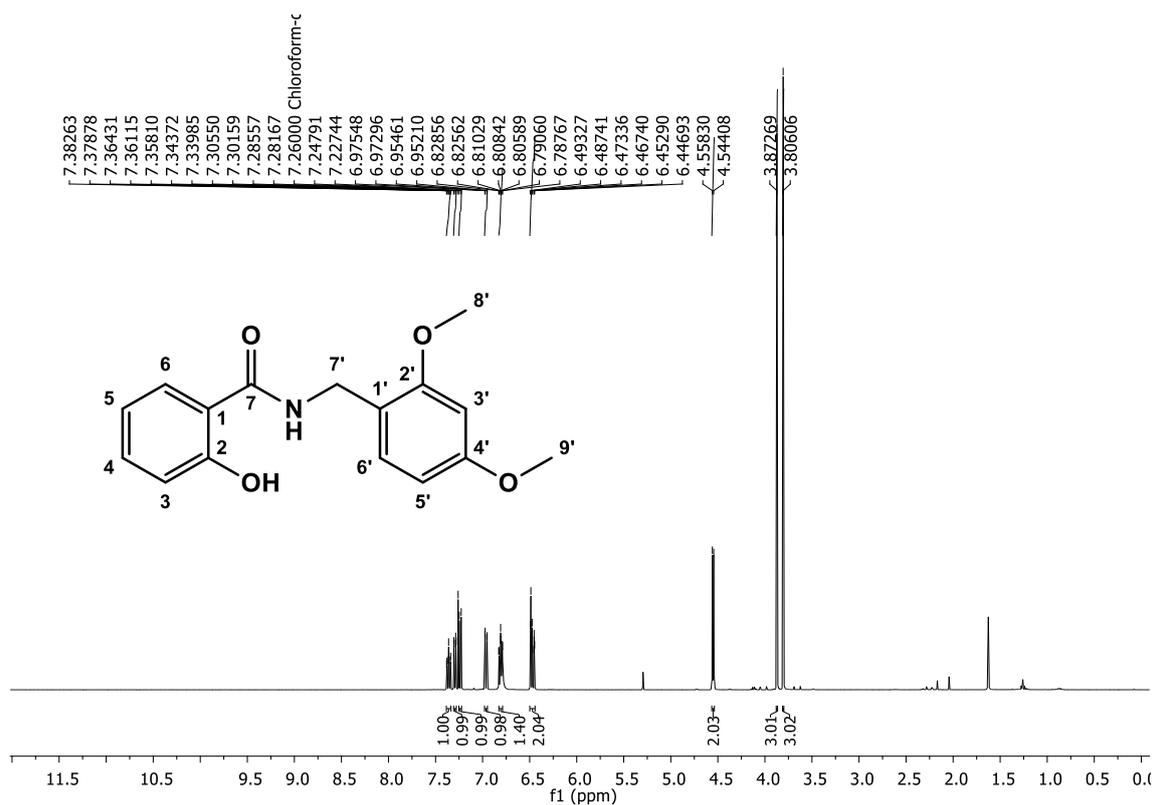
Figura 129. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**19**).**Figura 130.** Espectro de RMN ^1H de *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**19**), (400 MHz, CDCl_3).

Figura 131. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**19**), (400 MHz, CDCl_3).

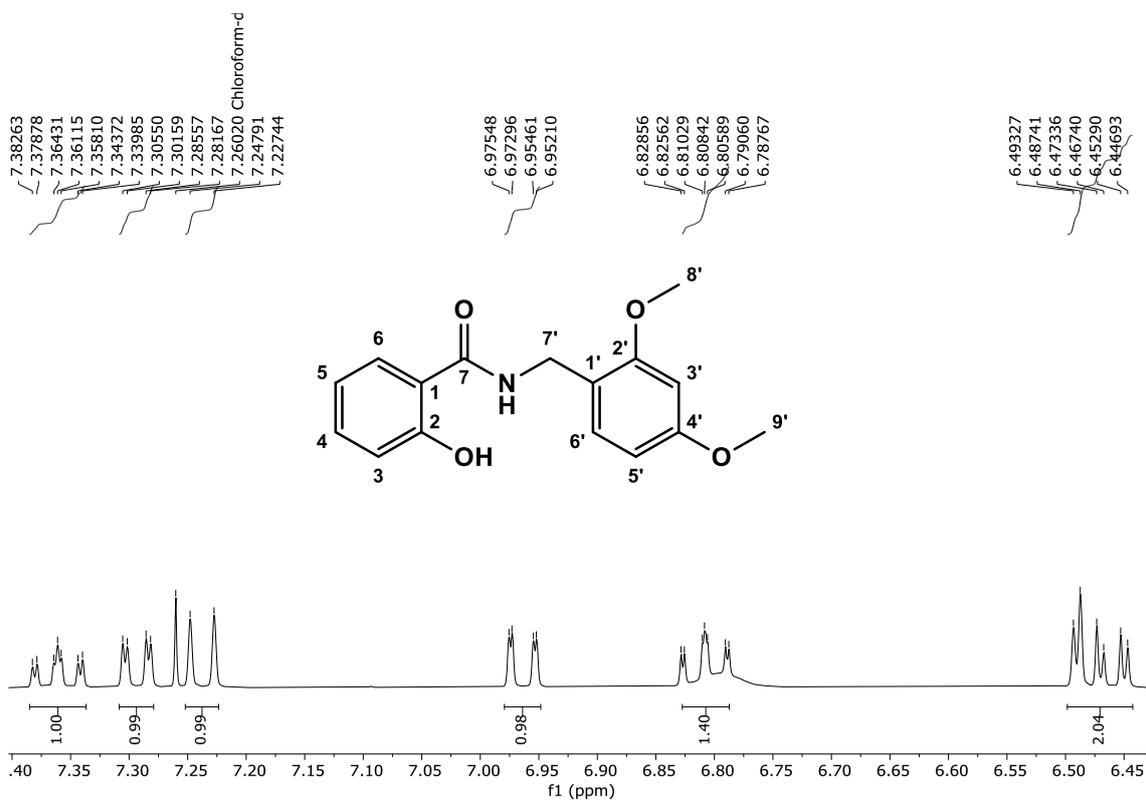


Figura 132. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**19**), (400 MHz, CDCl_3).

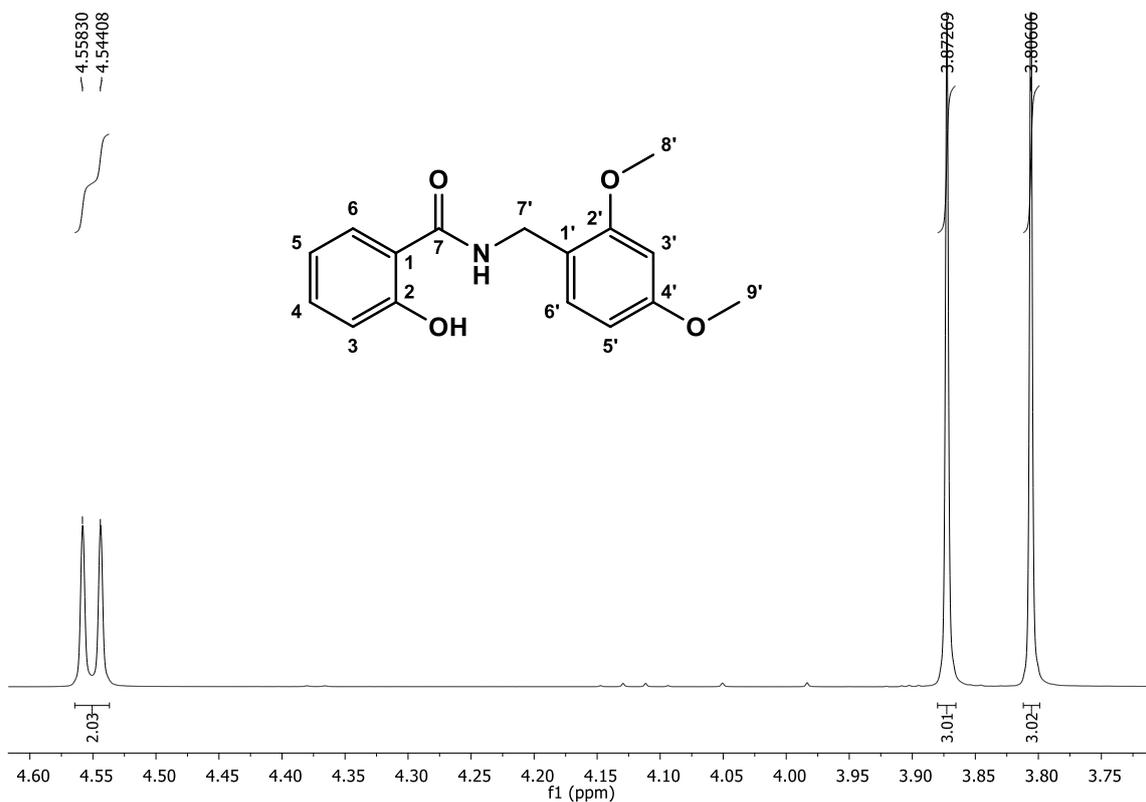


Figura 133. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-2,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**19**), (100 MHz, CDCl_3).

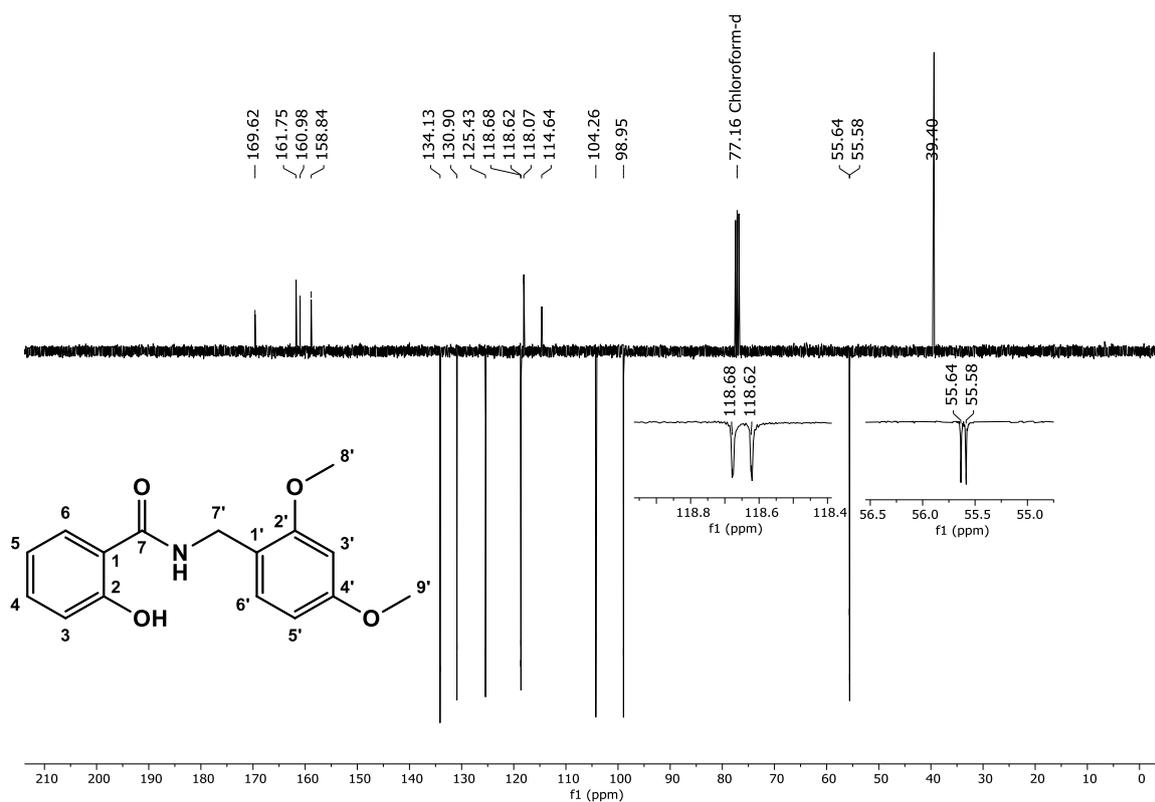


Figura 134. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxibenzamida (**20**).

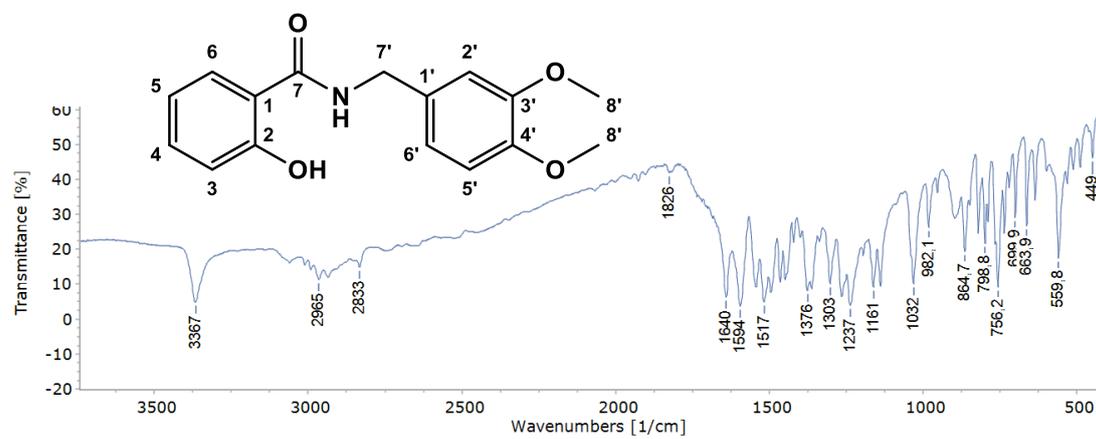


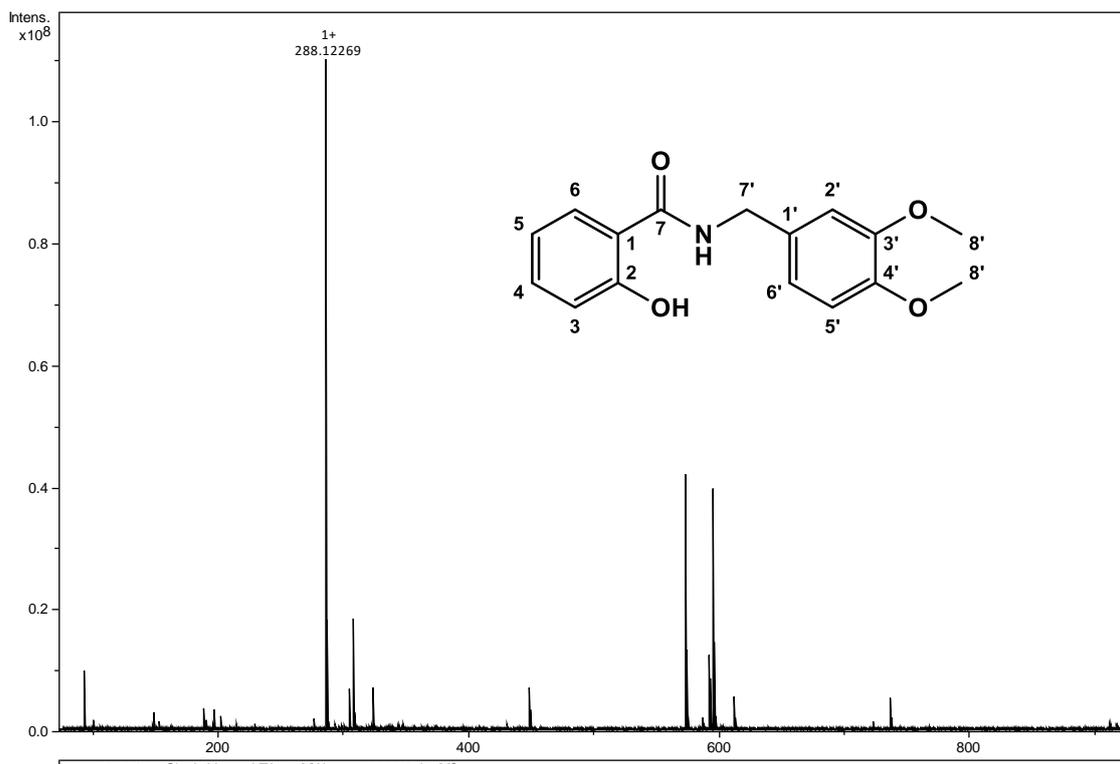
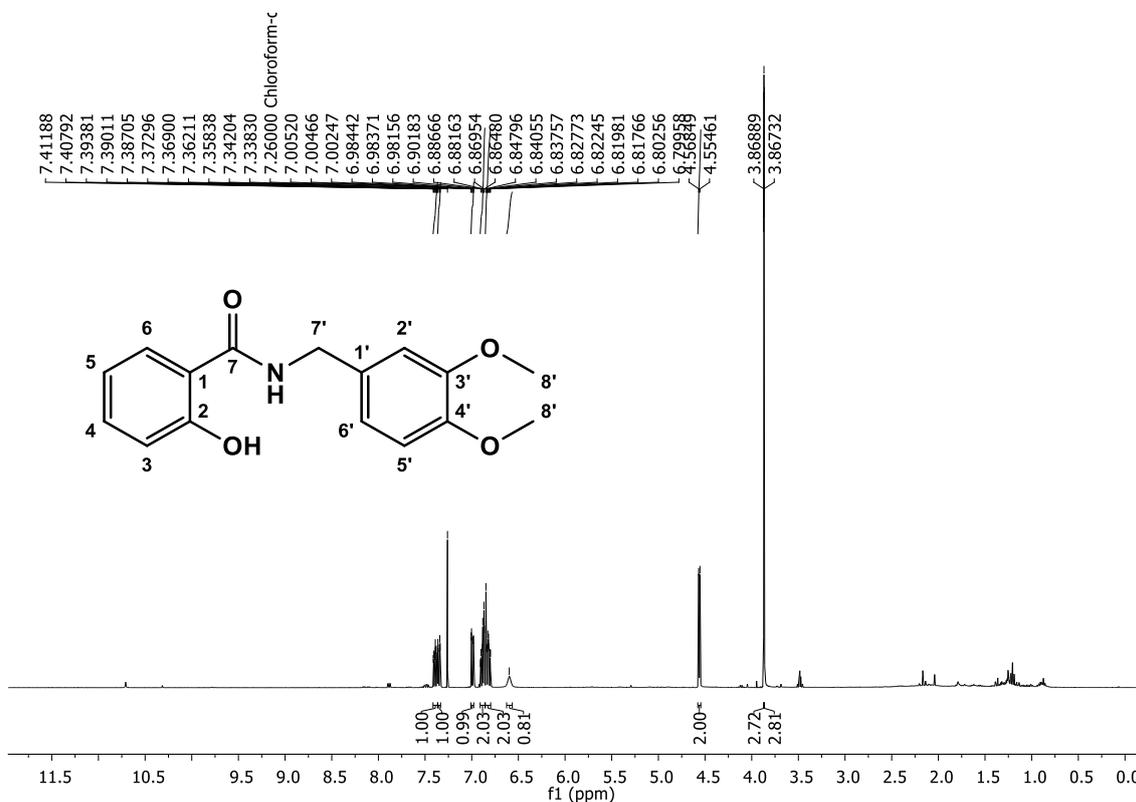
Figura 135. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo ESI de *N*-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (**20**).**Figura 136.** Espectro de RMN ^1H de *N*-3,4-dimetoxibenzil-2-hidroxi-benzamida (**20**), (CDCl_3 , 400 MHz).

Figura 137. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxibenzamida (**20**), (CDCl_3 , 400 MHz).

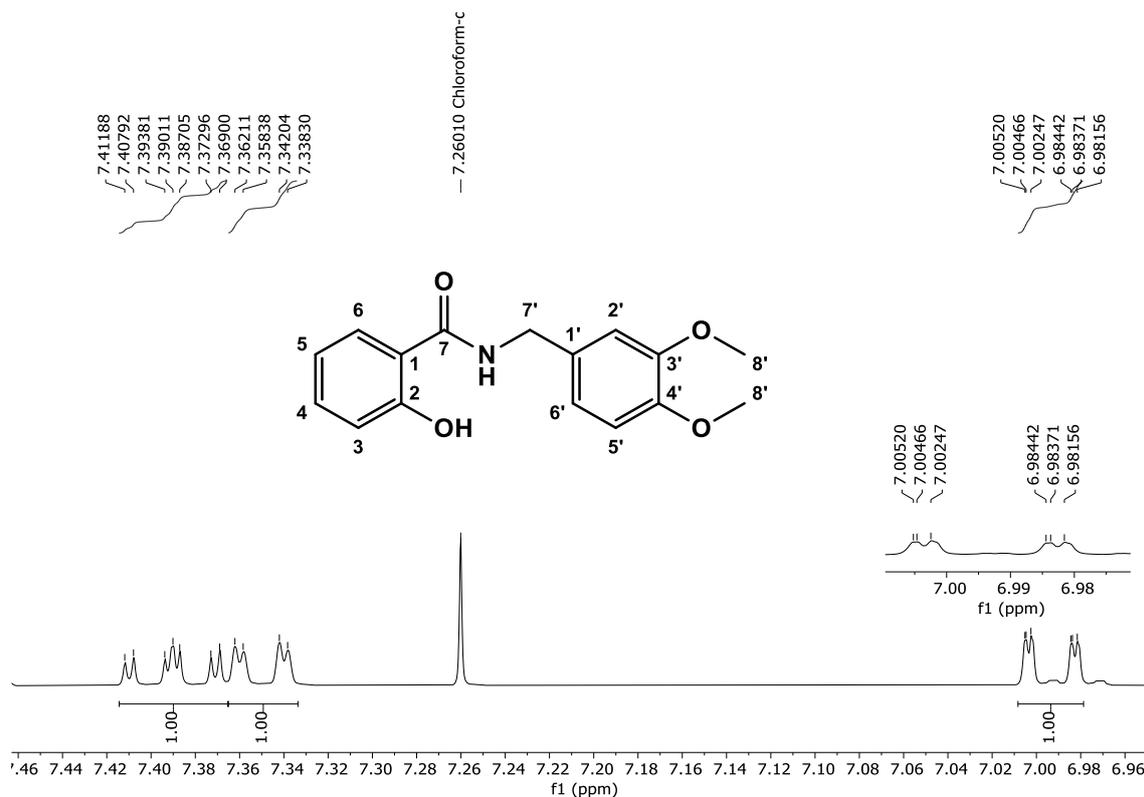


Figura 138. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxibenzamida (**20**), (CDCl_3 , 400 MHz).

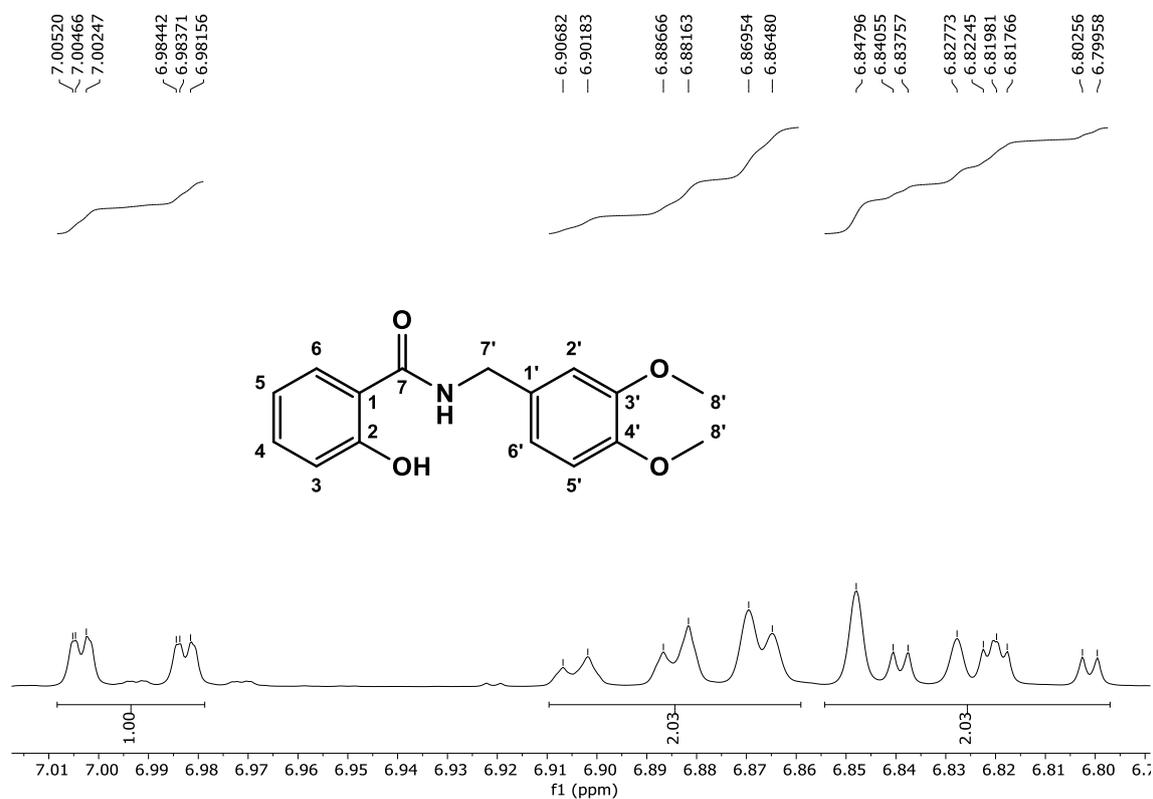


Figura 139. Expansão de espectro de RMN ^1H de *N*-3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxibenzamida (**20**), (CDCl_3 , 400 MHz).

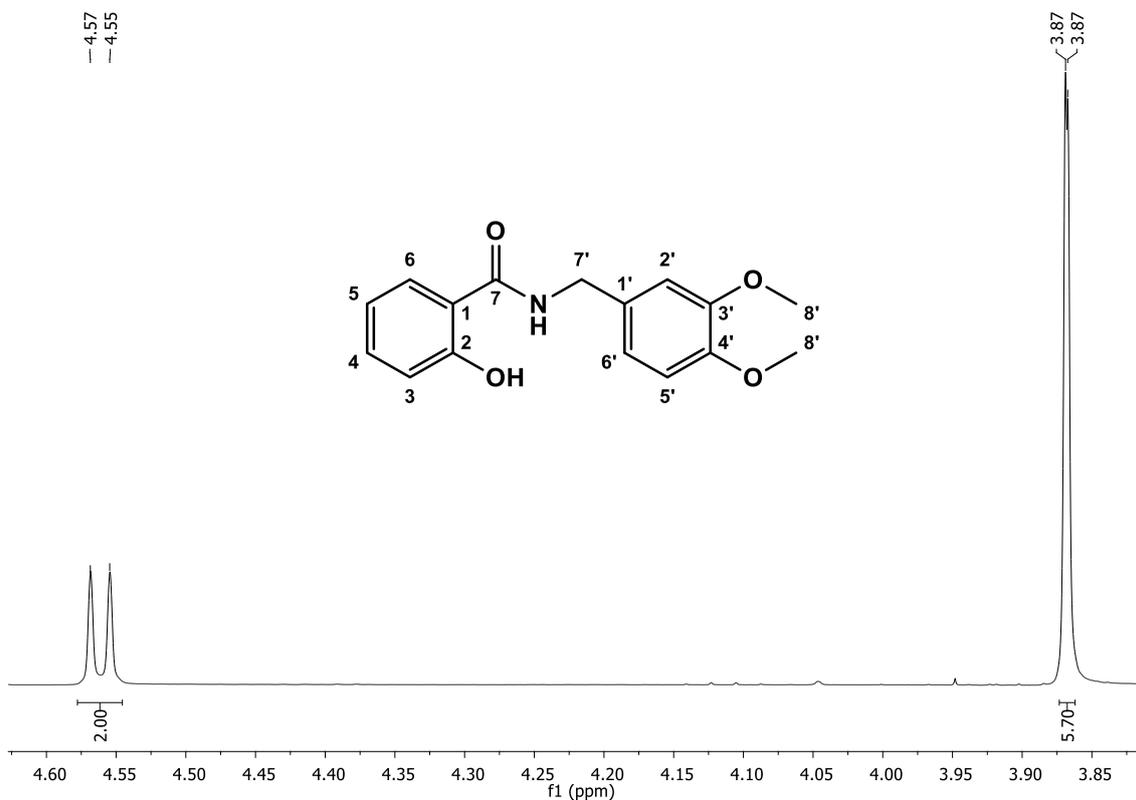


Figura 140. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-3,4-dimetoxibenzila-2-hidroxibenzamida (**20**), (CDCl_3 , 100 MHz).

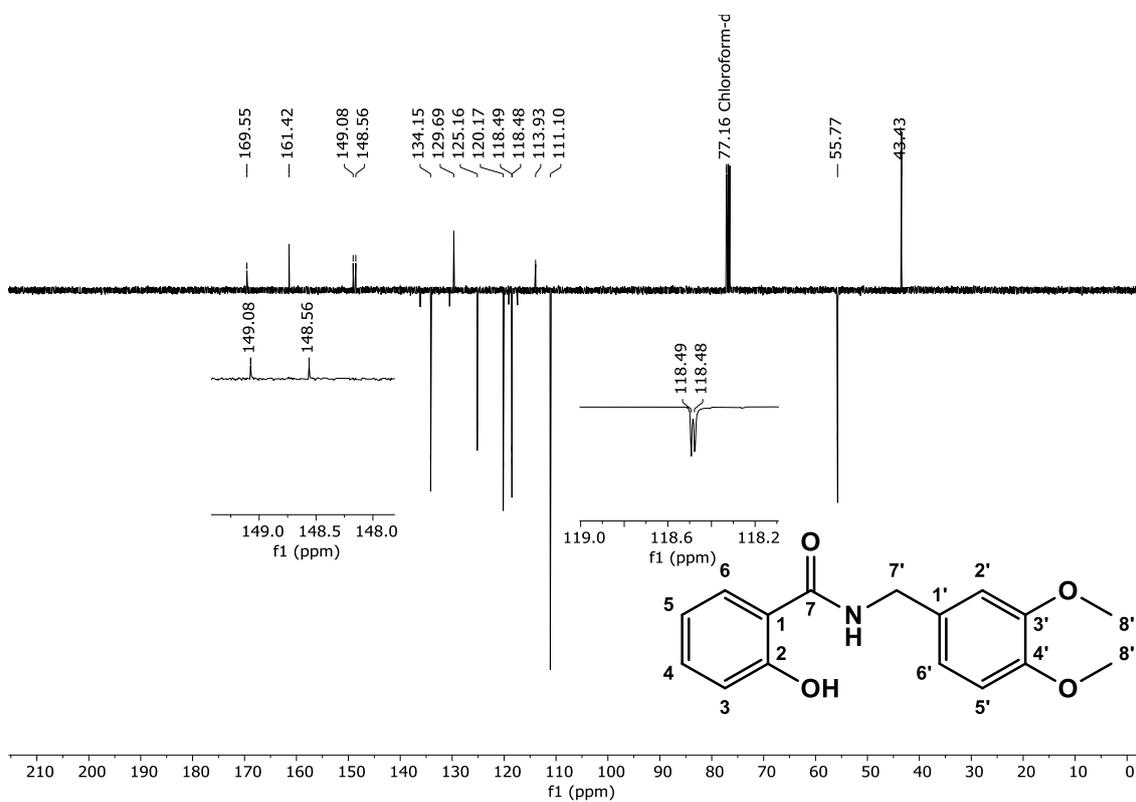


Figura 141. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (**21**).

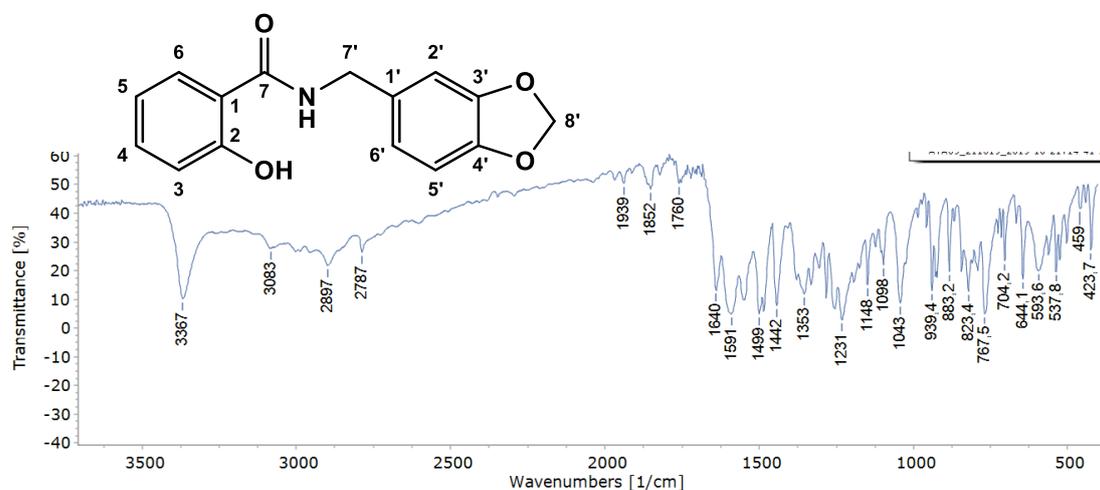


Figura 142. Espectro de RMN ^1H de *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (**21**), (400 MHz, CDCl_3).

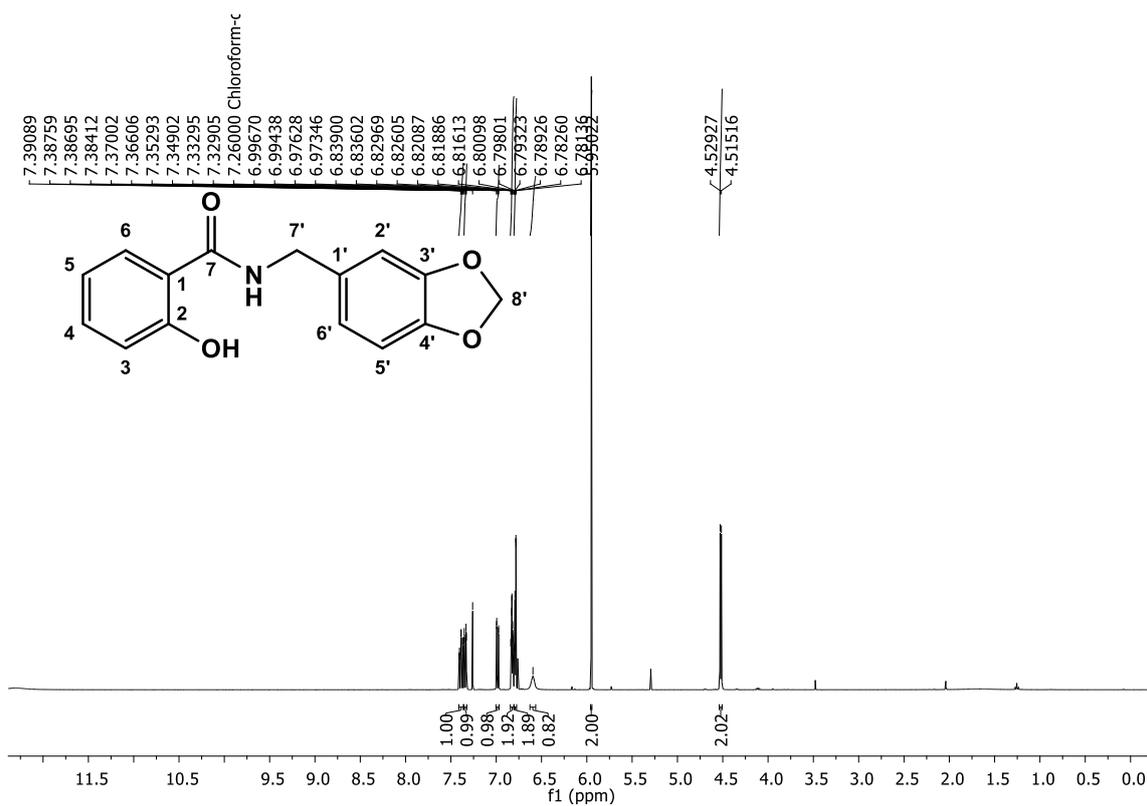


Figura 143. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxibenzamida (**21**), (400 MHz, CDCl_3).

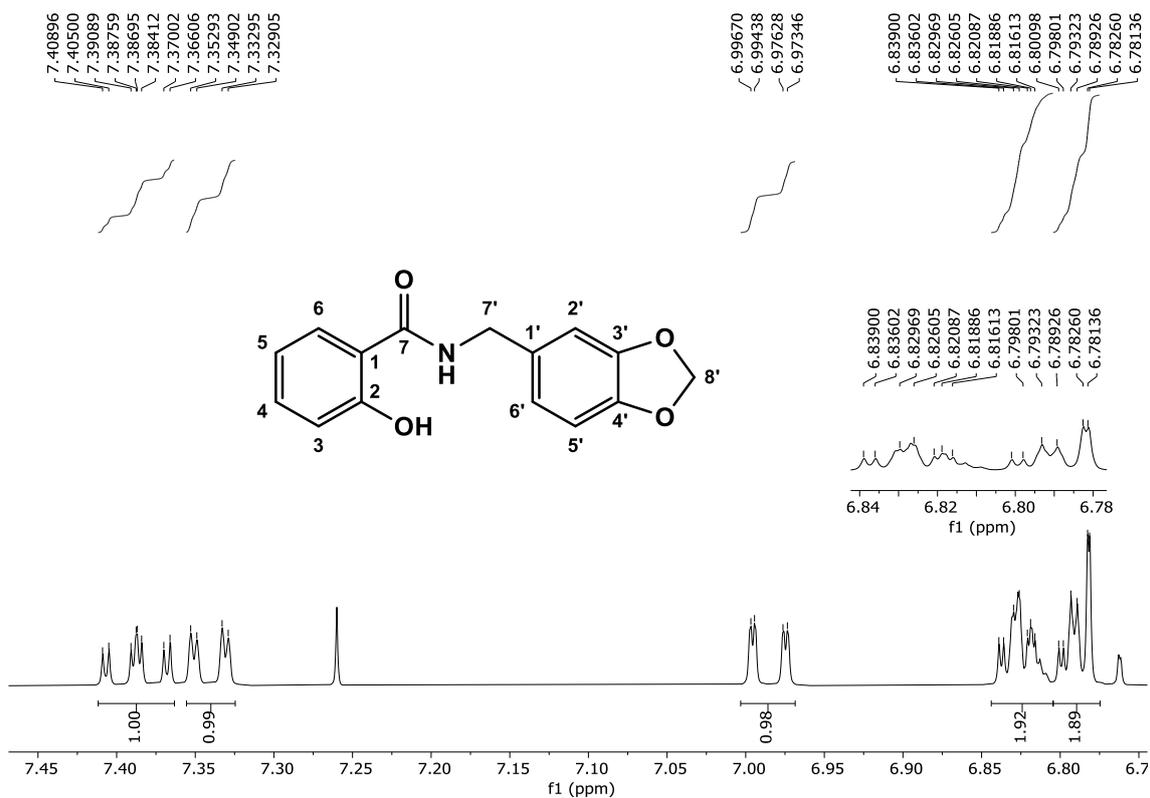


Figura 144. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxibenzamida (**21**), (400 MHz, CDCl_3).

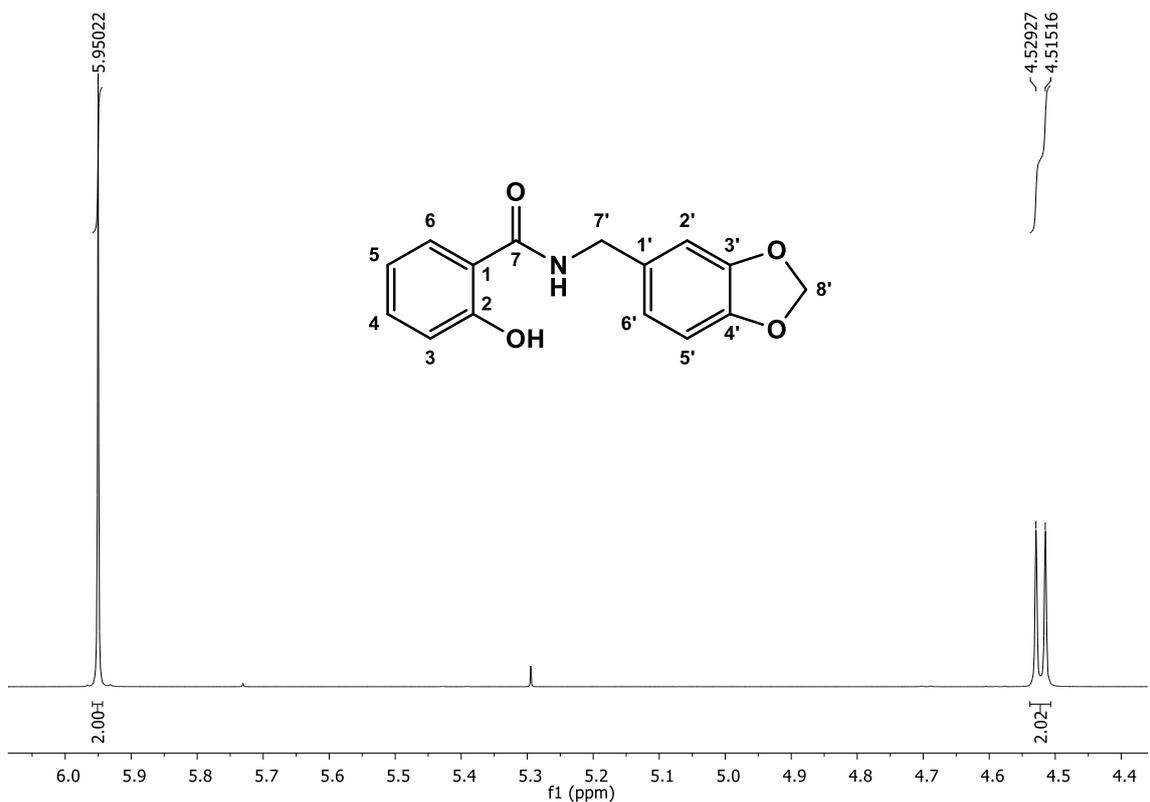


Figura 145. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-(benzo[*d*][1,3]dioxol-5-ilmetil)-2-hidroxi-benzamida (**21**), (100 MHz, CDCl_3).

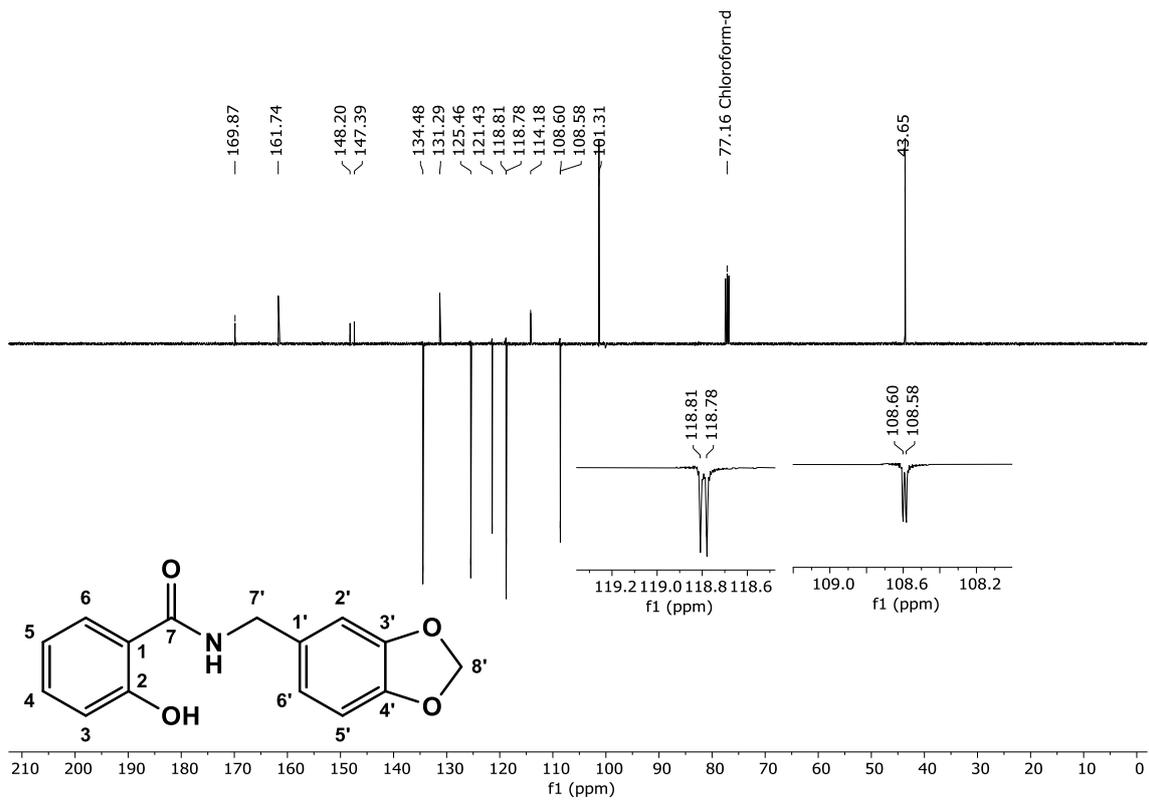


Figura 146. Espectro de Infravermelho (KBr , cm^{-1}) de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxi-benzamida (**22**).

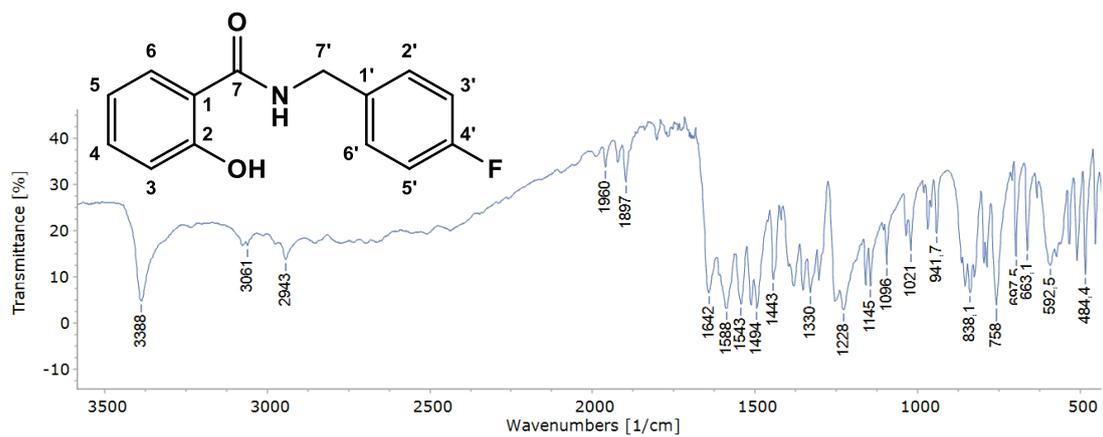


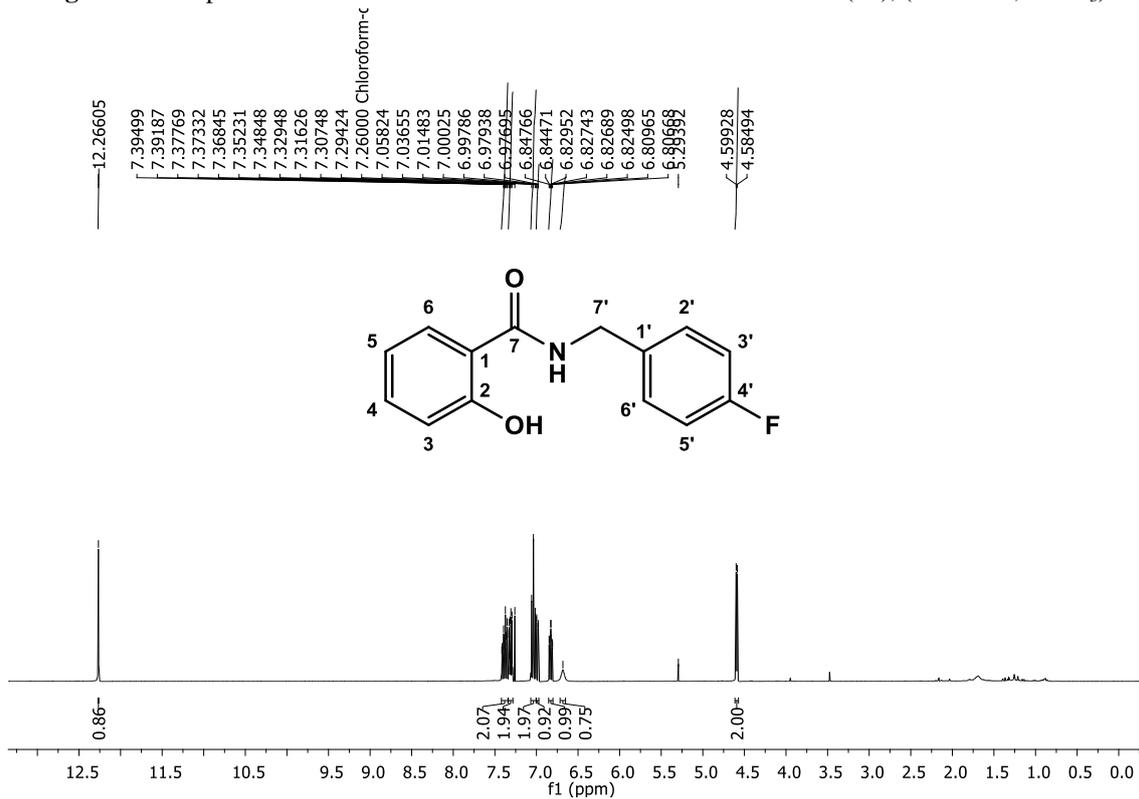
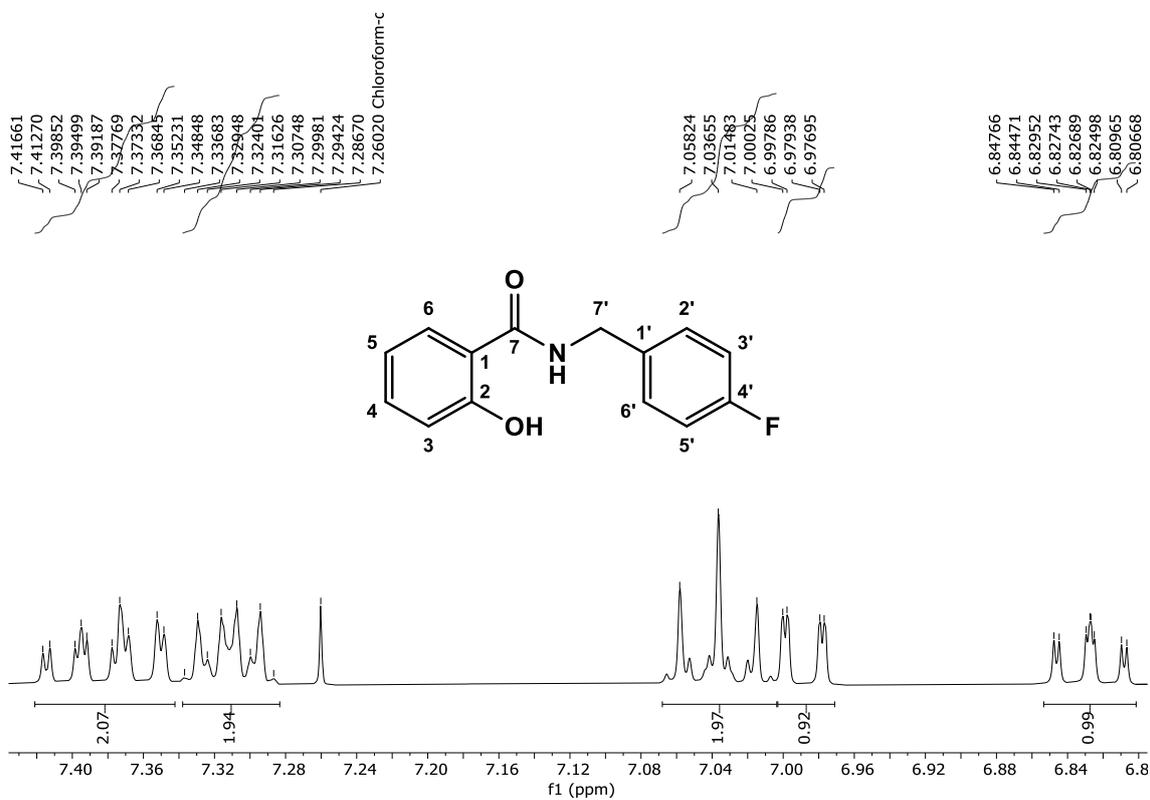
Figura 147. Espectro de RMN ^1H de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (**22**), (400 MHz, CDCl_3).**Figura 148.** Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (**22**), (400 MHz, CDCl_3).

Figura 149. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (**22**), (400 MHz, CDCl_3).

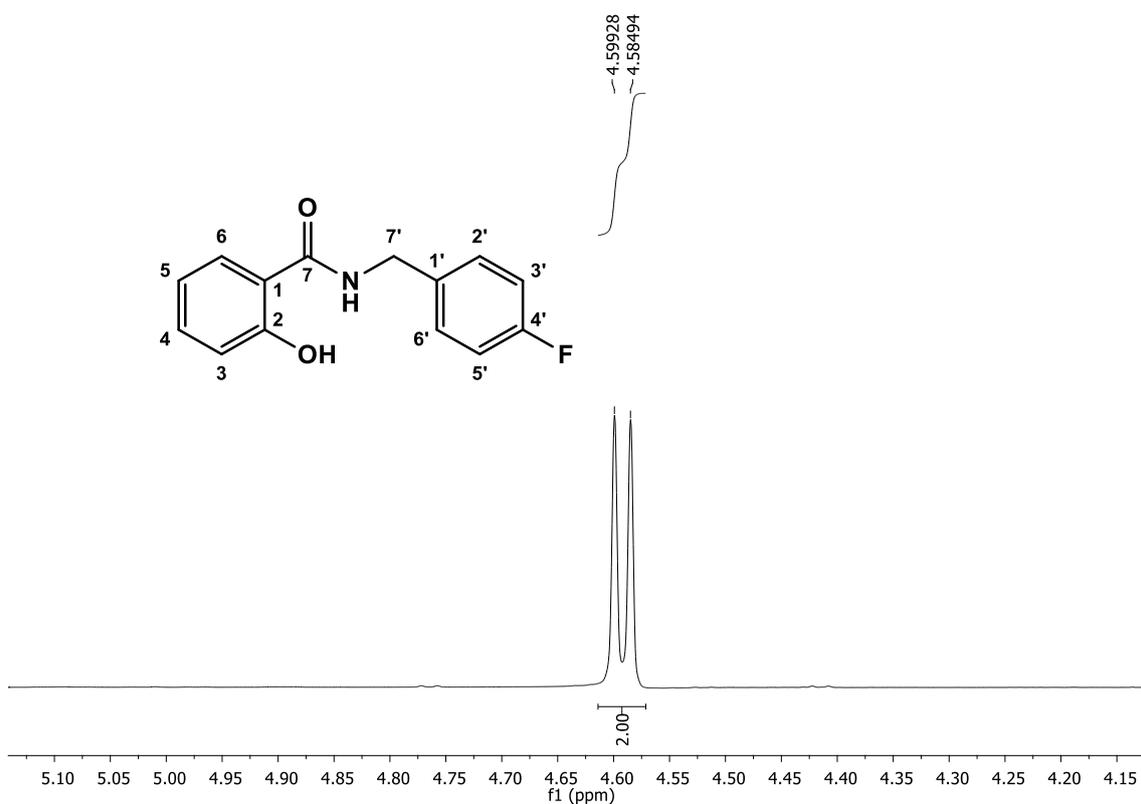


Figura 150. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (**22**), (100 MHz, CDCl_3).

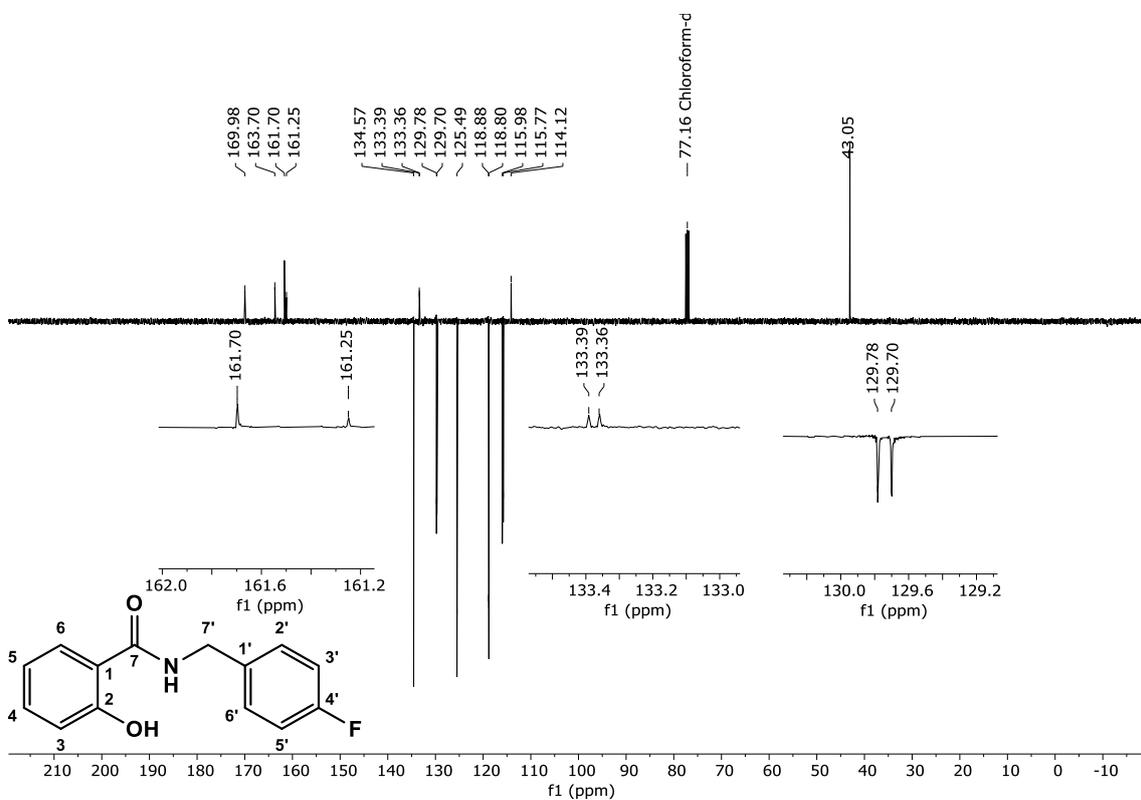


Figura 151. Expansão do espectro de RMN ^{13}C de *N*-4-fluorbenzil-2-hidroxibenzamida (**22**), (100 MHz, CDCl_3).

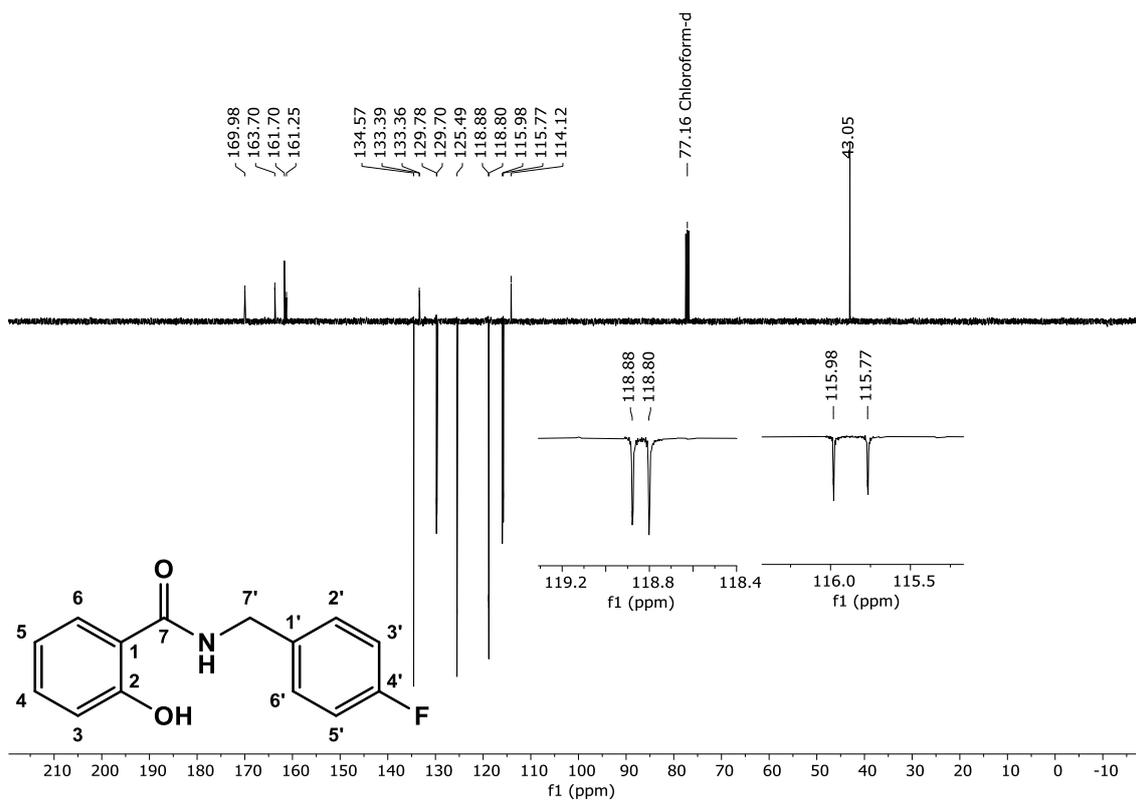


Figura 152. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**).

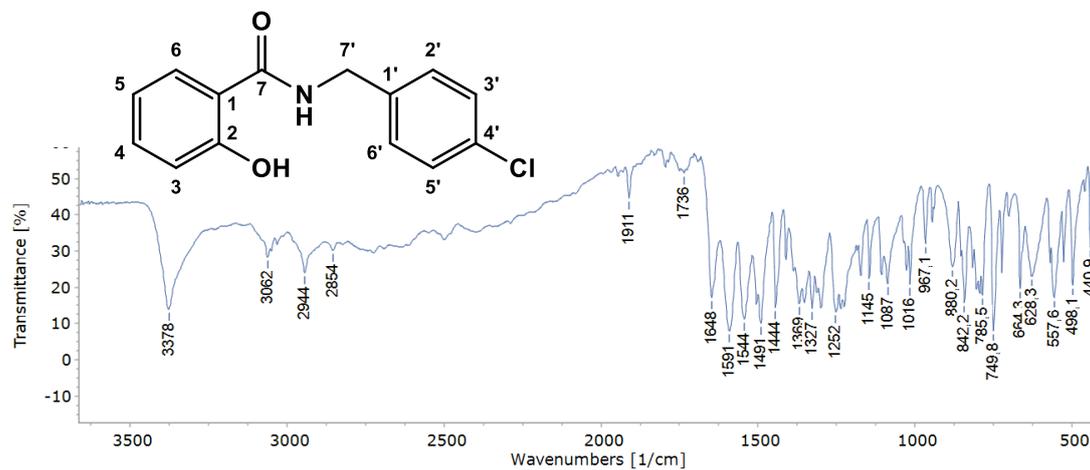


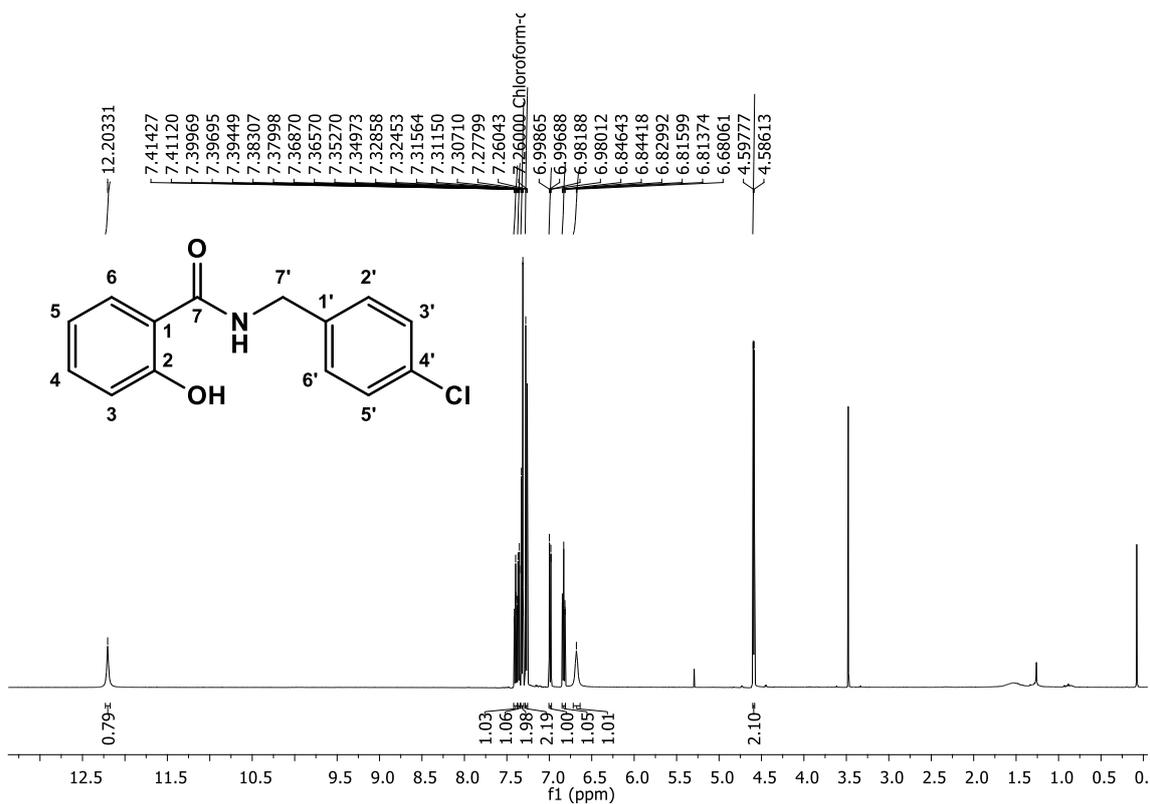
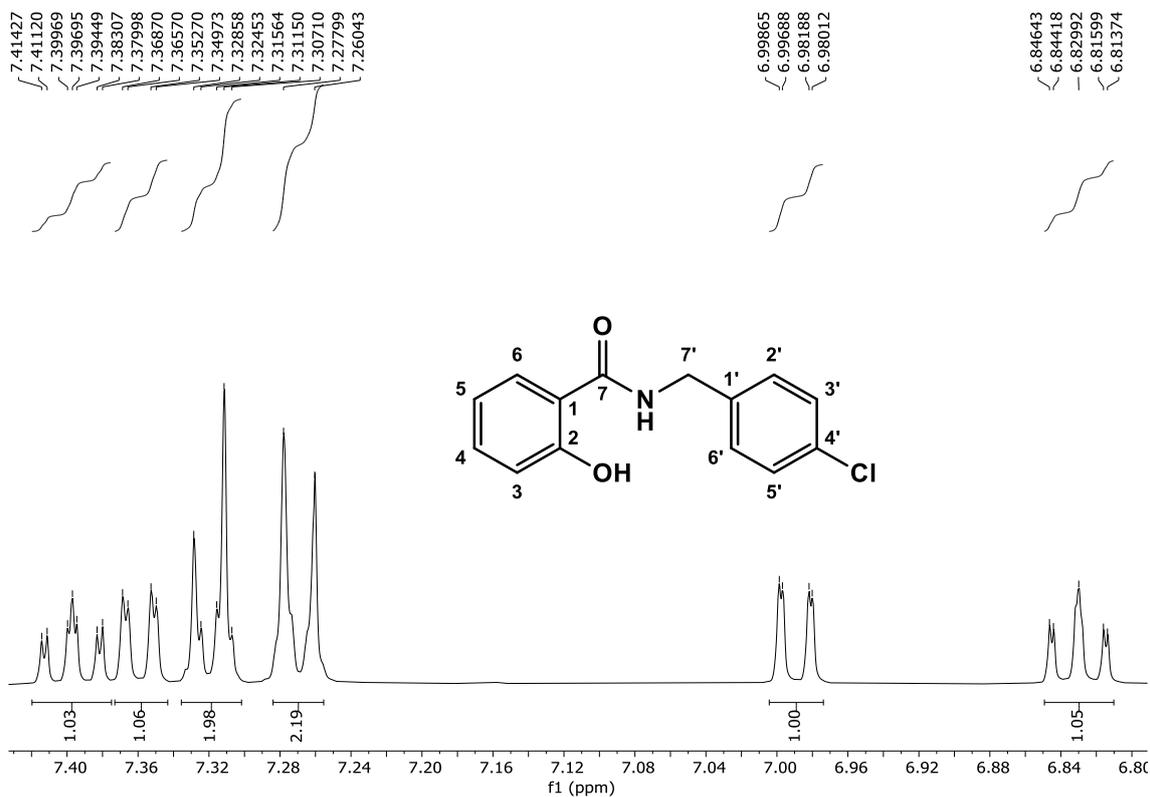
Figura 153. Espectro de RMN ^1H de *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**), (500 MHz, CDCl_3).**Figura 154.** Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**), (500 MHz, CDCl_3).

Figura 155. Expansão do espectro de RMN ^1H de *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**), (500 MHz, CDCl_3).

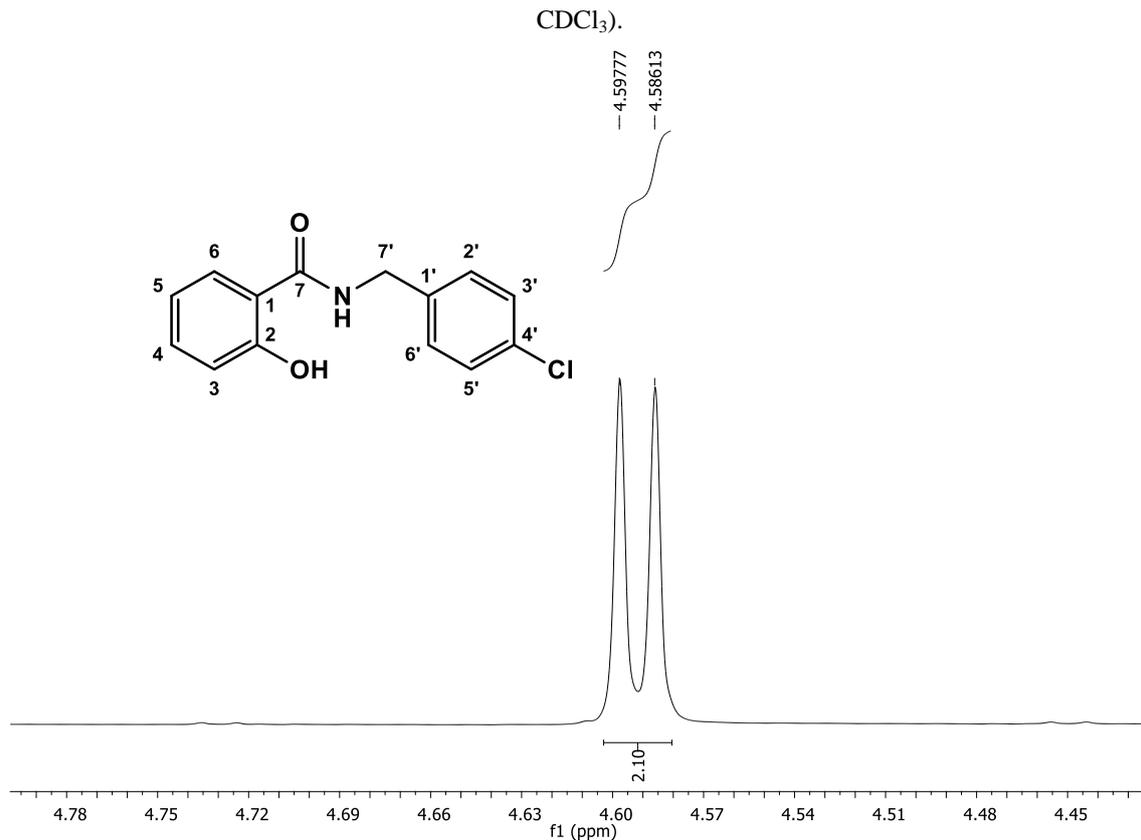


Figura 156. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-4-clorobenzil-2-hidroxibenzamida (**23**), (125 MHz, CDCl_3).

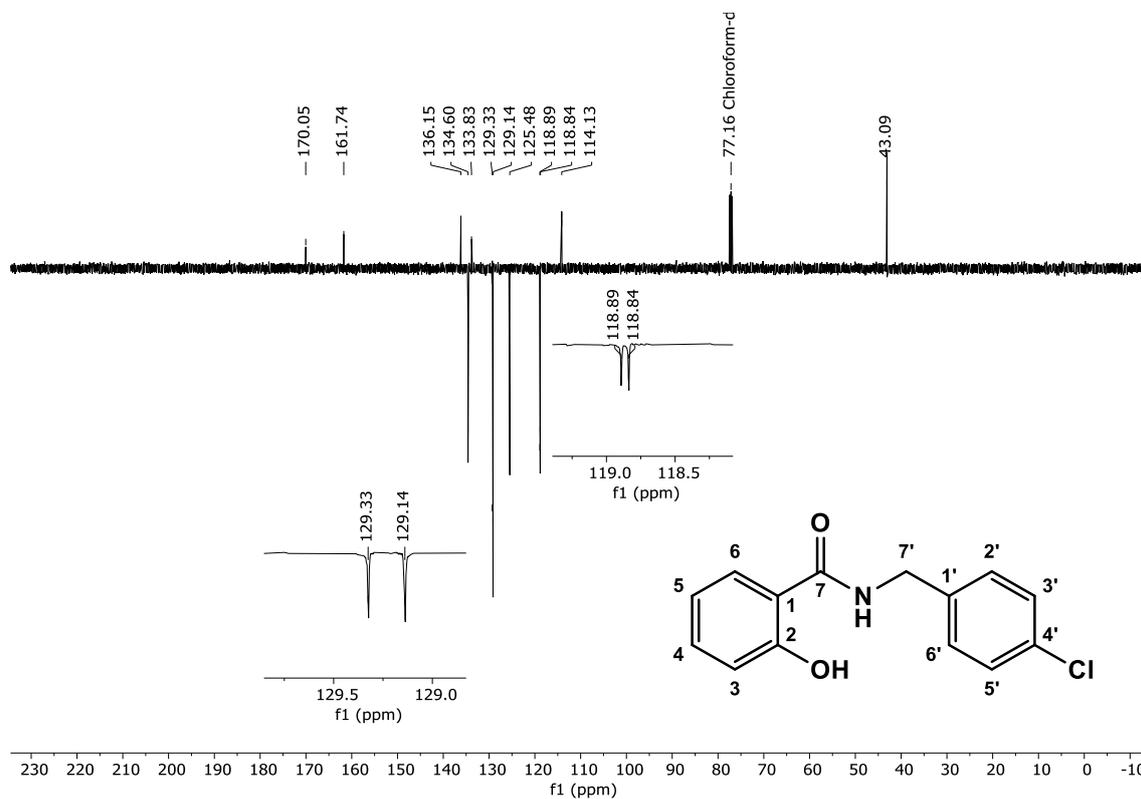


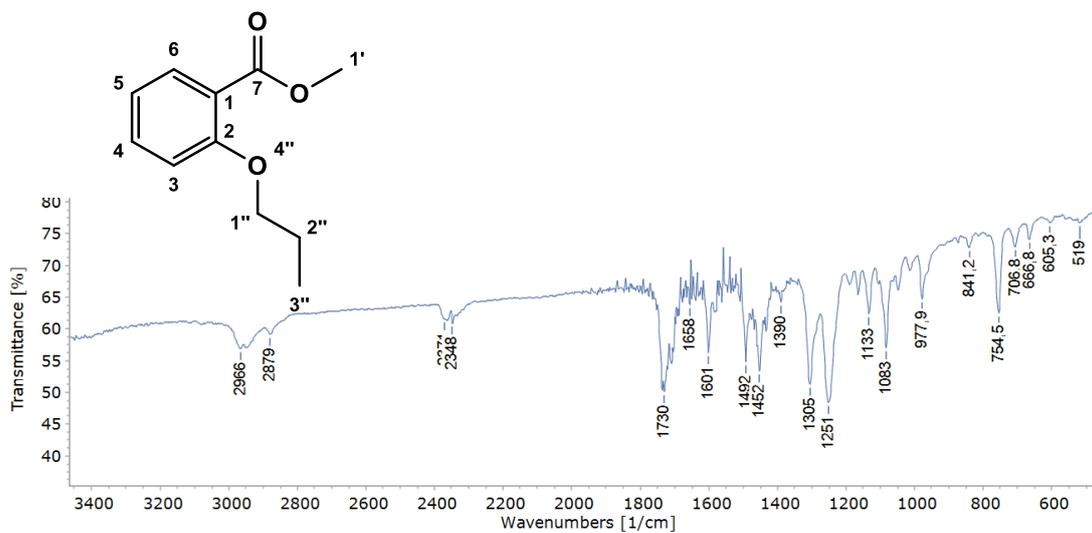
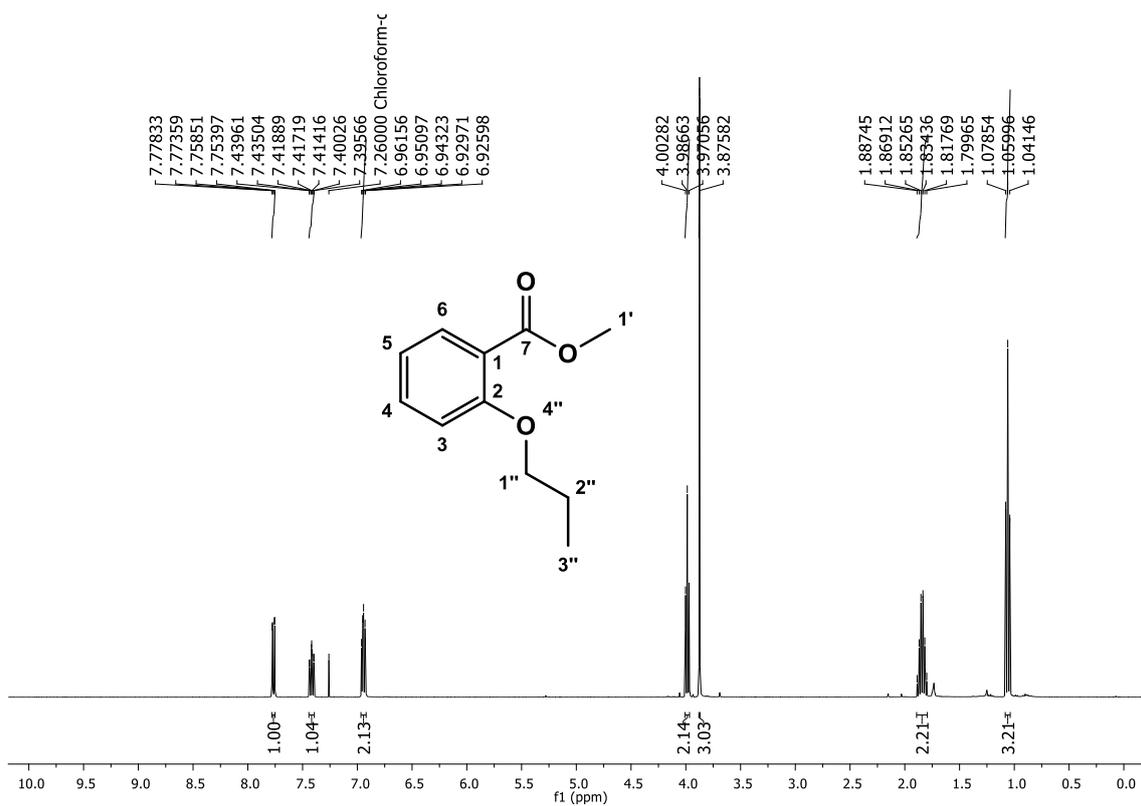
Figura 157. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Benzoato de 2-propoxi de Metila (**24**).**Figura 158.** Espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (**24**), (400 MHz, CDCl_3).

Figura 159. Expansão do espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (**24**), (400 MHz, CDCl_3).

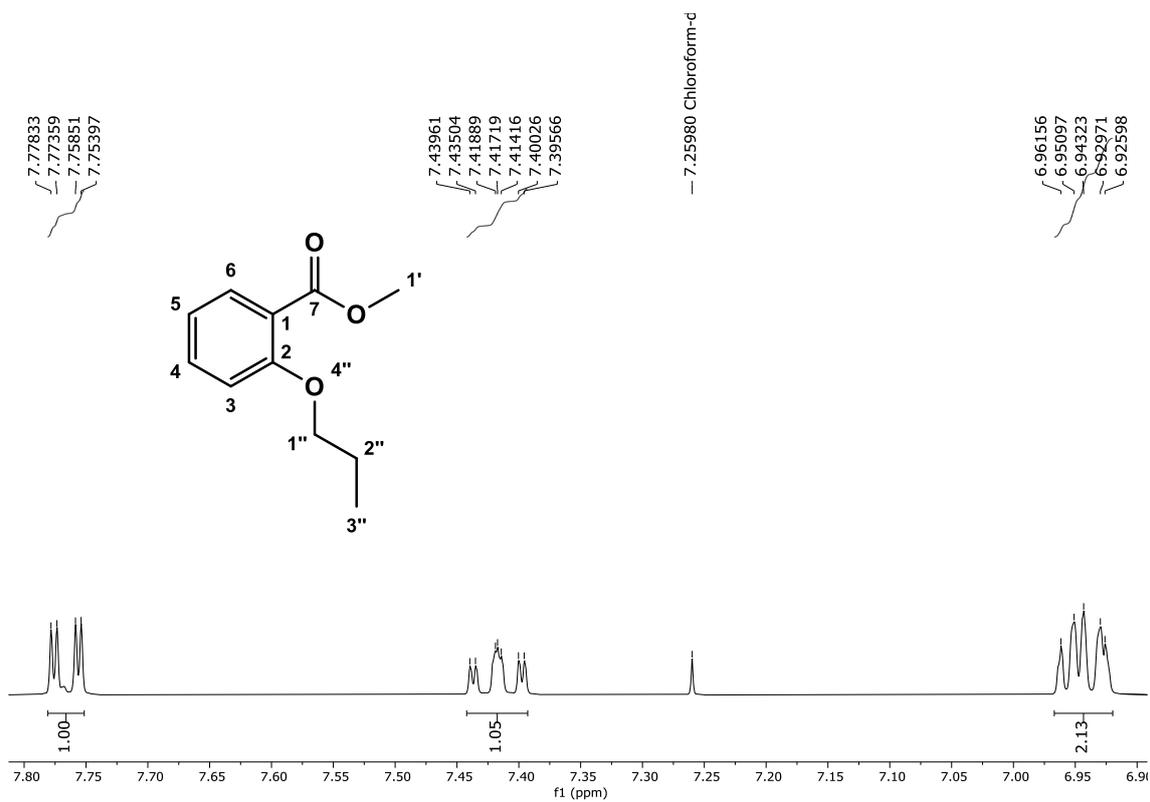


Figura 160. Expansão do espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-propoxi de Metila (**24**), (400 MHz, CDCl_3).

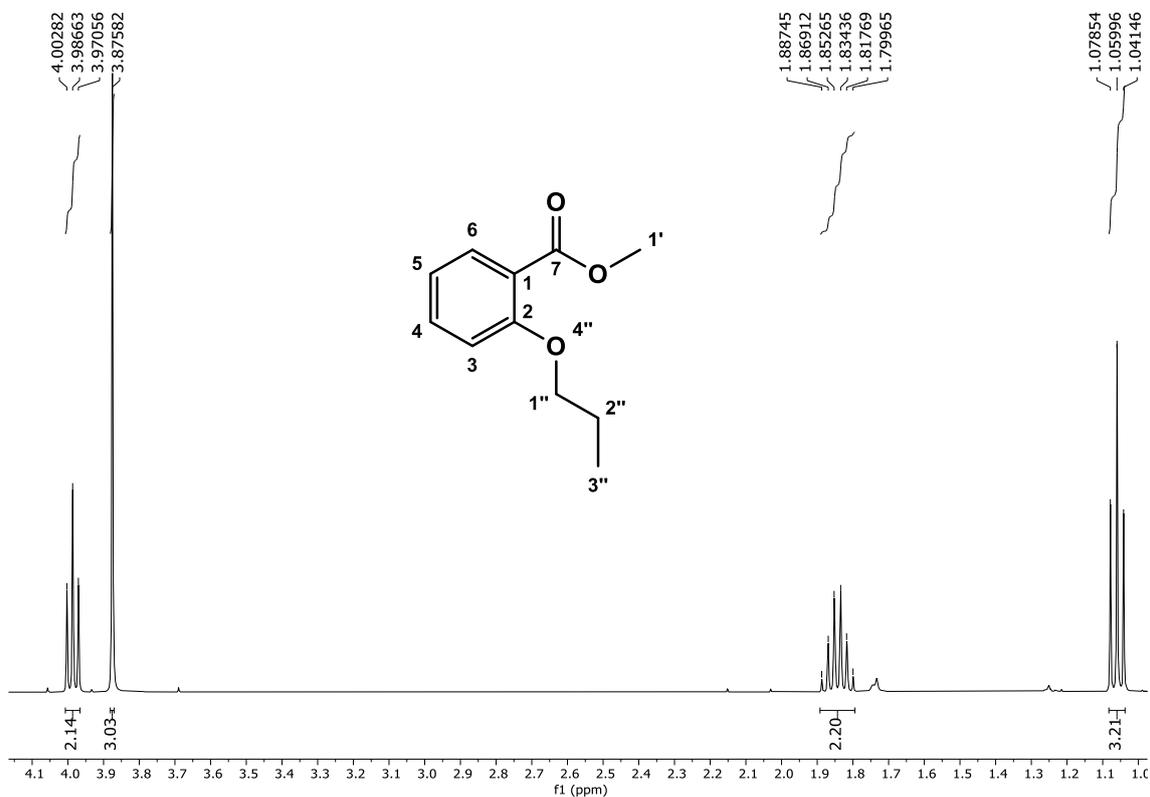


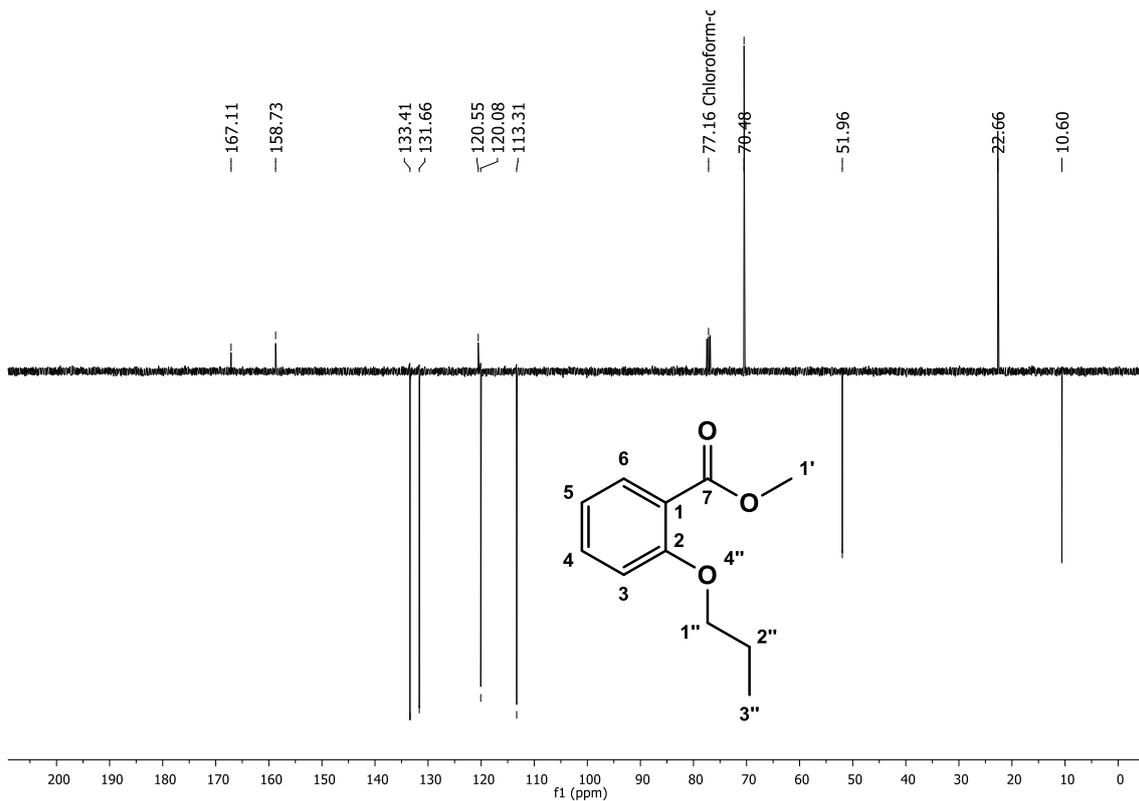
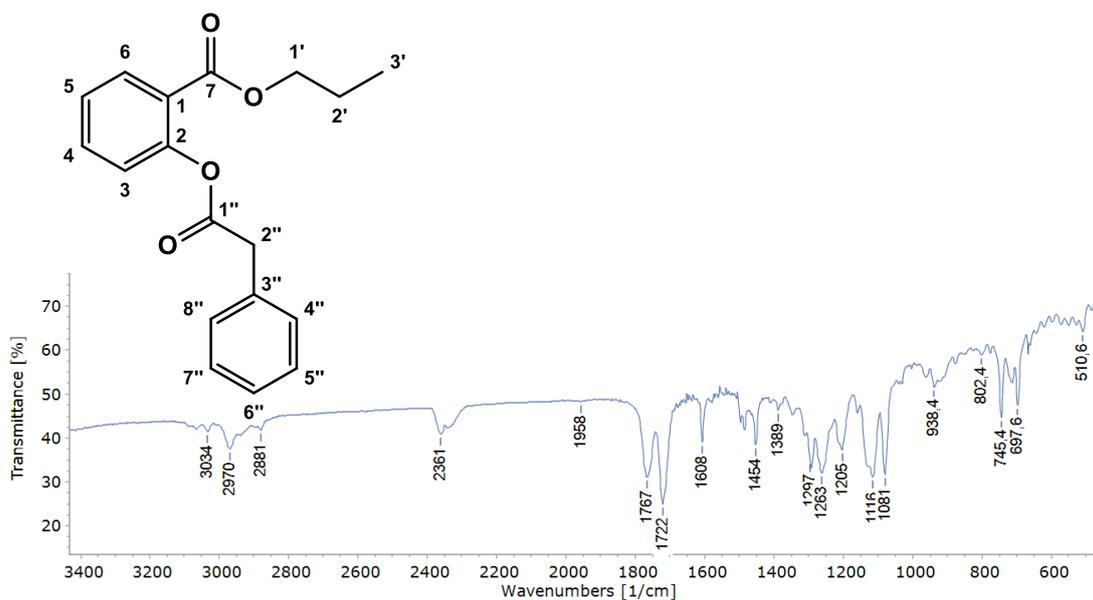
Figura 161. Espectro de RMN ^{13}C de Benzoato de 2-propoxi de Metila (**24**), (100 MHz, CDCl_3).**Figura 162.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**).

Figura 163. Espectrometria de massas de alta resolução do tipo MALDI-TOF de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**).

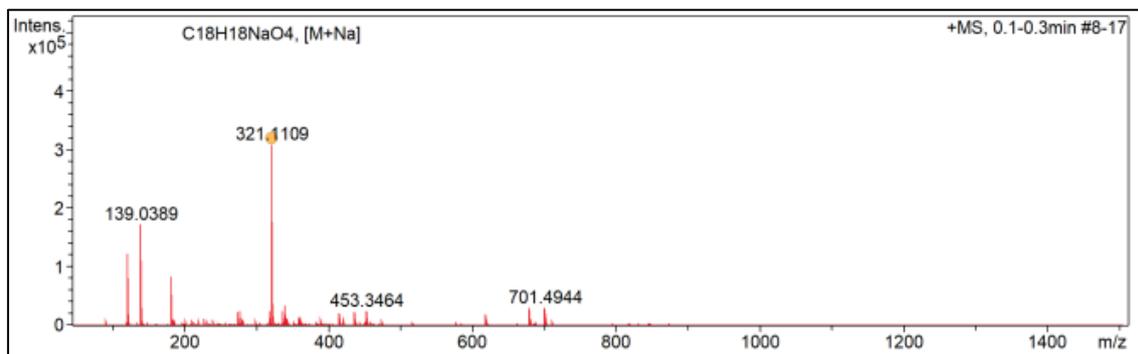


Figura 164. Espectro de RMN ¹H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**), (400 MHz, CDCl₃).

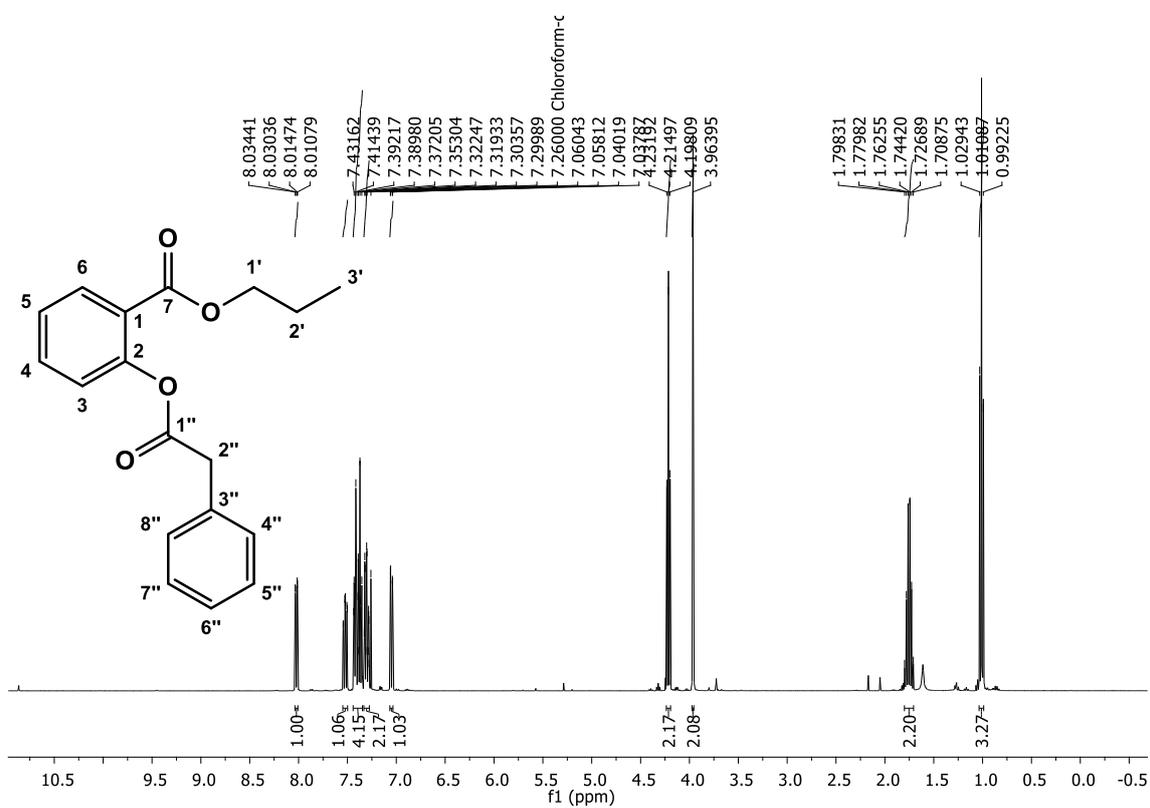


Figura 165. Expansão do espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**), (400 MHz, CDCl_3).

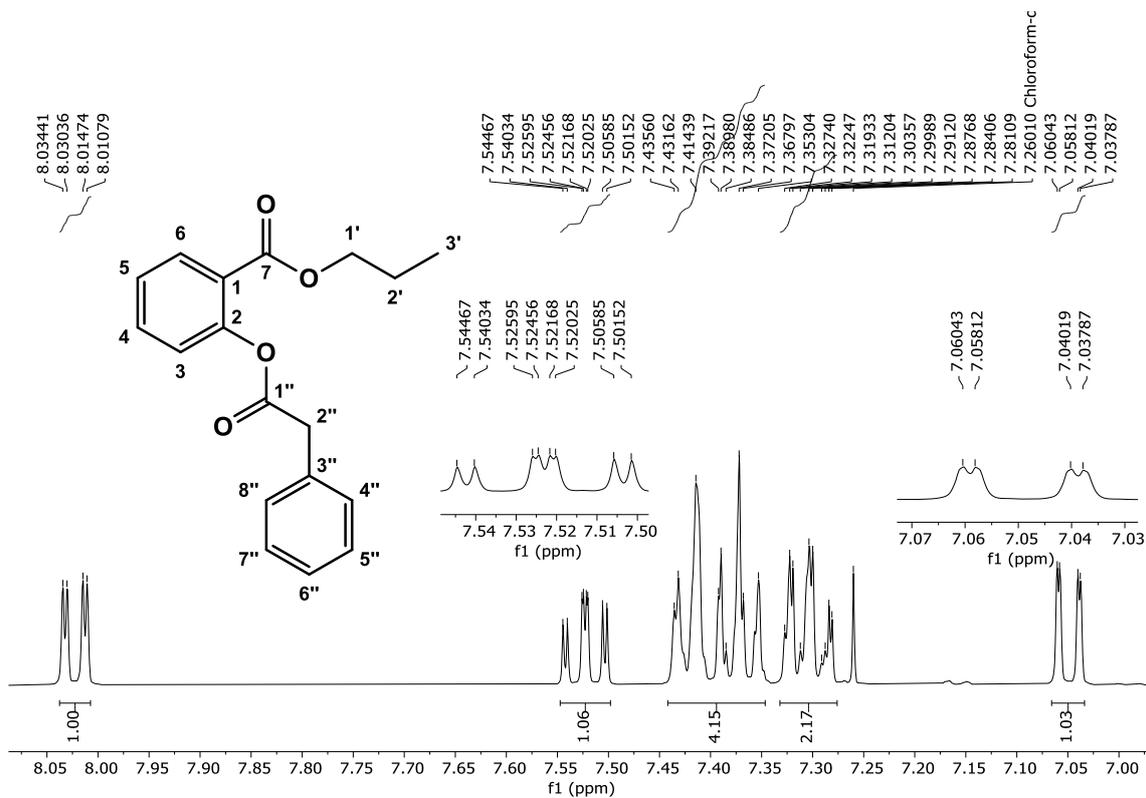


Figura 166. Expansão do espectro de RMN ^1H de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**), (400 MHz, CDCl_3).

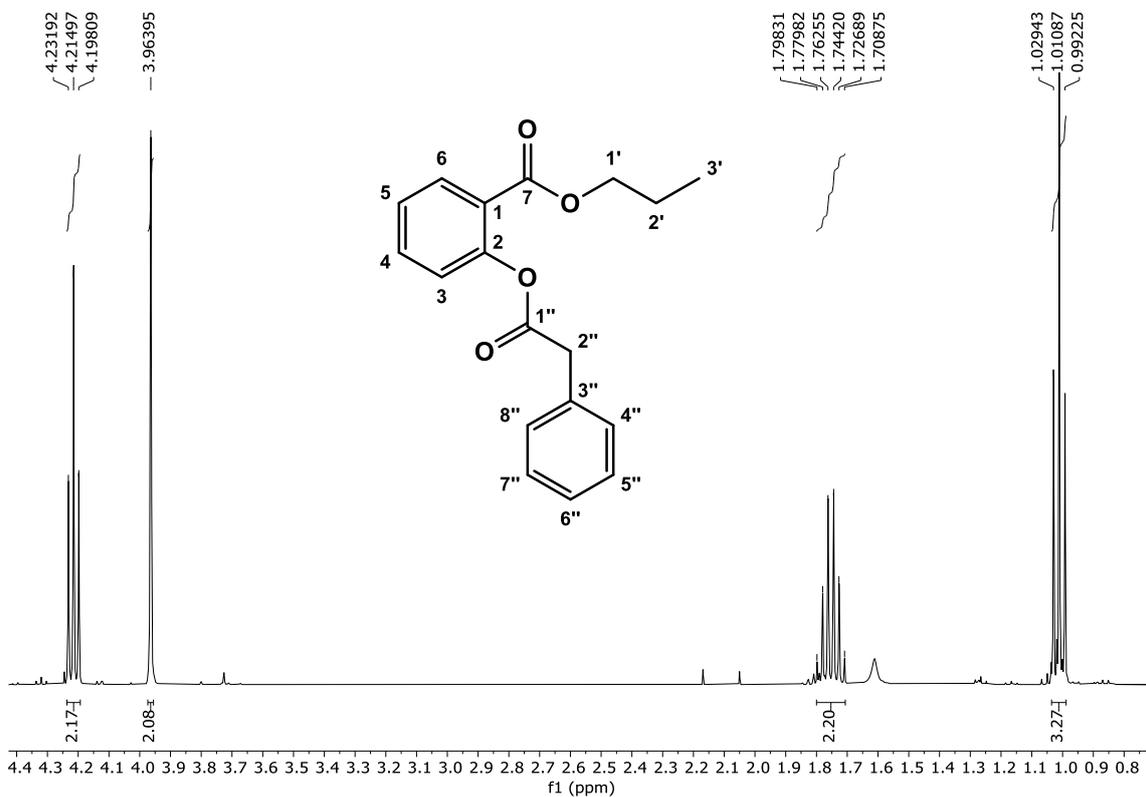


Figura 167. Espectro de RMN ^{13}C de Benzoato de 2-(2-fenilacetoxi) de propila (**25**), (100 MHz, CDCl_3).