



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



**Preparação de ésteres nitrocinâmicos e avaliação da sua atividade antimicrobiana**

**LÁZARO GOMES DO NASCIMENTO**

**JOÃO PESSOA - PB**

**2017**

**LÁZARO GOMES DO NASCIMENTO**

**Preparação de ésteres nitrocinâmicos e avaliação da sua atividade antimicrobiana**

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

**Orientador:** Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

**JOÃO PESSOA - PB**

**2017**

N244p Nascimento, Lázaro Gomes do.  
Preparação de ésteres nitrocinâmicos e avaliação da sua  
atividade antimicrobiana / Lázaro Gomes do Nascimento. - João  
Pessoa, 2017.  
115 f.: il. -

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

1. Produtos naturais. 2. Ácido cinâmico. 3. Atividade  
antifúngica. 4. Atividade antibacteriana. I. Título.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)



# PgPNSB

Pós Graduação em Produtos Naturais  
e Sintéticos Bioativos

Ata da 371ª (trecentésima septuagésima primeira) Dissertação de Mestrado do aluno do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Lázaro Gomes do Nascimento**, candidato ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica.

Às quatorze horas (14h00) do dia vinte e três de fevereiro do ano de dois mil e dezessete (23.02.2017), nas dependências do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, da Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Comissão designada para examinar o aluno **Lázaro Gomes do Nascimento**, candidato ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os professores doutores Felipe Queiroga Sarmiento Guerra, Ph.D em Farmacologia, Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha, Ph.D em Ciências Farmacêuticas e Damiao Pergentino de Sousa, Ph.D em Ciências. Sendo todos integrantes do corpo docente da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Damiano Pergentino de Sousa, após declarar os objetivos da reunião, apresentou o candidato **Lázaro Gomes do Nascimento**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Ésteres nitrocinâmicos e avaliação antimicrobiana". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, o candidato foi arguido pelos examinadores na forma regimental. Em seguida passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e juízo do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se o examinado **Lázaro Gomes do Nascimento** legalmente habilitado a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como da direito, a expedição do Diploma que o mesmo faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Nilmar Nírcia Neves de Medeiros, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Nilmar Nírcia Neves de Medeiros (Secretária) *nmelins*

Prof. Dr. Damiano Pergentino de Sousa (Orientador) *D. Pergentino*

Prof. Dr. Felipe Queiroga Sarmiento Guerra (Examinador) *Felipe Q. S. Guerra*

Prof. Dr. Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha (Examinador) *Emídio V. Leitão*



## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Ana Terezinha Gomes do Nascimento e Antônio José do Nascimento por acreditar em meu potencial, e a minha esposa, Rejane Jorge Sidrim, que sempre esteve ao meu lado me apoiando e incentivando.

## AGRADECIMENTOS

**A Deus**, por iluminar sempre meus passos e por me dar compreensão, saúde e esperança.

**A minha tia Naninha**, quem me incentivou desde criança a estudar.

**A minha vó Terezinha** (em memória) pelos ensinamentos de vida.

**Aos meus pais** Só pude chegar onde estou por me espelhar em sua coragem.

**A minha esposa Rejane** a quem eu amo muito e que sempre me deu incentivo e apoio.

**A Edênia Jorge** por sempre ter acreditado em mim.

**Ao meu tio Sebastião** por ter me direcionado na vida e, principalmente, por ter me ajudado nos momentos mais árduos de minhacaminhada.

**A todos os familiares** os quais sempre se fizeram presentes em todo momento que precisei de apoio.

**A meu Orientador Dr. Damião Pergentino** por ter confiado em mim e abrir as portas do seu laboratório para que eu pudesse executar um projeto tão desafiador.

**A Professora Celidarque** pela confiança e, principalmente, por ter me dado à primeira oportunidade de conhecer a pesquisa como aluno de iniciação científica.

**Aos professores do curso de Farmácia**, em especial ao professor Robson Veras o qual me ensinou bastante durante o período que passei como monitor.

**Aos Professores da Pós-Graduação**, cujos ensinamentos me fizeram enxergar perspectivas futuras.

**Aos companheiros de laboratório**, especialmente, Ricardo, Flávio, Carol, Ane, Mariana, Rayane e Ana Júlia os quais pude contar na hora das dificuldades.

**Aos amigos adquiridos durante a graduação**, Ricardo Cartaxo, Fabrício e Edgar, pelas conversas alegres, conselhos e ajuda.

## RESUMO

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

O presente trabalho teve como objetivo preparar uma série de ésteres derivados do ácido *trans*-2-nitrocinâmico, através da esterificação de Fischer, substituição nucleofílica com haletos e reação de Mitsunobu. Todos os derivados foram submetidos a testes antimicrobianos pelo método de microdiluição em caldo, tendo como controles positivos os antimicrobianos cloranfenicol e nistatina. O referido estudo resultou na obtenção de 14 ésteres do ácido *trans*-2-nitrocinâmico com rendimentos variando entre 25 e 98%, sendo nove derivados inéditos na literatura, caracterizados por métodos espectroscópicos de infravermelho, ressonância magnética de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ , bem como por espectrometria de massas de alta resolução. O resultado da avaliação antimicrobiana demonstrou que dez ésteres apresentaram atividade antifúngica frente a espécies do gênero *Candida*. Enquanto, dois derivados foram bioativos no teste antibacteriano. Destes, os ésteres EL4, EL6 e EL14 foram os derivados que obtiveram concentrações inibitórias mínimas antifúngicas mais promissoras com CIM que variaram entre 128 e 256  $\mu\text{g/mL}$ , sendo consideradas atividades fortes. Com relação à atividade bacteriana, os derivados EL12 e EL13 demonstraram atividade sobre a espécie de *Pseudomonas aeruginosa* com CIM 512  $\mu\text{g/mL}$ . Esses resultados demonstram que o aumento da cadeia alquílica no substituinte, até determinado tamanho, e a presença de hidroxila, metoxila ou cloro na posição *para* do anel aromático influenciam a atividade antifúngica dos ésteres 2-nitrocinâmicos.

**Palavras-chaves:** ácido cinâmico, atividade antifúngica, atividade antibacteriana.

## ABSTRACT

NASCIMENTO, Lázaro Gomes. **Preparation of nitrocinnamic esters and evaluation of their antimicrobial activity.** 115p. Dissertation (Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive) - Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2017.

The present work aimed to prepare a series of esters derived from trans-2-nitrocinnamic acid, through Fischer esterification, nucleophilic substitution with halides and Mitsunobu reaction. All the derivatives were submitted to antimicrobial tests by the microdilution method in broth, and the antimicrobials chloramphenicol and nystatin as positive controls. This study resulted in the obtaining of 14 esters of trans-2-nitrocinnamic acid in yields ranging from 25 to 98%, nine of which were unpublished in the literature, and characterized by infrared spectroscopic methods,  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  magnetic resonance, as well as High resolution mass spectrometry. The results of the antimicrobial evaluation showed that ten esters presented antifungal activity against *Candida* species. While two derivatives were bioactive in the antibacterial test. Of these, the EL4, EL6 and EL14 esters were the derivatives that obtained the most promising antifungal minimum inhibitory concentrations with MIC ranging from 128 to 256  $\mu\text{g} / \text{mL}$  and considered to be strong activities. Regarding the bacterial activity, EL12 and EL13 derivatives showed activity on the *Pseudomonas aeruginosa* species with MIC 512  $\mu\text{g} / \text{mL}$ . These results demonstrate that the increase of the alkyl chain in the substituent up to a certain size and the presence of hydroxyl, methoxy, or chlorine at the para position of the aromatic ring influence the antifungal activity of the 2-nitrocinnamic esters.

**Key words:** cinnamic acid, antifungal activity, antibacterial activity.



## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Estruturas químicas de moléculas terapeuticamente importantes: ozagrel, cinrometo e piplartina (ZHANG et al., 2012; WILENSKY et al.,1983; BEZERRA et al.,2012)..... | 29 |
| <b>Figura 2.</b> Compostos químicos 13 e 33 contra biofilmes de <i>C. albicans in vitro</i> (adaptado de TEBBETS et al.,2012).....                                                   | 34 |
| <b>Figura 3.</b> Exemplos de drogas no mercado contendo função éster, ilustrando a importância desse grupo funcional na atividade biológica.....                                     | 36 |
| <b>Figura 4.</b> Mecanismo de síntese do éster pela esterificação de Fischer. ....                                                                                                   | 37 |
| <b>Figura 5.</b> Mecanismo de síntese de éster através da substituição nucleofílica $SN_2$ . ....                                                                                    | 38 |
| <b>Figura 6.</b> Mecanismo de síntese de éster através da reação de Mitsunobu. ....                                                                                                  | 39 |
| <b>Figura 7.</b> Esquema geral dos ésteres derivados ácido <i>trans</i> -2-nitrocínâmico .....                                                                                       | 46 |
| <b>Figura 8.</b> Álcoois e haletos utilizados na preparação dos ésteres nitrocínâmicos .....                                                                                         | 59 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Dados da reação e propriedades físico-químicas dos ésteres derivado do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico.....                    | 44 |
| <b>Tabela 2.</b> Espectro de infravermelho dos ésteres derivados ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico. ....                                          | 45 |
| <b>Tabela 3.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ dos derivados ésteres do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico.....                                     | 47 |
| <b>Tabela 4.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ dos derivados ésteres do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico.....                                     | 48 |
| <b>Tabela 5.</b> Dados de RMN de $^1\text{H}$ dos derivados ésteres do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico.....                                     | 49 |
| <b>Tabela 6.</b> Dados de RMN de $^{13}\text{C}$ -APT dos derivados ésteres do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico.....                             | 50 |
| <b>Tabela 7.</b> Dados do espectro de massa tipo MALDI dos ésteres inéditos.....                                                                    | 51 |
| <b>Tabela 8.</b> Atividade antifúngica dos ésteres derivados do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico sobre ensaio de microdiluição em caldo. ....    | 55 |
| <b>Tabela 9.</b> Atividade antibacteriana dos ésteres derivados do ácido <i>trans</i> -2-nitrocinâmico sobre ensaio de microdiluição em caldo. .... | 57 |

## LISTA DE QUADROS

|                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Quadro 1.</b> Sítios de ação e mecanismos de antifúngicos sistêmicos..... | 26 |
| <b>Quadro 2.</b> Derivados cinâmicos e suas atividades antimicrobianas.....  | 32 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Esquema 1.</b> Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de ácidos carboxílicos (a e b), anidridos (c) e cloretos ácidos (d)..... | 35 |
| <b>Esquema 2.</b> Reação geral de esterificação de Fischer utilizando como material de partida o ácido <i>trans</i> -2-nitrocínâmico.....                               | 42 |
| <b>Esquema 3.</b> Reação geral de esterificação através do uso de haletos utilizando como material de partida o ácido <i>trans</i> -2-nitrocínâmico. ....               | 43 |
| <b>Esquema 4.</b> Reação de esterificação através do método de Mitsunobu utilizando como material de partida o ácido <i>trans</i> -2-nitrocínâmico .....                | 43 |

## LISTA DE ESPECTROS

|                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Espectro 1.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL1).....                           | 65 |
| <b>Espectro 2.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL1) (200 .....                                           | 66 |
| <b>Espectro 3.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato ( <b>EL1</b> ) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....     | 66 |
| <b>Espectro 4.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL2) .....                           | 67 |
| <b>Espectro 5.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL2) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                      | 68 |
| <b>Espectro 6.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL2) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....          | 68 |
| <b>Espectro 7.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato ( <b>EL2</b> )(126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....      | 69 |
| <b>Espectro 8.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-propil 3-(2- nitrofenil) acrilato (EL3).....                         | 70 |
| <b>Espectro 9.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato ( <b>EL3</b> ) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....           | 70 |
| <b>Espectro 10.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL3) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....       | 71 |
| <b>Espectro 11.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato ( <b>EL3</b> ), (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ )..... | 71 |
| <b>Espectro 12.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL4).....                          | 72 |
| <b>Espectro 13.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL4).....                                                | 73 |
| <b>Espectro 14.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL4) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....        | 73 |
| <b>Espectro 15.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato .....                                             | 74 |
| <b>Espectro 16.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-isopropil 3-(2- nitrofenil) acrilato (EL5).....                     | 75 |
| <b>Espectro 17.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-isopropil 3-(2-nitrofenil)acrilato .....                                                  | 75 |
| <b>Espectro 18.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-isopropil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL5) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....    | 76 |

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Espectro 19.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-isopropil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL5) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....            | 76 |
| <b>Espectro 20.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-2-metoxietil 3- (2-nitrofenil) acrilato (EL6).....                     | 77 |
| <b>Espectro 21.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato .....                                                 | 78 |
| <b>Espectro 22.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-2-metoxietil 3-(2- nitrofenil) acrilato (EL6) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ..... | 78 |
| <b>Espectro 23.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL6) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....  | 79 |
| <b>Espectro 24.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL6) (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....        | 79 |
| <b>Espectro 25.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL7).....                            | 81 |
| <b>Espectro 26.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL7).....                                                  | 82 |
| <b>Espectro 27.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL7) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....          | 82 |
| <b>Espectro 28.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato .....                                               | 83 |
| <b>Espectro 29.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-decil 3-(2- nitrofenil) acrilato (EL8).....                            | 84 |
| <b>Espectro 30.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL8) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                       | 84 |
| <b>Espectro 31.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL8) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....           | 85 |
| <b>Espectro 32.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-decil 3-(2-nitrofenil)acrilato.....                                                  | 85 |
| <b>Espectro 33.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-decil 3-(2- nitrofenil) acrilato (EL8) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ..... | 86 |
| <b>Espectro 34.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI ( <i>E</i> )-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL8).....                                    | 86 |
| <b>Espectro 35.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL9).....                     | 87 |
| <b>Espectro 36.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL9) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....               | 88 |

|                                                                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Espectro 37.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL9) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....           | 88 |
| <b>Espectro 38.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL9) (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....               | 89 |
| <b>Espectro 39.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI ( <i>E</i> )-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL9). .....                                    | 89 |
| <b>Espectro 40.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10). .....                                | 90 |
| <b>Espectro 41.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10). .....                                                      | 91 |
| <b>Espectro 42.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....              | 91 |
| <b>Espectro 43.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....                   | 92 |
| <b>Espectro 44.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....       | 92 |
| <b>Espectro 45.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI ( <i>E</i> )-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10). .....                                       | 93 |
| <b>Espectro 46.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL11). .....                           | 94 |
| <b>Espectro 47.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato .....                                                         | 94 |
| <b>Espectro 48.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL11) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....         | 95 |
| <b>Espectro 49.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL11) (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....             | 95 |
| <b>Espectro 50.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL11) (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ..... | 96 |
| <b>Espectro 51.</b> Espectro de Infravermelho (KBr, $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12). .....                           | 97 |
| <b>Espectro 52.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato .....                                                         | 97 |
| <b>Espectro 53.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12) (500 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). .....         | 98 |
| <b>Espectro 54.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato ...                                                   | 98 |

|                                                                                                                                                                                                 |     |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Espectro 55.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12) (126 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                           | 99  |
| <b>Espectro 56.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12). ....                                                        | 99  |
| <b>Espectro 57.</b> Espectro de Infravermelho ( $\text{KBr}$ , $\text{cm}^{-1}$ ) de ( <i>E</i> )-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13).....                                          | 100 |
| <b>Espectro 58.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                                           | 101 |
| <b>Espectro 59.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de ( <i>E</i> )-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....                              | 101 |
| <b>Espectro 60.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                                  | 102 |
| <b>Espectro 61.</b> Expansão do espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de ( <i>E</i> )-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....                      | 102 |
| <b>Espectro 62.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de ( <i>E</i> )-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13).....                                                   | 103 |
| <b>Espectro 63.</b> Espectro de Infravermelho ( $\text{KBr}$ , $\text{cm}^{-1}$ ) de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il) .....)                                                                           | 105 |
| <b>Espectro 64.</b> Espectro de RMN $^1\text{H}$ de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil)acrilato3-(2-nitrofenil) acrilato (EL14) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ )..... | 106 |
| <b>Espectro 65.</b> Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil)acrilato (EL14) (200 MHz, $\text{CDCl}_3$ ).....              | 106 |
| <b>Espectro 66.</b> Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ -APT de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL14) (50 MHz, $\text{CDCl}_3$ ). ....                 | 107 |
| <b>Espectro 67.</b> Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL14). ....                                  | 107 |



## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

**µg** micrograma

**2D** Duas dimensões

**3D** três dimensões

**APT** *Attached Proton Test*

**CC** Cromatografia em coluna

**CCDA** Cromatografia em Camada Delgada Analítica

**CHCl<sub>3</sub>** Clorofórmio

**CIM** Concentração inibitória mínima

**d** Dubleto

**dd** Duplo dubleto

**ddd** Duplo duplo dubleto

**DEAD** Azodicarboxilato de dialquilo

**DMF** Dimetilformamida

**DMSO** Dimetilsulfóxido

**Et<sub>3</sub>N** trietilamina

**EtOH** Etanol

**Hz** Hertz

**IV** Infravermelho

**J** Constante de acoplamento

**KBr** Brometo de potássio

**KNIME** (The Konstanz Information Miner)

**Me** Metila

**MHz** Megahertz

**mL** mililitro

**NAF** Naftaleno

**OMe** Metoxila

**P.F.** Ponto de fusão

**PHO** Álcool perfílico

**ppm** Partes por milhão

**Quar** Quarteto

**Quin** Quinteto

**RMN <sup>13</sup>C** Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

**RMN <sup>1</sup>H** Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

**s** Singleto

**SAR** Relação estrutura-atividade

**SDS** Dodecilsulfato de sódio

**Sep**Septeto

**Sex** Sexteto

**sp** subníveis de energia eletrônica *s* e *p*

**THF** Tetraidrofurano

**TPP** Trifenilfosfina

**UV** Ultravioleta

**δ**Deslocamento químico em ppm

**RPMI**Roswell Park Memorial Institute Médio

## SUMÁRIO

|                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO.....                                                                                                 | 20 |
| 2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....                                                                                      | 23 |
| 2.1.Considerações gerais sobre bactérias e fungos patogênicos.....                                                 | 23 |
| 2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                          | 23 |
| 2.1.2. <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....                                                                     | 23 |
| 2.1.3.Considerações sobre o gênero <i>Candida</i> spp. ....                                                        | 24 |
| 2.1.4.Fármacos usados na terapia antifúngica .....                                                                 | 25 |
| 2.2.Considerações sobre os compostos cinâmicos .....                                                               | 27 |
| 2.2.1.Derivados cinâmicos com atividade antimicrobiana .....                                                       | 30 |
| 2.2.2.A importância dos ésteres nitrocinâmicos no estudo antimicrobiano.....                                       | 33 |
| 2.3.Considerações sobre a química dos ésteres .....                                                                | 34 |
| 2.3.1.Preparação dos ésteres.....                                                                                  | 36 |
| 2.3.1.1. Relação estrutura atividade (SAR, structure activity relationship) .....                                  | 39 |
| 3. OBJETIVO GERAL .....                                                                                            | 41 |
| 3.1.Objetivos específicos .....                                                                                    | 41 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                     | 42 |
| 4.1.Preparação dos derivados ésteres.....                                                                          | 42 |
| 4.1.1.Análise espectroscópica dos ésteres .....                                                                    | 45 |
| 4.1.2.Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos EL1 a EL14.....                                   | 45 |
| 4.1.3.Interpretação dos espectros de RMN de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C dos compostos EL1 a EL14.....         | 46 |
| 4.1.4.Interpretação dos espectros de massas dos compostos EL1 a EL14 .....                                         | 51 |
| 4.2.Atividade antifúngica e dos ésteres nitrocinâmicos .....                                                       | 51 |
| 4.2.1 Avaliação da atividade antifúngica dos ésteres ( <i>E</i> )- <i>trans</i> -2-nitrocinâmicos.....             | 51 |
| 4.2.2.Avaliação da atividade antibacteriana dos ésteres ( <i>E</i> )-nitrocinâmicos no estudo antibacteriano ..... | 56 |
| 5. CONCLUSÃO .....                                                                                                 | 58 |
| 6. PERSPECTIVAS .....                                                                                              | 58 |
| 7. PARTE EXPERIMENTAL .....                                                                                        | 59 |
| 7.1.Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados .....                                                     | 59 |
| 7.2.Métodos cromatográficos .....                                                                                  | 60 |
| 7.3.Ponto de fusão .....                                                                                           | 60 |
| 7.4.Métodos Espectroscópicos.....                                                                                  | 60 |
| 7.4.1 Infravermelho .....                                                                                          | 60 |
| 7.4.2.Ressonância Magnética Nuclear.....                                                                           | 60 |
| 7.4.3.Espectrometria de Massa .....                                                                                | 61 |

|                                                                                        |                              |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <b>7.5.Avaliação da atividade antimicrobiana dos ésteres</b>                           | 61                           |
| <b>7.5.1.Estudo de atividade antifúngica</b>                                           | 61                           |
| <b>7.5.2.Espaço e responsáveis para o desenvolvimento do estudo</b>                    | Error! Bookmark not defined. |
| <b>7.5.3. Produtos testados</b>                                                        | 62                           |
| <b>7.5.4. Meios de cultura usados nos ensaios</b>                                      | 62                           |
| <b>7.5.5.Micro-organismos</b>                                                          | 62                           |
| <b>7.5.6.Inóculo</b>                                                                   | 62                           |
| <b>7.5.7.Determinação da Concentração Inibitória Mínima(CIM)</b>                       | 62                           |
| <b>7.5.8.Estudo de atividade antibacteriana</b>                                        | 63                           |
| <b>7.5.9.Espaço e responsáveis para o desenvolvimento do estudo</b>                    | 63                           |
| <b>7.6. Produtos testados</b>                                                          | 63                           |
| <b>8. PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES NITROCINÂMICOS A PARTIR DO ÁCIDO TRAN-2-NITROCINÂMICO</b> | 64                           |
| <b>8.1.Preparação dos ésteres -EL1-EL6</b>                                             | 64                           |
| Éster - EL1                                                                            | 65                           |
| Éster - EL2                                                                            | 67                           |
| Éster - EL3                                                                            | 69                           |
| Éster - EL4                                                                            | 72                           |
| Éster - EL5                                                                            | 74                           |
| Éster - EL6                                                                            | 77                           |
| <b>8.2.Preparação dos ésteres EL7- EL13</b>                                            | 80                           |
| Éster - EL7                                                                            | 81                           |
| Éster - EL8                                                                            | 83                           |
| Éster - EL9                                                                            | 87                           |
| Éster - EL10                                                                           | 90                           |
| Éster - EL11                                                                           | 93                           |
| Éster - EL12                                                                           | 96                           |
| Éster - EL13                                                                           | 100                          |
| Éster - EL14                                                                           | 105                          |
| <b>9. REFERÊNCIAS</b>                                                                  | 108                          |

## **1. INTRODUÇÃO**

O surgimento de surtos epidemiológicos provocados por micro-organismos vem intensificando o estudo de novos fármacos. Como exemplo, as infecções fúngicas, as quais, nos últimos vinte anos, têm crescido de forma alastrante, principalmente, as infecções sistêmicas e as oportunistas invasivas. Entre estas, a mais comum é a candidíase, seguida da aspergilose, que apresenta maior mortalidade. O aumento no número de infecções fúngicas deve-se a fatores como a imunossupressão causada pela Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) ou induzida por transplantes ou, ainda, resultante da quimioterapia com antitumorais. Outros possíveis fatores incluem o uso indiscriminado de antimicrobianos de largo espectro, o uso crônico de corticoides, a prática de procedimentos médicos invasivos, como cirurgias, e o uso de catéteres, como na nutrição parenteral e hemodiálise (BERGOLD E GEORGIADIS, 2004; BARBEDO E SGARBI, 2010).

Dentro dessa ótica, encontra-se, ainda, outro ponto que contribui de forma significativa para o agravamento das doenças causadas por micro-organismos: a resistência dos mesmos a algumas classes de fármacos já existentes no mercado. Segundo Bergold e Georgiadis (2004), os medicamentos antifúngicos para infecções sistêmicas, utilizados atualmente, não satisfazem a necessidade médica completamente, devido a problemas relacionados ao espectro, potência, segurança e propriedades farmacocinéticas dos agentes disponíveis.

Dessa maneira, observa-se um aumento na incidência das infecções fúngicas sistêmicas e o consequente aumento na mortalidade populacional relacionada. Sabe-se que *Candida albicans* é estimada como a responsável por 50 e 60% dos casos de infecções invasivas (PERLROTH, CHOI, SPELLBERG, 2007 e PFALLER, DIEKEMA, 2007).

As bactérias são parte integral e inseparável da vida na terra. Elas são encontradas em qualquer lugar, revestem a pele, as mucosas e cobrem o trato intestinal dos homens e dos animais. Elas estão intrinsecamente ligadas às vidas de organismos e aos amplos ambientes em que habitam. A resistência aos antibióticos é inevitável e irreversível. Uma consequência natural da adaptação da célula bacteriana a exposição aos antibióticos. O uso intenso de antibióticos na medicina, na produção de alimentos para animais e na agricultura tem causado um aumento na resistência àquelas drogas em todo mundo. A resistência antimicrobiana tornou-se o principal problema de saúde pública no mundo afetando todos os países, desenvolvidos ou não. Ela é uma inevitável consequência do uso indiscriminado de antibióticos em humanos e animais.

Na Europa e na América do Norte, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Streptococcus pneumoniae* não susceptível à penicilina (PNSSP), *enterococos* resistente à vancomicina (VRE) e *Enterobacteriaceae* produtoras de beta-lactamase de espectro ampliado (ESBL) têm emergido e se espalhado nos hospitais e nas comunidades.

Diante desses fatos, percebe-se que se faz necessário o surgimento de novos fármacos que ofereçam um tratamento seguro e eficaz para as micoses. Contudo, na busca de novos candidatos a fármacos, a síntese química se torna um caminho viável e prático, quando comparada ao desenvolvimento de fármacos através de outros seguimentos, como: biologia molecular e abordagens da farmacogenética (LLOYD-WILLIAMS et al., 1997). Segundo Baig e colaboradores (2014), ao se unir a síntese química com os conhecimentos do design de fármacos, utilizando a assistência computacional ou vice-versa, aumenta-se a confiabilidade dos resultados propostos de protótipos, tornando-os mais eficazes e mais eficientes produzindo assim menos efeitos adversos.

Os métodos atuais de QSAR (relação estrutura atividade quantitativa), isto é, o estudo das relações entre a estrutura química e a atividade biológica de fármacos, têm contribuído significativamente com a geração de novos conhecimentos acerca da contribuição qualitativa e quantitativa de propriedades físico-químicas que influenciam a ação de fármacos. Paralelamente, também tem contribuído de forma importante com a otimização do desempenho de fármacos já existentes, conhecimentos estes que estão sendo cada vez mais utilizados ou absorvidos pela indústria farmacêutica (TAVARES, 2004).

Os ácidos cinâmicos são um grupo de ácidos carboxílicos aromáticos (C6-C3) que aparecem naturalmente no reino vegetal, tais compostos e seus derivados são bem conhecidos por suas propriedades biológicas e farmacológicas: antimicrobianos, antioxidantes, anti-inflamatórios, (DACUNHA et al., 2004). Alguns derivados de ácido cinâmico representam metabólitos secundários em plantas e têm sido objeto de um grande número de estudos químicos, biológicos, agrícolas e médicos, sendo a categoria mais importante os ácidos hidroxicinâmicos (URQUIAGA E LEIGHTON, 2000). Os ésteres cinâmicos são produzidos por algumas plantas como, *Alpinia malaccensis* var. *nobilis*. Como exemplo, tem-se o (E)-metil cinamato, contido no óleo essencial extraído das folhas, rizomas e caules da planta, o qual possui boa atividade antioxidante (NORAZAH et al., 2005).

Além disso, o óleo mostrou um amplo espectro de atividade antimicrobiana. Devido à alta atividade antioxidante e antimicrobiana, as folhas dessas espécies de *A. malaccensis* podem ser incorporadas em produtos de alívio da pele e conservantes naturais para inibir a

deterioração dos alimentos.

Sobretudo, devido a esta boa atividade, sugeriu-se que o óleo pode ser um candidato à substância bioativa com possível potencial para utilização na proteção da pele contra doenças oxidativas, como também antioxidantes naturais e agentes antimicrobianos em indústrias de alimentos e confeitarias (SAHOO; SINGH; NAYAK, 2014).

Tendo em vista os problemas abordados da resistência dos micro-organismos aos medicamentos atuais com consequente aumento das infecções fúngicas, o presente estudo, desenvolvido no laboratório de Química Farmacêutica/DCF/CCS/UFPB, teve como objetivo preparar moléculas estruturalmente relacionadas que tenham uma potencial atividade inibitória contra bactérias e principalmente fungos patogênicos. Consequentemente, foi preparada uma coleção de ésteres cinâmicos estruturalmenterelacionados com substituintes variados os quais foram adicionados à carbonila do ácido nitrocinâmico e assim foi possível observar quais substituintes foram importantes para atividade antimicrobiana. Espera-se que o estudo traga mais informações sobre a relação estrutura-atividade da molécula em modelos em que haja a substituição da hidroxila do ácido por cadeias carbônicas alifáticas e aromáticas.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. Considerações gerais sobre bactérias e fungos patogênicos**

#### **2.1.1. *Staphylococcus aureus***

O *Staphylococcus aureus* constitui um importante agente patogênico que causa uma variedade de doenças, incluindo abscessos profundos e endocardite (DAS et al., 2016). *S. aureus* são bactérias gram positivas e as maiores causadoras de infecções adquiridas, principalmente, em ambientes hospitalares. A resistência aos agentes antimicrobianos é prevalente nesta espécie (PALOMBO & SEMPLE, 2002). Estes micro-organismos são patógenos humanos e de outros mamíferos, e integram a microbiota da pele (comensais).

Os seres humanos são reservatórios naturais de *S. aureus*, uma bactéria que coloniza principalmente as narinas, vagina, faringe, e/ou superfícies da pele danificada (ANSTEAD et al., 2014). Uma vez rompida a barreira de proteção natural, há a disponibilidade de acesso do microrganismo às camadas subjacentes e, em condições favoráveis, pode-se instalar uma infecção (VAN et al., 2012 E WEINTROB et al., 2015).

Um dos grandes problemas atuais, principalmente no ambiente hospitalar, é o desenvolvimento de infecção por cepas de *S. aureus* resistentes a antibióticos. A partir da década de 60, o uso constante de penicilinas, como a oxacilina, no tratamento de infecções estafilocócicas, favoreceu o surgimento de cepas resistentes a esses antimicrobianos. A princípio, as cepas de *S. aureus* resistentes a oxacilina (ORSA), geralmente apresentavam resistência estendida a todos os antimicrobianos da classe dos  $\beta$ -lactâmicos e, assim, essa bactéria se tornou um dos principais agentes de infecção hospitalar no início da década de 70 e que persiste até os dias atuais (FINAN et al., 2001; SOUSA et al., 2011).

#### **2.1.2. *Staphylococcus epidermidis***

Os estafilococos *epidermidis*, coagulase-negativos, (SCN) são parte da microbiota normal da pele humana. Certas espécies de SCN preferem locais específicos, enquanto outras ocorrem em lugares não específicos do nosso corpo (KLOOS E MUSSELWHITE, 1975; GRICE E SEGRE, 2011). Em contraste com *S. aureus*, o SCN coloniza boa parte do ser humano, a exemplo da espécie: *Staphylococcus epidermidis*, que é a espécie de SCN mais frequentemente encontrada no corpo humano e um colonizador comum das axilas, cabeça e narinas (KLOOS E MUSSELWHITE, 1975; KLOOS E SCHLEIFER, 1986). A colonização da espécie *S. epidermidis* desempenha um papel importante em manter a microbiota da pele saudável, pela competição com microrganismos potencialmente nocivos, como *S. aureus*.



Por outro lado, *S. epidermidis* é também reconhecido como um importante patógeno oportunista que pode causar problemas significativos ao atravessar a barreira epitelial, especialmente, durante a infecção associada ao biofilme de dispositivos médicos internos. A maioria das doenças causadas por *S. epidermidis* e outros SCN são de caráter crônico e ocorrem como infecções relacionadas a dispositivos (como cateter intravascular ou infecções de próteses articulares) e suas complicações (ROGERS et al., 2009).

### **2.1.3. Considerações o gênero *Candida* spp.**

O gênero *Candida* abriga mais de 200 espécies de patógenos humanos, dentre as mais importantes estão: *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e *Candida krusei*. Quando há alterações nos mecanismos de defesa do hospedeiro, através de procedimentos médicos invasivos e comprometimento de barreiras anatômicas por queimaduras, por exemplo, tais fatores favorecem a proliferação do microrganismo e o consequente desenvolvimento da infecção. As Infecções fúngicas invasivas com taxas alarmantes de mortalidade aumentaram significativamente nas últimas décadas (CASTELLI et al., 2014). Mais de 70% das infecções acometem pacientes internados causadas por *Candida* spp., apresentando-se predominantemente como candidemia (HORN et al., 2007).

Este gênero produz diversos fatores de virulência, destacando proteinases e lipases. O início dessas infecções geralmente ocorre por mudanças na relação parasito/hospedeiro. As

infecções da pele e mucosas se dão por alterações de hidratação, pH, concentração de nutrientes, alterações da microbiota, etc. Quando se trata de infecções sistêmicas, frequentemente as mesmas estão associadas a uma imunossupressão do hospedeiro (SIDRIM et al., 2004). As infecções por fungos oportunistas, como a *Candida*, acometem principalmente pacientes submetidos a transplante de órgãos, de medula óssea, com síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), usuários de imunossupressores, pacientes em tratamento de câncer, aqueles que foram submetidos a grandes cirurgias, como também idosos e recém-nascidos (WISPLINGHOFF et al., 2004).

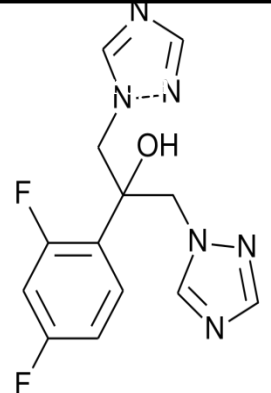
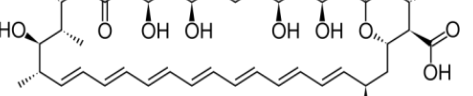
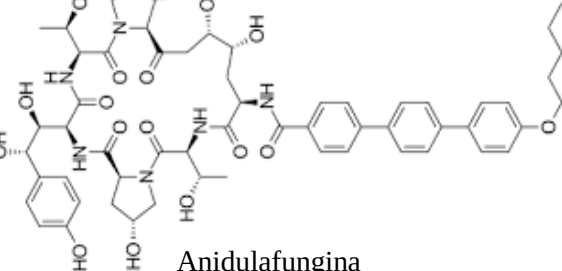
Um dos atributos significativamente importantes de *C. albicans* é a formação de biofilmes em superfícies sólidas, tais como esmalte dentário e válvulas cardíacas humanas numa forma tridimensional. Esses biofilmes podem se desenvolver em dispositivos médicos implantados, provocando graves quadros de infecções (KABIR; HUSSAIN E AHMAD, 2012). Existem outras espécies de *Candida* que são mais resistentes aos antifúngicos: a espécie *C. krusei* é conhecida como um patógeno resistente a uma ampla quantidade de antifúngicos, principalmente a sua resistência intrínseca ao fluconazol a qual tem sido um problema para

pacientes em geral principalmente os imunocomprometidos (HIV- positivos, com leucemia, hanseníase, dentre outros). Com relação *C. tropicalis*, os estudos comprovaram que ela também parece apresentar um grande potencial de disseminação em pacientes neutropênicos (COLOMBO et al.,2007).De acordo com alguns estudos epidemiológicos, *C. tropicalis* está associada a maior mortalidade do que *C. albicans* ou outras espécies (JORDAN et al., 2014; COLOMBO et al.,2007; EGGIMANN, GARBINO, PITTET, 2003; KONTOYIANNIS et al.,2001).

#### **2.1.4. Fármacos usados na terapia antifúngica**

As três classes principais de agentes antifúngicos utilizados para tratar infecções fúngicas invasivas são os polienos, os azóis e as equinocandinas. Os polienos, como a anfotericina B, por exemplo, ligam-se ao ergosterol, o esterol principal das membranas celulares fúngicas, formando poros que aumentando a permeabilidade da mesma, o que leva à morte celular. Os Azóis interrompem a biossíntese do ergosterol, inibindo a enzima lanosterol 14 $\alpha$ -desmetilase e consequentemente inibindo a replicação fúngica. Já as equinocandinas, por sua vez, atuam inibindo a síntese de  $\beta$ -1,3-D-glucano, um componente integral da parede celular fúngica, causando um enfraquecimento da parede celular, lise celular e morte (CHANDRASEKAR, 2011 e ODDS et al.,2003).

Dos poucos agentes antifúngicos disponíveis para tratar infecções fúngicas invasivas, infelizmente, os azóis são geralmente fungistáticos em vez de fungicidas e o uso prolongado contribui para o desenvolvimento de resistência (KHAN et al.,2010). Os polienos, apesar de apresentarem baixas taxas de resistência, são muito tóxicos. As formulações lipídicas da anfotericina B (menos tóxicas que a anfotericina B convencional) e as equinocandinas (uma nova classe antifúngica) são ambas proibitivamente dispendiosas (CHANDRASEKAR, 2011 e NEOH et al.,2014). Assim, o desenvolvimento de novos fármacos antifúngicos, como também novas estratégias terapêuticas são urgentemente necessários (CASTELLI et al.,2014). No **Quadro 01**, na página seguinte, se observa como agem os agentes antifúngicos de forma sucinta.

|                                                                        |                       |                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                              |
|------------------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| <p><b>Inibidores da 14-<math>\alpha</math>-desmetilase</b></p>         | <p>Azóis</p>          |                                                                                                                                    | <p>Inibe 14-<math>\alpha</math> desmetilase (lanosterol desmetilase), esgotando o ergosterol da membrana celular, prejudicando a fluidez da membrana, e levar a uma acumulação de esteróis metilado 14-<math>\alpha</math>, tóxicos, o que resultana morte da célula fúngica</p> | <p>HEERES et al.2010</p>     |
| <p><b>Ação sobre a membrana celular (atuação sobre ergosterol)</b></p> | <p>Polienos</p>       | <p>Fluconazol</p>                                                                                                                  | <p>Mata a levedura principal- mente por se ligar ao ergosterol, podendo formar poros que desenvolve a saída de íons da célula</p>                                                                                                                                                | <p>TEVYASHOVA et al.2013</p> |
| <p><b>Paredecelular</b></p>                                            | <p>Equinocandinas</p> | <p>Anfotericina B</p>  <p>Anidulafungina</p>  | <p>Inibe a síntese do polímero à base de (1,3)-<math>\beta</math>-glucano, importante componente da parede celular fúngica</p>                                                                                                                                                   | <p>DENNING, 2003</p>         |

**Quadro 1.** Sítios de ação e mecanismos de antifúngicos sistêmicos.

## **2.2. Considerações sobre os compostos cinâmicos**

Os fenilpropanóides e seus derivados estão presentes em muitos extratos de plantas bioativos. Geralmente são encontrados na forma oxidada, podendo apresentar grupos hidroxílicos na cadeia alifática ou no anel aromático. Várias atividades farmacológicas têm sido atribuídas aos derivados de ácidos fenilpropanóicos. (DE SOUSA, 2012).

Um dos representantes dessa classe é o ácido cinâmico e seus derivados ésteres, os quais são um grupo de compostos aromáticos carbonilados (C6-C3) que são encontrados no reino vegetal. Eles são formados na rota bioquímica do ácido chiquímico a qual produz lignina, o material polimérico que fornece suporte mecânico para a parede celular da planta (XU et al., 2009). Os ácidos cinâmicos ocorrem em todas as plantas verdes (LICHTENTHALER E SCHWEIGER, 1998), embora em quantidades diminutas ligadas covalentemente às paredes celulares (KROON E WILLIAMSON, 1999), mas também nos órgãos reprodutivos de plantas com flores (MARTIN-TANGUY et al., 1978). Os ácidos cinâmicos são formados na via biossintética levando a derivados fenilpropanóides, cumarinas, lignanas, isoflavonóides, flavonóides, estilbenos, aurones, antocianinas, espermidinas e taninos (VOGT, 2010).

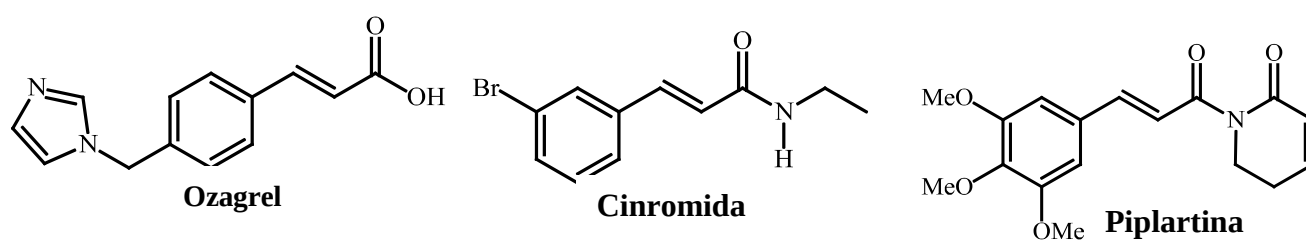
Esses metabólitos secundários desempenham papéis fisiológicos fundamentais no crescimento das plantas, no desenvolvimento, na reprodução e na resistência à doença (VERVERIDIS et al., 2007 e SOLECKA, 1997). O primeiro passo desta via é catalisado pela fenilalanina amônia liase (PAL), uma enzima fenilpropanóide amplamente distribuída presente em plantas verdes, algas, fungos e até mesmo em alguns procariontes (HYUN et al., 2011). Esta enzima desamina L-fenilalanina para produzir o ácido cinâmico, que sofre outras transformações enzimáticas, produzindo uma diversidade de produtos relacionados (VOGT, 2010).

Os ácidos cinâmicos estão prontamente disponíveis a partir de grãos de café, chá, mate, cacau, maçãs e peras, bagas, cítricos, uvas, verduras brassicas, espinafre, beterraba, alcachofra, batata, tomate, aipo, faba e cereais (CLIFFORD, 1999). Os ácidos cinâmicos aparecem frequentemente como conjugados éster com ácido quínico, conhecidos como ácidos clorogênicos, mas também podem formar ésteres com outros ácidos, açúcares ou lípidos, ou formar amidas com aminas aromáticas e alifáticas (GUZMAN, 2014). Devido a sua ocorrência comum em plantas e sua baixa toxicidade, (GIL- IZQUIERDO e LAFAY, 2008; HOSKINS, 1984), os derivados do ácido cinâmico têm atraído muita atenção de vários farmacologistas. Nas últimas décadas, provou-se que os derivados, incluindo compostos naturais, semi-sintéticos e sintéticos, têm uma variedade de atividades farmacológicas

(SHARMA, 2011).

Várias revisões e estudos têm aparecido na literatura com foco em uma aplicação medicinal específica de moléculas cinâmicas relacionadas, por exemplo, em anticancerígenos (BALTAS; BEDOS-BELVAL, DE, 2011), antituberculoses (DE et al.,2012), antimaláricos (WIESNER et al.,2001), antifúngicos (TAWATA, 1996), antimicrobianos (SOVA, 2012), antiaterogênicos (LAPEYRE et al.,2005) e atividades antioxidantes (SOVA, 2012). Além disso, uma série de revisões dirigidas para os métodos sintéticos utilizados para preparar ácidos cinâmicos e moléculas relacionadas têm aparecido na literatura (SHARMA, 2011; SIMONYAN, 1993). Os ácidos cinâmicos também têm sido utilizados por químicos medicinais para alterar a potência, a permeabilidade, a solubilidade ou outros parâmetros de um fármaco ou farmacóforo selecionado (GUZMAN, 2014).

Não há dúvida de que os ácidos cinâmicos atualmente atraem a atenção dos químicos de diferentes perspectivas. Ozagrel (**Figura 1**), um inibidor de tromboxano A<sub>2</sub> sintase, é de fato um ácido cinâmico *para*-substituído imidazólico que é empregado terapeuticamente para o tratamento de acidente vascular cerebral isquêmico agudo (ZHANG et al.,2012). O cinromida(**Figura 1**) é um fármaco experimental antiepilético estudado em ensaios clínicos durante a década de 80 com um perfil para suprimir as convulsões generalizadas, mas mostrou toxicidade considerável (WILENSKY et al.,1983). A piplartina (**Figura 1**) é outra molécula relacionada ao ácido cinâmico mostrando um horizonte biológico atraente (BEZERRA et al., 2012). Esta amida cinâmica foi isolada pela primeira vez das raízes de *Piper tuberculatum* (DE SOUZA; FILHO; MATTOS, 2014), e mais tarde provou ser um promissor anticâncer (BEZERRA et al.,2005; BEZERRA et al.,2007).



**Figura1.**Estruturas químicas de moléculas terapeuticamente importantes: ozagrel, cinrometo e piplartina (ZHANG et al.,2012; WILENSKY et al.,1983; BEZERRA et al.,2012).

### **2.2.1. Derivados cinâmicos com atividade antimicrobiana**

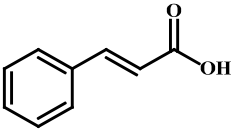
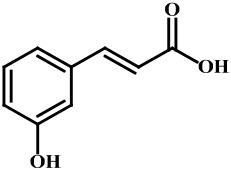
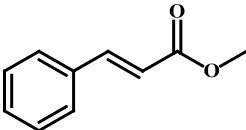
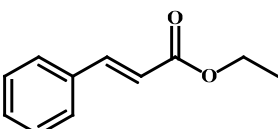
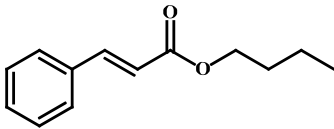
A funcionalidade cinamoíla está presente numa variedade de metabólitos secundários de origem biossintética fenilpropanóica que mostram uma versatilidade farmacológica. Cinamatos hidroxilados naturais são agentes antitumorais extremamente potentes (BALTAS E BEDOSBELVAL, 2011). Os ácidos cinâmicos com substituição variada no anel arílico e seus ésteres foram identificados na própolis iraniana com valores mínimos de concentração inibitória (MIC) entre 125 e 500 mg/L contra bactérias e fungos (MOHAMMADZADEH et al., 2007).

Outros estudos confirmaram o potencial antimicrobiano da própolis (STEPANOVIĆ et al., 2003; KOO et al., 2000). Embora os metabólitos secundários tais como os flavonoides e sesquiterpenoides presentes na própolis possam ter atividade antimicrobiana, os ácidos cinâmicos são susceptíveis a contribuir para o efeito observado. Em um estudo realizado por (CHANG; CHEN; CHANG, 2001; WEN et al., 2003; OLASUPO et al., 2003; RASTOGI et al., 2008; ALVES et al., 2013), o ácido cinâmico mostrou um efeito antibacteriano fraco contra a maioria das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, com valores de CIM superiores a 5,0 mM. O mesmo nível de potência foi observado contra os patógenos de peixes *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida* e *Edwardsiella tarda* com valores de CIM entre 5,6 e 7,7 mM (PRASAD et al., 2014).

A evolução dos mecanismos de defesa química das plantas contra os seus patógenos fúngicos produziram numerosos metabólicos especializados nas mesmas, tais como terpenos, policosanóis e compostos fenólicos. Com o passar do tempo, os fungos desenvolveram mecanismos evoluídos para a eliminação ou conversão enzimática dos compostos tóxicos usados como defesa pelas plantas. Várias famílias de enzimas do citocromo P450 (CYP) de fungos são importantes na desintoxicação de toxinas derivadas de plantas, através da bioconversão e subsequente canalização dos produtos transformados por meio de vias metabólicas dos fungos (KOROŠEC et al., 2013). Alguns derivados de ácido cinâmico representam metabólitos secundários em plantas e têm sido objeto de um grande número de estudos químicos, biológicos, agrícolas e médicos, sendo a categoria mais importante, os ácidos hidroxicinâmicos (URQUIAGA E LEIGHTON, 2000), a exemplo, tem-se o cinamato de metila que apresenta ótima atividade antifúngica contra cepas aflatoxigênicas de *Aspergillus flavus* (LHP-10) (PRAKASH et al. 2012). Sabe-se também que outro estudo recente propôs que os ácidos cinâmicos causam inibição do crescimento de fungos através da interação com o benzoato de 4-hidroxilase, enzima responsável pela desintoxicação aromática (KOROŠEC et al., 2014).

Porém, foi em um estudo desenvolvido por Bisogn e colaboradores, que o ácido cinâmico demonstrou atividade antifúngica com valores de CIM de 1,7 mM contra *Aspergillus terreus* e *Aspergillus flavus*, uma vez que foi mais ativo contra *Aspergillus niger* com um valor de MIC de 844 µM. Contra *Candida albicans*, foi encontrado um valor de MIC de 405 µM (SCHMIDT et al.,2010). Porém, em outro estudo foi observado que, de uma coleção de dez ésteres derivados do ácido cinâmico,o cinamato de isobutila alcançou valores de CIM de 12 e 14 µM, frente as cepas de *A. niger* e *C. albicans*, respectivamente (NARASIMHAN et al.,2004). As propriedades antimicrobianas de alguns derivados cinâmicos estão descritos no **Quadro 02** na página seguinte.



| Classe Química | Composto                                                                                                      | Cepas microbianas                                                                                                                                                        | Referências                                       |
|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Ácidos         | <br>Ácido cinâmico           | <i>Aeromonas hydrophila</i><br><i>Aspergillus flavus</i><br><i>Aspergillus niger</i><br><i>Aspergillus terreus</i><br><i>Candida albicans</i>                            | (BISOGNO et al.,2007)<br>(SCHMIDT et al.,2010)    |
|                | <br>Ácido <i>m</i> -cumárico | <i>Aspergillus</i> e<br><i>Mycobacterium</i>                                                                                                                             | GUZMAN et al.,2014b BI-SOGNO et al.,2007          |
| Ésteres        | <br>Cinamato de metila     | <i>Aspergillus flavus</i><br><i>Aspergillus niger</i><br><i>Aspergillus niger</i><br><i>Aspergillus terreus</i>                                                          | (BISOGNO et al.,2007)<br>(NARASIMHAN et al.,2004) |
|                | <br>Cnamato de etila       | <i>Aspergillus niger</i> <i>Ba-</i><br><i>cillus subtilis</i> <i>Candida</i><br><i>albicans</i> <i>Escherichia</i><br><i>coli</i> <i>Staphylococcus</i><br><i>aureus</i> | (NARASIMHAN et al.,2004)                          |
|                | <br>Cinamato de butila     | <i>Aspergillus niger</i> <i>Ba-</i><br><i>cillus subtilis</i> <i>Candida</i><br><i>albicans</i> <i>Escherichia</i><br><i>coli</i> <i>Staphylococcus</i><br><i>aureus</i> | (NARASIMHAN et al.,2004)                          |

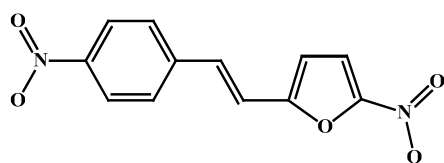
**Quadro 2.** Derivados cinâmicos e suas atividades antimicrobianas.

### **2.2.2. A importância dos ésteres nitrocinâmicos no estudo antimicrobiano**

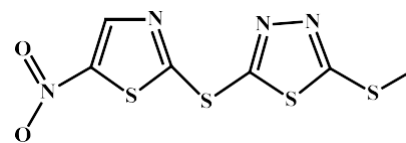
A incorporação de cadeias alílicas no composto líder, resulta em análogos que são mais lipofílicos e com menor solubilidade em água. Consequentemente, as cadeias carbônicas aumentam, até certo ponto, a capacidade do fármaco em atravessar a membrana lipídica. A ação antifúngica de muitos compostos ocorre na membrana, uma atividade estritamente relacionada à lipofilicidade dos compostos (HASHIGUCHI et al.,1997 E WAHBI et al.,1994).

Os compostos nitrosos são conhecidos por apresentarem diversas atividades, entre as quais: antimicrobianas, tais como antifúngicas (GERSHON et al.,1971; TEBBETS et al.,2012), muito em virtude do seu potencial redutor. Consequentemente, parte de sua atividade pode se dar por intermédio dos seus metabólitos reduzidos. Esta classe química pode ser encontrada na natureza, uma vez que muitas plantas produzem metabólitos de stress quando são expostas a agentes patogênicos ou agentes abióticos, como por exemplo: íons de metais pesados ou luz UV (KUCÂ, 1972). Alguns desses metabólitos mostram atividades fungitóxicas e são utilizados como mecanismos de defesa das plantas, a exemplo das fitoalexinas. De acordo com um trabalho realizado por Hanawa e colaboradores (2000), dois compostos: o 2-(4-metoxifenil)-1-nitroetano e 2-(4-hidroxifenil)-1-nitroetano, identificados como lisichitalexin, isolados de folhas de *Lysichitum americanum*, mostraram atividades antifúngicas frente às espécies fúngicas de *Fusarium oxysporum* e *Cladosporium herbarum*, patógenos de plantas.

Em outro estudo, relatou-se a atividade ascaricida *in vitro* contra *Psoroptes cuniculi*, um ácaro de sarna. O trabalho mostrou que a presença do grupo nitro na posição orto (*o*-NO<sub>2</sub>) ou meta (*m*-NO<sub>2</sub>) no anel benzeno, conduziu a uma melhoria significativa da atividade, quando comparado aos grupos hidroxil, metoxil, acetoxil, metilendioxil, bromo e cloro (ZHANG et al.,2015). Entretanto, foi num trabalho realizado por Tebbets e colaboradores (2012), onde se utilizou *S. cerevisiae* para criar um bioensaio de alto rendimento para identificar novas bibliotecas de moléculas com atividade antifúngica. Os ensaios foram realizados através de difusão em disco de colônias os quais, inicialmente, revelaram os compostos 13 e 33 como dois fármacos antifúngicos com espectro potente e amplo de atividade contra dois principais patógenos fúngicos, *A. fumigatus* e *C. albicans*.



2-nitro-5-(4-nitrostiril) furano



2-(metiltio)-5-[(5-nitro1,3-tiazol-2-il) tio] -1,3,4-tiadiazole

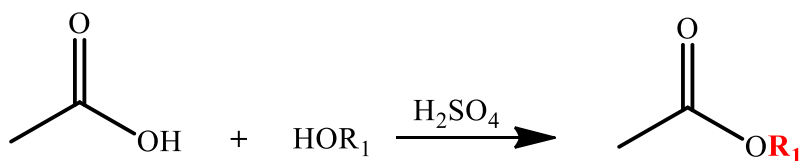
**Figura2.** Compostos químicos 13 e 33 contra biofilmes de *C. albicans in vitro* (adaptado de TEBBETS et al.,2012).

### 2.3. Considerações sobre a química dos ésteres

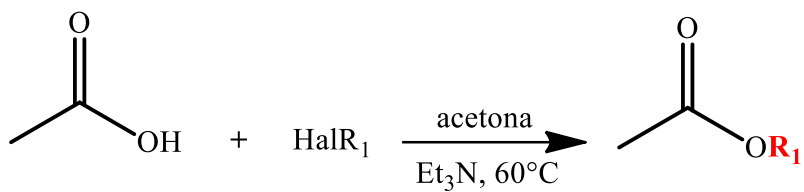
A função carboxila dá origem a vários compostos denominados de derivados dos ácidos carboxílicos, dentre eles estão os ésteres, formados basicamente a partir da reação entre ácido carboxílico e álcool. Muitos ésteres são encontrados na natureza e se destacam por se apresentarem como compostos apolares, mas, não tendo um hidrogênio ligado ao oxigênio, suas moléculas não podem formar ligações de hidrogênio fortes umas com as outras. Como resultado, os ésteres possuem pontos de ebulição menores do que os dos ácidos e dos álcoois de peso molecular semelhante (SOLOMONS, 2012).

Estes compostos orgânicos são mais frequentemente utilizados como produtos químicos de perfumaria e sabor. Eles se enquadram em uma classe muito ampla de compostos, que vai desde alifáticos a aromáticos, com várias substituições e grupos multifuncionais. A maioria dos ésteres têm odores agradáveis, os quais lembram florais e frutas. O antranilato de metila é um éster tão interessante que ocorre naturalmente em vários cítricos, como laranja e também em algumas flores, a exemplo da neroli e ylang ylang. Encontram-se mais aplicações no aromatizante do que propriamente nas composições de perfumaria visto que o seu odor, que se assemelha à nota floral musky-frutado seca, imita uvas e flores de laranjeira. Os ésteres combinam muito bem com vários sabores e encontram uso também no aroma de refrigerantes e bebidas alcoólicas (YADAV E KRISHNAN, 1998). Devido a sua importância industrial, muitos métodos têm sido descritos para os prepararem, como a reação do ácido carboxílico com álcool (a) ou haleto (b), Como também a reação entre anidrido ácido (c) e cloreto de acila (d), ambos na presença de álcool, de acordo com a **Esquema1** da página seguinte.

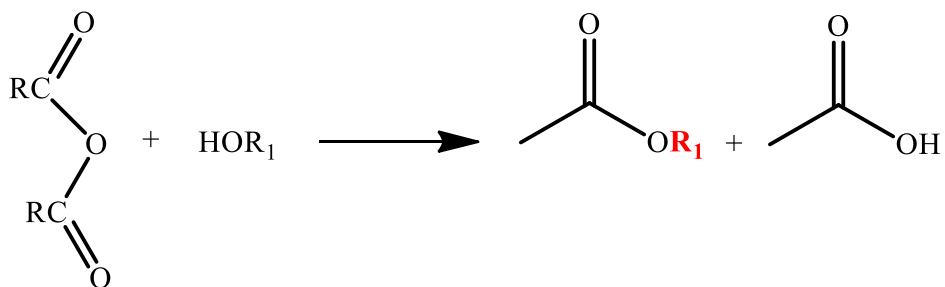
A)



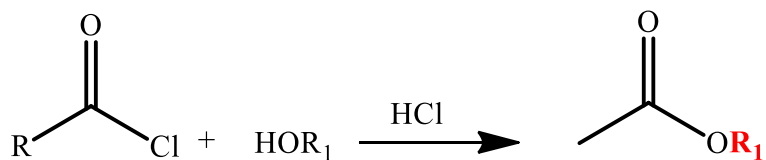
B)



C)

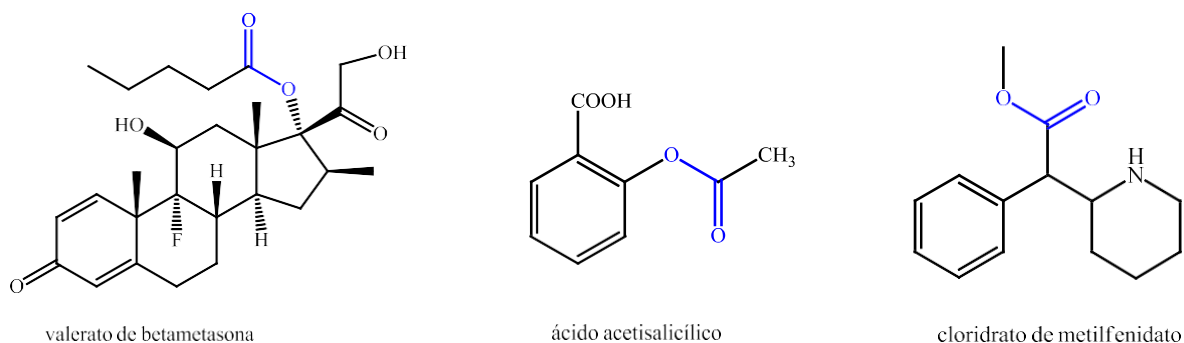


D)



**Esquema 1.** Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de ácidos carboxílicos (a e b), anidridos (c) e cloretos ácidos (d).

As funções ésteres não estão limitadas somente a sistemas biológicos, mas também uma variedade de moléculas sintéticas, incluindo diversos medicamentos comercializados. Como por exemplo, os fármacos ilustrados na **FIGURA 3**, como o valerato de betametasona (corticoide), o cloridrato de metilfenidato (ritalina), ácido acetilsalicílico.



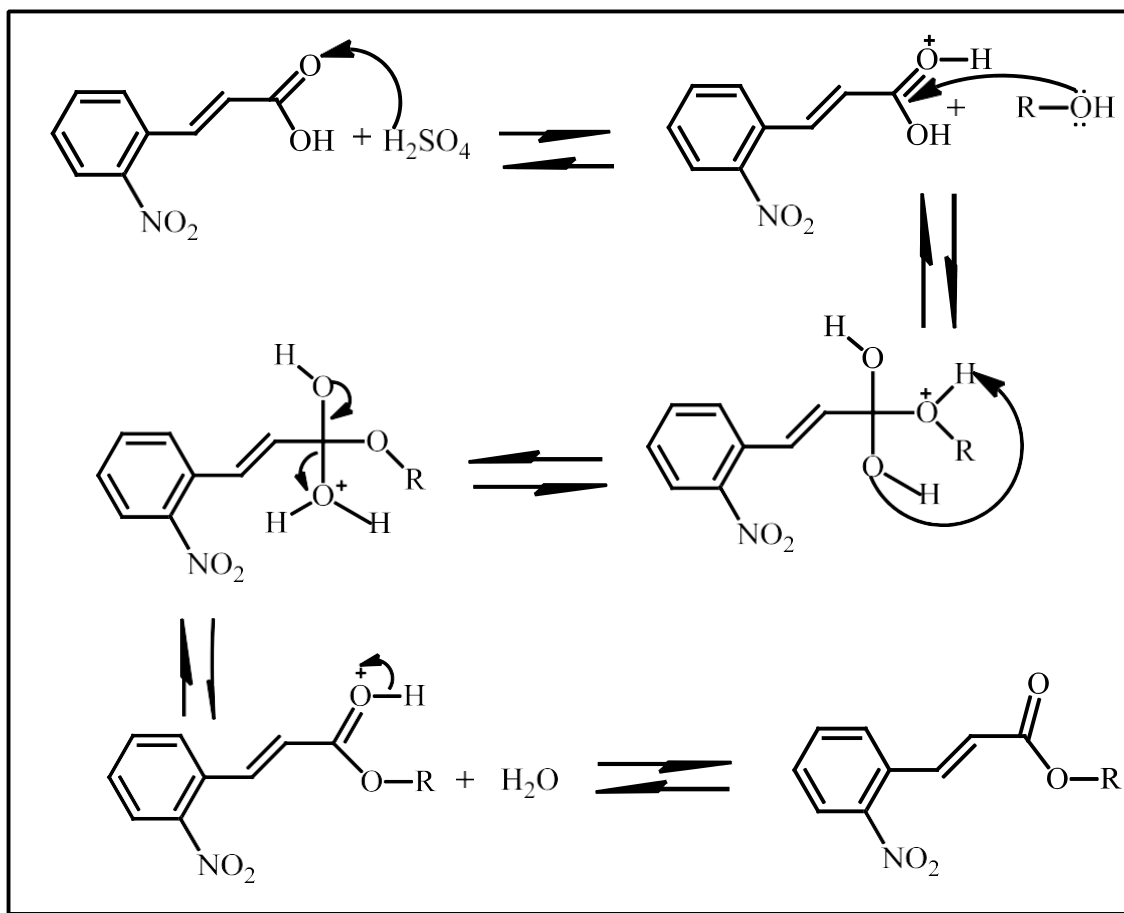
**Figura3.**Exemplos de drogas no mercado contendo função éster, ilustrando a importância desse grupo funcional na atividade biológica.

### 2.3.1. Preparação dos ésteres

Historicamente as reações de formação de ésteres podem ocorrer de várias maneiras, como através da esterificação de Fischer, reação com haletos de alquila ou arila, reação de Mitsunobu, entre outras.

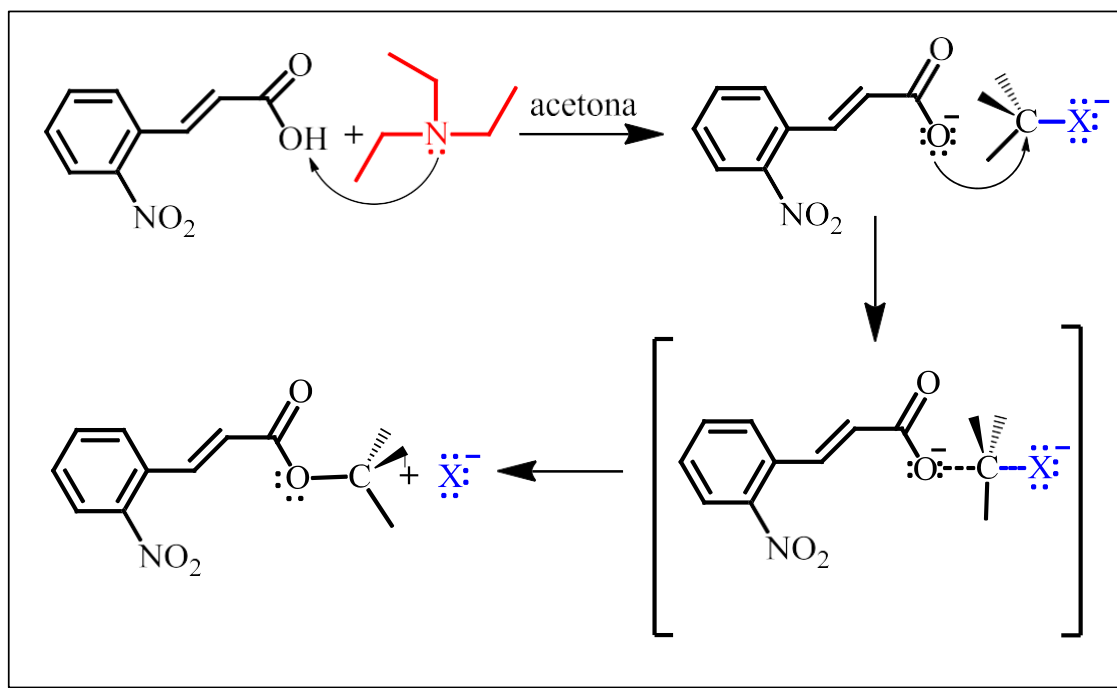
As esterificações pelas quais se desenvolveu a metodologia desse trabalho foram baseadas em três tipos de reações: a esterificação proposta por Fischer adaptada de De Campos Buzzi e colaboradores, realizada a partir do ácido carboxílico na presença de um ácido forte. A esterificação proposta por Sá e colaboradores (2005) e Li e colaboradores (2012), bem como a esterificação a partir da reação de Mitsunobu (BUT e TOY, 2007).

As esterificações de Fischer são catalisadas por ácidos. Elas se desenvolvem muito lentamente na ausência de ácidos fortes, mas alcançam o equilíbrio em poucas horas quando um ácido carboxílico com um álcool são refluxados com quantidade catalítica de ácido sulfúrico concentrado, por exemplo. Como o ponto de equilíbrio controla a quantidade de éster formado, o uso de um excesso do ácido carboxílico ou do álcool aumenta o rendimento baseado no reagente limitante. O componente exato que é escolhido para ser usado em excesso dependerá de sua disponibilidade e de seu custo (SOLOMONS, 2012). Este tipo de reação se dá através de uma condensação nucleofílica, onde o catalisador protona a carbonila do ácido facilitando um ataque nucleofílico pelo álcool, **Figura 4** da página seguinte.



**Figura4.** Mecanismo de síntese do éster pela esterificação de Fischer.

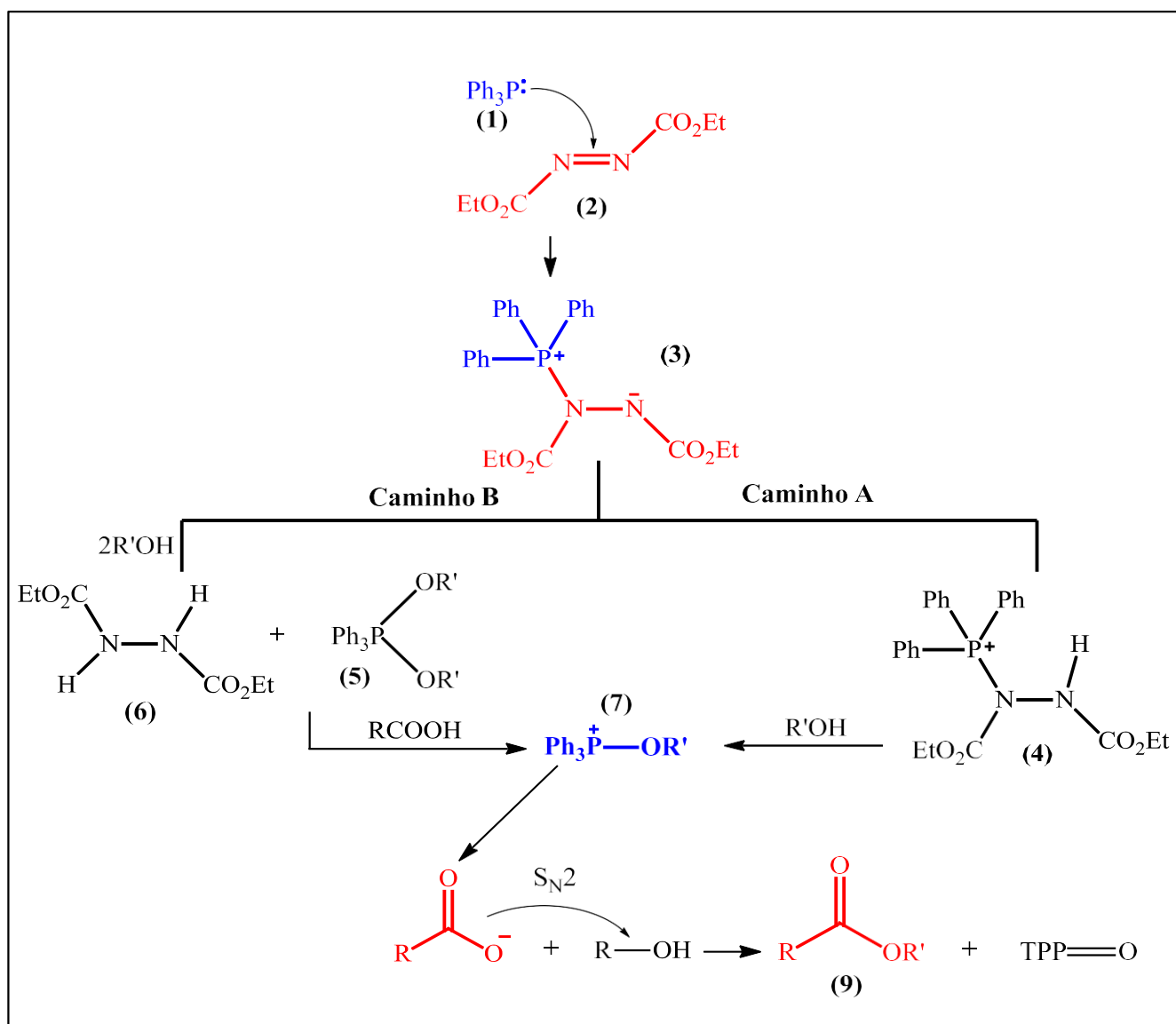
Outro tipo de reação é a esterificação a partir de haletos de alquila ou arila na presença de trietilamina, uma substituição nucleofílica em meio a um solvente aprótico, acetona, e sob refluxo. A base, trietilamina, desprotona o ácido que fica com carga negativa e ataca o haleto pelolado oposto em relação ao grupo abandonador. Assim, o halogênio começa a se afastar com o par de elétrons que o ligava ao carbono. Posteriormente, há a formação do complexo (ácido/haleto) no estado de transição, onde o halogênio irá abandonar o complexo dando origem ao produto (MUSKAWARA et al., 2014) adaptado, de acordo com a **Figura 5** da página seguinte.



**Figura5.** Mecanismo de síntese de éster através da substituição nucleofílica  $S_N2$ .

Os ésteres também podem ser sintetizados a partir da reação de Mitsunobu. Devido à importância e à utilização generalizada dessa reação, os detalhes do seu mecanismo têm sido amplamente estudados por uma variedade de métodos. Assim, esta reação pode ser utilizada para preparar ésteres, éteres arílicos, éteres cíclicos, ligações carbono-carbono e carbono-nitrogênio, entre outras reações. Além de produtos acoplados desejados (BUT e TOY, 2007).

A reação começa com o ataque nucleofílico de uma fosfina, **(1)**, (mais frequentemente  $\text{Ph}_3\text{P}$ ) na ligação dupla de um azodicarboxilato, **(2)**, (normalmente DEAD) (MORRISON, 1958). Este primeiro passo mostrou ser irreversível (CRICH, DYKER e HARRIS, 1989; GUTHRIE e JENKINS, 1982; BRUNN e HUISGEN, 1969). No caminho **(A)**, a betaína **(3)** é protonada para formar o composto **(4)** (VARASI, WALKER e MADDOX, 1987). O mesmo se decompõe por adição de um equivalente de álcool para gerar uma hidrazina **(6)** e um sal de alcoxifosfônio **(7)** (WILSON, PEREZ e PASTER-NAK, 1993). No caminho **(B)** a betaína **(3)** reage primeiro com dois equivalentes de álcool para gerar um dialcoxifosforano **(5)** e uma hidrazina **(6)**. (WATANABE, GRIDNEV e IMAMOTO, 2000; HUGHES., et al1988). Consequentemente, uma decomposição induzida por ácido da espécie **(5)** produz o sal oxifosfônio **(7)** sob a regeneração de um equivalente de álcool. No passo final da reação de Mitsunobu, o sal de alcoxifosfônio **(7)** sofre uma reação de substituição com um íon carboxilato o qual ataca a ligação carbono oxigênio do álcool (C-O) para formar óxido de fosfina e o éster **(9)**, de acordo com a **Figura 6**.



**Figura6.** Mecanismo de síntese de éster através da reação de Mitsunobu.

### 2.1.1. Relação estrutura atividade (SAR, structure activity relationship)

A ação terapêutica de fármacos resulta de interações destes com sistemas biológicos e é dependente de fatores relacionados com sua estrutura química e consequentemente de suas propriedades físico-químicas. Esses fatores sejam eles de caráter eletrônico, hidrofóbico ou estérico, influenciam na interação do fármaco com a biofase e a sua distribuição nos compartimentos que compõem o sistema biológico. Assim, dois fármacos estruturalmente semelhantes, diferenciando-se apenas por um átomo ou posição que este ocupa na molécula, podem apresentar diferenças quanto às suas propriedades físico-químicas e, consequentemente, quanto à atividade biológica, tanto do ponto de vista quantitativo como qualitativo (HANSCH, SAMMES e TAYLOR, 1990; HANSCH, LEO e HOEKMAN, 1995; KBINYI, 1993; HANSCH e LEO, 1995).



Entre as propriedades físico-químicas mais importantes para o estabelecimento da atividade biológica de fármacos, citam-se a distribuição eletrônica, a hidrofobicidade e a estereoquímica da molécula. (HANSCH, SAMMES e TAYLOR, 1990; HANSCH, LEO e HOEKMAN, 1995; KUBINYI, 1993; HANSCH e LEO, 1995; KUBINYI; LEO; KUBINYI, 1977). O planejamento adequado de variações na estrutura de um composto bioativo pode resultar em derivados com maior interesse terapêutico, seja por apresentar maior atividade, menor toxicidade ou ainda por adquirir características farmacotecnicamente mais adequadas (KUBINYI e CRAIG, 1971). Como por exemplo, um estudo realizado por Ernawati e Khoirunni'mah (2015), onde foram avaliadas a citotoxicidade e atividade anticancerígena frente a células leucêmicas da linhagem murina P388, e foi observado que o potencial de inibição dos compostos sobre as células cancerígenas, após sua modificação através do processo de nitração, variou significativamente. As concentrações inibitórias dos nitrocompostos (CI<sub>50</sub>) apresentaram uma relação de 1:8, após a nitração *orto/para* no *trans*-cinamato de metila, composto líder, obtendo-se assim os compostos 3-(2-nitrofenil) acrilato de metila e 3-(4-nitrofenil) acrilato de metila respectivamente com melhores perfis de atividade em comparação com a molécula líder.

### **3. OBJETIVOGERAL**

Preparar uma coleção de ésteres fenilpropanoicos estruturalmente relacionados e avaliar a sua atividade antimicrobiana.

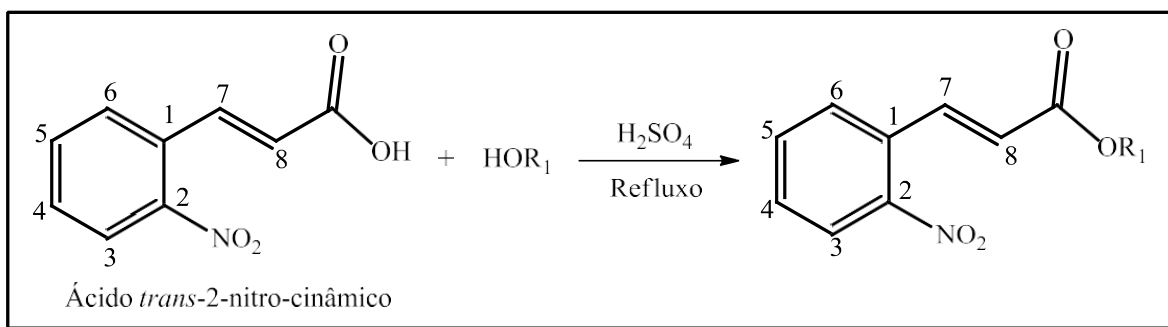
#### **3.1. Objetivosespecíficos**

- ✓ Preparar ésteres potencialmente bioativos derivados do ácido *trans*-2-nitrocinâmico;
- ✓ Avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica *in vitro* dos derivados;
- ✓ Estabelecer a relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas;

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Preparação dos derivados ésteres

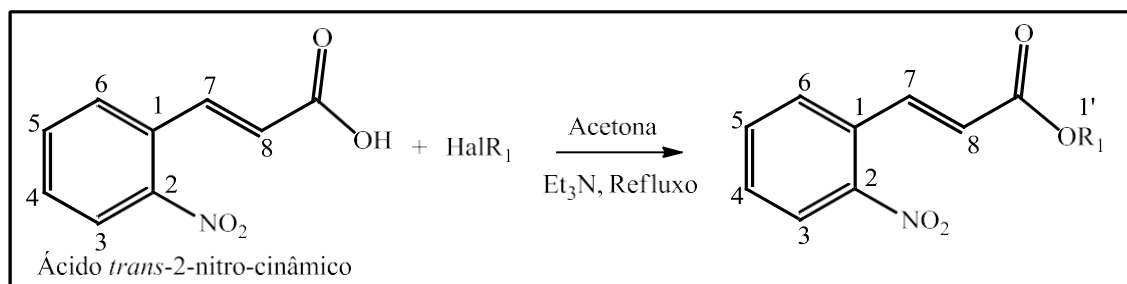
Os ésteres foram obtidos a partir de três tipos de reações: esterificação de Fischer, esterificação com haletos de alquila e reação de Mitsunobu. As esterificações de Fischer são reações lentas, porém com bons rendimentos. A facilidade de execução e a utilização de reagentes de baixo custo motivou a preparação de parte dos derivados. A primeira série de Ésteres EL1 a EL6 foi obtida a partir da reação entre o ácido carboxílico, ácido (*E*)-3-(2-nitrofenil) acrilato, com álcool em excesso utilizando  $H_2SO_4$  como catalisador sob refluxo e monitorada por cromatografia em camada delgada analítica, segundo a metodologia de (DE CAMPOS BUZZI et al., 2009). Na presente reação, há um ataque nucleofílico, no qual o  $H_2SO_4$  tem como função protonar o oxigênio da carbonila deixando-a mais susceptível a adição nucleofílica do álcool e, dessa forma, hidroxila sai na forma de água para a entrada de uma cadeia alquila ou arila. De acordo com **Figura 4**, página 38. As reações duraram 3-5 horas e seus rendimentos foram entre 64-98% **Tabela 1**, página 45. Dentre os seis ésteres, o composto EL3 foi o que teve melhor rendimento com melhor tempo de reação.



**Esquema 2.** Reação geral de esterificação de Fischer utilizando como material de partida o ácido *trans*-2-nitro-cinâmico.

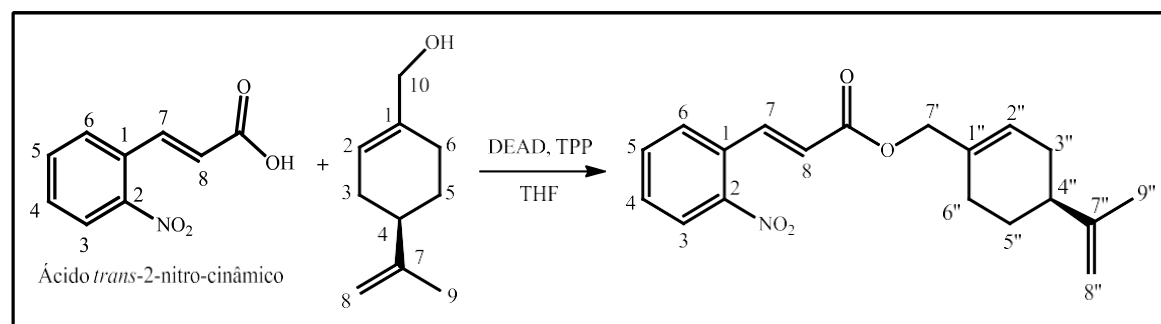
Os ésteres EL7 a EL13 foram obtidos a partir da reação entre o ácido *trans*-2-nitrocinâmico com haletos de alquila e arila, utilizando-se acetona anidra como solvente na presença do catalisador trietilamina ( $Et_3N$ ), mantendo-se o sistema em refluxo, como mostrado no **Esquema 3** na página seguinte. O monitoramento da reação foi feito por cromatografia em camada delgada analítica segundo a metodologia de (SÁ et al., 2005). Nesta substituição nucleofílica ( $S_N2$ ), a base, trietilamina, ioniza o ácido que fica com carga negativa e ataca o haleto pelo lado oposto em relação ao grupo abandonador.

Os tempos das reações variaram entre 24-55 horas e seus rendimentos foram de 25-72%, com destaque para a formação do éster EL11 que obteve melhor rendimento de (72%) com o menor tempo reacional de (12) horas. **Tabela1**, página 45.



**Esquema 3.** Reação geral de esterificação através do uso de haletos utilizando como material de partida o ácido *trans*-2-nitro-cinâmico.

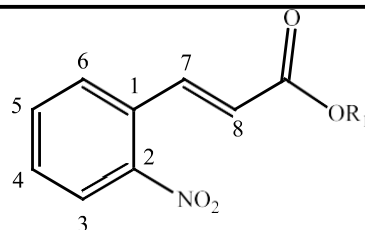
O éster EL14 foi obtido a partir da reação de Mitsunobu, utilizando o ácido carboxílico nitrocinâmico e álcool perílico em tetrahidrofurano (THF) como solvente, na presença de trifetilfosfina e azodicarboxilato de dietila, como mostrado no **Esquema 4**. (BATOVSKA et al., 2005). Nesta reação, ocorre o acoplamento do álcool com um ácido desidratante, através da utilização de uma combinação de um reagente de oxidação azo, mais comumente o azodicarboxilato de dietila (DEAD), e de uma fosfina que atua como um agente redutor, geralmente a trifetilfosfina (TEPP), sob condições de reação suaves e virtualmente neutras. A reação durou 48 horas e seu rendimento foi de 41,34%.



**Esquema 4.** Reação de esterificação através do método de Mitsunobu utilizando como material de partida o ácido *trans*-2-nitro-cinâmico

Foram preparados 14 (quatorze) ésteres derivados do ácido *trans*-2 nitrocinâmico os quais foram identificados por métodos espectroscópicos de infravermelho, RMN de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e espectrometria de massa de alta resolução para os compostos inéditos.

**Tabela 1.** Dados das reações de esterificação e dos ésteres derivados do ácido *trans*-2-nitrocínâmico



| Composto | R <sub>1</sub>                                                    | Fórmula molecular                                 | Massa molar (g/mol) | P.F (°C) <sup>a</sup> | Tempo de reação (h) | Sistema da coluna (Hex:AcOEt) | Quantidade em massa (mg) | Rendimento (%) |
|----------|-------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|-------------------------------|--------------------------|----------------|
| EL1      | CH <sub>3</sub> -                                                 | C <sub>10</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>    | 207,19              | 97-100 °C             | 3                   | -                             | 464                      | 86,43          |
| EL2      | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -                                 | C <sub>11</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>4</sub>   | 221,22              | 37-40 °C              | 3                   | -                             | 491                      | 85,78          |
| EL3      | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                 | C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>   | 235,24              | 50-55 °C              | 3                   | -                             | 595                      | 98,94          |
| EL4      | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - | C <sub>13</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>   | 249,27              | -                     | 3                   | -                             | 567                      | 88,62          |
| EL5      | CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH-                               | C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>4</sub>   | 235,24              | -                     | 4                   | -                             | 121                      | 97,68          |
| EL6      | CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                | C <sub>12</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>5</sub>   | 251,24              | -                     | 5                   | -                             | 420                      | 64,44          |
| EL7      | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> - | C <sub>14</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>   | 263,30              | -                     | 24                  | 7:3                           | 288                      | 42,23          |
| EL8      | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>2</sub> - | C <sub>19</sub> H <sub>27</sub> NO <sub>4</sub>   | 333,43              | 29-32 °C              | 48                  | 9:1                           | 443                      | 51,35          |
| EL9      | 4-ClPhCH <sub>2</sub> -                                           | C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> ClNO <sub>4</sub> | 317,72              | 115-120 °C            | 24                  | 8:2                           | 86                       | 52,37          |
| EL10     | (Ph) <sub>2</sub> CH-                                             | C <sub>22</sub> H <sub>17</sub> NO <sub>4</sub>   | 359,37              | 58-70 °C              | 55                  | 6:4                           | 51                       | 28,00          |
| EL11     | 4-OHPhCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                           | C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>   | 313,30              | -                     | 12                  | 6:4                           | 59                       | 72,22          |
| EL12     | 4-OCH <sub>3</sub> PhCH <sub>2</sub> -                            | C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>5</sub>   | 313,32              | 65-75 °C              | 50                  | 6:4                           | 97                       | 60,09          |
| EL13     | NafCH <sub>2</sub> -                                              | C <sub>20</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>4</sub>   | 333,35              | 83-110 °C             | 52                  | 8:2                           | 43                       | 25,00          |
| EL14     | PHO-                                                              | C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>4</sub>   | 327,38              | 75-79 °C              | 48                  | 9:1                           | 70                       | 41,34          |

#### 4.1.1. Análise espectroscópica dos ésteres

#### 4.1.2. Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos EL1 a EL14

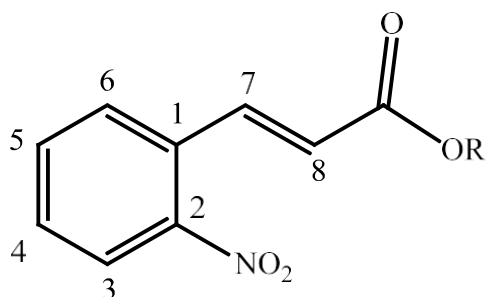
A análise dos espectros de infravermelho dos ésteres foi feita seguindo dados da literatura especializada, como (SILVERSTEIN et al., 2007) e (PAVIA et al., 2010). Ao analisar os espectros dos diferentes análogos, foi possível observar a presença e repetição de padrões muito semelhantes entre as moléculas, identificando bandas de absorções características, como por exemplo: bandas entre 2850-3000  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento C-H  $sp^3$ , bandas entre 3000-3100  $\text{cm}^{-1}$  referentes ao estiramento de C-H  $sp^2$ , as bandas de estiramento de C=O que são observadas em faixa de 1750-1735  $\text{cm}^{-1}$ , típicas de carbonilas de ésteres. Entre outros sinais, observou-se a diminuição da frequência de absorção da carbonila que foi de 1717  $\text{cm}^{-1}$  nos ésteres, a qual se dá por conta da dupla ligação conjugada que deixa a dupla ligação da carbonila com caráter de ligação simples, característica essa, bastante peculiar a esses compostos. Quanto às bandas em 1636 e 1432  $\text{cm}^{-1}$ , os sinais confirmam a presença de anéis aromáticos. Absorções em 1206 e 1007  $\text{cm}^{-1}$  sugerem a presença de ligação C-O e a banda de estiramento de C-Cl se mostrou na faixa de 1086  $\text{cm}^{-1}$  evidenciando a presença do cloro. É possível observar ainda uma banda em 3335  $\text{cm}^{-1}$ , confirmando a presença da hidroxila no composto EL11, como mostrado na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Espectro de infravermelho dos ésteres derivados ácido *trans*-2-nitrocínâmico.

| Composto | $\nu$ (O-H) | $\nu$ (C-H $^{sp^2}$ ) | $\nu$ (C-H $^{sp^3}$ ) | $\nu$ (C=O) | $\nu$ (C=C) | $\nu$ (C <sub>Ar</sub> -NO) | $\nu$ (C-O) | $\nu$ (C <sub>Ar</sub> -X) |
|----------|-------------|------------------------|------------------------|-------------|-------------|-----------------------------|-------------|----------------------------|
| EL1      | -           | 3090                   | 2952                   | 1717        | 1636-1402   | 1522-1346                   | 1182        | -                          |
| EL2      | -           | 3103                   | 2984                   | 1717        | 1639-1477   | 1526-1346                   | 1196        | -                          |
| EL3      | -           | 3099                   | 2970                   | 1713        | 1639-1476   | 1524-1348                   | 1168        | -                          |
| EL4      | -           | 3099                   | 2961                   | 1717        | 1639-1466   | 1526-1346                   | 1180        | -                          |
| EL5      | -           | 3075                   | 2980                   | 1705        | 1638-1468   | 1518-1339                   | 1206        | -                          |
| EL6      | -           | 3103                   | 2930                   | 1719        | 1640-1476   | 1526-1346                   | 1180        | -                          |
| EL7      | -           | 3103                   | 2957                   | 1717        | 1638-1468   | 1526-1346                   | 1179        | -                          |
| EL8      | -           | 3072                   | 2926                   | 1717        | 1639-1468   | 1528-1346                   | 1177        | -                          |
| EL9      | -           | 3100                   | 2949                   | 1701        | 1639-1491   | 1526-1344                   | 1190        | 1086                       |
| EL10     | -           | 3086                   | 2970                   | 1713        | 1634-1493   | 1518-1342                   | 1171        | -                          |
| EL11     | 3335        | 3078                   | 2957                   | 1682        | 1636-1454   | 1516-1348                   | 1209        | -                          |
| EL12     | -           | 3103                   | 2957                   | 1715        | 1612-1460   | 1524-1344                   | 1169        | -                          |
| EL13     | -           | 3057                   | 2959                   | 1707        | 1636-1450   | 1522-1341                   | 1179        | -                          |
| EL14     | -           | 3078                   | 2963                   | 1707        | 1638-1437   | 1518-1342                   | 1180        | -                          |

#### 4.1.3. Interpretação dos espectros de RMN de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ dos compostos EL1 aEL14

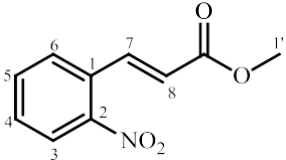
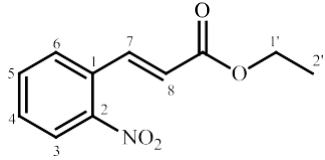
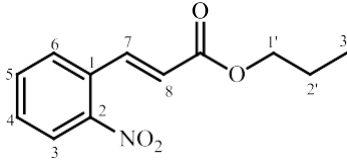
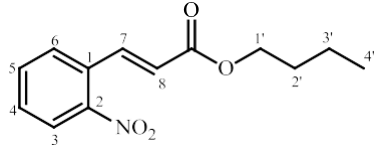
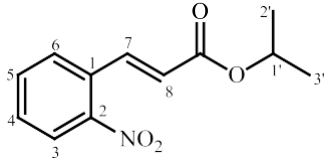
- (1)  $\text{R} = \text{CH}_3-$
- (2)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2-$
- (3)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2-$
- (4)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$
- (5)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}-$
- (6)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2-$
- (7)  $\text{R} = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$
- (8)  $\text{R} = \text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{CH}_2-$
- (9)  $\text{R} = 4\text{-ClPhCH}_2-$
- (10)  $\text{R} = (\text{Ph})_2\text{CH}-$
- (11)  $\text{R} = 4\text{-OHPhCH}_2\text{CH}_2-$
- (12)  $\text{R} = 4\text{-OCH}_3\text{PhCH}_2-$
- (13)  $\text{R} = \text{NafCH}_2-$
- (14)  $\text{R} = \text{PhO}-$



**Figura7.**Esquema geral dos ésteres derivados ácido *trans*-2-nitrocinâmico

Os espectros de RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  dos ésteres apresentam seis hidrogênios em comum, sendo quatro deles de anel aromático e 2 dois na cadeia lateral ligada na posição 1 (um) do anel aromático, de acordo com a **Figura 9**. Os sinais dos hidrogênios aromáticos do anel benzênico obtidos em  $\text{CDCl}_3$ , 200 MHz, ppm, foram: dubleto em 8,01 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1H), atribuído ao hidrogênio H-3 e um sinal na faixa de 7,69-7,37 (m, 3H) dos hidrogênios H-4, H-5 e H-6. Um dubleto em  $\delta$  8,08 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H) para o hidrogênio H-7, 6,33 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H) para o hidrogênio H-8 com constante de acoplamento semelhante ao próton H-7, evidenciando o acoplamento com o mesmo, como mostrado nas Tabelas 3, 4 e 5. Com relação aos espectros de ressonância nuclear de carbono 13, os compostos sintetizados possuem 8 (oito) carbonos em comum, sendo 6 (seis) de anel benzênico e dois de cadeia lateral. Os sinais obtidos em  $\text{CDCl}_3$ , 50 MHz, ppm foram eles: sinais de 130,2 a 133,6 atribuídos a carbonos aromáticos, um sinal característico do carbono ligado ao nitrogênio em 148,2 ( $\text{C}_2\text{-N}$ ), um sinal em 140,1 atribuído ao carbono metínico  $\text{C}_7$  desprotegido e um sinal em 122,8 referente ao carbono metínico mais protegido,  $\text{C}_8$ , como mostrado na **Tabela 6**, página 51. Ao comparar os dados espectroscópicos com os dados de estruturas análogas, pode-se confirmar que os ésteres **EL4-EL14**, com exceção do **EL5**, são inéditos na literatura.

Tabela 3. Dados de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados ésteres do ácido *trans*-2-nitrocínâmico

|           | EL1                                                                               | EL2                                                                               | EL3                                                                                 | EL4                                                                                 | EL5                                                                                 |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| compostos |  |  |  |  |  |
|           | $\delta_{\text{H}}$                                                               | $\delta_{\text{H}}$                                                               | $\delta_{\text{H}}$                                                                 | $\delta_{\text{H}}$                                                                 | $\delta_{\text{H}}$                                                                 |
| 1         | -                                                                                 | -                                                                                 | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   |
| 2         | -                                                                                 | -                                                                                 | -                                                                                   | -                                                                                   | -                                                                                   |
| 3         | 8,01 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 1H)                                               | 8,00 ( <i>d</i> , $J = 7,9$ Hz, 1H)                                               | 8,08 ( <i>d</i> , $J = 8,3$ Hz, 1H)                                                 | 8,00 ( <i>d</i> , $J = 9,0$ Hz, 1H)                                                 | 7,98 ( <i>d</i> , $J = 6,2$ Hz, 1H)                                                 |
| 4         | 7,69 – 7,37 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,66 – 7,46 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,63 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,67 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)                                                        |
| 5         | 7,69 – 7,37 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,66 – 7,46 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,63 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,67 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)                                                        |
| 6         | 7,69 – 7,37 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                      | 7,66 – 7,46 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,63 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)                                                        | 7,67 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)                                                        |
| 7         | 8,08 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                              | 8,07 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz, 1H)                                              | 8,01 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                                | 8,07 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz)                                                    | 8,04 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                                |
| 8         | 6,33 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                              | 6,33 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz, 1H)                                              | 6,34 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                                | 6,33 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz, 1H)                                                | 6,31 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)                                                |
| 1'        | 3,79 ( <i>s</i> , 3H)                                                             | 4,26 ( <i>q</i> , $J = 10,0$ Hz, 2H)                                              | 4,15 ( <i>t</i> , $J = 6,7$ Hz, 2H)                                                 | 4,20 ( <i>t</i> , $J = 6,7$ Hz, 2H)                                                 | 5,20 – 5,00 ( <i>m</i> , 1H)                                                        |
| 2'        | -                                                                                 | 1,31 ( <i>t</i> , $J = 10,0$ Hz, 3H)                                              | 1,82 – 1,60 ( <i>m</i> , 2H)                                                        | 1,70 – 1,63 ( <i>m</i> , 2H)                                                        | 1,28 ( <i>d</i> , $J = 6,2$ Hz, 6H)                                                 |
| 3'        | -                                                                                 | -                                                                                 | 0,96 ( <i>t</i> , $J = 7,4$ Hz, 3H)                                                 | 1,48 – 1,33 ( <i>m</i> , 2H)                                                        | 1,28 ( <i>d</i> , $J = 6,2$ Hz, 6H)                                                 |
| 4'        | -                                                                                 | -                                                                                 | -                                                                                   | 0,93 ( <i>t</i> , $J = 7,4$ Hz, 3H)                                                 | -                                                                                   |



**Tabela 4.** Dados de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados ésteres do ácido *trans*-2-nitrocínâmico

| compostos  | EL6                                  | EL7                                  | EL8                                  | EL9                                  | EL10                                 |
|------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
|            |                                      |                                      |                                      |                                      |                                      |
|            | $\delta_{\text{H}}$                  | $\delta_{\text{H}}$                  | $\delta_{\text{H}}$                  | $\delta_{\text{H}}$                  | $\delta_{\text{H}}$                  |
| <b>1</b>   | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |
| <b>2</b>   | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |
| <b>3</b>   | 7,98 ( <i>d</i> , $J = 8,6$ Hz, 1H)  | 7,99 ( <i>d</i> , $J = 8,2$ Hz, 1H)  | 8,00 ( <i>d</i> , $J = 7,1$ Hz, 1H)  | 8,02 ( <i>d</i> , $J = 8,1$ Hz, 1H)  | 8,05 ( <i>d</i> , $J = 7,9$ Hz, 1H)  |
| <b>4</b>   | 7,63 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,65 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,63 – 7,50 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)         |
| <b>5</b>   | 7,63 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,65 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,63 – 7,50 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)         |
| <b>6</b>   | 7,63 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,65 – 7,44 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,63 – 7,50 ( <i>m</i> , 3H)         | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)         |
| <b>7</b>   | 8,08 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) | 8,06 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz, 1H) | 8,07 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H) | 8,14 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) | 8,25 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) |
| <b>8</b>   | 6,37 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) | 6,33 ( <i>d</i> , $J = 15,0$ Hz, 1H) | 6,34 ( <i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H) | 6,37 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) | 6,47 ( <i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H) |
| <b>1'</b>  | 4,34 ( <i>t</i> , 2H)                | 4,18 ( <i>t</i> , $J = 6,8$ Hz, 2H)  | 4,18 ( <i>t</i> , $J = 6,7$ Hz, 2H)  | -                                    | -                                    |
| <b>2'</b>  | 3,63 ( <i>t</i> , 2H)                | 1,71 – 1,65 ( <i>m</i> , 2H)         | 1,79 – 1,50 ( <i>m</i> , 2H)         | 7,39 – 7,32 ( <i>m</i> , 4H)         | 7,41 – 7,36 ( <i>m</i> , 10H)        |
| <b>3'</b>  | -                                    | 1,37 – 1,30 ( <i>m</i> , 4H)         | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | 7,39 – 7,32 ( <i>m</i> , 4H)         | 7,41 – 7,36 ( <i>m</i> , 10H)        |
| <b>4'</b>  | -                                    | 1,37 – 1,30 ( <i>m</i> , 4H)         | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | -                                    | 7,41 – 7,36 ( <i>m</i> , 10H)        |
| <b>5'</b>  | -                                    | 0,88 ( <i>t</i> , $J = 5,7$ Hz, 3H)  | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | 7,39 – 7,32 ( <i>m</i> , 4H)         | 7,41 – 7,36 ( <i>m</i> , 10H)        |
| <b>6'</b>  | -                                    | -                                    | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | 7,39 – 7,32 ( <i>m</i> , 4H)         | 7,41 – 7,36 ( <i>m</i> , 10H)        |
| <b>7'</b>  | -                                    | -                                    | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | -                                    | 7,04 ( <i>s</i> , 1H)                |
| <b>8'</b>  | -                                    | -                                    | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | -                                    | -                                    |
| <b>9'</b>  | -                                    | -                                    | 1,40 – 1,21 ( <i>m</i> , 14H)        | -                                    | -                                    |
| <b>10'</b> | -                                    | -                                    | 0,84 ( <i>t</i> , $J = 6,4$ Hz, 3H)  | -                                    | -                                    |
| <b>OMe</b> | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |
| <b>1''</b> | 3,37 ( <i>s</i> , 3H)                | -                                    | -                                    | -                                    | -                                    |

Tabela 5. Dados de RMN de  $^1\text{H}$  dos derivados ésteres do ácido *trans*-2-nitrocínâmico

|                   | EL11                                      | EL12                                      | EL13                                      | EL14                                                         |
|-------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| <b>Hidrogênio</b> |                                           |                                           |                                           |                                                              |
|                   | $\delta_{\text{H}}$                       | $\delta_{\text{H}}$                       | $\delta_{\text{H}}$                       | $\delta_{\text{H}}$                                          |
| <b>1</b>          | -                                         | -                                         | -                                         | -                                                            |
| <b>2</b>          | -                                         | -                                         | -                                         | -                                                            |
| <b>3</b>          | 8,01 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H)  | 7,99 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,2 Hz, 1H)  | 8,01 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 8,0 Hz, 1H)  | 8,02 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 7,9 Hz, 1H)                     |
| <b>4</b>          | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,61 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,88 – 7,80 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,66 – 7,47 ( <i>m</i> , 3H)                                 |
| <b>5</b>          | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,61 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,88 – 7,80 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,66 – 7,47 ( <i>m</i> , 3H)                                 |
| <b>6</b>          | 7,62 – 7,49 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,61 – 7,48 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,88 – 7,80 ( <i>m</i> , 3H)              | 7,66 – 7,47 ( <i>m</i> , 3H)                                 |
| <b>7</b>          | 8,08 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,0 Hz, 1H) | 8,11 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,0 Hz, 1H) | 8,18 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H) | 8,10 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H)                    |
| <b>8</b>          | 6,32 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,0 Hz, 1H) | 6,36 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 15,0 Hz, 1H) | 6,41 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16,0 Hz, 1H) | 6,36 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 16, Hz, 1H)                     |
| <b>1'</b>         | -                                         | -                                         | 5,42 ( <i>s</i> , 2H)                     | -                                                            |
| <b>2'</b>         | 7,10 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 7,33 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | -                                         | 5,79 ( <i>s</i> , 1H)                                        |
| <b>3'</b>         | 6,78 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 6,88 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 7,51 – 7,45 ( <i>m</i> , 3H)              | 2,27 – 2,13 ( <i>m</i> , 1H)<br>1,98-1,93 ( <i>m</i> , 1H)   |
| <b>4'</b>         | -                                         | -                                         | -                                         | 2,13 – 2,10 ( <i>m</i> , 1H)                                 |
| <b>5'</b>         | 6,78 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 6,88 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | -                                         | 1,97 – 1,77 ( <i>m</i> , 1H)<br>1,59 – 1,45 ( <i>m</i> , 1H) |
| <b>6'</b>         | 7,10 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 7,33 ( <i>d</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 7,51 – 7,45 ( <i>m</i> , 3H)              | 2,04 – 2,01 ( <i>m</i> , 2H)                                 |
| <b>7'</b>         | 4,37 ( <i>t</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | 5,18 ( <i>s</i> , 2H)                     | 7,51 – 7,45 ( <i>m</i> , 3H)              | 4,59 ( <i>s</i> , 2H)                                        |
| <b>8'</b>         | 2,92 ( <i>t</i> , <i>J</i> = 10,0 Hz, 2H) | -                                         | 7,82 – 7,58 ( <i>m</i> , 4H)              | -                                                            |
| <b>9'</b>         | -                                         | -                                         | 7,82 – 7,58 ( <i>m</i> , 4H)              | 4,69 ( <i>s</i> , 2H)                                        |
| <b>10'</b>        | -                                         | -                                         | 7,82 – 7,58 ( <i>m</i> , 4H)              | 1,71 ( <i>s</i> , 3H)                                        |
| <b>11'</b>        | -                                         | -                                         | 7,82 – 7,58 ( <i>m</i> , 4H)              | -                                                            |
| <b>OMe</b>        | -                                         | 3,78 ( <i>s</i> , 3H)                     | -                                         | -                                                            |
| <b>OH</b>         | 5,46 ( <i>sl</i> , 1H)                    | -                                         | -                                         | -                                                            |

Tabela 6.Dados de RMN de  $^{13}\text{C}$ -APT dos derivados ésteres do ácido *trans*-2-nitrocínâmico

| Carbono | EL1                 | EL2                 | EL3                 | EL4                 | EL5                 | EL6                 | EL7                 | EL8                 | EL9                 | EL10                | EL11                | EL12                | EL13                | EL14                |
|---------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|         | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ | $\delta_{\text{C}}$ |
| 1       | 130,5               | 130,58              | 130,6               | 130,59              | 130,5               | 130,38              | 130,54              | 130,6               | 130,38              | 130,4               | 130,46              | 130,44              | 130,4               | 130,5               |
| 2       | 148,2               | 148,31              | 148,1               | 148,30              | 148,2               | 148,22              | 148,28              | 148,2               | 148,28              | 148,1               | 148,28              | 148,23              | 148,2               | 148,2               |
| 3       | 124,9               | 124,83              | 124,9               | 124,84              | 124,8               | 124,74              | 124,80              | 124,8               | 124,91              | 124,9               | 124,88              | 124,80              | 124,8               | 124,9               |
| 4       | 130,3               | 130,19              | 130,2               | 130,18              | 130,1               | 130,26              | 130,17              | 130,2               | 130,42              | 130,3               | 130,29              | 130,22              | 130,3               | 130,3               |
| 5       | 133,5               | 133,43              | 133,5               | 133,43              | 133,4               | 133,45              | 133,41              | 133,4               | 133,50              | 133,5               | 133,48              | 133,42              | 133,5               | 133,5               |
| 6       | 129,1               | 129,07              | 129,1               | 129,07              | 129,0               | 129,01              | 129,04              | 129,1               | 129,09              | 129,1               | 129,09              | 129,02              | 129,1               | 129,1               |
| 7       | 140,1               | 139,75              | 139,8               | 139,74              | 139,4               | 140,28              | 139,70              | 139,8               | 140,68              | 140,7               | 140,15              | 140,16              | 140,5               | 140,0               |
| 8       | 122,8               | 123,33              | 123,3               | 123,33              | 123,7               | 122,73              | 123,30              | 123,3               | 122,66              | 122,9               | 123,03              | 123,01              | 122,8               | 123,1               |
| 1'      | 52,0                | 60,87               | 66,5                | 64,78               | 68,3                | 70,30               | 65,03               | 65,1                | 134,24              | 139,9               | 129,61              | 127,80              | 66,8                | 132,4               |
| 2'      | -                   | 14,21               | 22,0                | 30,64               | 21,8                | 63,85               | 28,27               | 31,8                | 129,65              | 128,4               | 130,07              | 130,10              | 133,1               | 126,1               |
| 3'      | -                   | -                   | 10,4                | 19,13               | 21,8                | -                   | 28,02               | 29,5                | 128,77              | 128,5               | 115,45              | 113,94              | 127,4               | 30,4                |
| 4'      | -                   | -                   | -                   | 13,67               | -                   | -                   | 22,25               | 29,5                | 134,24              | 126,5               | 154,46              | 159,67              | 133,1               | 40,7                |
| 5'      | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 13,88               | 29,2                | 128,8               | 128,5               | 115,45              | 113,94              | 133,1               | 27,2                |
| 6'      | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 29,2                | 129,7               | 128,4               | 130,07              | 130,10              | 127,7               | 26,4                |
| 7'      | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 28,6                | 65,79               | 77,3                | 65,75               | 66,43               | 128,4               | 68,9                |
| 9'      | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 22,6                | -                   | -                   | -                   | -                   | 126,3               | 108,7               |
| 10'     | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 14,1                | -                   | -                   | -                   | -                   | 125,8               | 20,7                |
| 11'     | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 128,0               | -                   |
| O=C-O   | 166,2               | 165,72              | 165,8               | 165,81              | 165,2               | 165,62              | 165,77              | 165,8               | 165,39              | 164,7               | 165,14              | 165,54              | 165,6               | 165,6               |
| C-OMe   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 55,20               | -                   | -                   |
| 1''     | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | 58,92               | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   | -                   |

#### 4.1.4. Interpretação dos espectros de massas dos compostos EL1 aEL14

Os espectros de massas dos ésteres inéditos na literatura foram obtidos por espectrômetro de massas tipo MALDI de alta resolução, o qual permitiu a obtenção das massas com elevada exatidão dos ésteres *trans*-2-nitrocinâmicos com precisão de 4 casas decimais. Segundo BRENTON e GODFREY, 2010, foram considerados como massas exatas, aqueles sinais cujos valores ficaram entre + 20% das massas calculadas teóricas, os quais estão descritos na tabela a seguir.

**Tabela 7.**Dados do espectro de massa tipo MALDI dos ésteres inéditos

| Composto | Pico íon-molecular  | massa calculada | massa doespectro |
|----------|---------------------|-----------------|------------------|
| EL8      | [M+Na] <sup>+</sup> | 356,1838        | 356,1837         |
| EL9      | [M+Na] <sup>+</sup> | 342,0420        | 342,0425         |
| EL10     | [M+Na] <sup>+</sup> | 382,1055        | 382,1059         |
| EL12     | [M+Na] <sup>+</sup> | 336,2954        | 336,2953         |
| EL13     | [M+Na] <sup>+</sup> | 356,0899        | 356,0896         |
| EL14     | [M+Na] <sup>+</sup> | 350,1368        | 350,1367         |

#### 4.2. Atividade antifúngica e dos ésteresnitrocinâmicos

##### 4.2.1 Avaliação da atividade antifúngica dos ésteres (E) *trans*-2-nitrocinâmicos

Para avaliar a atividade antifúngica dos ésteres preparados a partir do ácido nitrocinâmico, os mesmos foram testados utilizando-se a técnica de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo de Cleeland, Squires (1991) e NCCLS/CLSI (2002), utilizando-se oito cepas: *C. albicans* ATCC-90028, *C. albican* LM-106, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-31, *C. parapsilosis* LM-14, *C. parapsilosis* LM-02, *C. krusei* LM-13 e *C. krusei* LM-08. A atividade antifúngica **Tabelas 8 e 9** páginas 56 e 58dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não de acordo com os seguintes parâmetros: 50-500 µg/mL = forte atividade; 600-1500 µg/mL = atividade moderada; acima de 1500 = fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al.,2002).

O estudo da relação estrutura-atividade entre os análogos dos ésteres nitrocinâmicos foi baseado nos resultados da atividade inibitória sobre as cepas fúngicas do gênero *Candida* que foram testadas. Esse procedimento se aplica devido ao fato dessescompostos serem estruturalmente semelhantes, havendo mudança no tipo de substituinte, isto é, cadeias

carbônicas,

que são substituídas pelo hidrogênio da hidroxila da molécula líder, podendo causar alterações significativas nas propriedades dos análogos.

Logo, os resultados obtidos neste trabalho podem servir de referência para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos com melhores perfis biológicos.

Os resultados dos ensaios de atividade antifúngica dos ésteres EL1 a EL14, de acordo com o protocolo de CLEELAND, SQUIRES (1991) e NCCLS/CLSI (2002) e executados no laboratório de microbiologia, coordenado pela prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Edeltrudes, estão registrados nas **Tabelas: 8 e 9** das páginas 59 e 61. As espécies de leveduras apresentaram sensibilidade aos ésteres **EL1, EL2, EL3, EL4, EL6, EL9, EL10, EL11, EL13, EL14**. As demais substâncias não produziram inibição sobre o crescimento das cepas.

Ao considerar o éster **EL1** como esqueleto base de estudo, por apresentar uma estrutura simples em relação aos outros ésteres, e que obteve uma CIM de 512 µg/mL sobre as cepas de *C. albicans*; CIM de 256 µg/mL sobre as cepas: *C. albicans* e *C. krusei*; CIM de 128 µg/mL sobre as cepas de *C. tropicalis parapsilosis*, observa-se que seus análogos com cadeias alifáticas maiores, como **EL2** e **EL4** obtiveram um aumento na inibição fúngica sobre as espécies de *C. albicans* e *C. krusei*. O composto **EL2** obteve uma CIM de 256 µg/mL sobre as cepas de *C. albicans* ATCC-90028 e *C. albicans* LM-106, 128 µg/mL sobre seis cepas de *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-31, *C. parapsilosis* LM-14, *C. parapsilosis* LM-02, *C. krusei* LM-13 e *C. krusei* LM-08, enquanto o éster **EL4** obteve uma CIM de 128 µg/mL sobre todas as cepas testadas, aumentando assim seu espectro de ação, característica essa, muito em virtude do aumento da lipofilicidade da molécula (HASHIGUCHI et al.,1997 e WAHBI et al.,1994).

Contudo, o análogo com a cadeia carbônica com três carbonos **EL3** obteve uma inibição inferior aos ésteres **EL1, EL2 e EL4**, ao passo que o composto **EL6**, com a mesma quantidade de carbono na cadeia alifática, teve um aumento significativo na CIM de 128 µg/mL sobre cinco cepas: *C. albicans* ATCC-90028, *C. albicans* LM-106, *C. tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-31, *C. parapsilosis* LM-14 e 256 µg/mL sobre três cepas : *C. parapsilosis* LM-02, *C. krusei* LM-13 e *C. krusei* LM-08 quando comparado com o éster **EL3**, sugerindo que o oxigênio inserido na cadeia carbônica tem um papel crucial na potência da atividade biológica da molécula, possivelmente devido ao melhoramento de alguns parâmetros, como por exemplo: melhor distribuição de carga, bem como melhoramento da afinidade eletrônica que podem ser considerados como principais fatores determinantes na diferença da melhor atividade antimicrobiana (NARASIMHAN et al.,2004).

O composto **EL5**, apesar da pequena cadeia carbônica, não demonstrou atividade sobre as cepas testadas, tal resultado pode estar relacionado com o padrão de sua cadeia alquílica, já que a molécula **EL3** inibiu o crescimento das cepas e possui a mesma quantidade de carbono na cadeia que **EL5**.

Ao analisar as estruturas dos compostos **EL7** e **EL8**, percebe-se que a substituição do hidrogênio pelas cadeias alquílicas com cinco e dez carbonos no composto líder não apresentou inibição do crescimento biológico sobre as cepas testadas. Os resultados do trabalho realizado por Narasimhan e colaboradores (2004) sobre cepas de *Aspergillus niger*, corrobora com a hipótese de que o aumento da cadeia carbônica só é viável para a atividade biológica até certo tamanho. A literatura relata que o ácido cinâmico possui atividade sobre algumas cepas de *C. albicans* (SCHMIDT et al., 2010). Porém, de maneira geral, o grupo nitro causa uma ampliação no espectro de ação dos derivados que os contém, fato este que se comprova a partir do trabalho realizado por Narasimhan et al., (2004), onde se observa o aumento da atividade do derivado nitro, quando comparado a seu ácido de origem, ácido cinâmico.

Ainda dentro desse raciocínio, o trabalho de revisão de Paula, Serrano e Tavares (2009) corrobora com os resultados acima, uma vez que a atividade biológica de muitas moléculas e até fármacos amplamente utilizados atualmente é dependente da presença do grupamento nitro em sua estrutura. De uma maneira geral, a presença deste grupo facilita a redução de moléculas por consequência do seu caráter fortemente aceptor de elétrons. No espaço intracelular de bactérias, fungos ou parasitas, tal mecanismo pode gerar um acúmulo de radicais livres que desestabilizam a membrana celular e podem interromper processos importantes para o funcionamento da célula ligando-se a moléculas essenciais para o micro-organismo.

O 4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL9**) mostrou-se bioativo contra todos os micro-organismos testados e inibiu o crescimento das cepas de *C. albicans* e *C. krusei* com concentrações consideradas de forte a fraca (128, 256 e 1024 µg/mL). É possível perceber que o éster apresenta um substituinte, onde, além de possuir uma cadeia com apenas um carbono, apresenta também um anel aromático com um átomo de cloro ligado na posição 4'. Dessa maneira, sugere-se que a cadeia carbônica e o anel benzeno com um ligante eletronegativo estejam contribuindo para a diminuição da atividade biológica de **EL9**, quando comparada às atividades dos compostos de cadeia simples, **EL1**, **EL4** e **EL6**.

Ainda, tomando como referência os compostos de cadeias simples, percebe-se que as

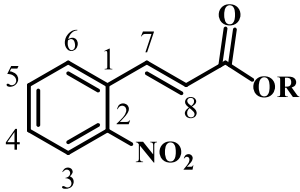
moléculas **EL11** e **EL12** têm menor potencial inibitório, porém de maneira mais acentuada do que a molécula **EL9**. Este resultado deve está relacionado ao substituinte na posição *para* do anel aromático, e não ao substituinte alquila, já que o composto **EL12** apresenta o mesmo número de carbono na cadeia alquílica que o composto **EL9** e, mesmo assim, ele não inibiu o crescimento de nenhuma cepatestada.

Considerando os dados discutidos, é possível que a variação da atividade biológica das moléculas **EL9**, **EL11** e **EL12** esteja relacionada com os substituintes ligados na posição *para* do anel aromático. Se tomarmos como exemplo os ésteres **EL11** e **EL12** é notável que, com a hidroxila na posição *para* do anel, o composto **EL11** mostrou uma atividade a qual inibiu 37,5% das cepas testadas, enquanto o composto **EL12** se mostrou inativo frente a 100% das cepas testadas, sugerindo-se, assim, que essa variação no espectro de ação seja em decorrência da mudança da hidroxila pela metoxila no anel aromático.

O volume molecular pode interferir negativamente com o encaixe e as interações do ligante no sítio de ligação do receptor. Adicionalmente, o grupo metoxila pode dificultar as interações, principalmente, das ligações de hidrogênio, entre o ligante e o sítio de ação, por impedimento estérico, pois torna os átomos de oxigênio (aceptores de ligação hidrogênio) menos acessíveis. Além disso, o grupo metoxila é apenas acceptor de ligação hidrogênio, diferente do grupo hidroxila, que além de acceptor é também doador de ligação hidrogênio. Bem como a metilação exclui a capacidade de doação de ligação hidrogênio. Dessa forma, tais informações reforçam a sugestão de que as variações das atividades dos compostos **EL11** e **EL12** estão relacionadas à hidroxila e metoxila ligadas ao anel na posição *para*, e não às cadeias carbônicas.

O éster **EL10** com o substituinte difenílico apresentou menor espectro de ação frente às espécies testadas, tendo atividade apenas sobre cinco cepas, comparando-o aos compostos de cadeias simples. Esta baixa potência pode estar relacionada ao impedimento estérico causado pelo grupo difenílico. O composto **EL13** demonstrou uma atividade mais interessante inibindo o crescimento de todas as cepas com uma CIM que variou entre (128-256 µg/mL), sendo considerada moderada. Analisando os dois ésteres, observa-se uma diferença quanto à estrutura dos substituintes, isto é, a conformação espacial dos anéis benzênico. A disposição dos anéis pode estar influenciando diretamente na atividade dos compostos, muito embora por conta do impedimento estérico, o que dificulta, muitas vezes, a interação da molécula com o sítio de ação. O composto **EL14** demonstrou uma atividade que variou entre (128-256 µg/mL), isto é, um dos melhores resultado. Da coleção testada, a subestrutura terpênica pode ser responsável por bons perfis inibitórios, haja vista que vários monoterpenos apresentam atividades antifúngicas.

**Tabela 8.** Atividade antifúngica dos ésteres derivados do ácido *trans*-2-nitrocínâmico sobre ensaio de microdiluição em caldo.

| Leveduras /CIM(µg/mL)                                                               |                                                                   |                                  |                              |                                    |                               |                                 |                                 |                           |                           |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|  |                                                                   |                                  |                              |                                    |                               |                                 |                                 |                           |                           |
| Compostos                                                                           | R                                                                 | <i>C. albicans</i><br>ATCC-90028 | <i>C. albicans</i><br>LM-106 | <i>C. tropicalis</i><br>ATCC-13803 | <i>C. tropicalis</i><br>LM-31 | <i>C. parapsilosis</i><br>LM-14 | <i>C. parapsilosis</i><br>LM-02 | <i>C. krusei</i><br>LM-13 | <i>C. krusei</i><br>LM-08 |
| EL1                                                                                 | CH <sub>3</sub> -                                                 | 512                              | 256                          | 128                                | 128                           | 128                             | 128                             | 256                       | 256                       |
| EL2                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -                                 | 256                              | 256                          | 128                                | 128                           | 128                             | 128                             | 128                       | 128                       |
| EL3                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                 | 512                              | 256                          | 256                                | 256                           | 512                             | 512                             | 512                       | 512                       |
| EL4                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - | 128                              | 128                          | 128                                | 128                           | 128                             | 128                             | 128                       | 128                       |
| EL5                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH-                               | +                                | +                            | +                                  | +                             | +                               | +                               | +                         | +                         |
| EL6                                                                                 | CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                | 128                              | 128                          | 128                                | 128                           | 128                             | 256                             | 256                       | 256                       |
| EL7                                                                                 | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> - | +                                | +                            | +                                  | +                             | +                               | +                               | +                         | +                         |
| EL8                                                                                 | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>2</sub> - | +                                | +                            | +                                  | +                             | +                               | +                               | +                         | +                         |
| EL9                                                                                 | 4-ClPhCH <sub>2</sub> -                                           | 128                              | 128                          | 1024                               | 1024                          | 512                             | 1024                            | 1024                      | 256                       |
| EL10                                                                                | (Ph) <sub>2</sub> CH-                                             | 128                              | 128                          | 256                                | 128                           | 128                             | +                               | +                         | +                         |
| EL11                                                                                | 4-OHPhCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                           | 128                              | 128                          | 1024                               | +                             | +                               | +                               | 512                       | 512                       |
| EL12                                                                                | 4-OCH <sub>3</sub> PhCH <sub>2</sub> -                            | +                                | +                            | +                                  | +                             | +                               | +                               | +                         | +                         |
| EL13                                                                                | Naf CH <sub>2</sub> -                                             | 128                              | 128                          | 128                                | 128                           | 256                             | 256                             | 256                       | 256                       |
| EL14                                                                                | PHO-                                                              | 128                              | 128                          | 128                                | 128                           | 128                             | 256                             | 256                       | 256                       |
| Nistatina                                                                           | -                                                                 | -                                | -                            | -                                  | -                             | -                               | -                               | -                         | -                         |

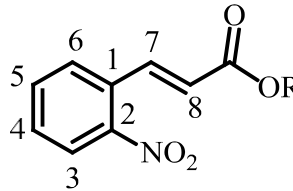
(+) Presença do crescimento microbiano (-) Ausência do crescimento microbiano



#### **4.2.2. Avaliação da atividade antibacteriana dos ésteres (E)-nitrocinâmicos no estudo antibacteriano**

Os ensaios antibacterianos foram realizados com quatorze ésteres derivados do ácido nitrocinâmico, através do procedimento de microdiluição em caldo Cleeland, Squires (1991) e NCCLS/CLSI (2002), utilizando linhagens padrão de bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC-13150, *Staphylococcus epidermidis* ATCC-12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-902. De acordo com os resultados ilustrados na **Tabela 8** da página 56, os ésteres (**EL13 e EL14**) obtiveram atividade inibitória considerável, apresentando uma CIM de 512 µg/mL sobre a cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027, porém os demais ésteres não apresentaram a inibição das cepas bacterianas. Esses resultados demonstram que a cadeia alquílica e o anel aromático *para* substituído, pouco interferem no crescimento bacteriano das cepas testadas.

**Tabela 9.** Atividade antibacteriana dos ésteres derivados do ácido *trans*-2-nitrocínâmico sobre ensaio de microdiluição em caldo.

| Bactérias/CIM (µg/mL)                                                               |                                                                   |                                            |                                                 |                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|
|  |                                                                   |                                            |                                                 |                                            |
| Compostos                                                                           | R                                                                 | <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC-13150 | <i>Staphylococcus epidermidis</i><br>ATCC-12228 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC-9027 |
| EL1                                                                                 | CH <sub>3</sub> -                                                 | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL2                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> -                                 | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL3                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                 | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL4                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> - | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL5                                                                                 | CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH-                               | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL6                                                                                 | CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL7                                                                                 | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> - | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL8                                                                                 | CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> CH <sub>2</sub> - | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL9                                                                                 | 4-ClPhCH <sub>2</sub> -                                           | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL10                                                                                | (Ph) <sub>2</sub> CH-                                             | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL11                                                                                | 4-OHPhCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> -                           | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL12                                                                                | 4-OCH <sub>3</sub> PhCH <sub>2</sub> -                            | +                                          | +                                               | +                                          |
| EL13                                                                                | Naf CH <sub>2</sub> -                                             | +                                          | +                                               | 512                                        |
| EL14                                                                                | PHO-                                                              | +                                          | +                                               | 512                                        |
| Cloranfenicol                                                                       | -                                                                 | -                                          | -                                               | -                                          |

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

## 5. CONCLUSÃO

Foi preparado quatorze ésteres estruturalmente relacionados, utilizando o ácido *trans*-2-nitrocínâmico. Todos os produtos foram obtidos com certa facilidade e apresentando rendimentos variados. Na avaliação da atividade antifúngica dos produtos contra *Candida* spp., a maioria demonstrou ser bioativa, inibindo o crescimento fúngico em concentrações que variaram de fracas à moderadas.

Na análise da influência dos substituintes na bioatividade dos ésteres, foi possível observar que o aumento da cadeia alquílica, até certo ponto, é importante para a bioatividade. Enquanto a metoxila aromática na posição *para* do anel não foi importante para a bioatividade do composto **EL12**, diferente do substituinte hidroxila, o qual contribui na atividade **EL11**. Fato este que pode ser em decorrência da interação da hidroxila fenólica com as células dos micro-organismos, realizando interações com componentes membranares dos mesmos. O substituinte nitro na posição *orto* pode ter sido relevante para a melhor bioatividade, assim como os substituintes com anel aromático.

A partir dos resultados obtidos é possível avançar no estudo de um novo protótipo que tenha melhor perfil biológico e contribuir nas pesquisas para a descoberta de novos fármacos com atividade antifúngica.

## 6. PERSPECTIVAS

Diante do que foi apresentado, o estudo de relação estrutura-atividade dos ésteres cinâmicos foi avaliada, todavia ficaram algumas lacunas que poderão ser investigadas em estudos futuros. Como por exemplo, os ésteres (**EL4** e **EL6**) que se destacaram por suas atividades antifúngicas devido à presença de uma cadeia alquílica pequena, ou devido a um oxigênio inserido na cadeia carbônica, respectivamente. São perspectivas futuras:

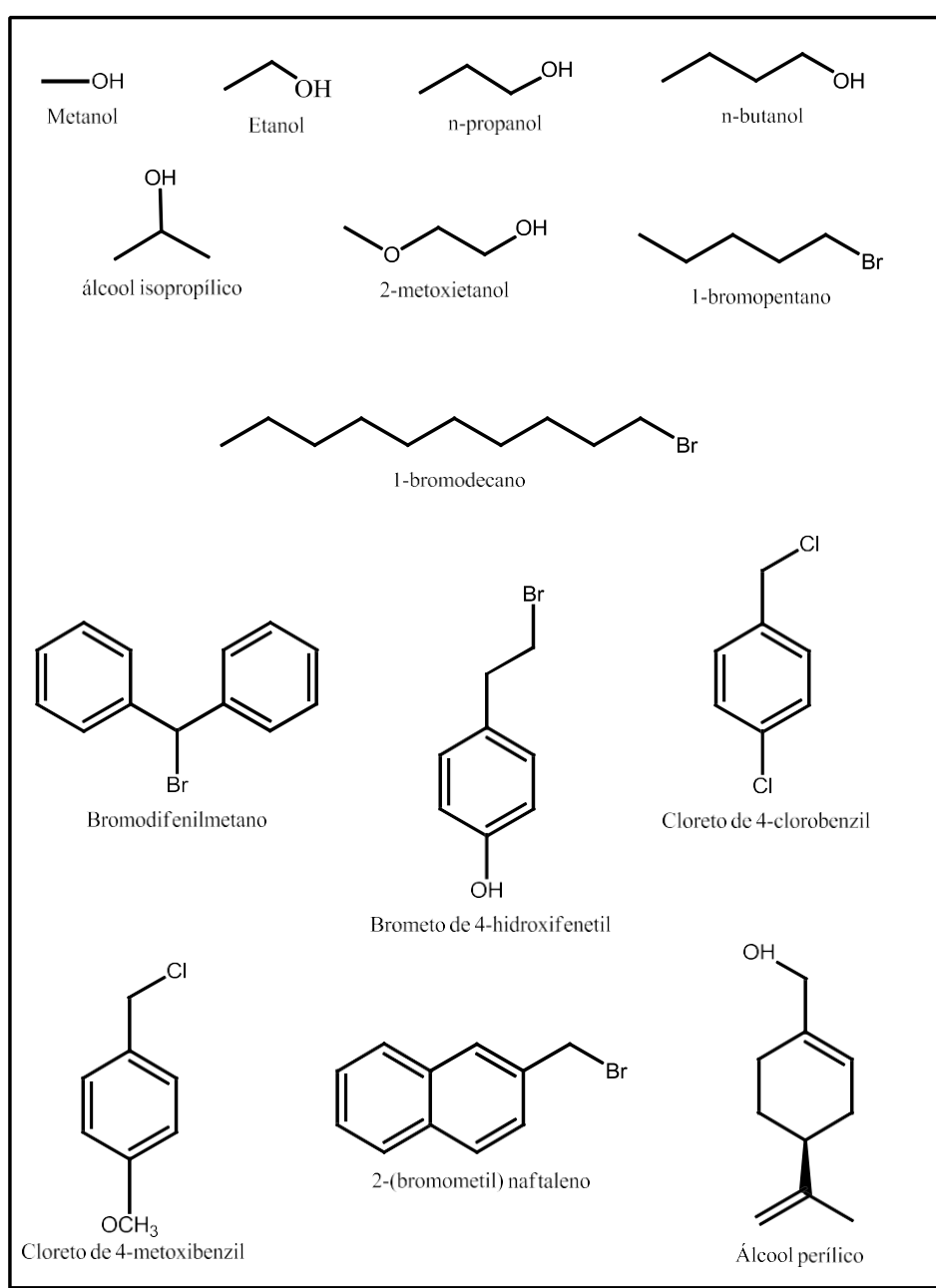
- ✓ Realizar estudos que mostrem análogos desses ésteres com cadeias alquílicas curtas que potencializem a atividade antifúngica;
- ✓ Realizar modificações estruturais nos ésteres (**EL4** e **EL6**), a fim de identificar as características químicas que influenciam a atividade antifúngica;

## 7. PARTE EXPERIMENTAL

### 7.1. Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados

A etapa química como também a etapa biológica desta dissertação foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica e Laboratório de Micologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Todos os reagentes foram obtidos da empresa Sigma-Aldrich.

Para preparação dos ésteres, foram utilizados 7 álcoois, 7 haletos e 1 ácido nitrocinâmico. Os 14 reagentes foram submetidos a uma reação com o ácido *trans*-2-nitrocinâmico. Os álcoois e haletos utilizados para a preparação dos ésteres estão dispostos na **Figura 8** abaixo:



**Figura 8.** Álcoois e haletos utilizados na preparação dos ésteres nitrocinâmicos

## **7.2. Métodos cromatográficos**

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 cujas dimensões variaram de acordo com a quantidade de amostra a ser cromatografada. Na fase móvel utilizou-se os solventes Hexano e Acetato de Etila (AcOEt:Hex), em uma mistura com gradiente crescente de polaridade. O acompanhamento reacional foi realizado através de cromatografia analítica em camada delgada (CCDA), em cromato folhas com sílica gel 60 F254 suportada em placa de alumínio MERCK (com revelador para UV e espessura de 0,2 mm). A visualização ocorreu através do revelador químico: 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 366 nm).

## **7.3. Ponto de fusão**

O ponto de fusão (PF) de cada amostra foi determinado em placa de aquecimento de aparelho digital para ponto de fusão da marca Microquímica Equipamentos LTDA, modelo MQAPF-302, com bloco de platina em microscópio óptico tipo “Kofler”, marca REICHERT, modelo R3279, com temperatura que varia de 0-350°C.

## **7.4. Métodos Espectroscópicos**

### **7.4.1 Infravermelho**

Os dados espectrais na região do infravermelho (IV) foram obtidos em aparelho de IRprestige-21 Shimadzu Fourier Transform –Infrared Spectrophotometer, do Laboratório de controle de qualidade/UFPB, utilizando de 1,00 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em  $\text{cm}^{-1}$ .

### **7.4.2. Ressonância Magnética Nuclear**

Os compostos foram identificados por espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ ) unidimensional. Obteve-se os mesmos por meio de espectrômetro MERCURY-VARIAN (LMCA- Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análise/UFPB) operando a 200 MHz  $^1\text{H}$  e 50 MHz  $^{13}\text{C}$  e VARIAN-RMN-SYSTEM (LMCA/UFPB) operando a 500 MHz  $^1\text{H}$  e 125 MHz  $^{13}\text{C}$ . As amostras foram preparadas dissolvendo uma pequena quantidade do produto em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) da MERCK.

Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em partes por milhão (ppm) em relação ao tetrametilsilano (TMS) que foi utilizado como padrão interno. Como referência para RMN de  $^1\text{H}$ , utilizou-se como referência os picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas do solvente clorofórmio ( $\delta\text{H} = 7,24$  ppm). Para os espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$ , estes mesmos parâmetros foram utilizados, através dos picos do clorofórmio ( $\delta\text{C} = 77,00$  ppm). As multiplicidades das bandas de RMN  $^1\text{H}$  foram indicadas segundo as convenções: *s* (singleto), *d* (duplete), *dt* (duplete de triplete), *t*(triplete), *quadruplete*, *m* (multiplete), *quint* (quinteto), *sex* (sexteto) e *hept*(hepteto).

#### **7.4.3. Espectrometria de Massa**

Os espectros de alta resolução foram desenvolvidos pelo Espectrômetro de Massas de Alta Resolução localizado no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). Matrizes e produtos químicos de calibração foram adquiridos da Sigma-Aldrich. As medições foram realizadas utilizando um espectrômetro de massas Ultraflex II TOF/TOF equipado com um laser de alta performance de estado sólido ( $\lambda = 355$  nm) e um reflector. O sistema é operado pelo pacote de software FlexControl 2,4 (Bruker-DaltonicsGmbH, Bremen, Alemanha).

As amostras foram irradiadas com um laser de potência de 20% e medido em forma linear e refletida, em forma de íons positivos e negativos. As amostras foram carregadas numa placa formada de aço para amostra (base de aço MTP 384; BrukerDaltonicsGmbH). Os espectros de massas foram a soma de 100 a 300 disparos de laser individuais, dependendo das condições da amostra.

### **7.5. Avaliação da atividade antimicrobiana dos ésteres**

#### **7.5.1. Estudo da atividade antifúngica**

O estudo antifúngico foi desenvolvido no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas, localizado no Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba. Os responsáveis para o desenvolvimento desse trabalho foram os alunos de pós-graduação José Klidenberg de Oliveira Júnior com a supervisão da coordenadora Prof<sup>a</sup>. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima no período de julho de 2016.

### **7.5.3. Produtos testados**

Nos ensaios de atividades biológicas, foram utilizadas quatorze compostos ésteres codificados de **EL1** a **EL14**. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção de até 10 % e tween 80 a 0,02%. Em seguida, completou-se com água destilada esterilizada (q.s.p. 3mL) para obter uma emulsão na concentração inicial de 1024 µg/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).

### **7.5.4. Meios de cultura usados nos ensaios**

Para o controle de atividade antifúngica foram RPMI/sem bicarbonato (SIGMA-ALDRICH®/USA/France) e Caldo Brain Heart Infusion (CBHI) (DIFCO Laboratório-/USA/France), os quais foram preparados segundo as descrições dos fabricantes.

### **7.5.5. Micro-organismos**

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

✓ **Leveduras:** *Candida albicans* ATCC-90028, LM- 106; *Candida tropicalis* ATCC-13803, LM-31; *Candida parapsilosis* LM-14, LM-02, *C. krusei* LM-13 e LM-08

As cepas pertencem a MICOTECA do Laboratório de Micologia, Departamento de Ciências Farmacêuticas (DCF), Centro de Ciências da Saúde (CCS) da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em ASD e BHI à temperatura de 4°C. Foram utilizados para os ensaios, repiques de 24-48 horas em ASD/ABHI, incubados a 35 ± 2 °C.

### **7.5.6. Inóculo**

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

### **7.5.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima(CIM)**

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland; Squires (1991).

A determinação da CIM das substâncias sobre cepas fúngicas e bacterianas foram realizadas através da técnica da microdiluição em caldo em placa para cultura de células (TPP/ SWITZERLAND/EUROPA) contendo 96 poços.

Inicialmente foram distribuídos 100 µL de RPMI/BHI duplamente concentrados nos orifícios das placas de microdiluição. Em seguida, 100 µL da emulsão dos produtos teste duplamente concentrado, foram dispensados nas cavidades da primeira linha da placa. E por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 1024 µg/mL até 2µg/mL. Por fim, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas de leveduras e de bactérias nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma cepa. Paralelamente, foram realizados os controles: micro- organismos (RPMI+leveduras/ BHI+ bactérias), meio de cultura (RPMI/CBHI) e droga padrão (RPMI+ inóculo fúngico+ nistatina 100UI) / (BHI+ inóculo bacteriano+ cloranfenicol 100ug/mL). As placas preparadas e assepticamente fechadas e submetidas à incubação numa temperatura de  $35 \pm 2$  °C por 24-48 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do produto, capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento fúngico/bacteriano verificado nos orifícios, quando em comparação com seu controle. O resultado foi expresso pela média aritmética das CIM's obtidas no ensaio realizado em duplicata. A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL=forte atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; SARTORATTO et al., 2004; HOUGHTON et al.,2007).

#### **7.5.8. Estudo de atividade antibacteriana**

#### **7.5.9. Espaço e responsáveis para o desenvolvimento do estudo**

O estudo antifúngico foi desenvolvido no Laboratório de Micologia do Departamento de Ciências Farmacêuticas localizado no Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal da Paraíba. Os responsáveis para o desenvolvimento desse trabalho foram os alunos de pós-graduação José Klidenberg de Oliveira Júnior como supervisão da Profa. Dr<sup>a</sup>. Edeltrudes de Oliveira Lima no período de julho de 2016.

#### **7.6. Produtos testados**

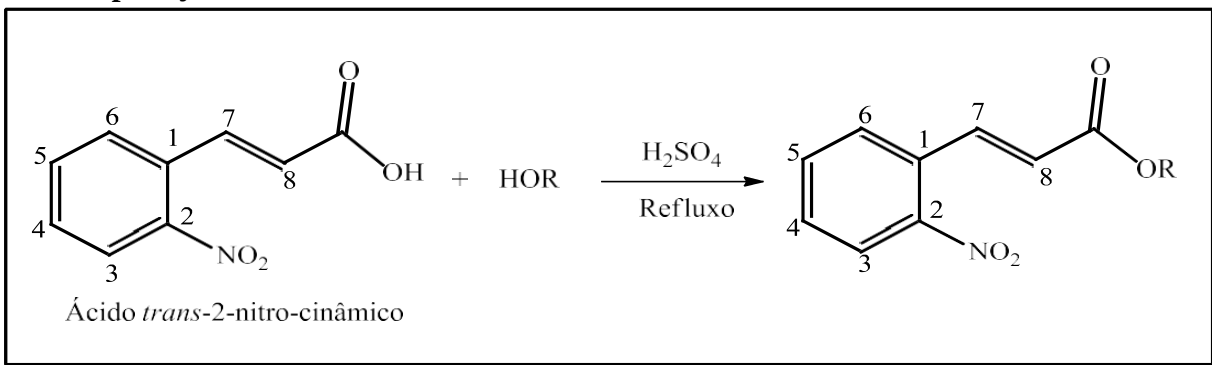
Nos ensaios de atividades biológicas foram utilizados quatorze ésteres codificados de **EL1** a **EL14**. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetilsulfóxido (DMSO) numa proporção de até 10 % e tween 80 a 0,02%. Em seguida, completou-se com água destilada esterilizada (q.s.p. 3mL) para obter uma emulsão na concentração inicial de 1024 µg/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; NASCIMENTO et al., 2007; PEREIRA et al., 2014).



- ✓ **Bactérias:** *Staphylococcus aureus* ATCC-13150, *S. epidermidis* ATCC-12228 e *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-9027;

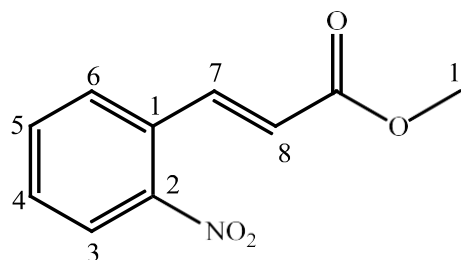
## 8. PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES NITROCINÂMICOS A PARTIR DO ÁCIDO *TRANS*-2-NITROCINÂMICO

### 8.1. Preparação dos ésteres EL1-EL6



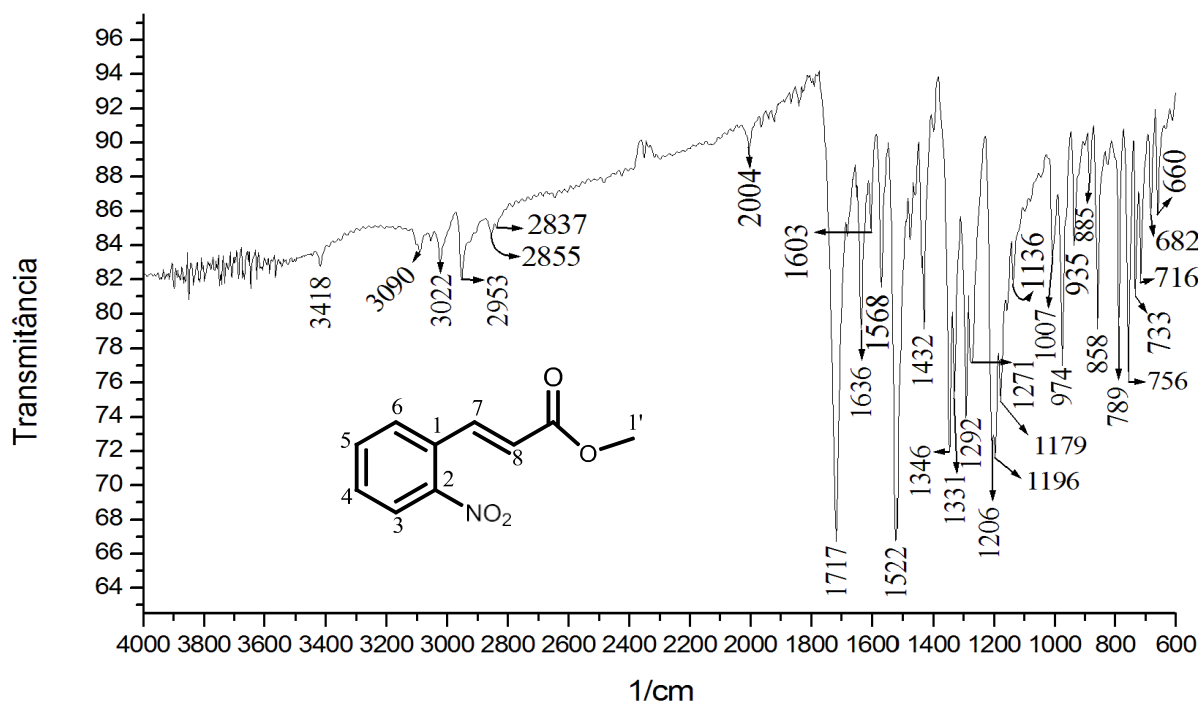
Em um balão de 250 mL equipado com uma barra magnética e tampado com um septo de borracha, contendo 0,5 g (2,59 mmol) do ácido *trans*-2-nitro-cinâmico em 100 mL do álcool, adicionou-se lentamente 0,5 mL de ácido sulfúrico  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Acoplou-se o balão a um condensador de refluxo e colocou em um banho de óleo, deixou-se em refluxo com agitação magnética por 3-5 horas. Ao final da reação, evaporou-se parcialmente o solvente em evaporador rotativo, sendo em seguida feita a extração com 3 x 20 mL de clorofórmio e água. Separou-se a fase orgânica e lavou-se a fase aquosa 3 x 20 mL de clorofórmio. As fases orgânicas foram reunidas e lavadas com 3 x 20 mL de bicarbonato de sódio 5%. Logo após, a fase orgânica foi lavada com 20 mL de água e seca com sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente, obteve-se o produto purificado (De Campo Buzzi et al., 2009).

Éster - EL1

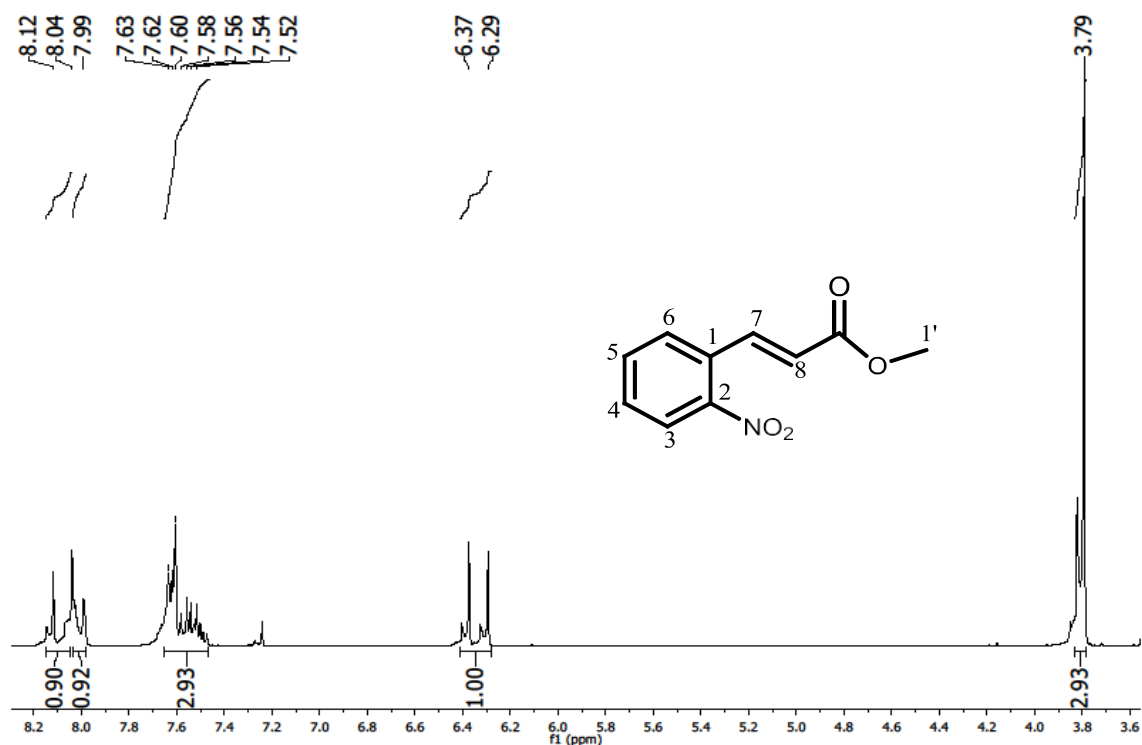


(*E*)-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato

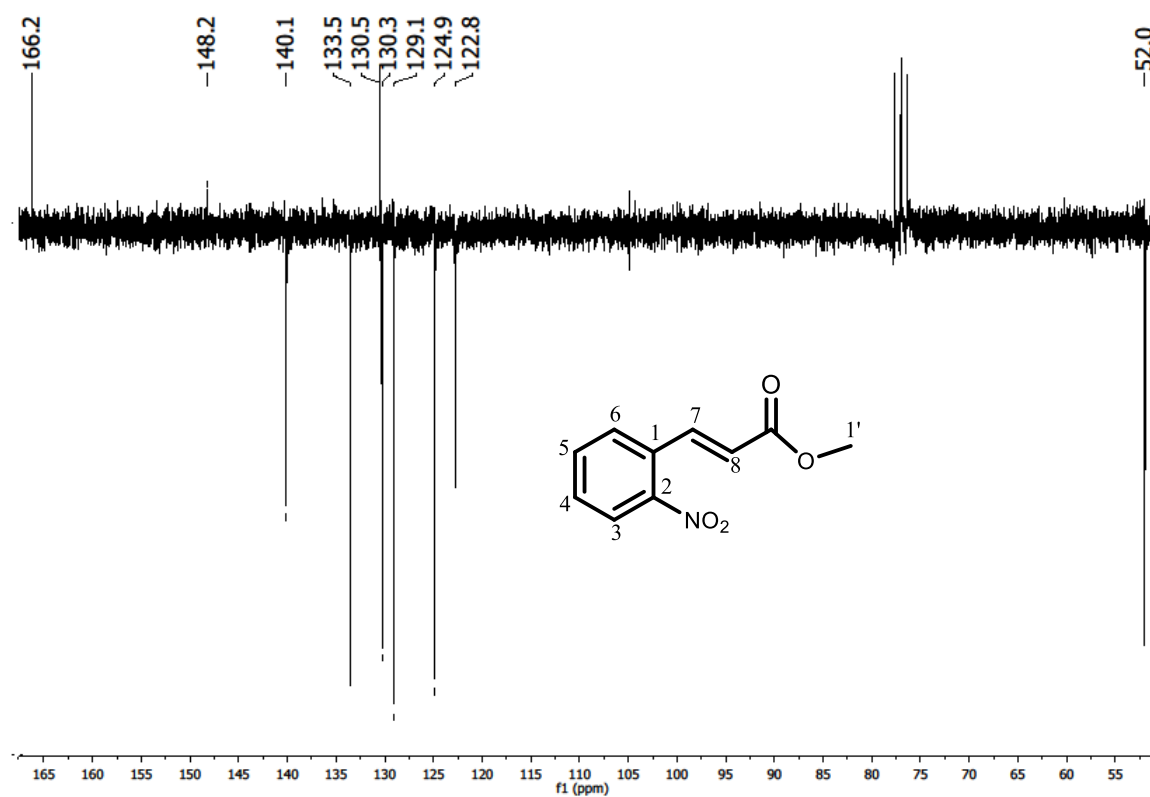
Obteve-se um sólido cristalino branco, 464 mg (2,24 mmol), com rendimento 86,46% e P.F.: 97-100°C.  $\text{IV}_{\text{vmax}}(\text{KBr}, \text{cm}^{-1})$ : 3090(C-H $\text{sp}^2$ ), 2953(C-H $\text{sp}^3$ ), 1717(C=O), 1636 e 1402 (C=C aromático), 1522 e 1346 (estiramento C-NO $_2$ ), 1182 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,08 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 8,01 (*d*,  $J = 9,4$  Hz, 1H, H-3), 7,64-7,51 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,33 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 3,79 (*s*, 3H). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 166,2 (C=O), 148,2 (C-2), 140,1 (C-7), 133,5, (C-5), 130,5 (C-1), 130,3 (C-4), 129,1 (C-6), 124,9 (C-3), 122,8 (C-8), 52,0 (C-1'), (DIBAKAR E PAUL, 2006).



**Espectro 1.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL1).

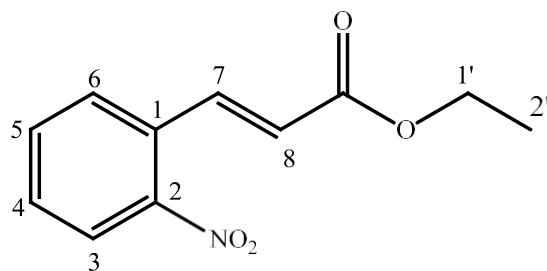


**Espectro 2.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL1**) (200MHz,CDCl<sub>3</sub>).



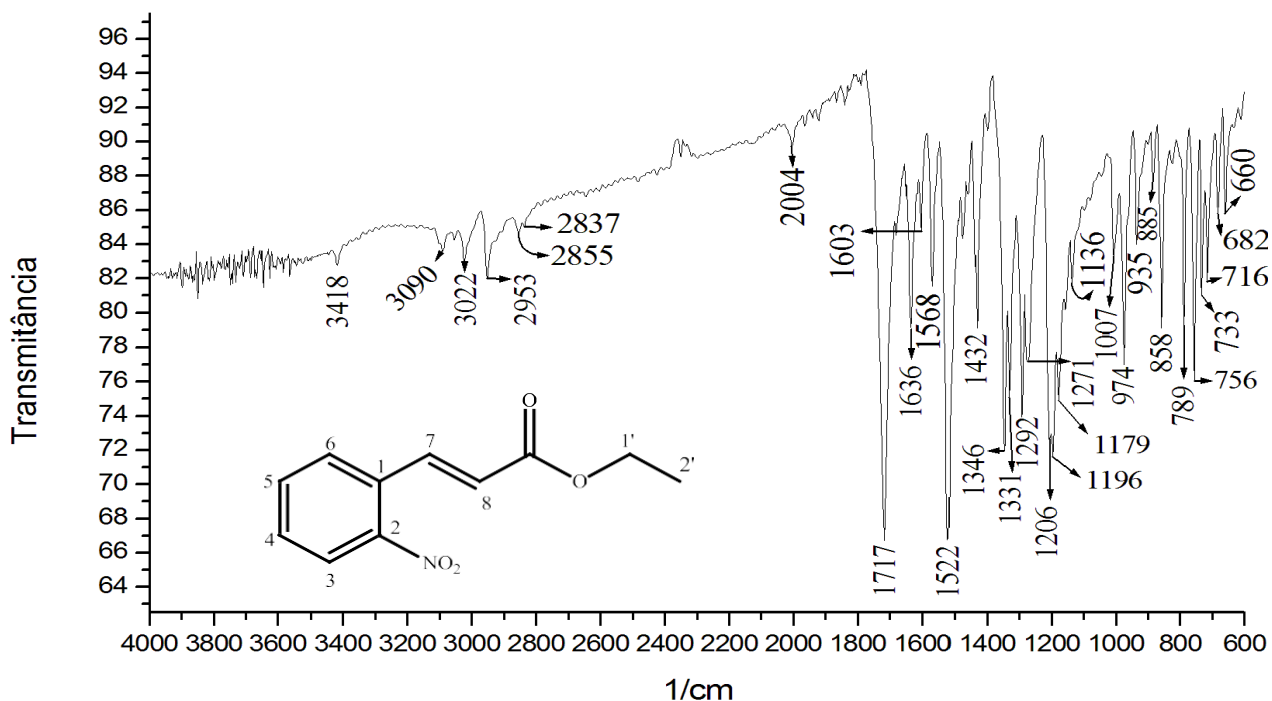
**Espectro 3.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL1**) (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

Éster-EL2

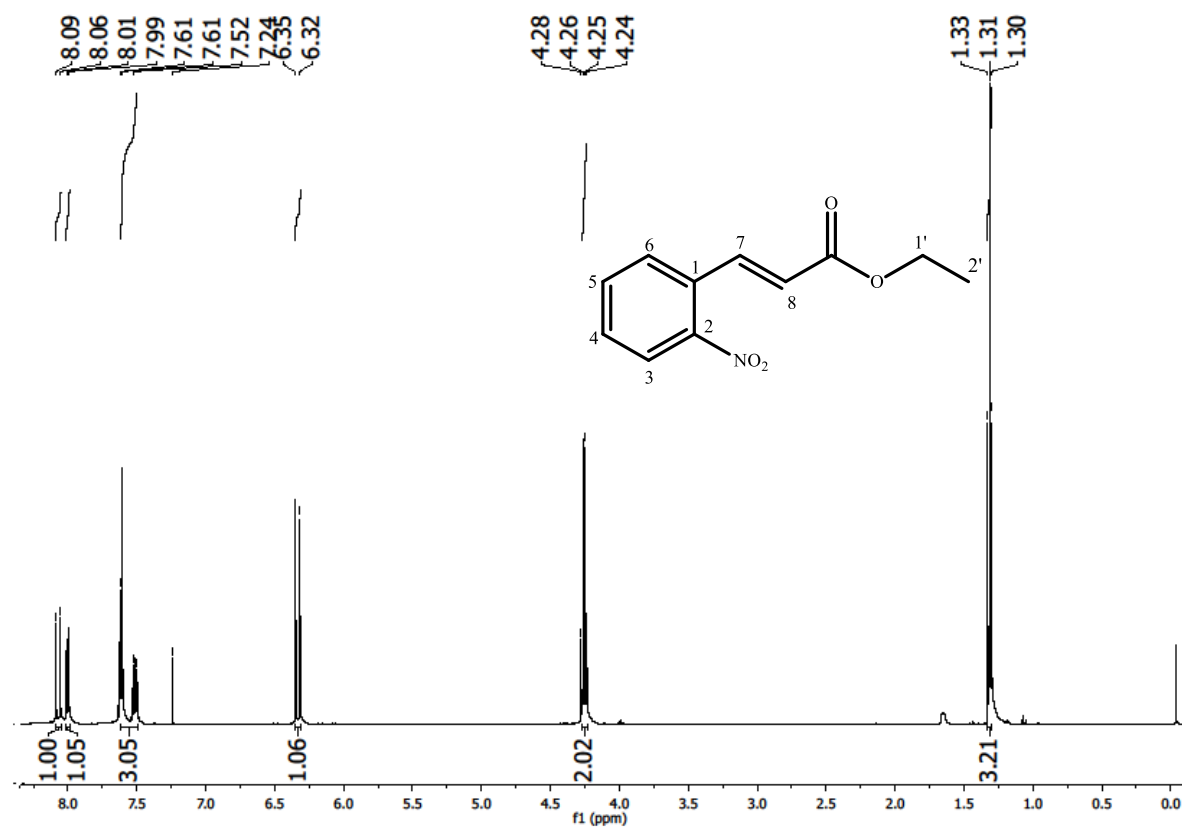


(*E*)-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato

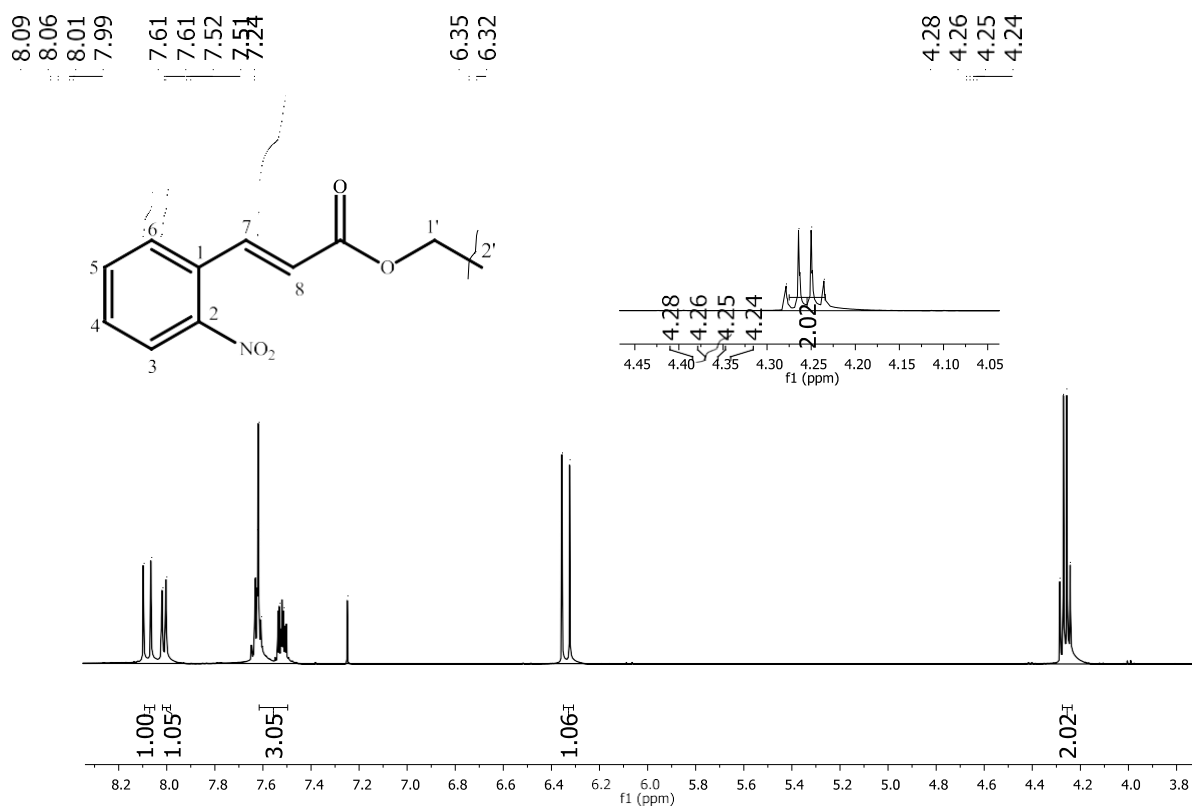
Obteve-se um sólido marrom, 491 mg (2,22 mmol) com rendimento 85,78% e P.F.: 37- 40 °C, IV  $\nu_{\max}$ (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3090 (C-H  $sp^2$ ), 2953 (C-H  $sp^3$ ), 1717 (C=O), 1639 e 1477(C=C aromático), 1526 e 1346 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1196 (estiramento C-O). RMN <sup>1</sup>H(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,07 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-7), 8,00 (*d*, *J* = 7,9 Hz, 1H, H-3), 7,62-7,49 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,33 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-8), 4,26 (*q*, *J* = 7,1 Hz, 2H, H-1'), 1,31 (*t*, *J* = 7,1 Hz, 3H, H-2'). RMN <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,72 (C=O), 148,31(C-2), 139,75 (C-7), 133,43 (C-5), 130,58 (C-1), 130,19 (C-4), 129,07 (C-6), 124,83 (C-3), 123,33 (C-8), 60,87 (C-1'), 14,21 (C-2').(DIBAKAR E PAUL, 2006).



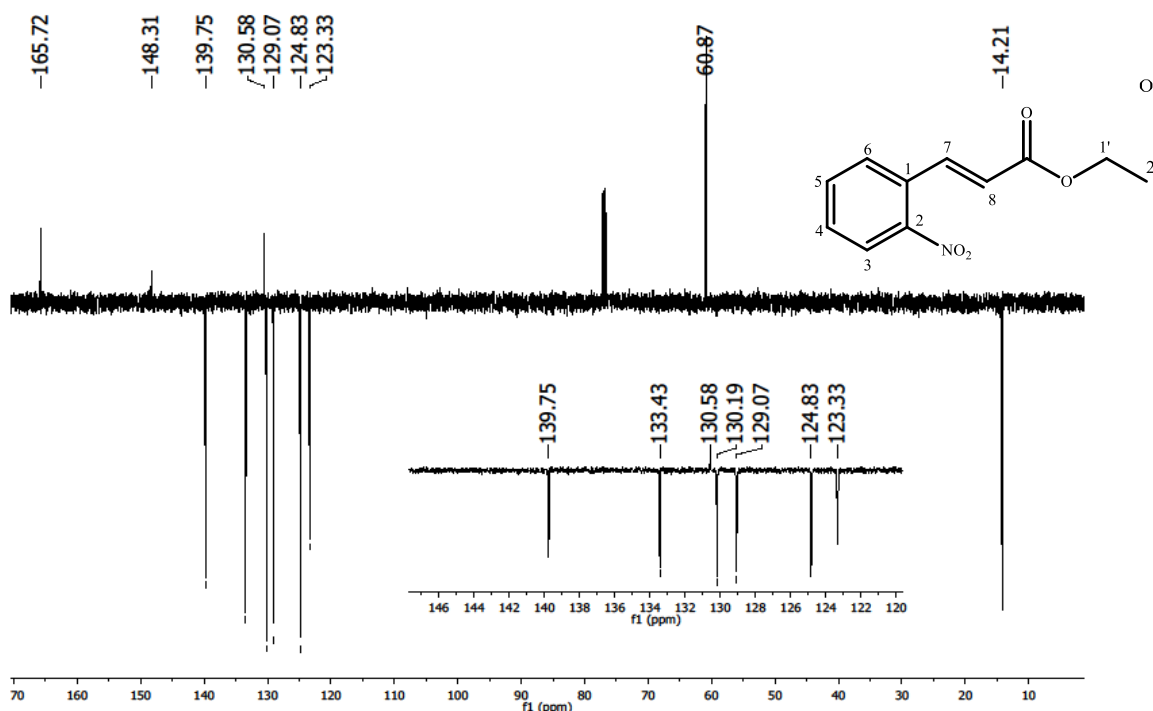
**Espectro 4.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL2)



**Espectro 5.**Espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato(**EL2**)(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

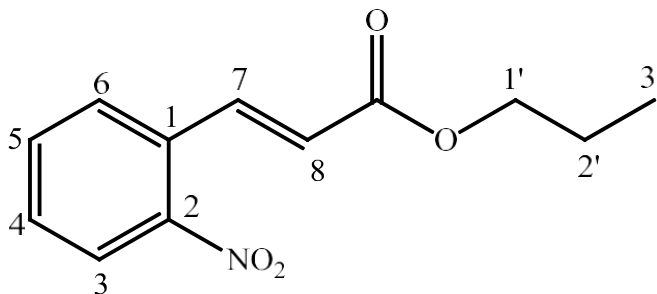


**Espectro 6.**Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL2**) (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



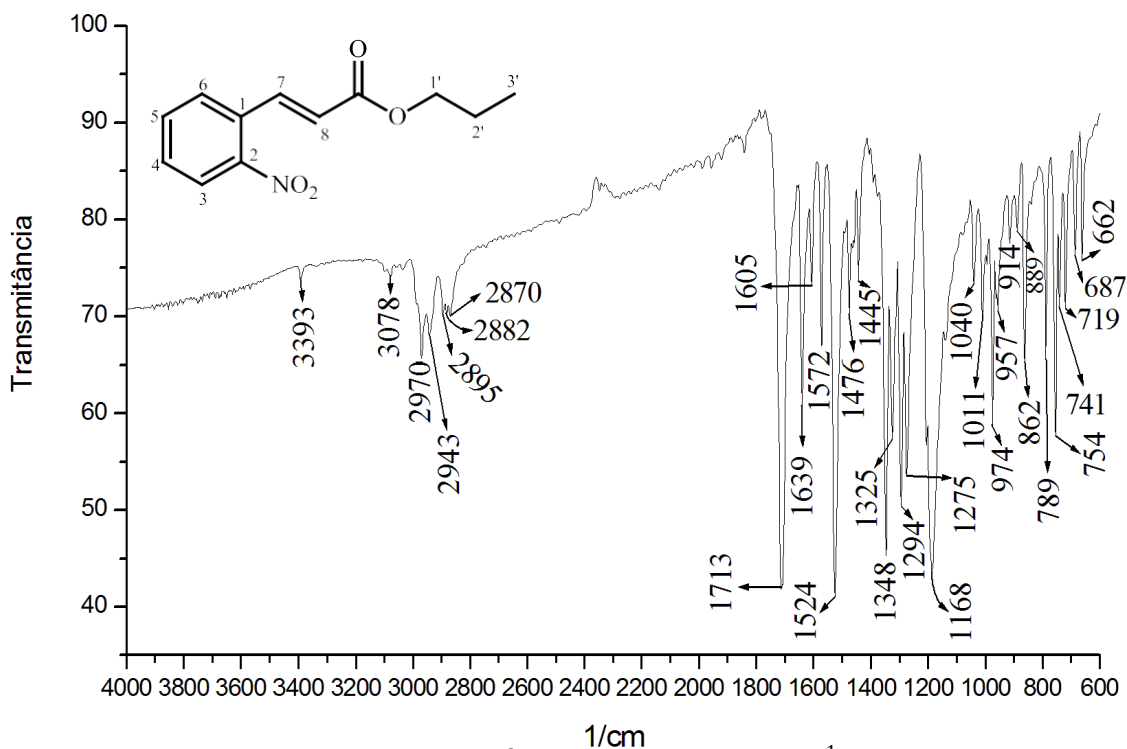
**Espectro 7.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-etil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL2**)(126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

### Éster - EL3

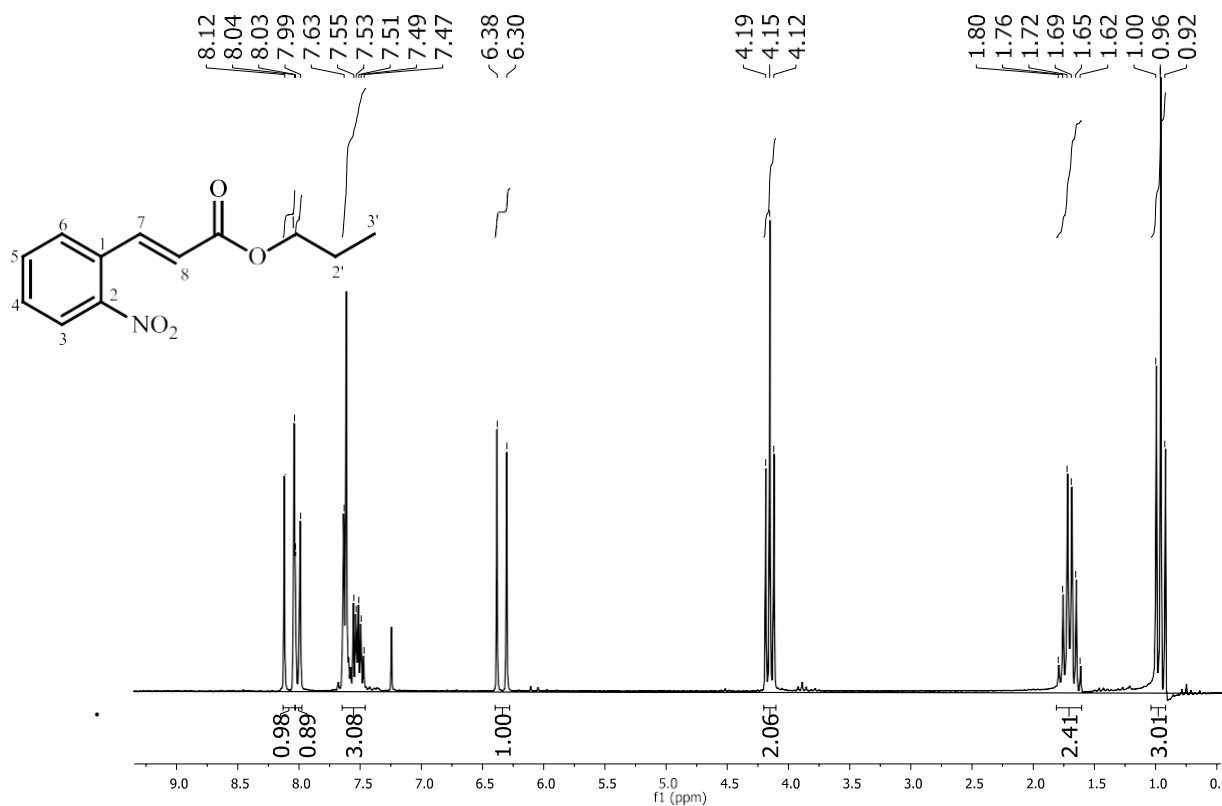


(*E*)-propil 3-(2-nitrofenil)acrilato

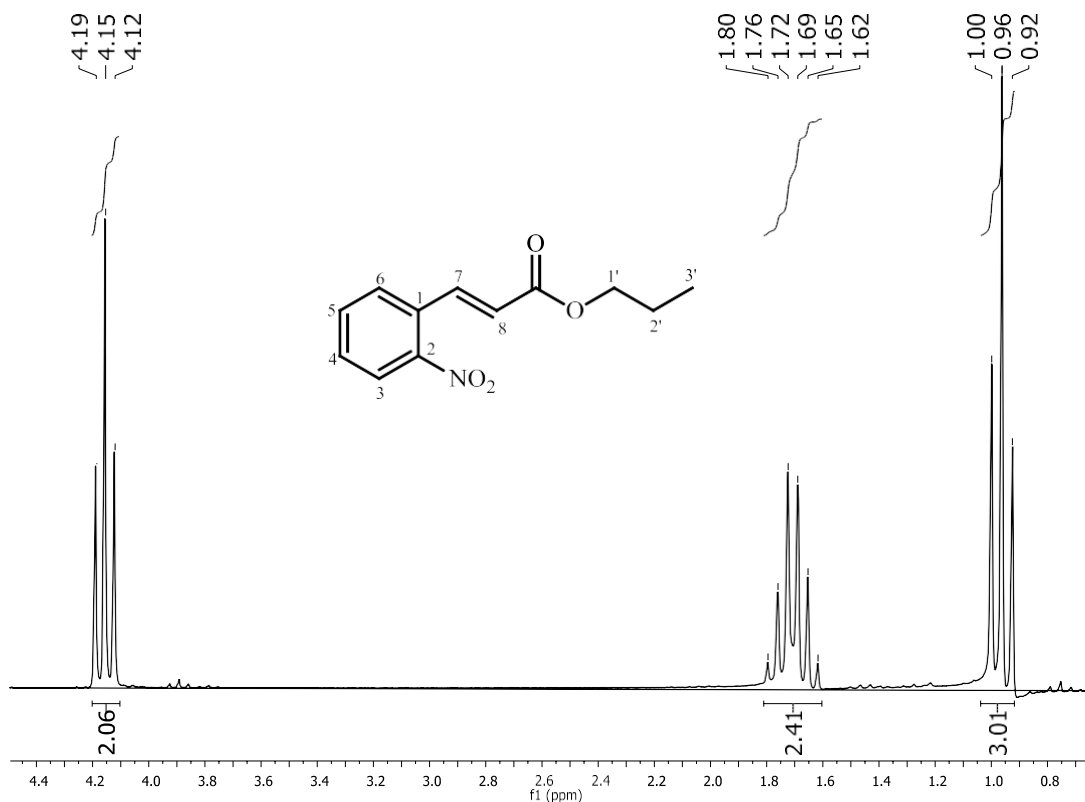
Obteve-se um sólido marrom amorfo, 595 mg (2,53 mmol) com rendimento 98,94% e P.F.: 50-55 °C, IV  $\nu_{\text{max}}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3078 (C-H  $\text{sp}^2$ ), 2970 (C-H  $\text{sp}^3$ ), 1713 (C=O), 1639e 1476 (C=C aromático), 1524-1348 (estiramento C- $\text{NO}_2$ ), 1168 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,08 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 8,01 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H, H-3), 7,66 – 7,46 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,34 (d,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 4,15 (t,  $J = 6,7$ Hz, 2H, H-1'), 1,80-1,62 (sex, 2H, H-2'), 0,96 (t,  $J = 7,4$  Hz, 3H, H-3'). RMN  $^{13}\text{C}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165,8 (C=O), 148,2 (C-2), 139,8 (C-7), 133,5 (C-5), 130,6 (C-1), 130,2 (C-4), 129,1 (C-6), 124,9 (C-3), 123,3 (C-8), 66,5 (C-1'), 22,0 (C-2'), 10,4 (C-3'), (DIBAKAR E PAUL, 2006).



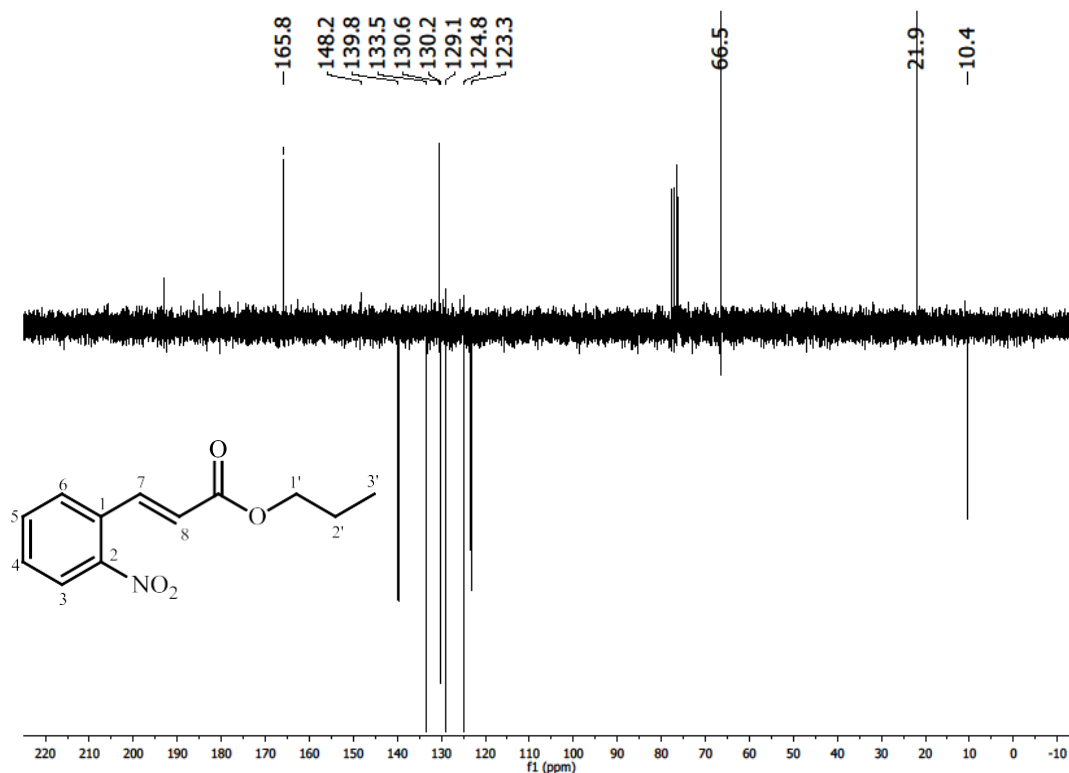
**Espectro 8.** Espectro de Infravermelho (KBr, cm<sup>-1</sup>) de (*E*)-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL3**).



**Espectro 9.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL3**) (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



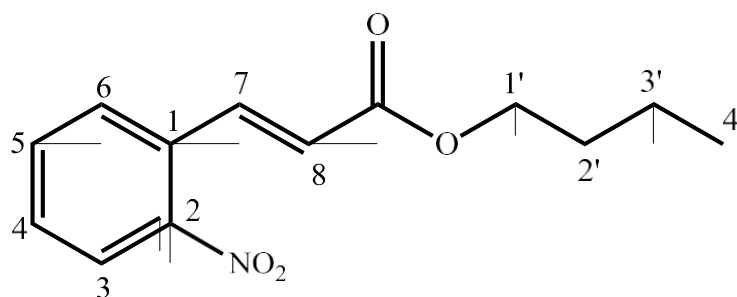
**Espectro 10.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL3**) (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Espectro 11.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-propil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL3**), (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

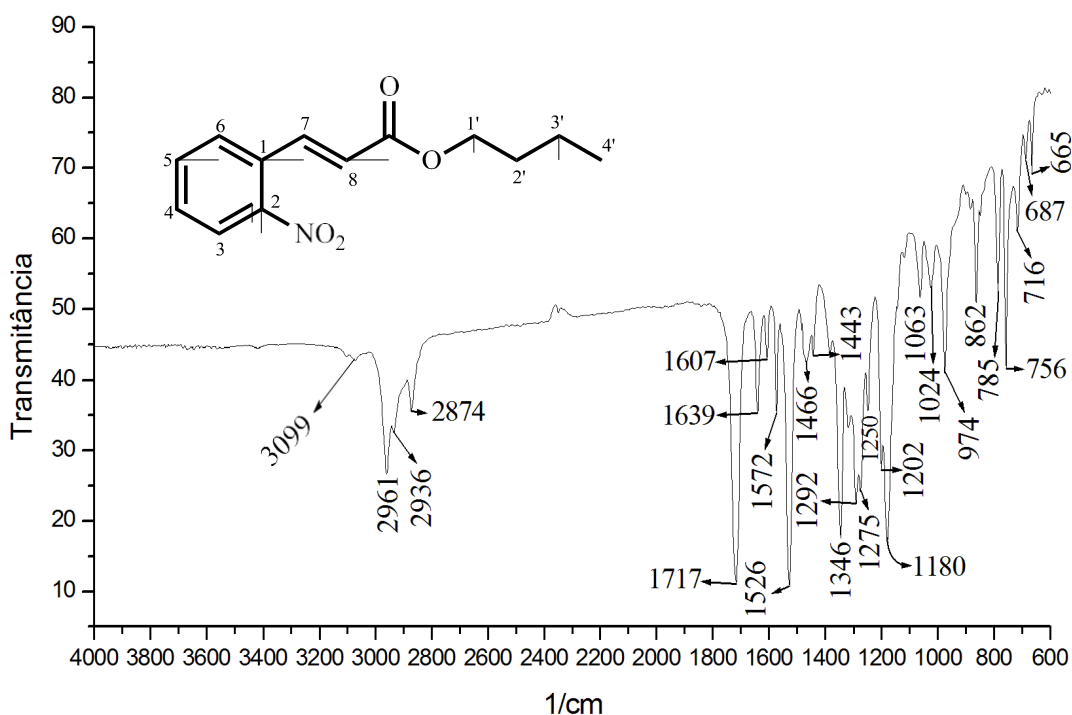


Éster - EL4

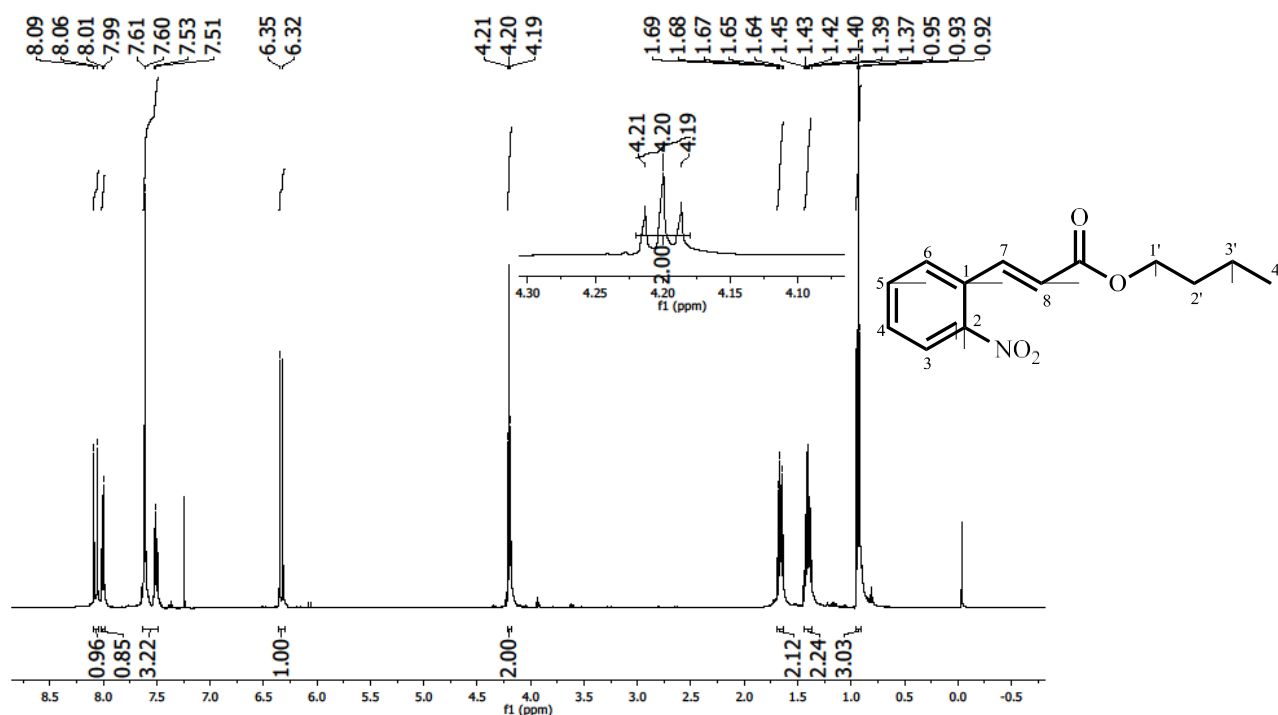


(*E*)-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato

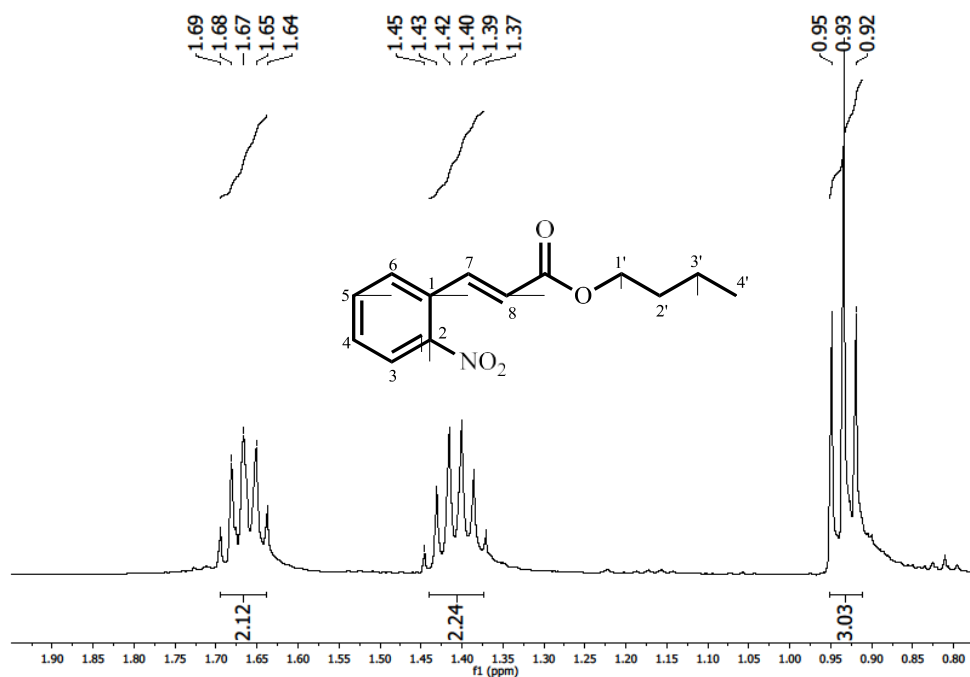
Obteve-se um óleo marrom escuro, 567 mg (1,093 mmol) com rendimento 88,62%, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3099 (C-H  $sp^2$ ), 2961 (C-H  $sp^3$ ), 1717 (C=O), 1639 e 1466 (C=C aromático), 1526 e 1346 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1180 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (500MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,07 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 8,00 (*d*,  $J = 9,0$  Hz, 1H, H-3), 7,63 – 7,49(*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,33 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 4,20 (*t*,  $J = 6,7$  Hz, 2H, H-1'), 1,70-1,63 (*quin*, 2H, H-2'), 1,48 -1,33 (*sex*, 2H, H-3'), 0,93 (*t*,  $J = 7,4$  Hz, 3H, H-4'). RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165,81 (C=O), 148,30 (C-2), 139,74 (C-7), 133,43(C-5), 130,59 (C-1), 130,18 (C-4), 129,07 (C-6), 124,84 (C-3), 123,33 (C-8), 64,78 (C-1'), 30,64 (C-2'), 19,13 (C-3'), 13,67 (C-4'), (DIBAKAR E PAUL, 2006).



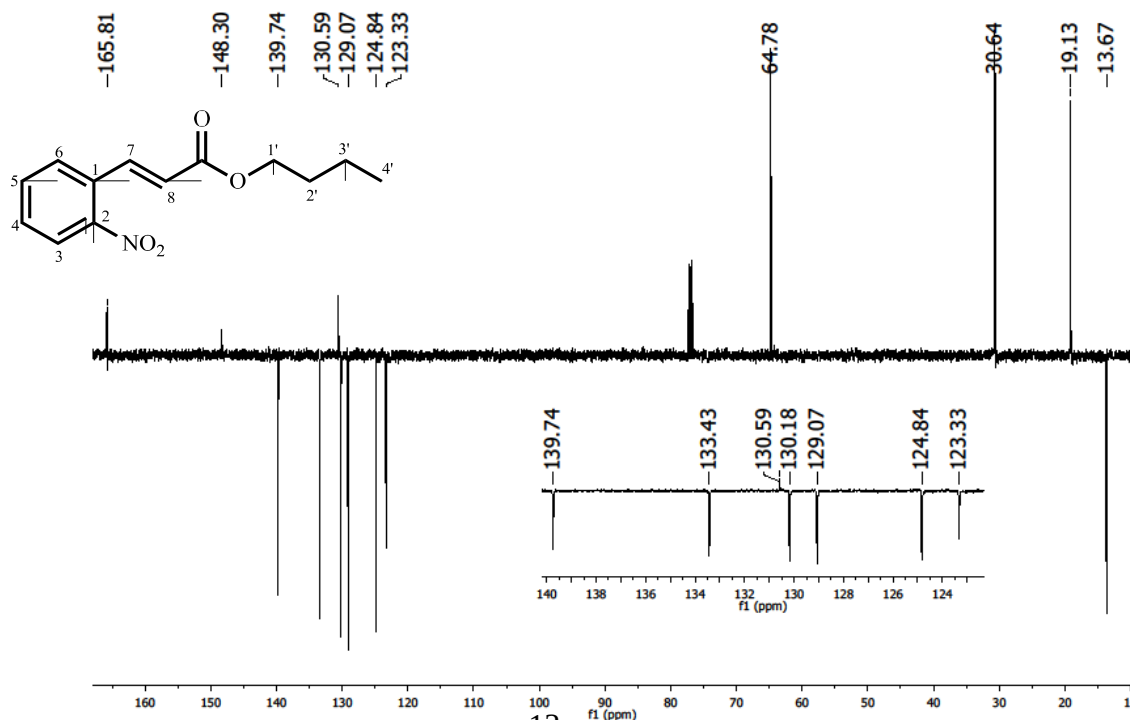
**Espectro 12.**Espectro de Infravermelho ( $\text{KBr}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL4).



**Espectro 13.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL4**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

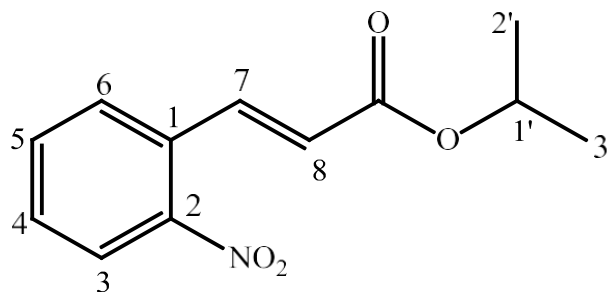


**Espectro 14.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL4**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



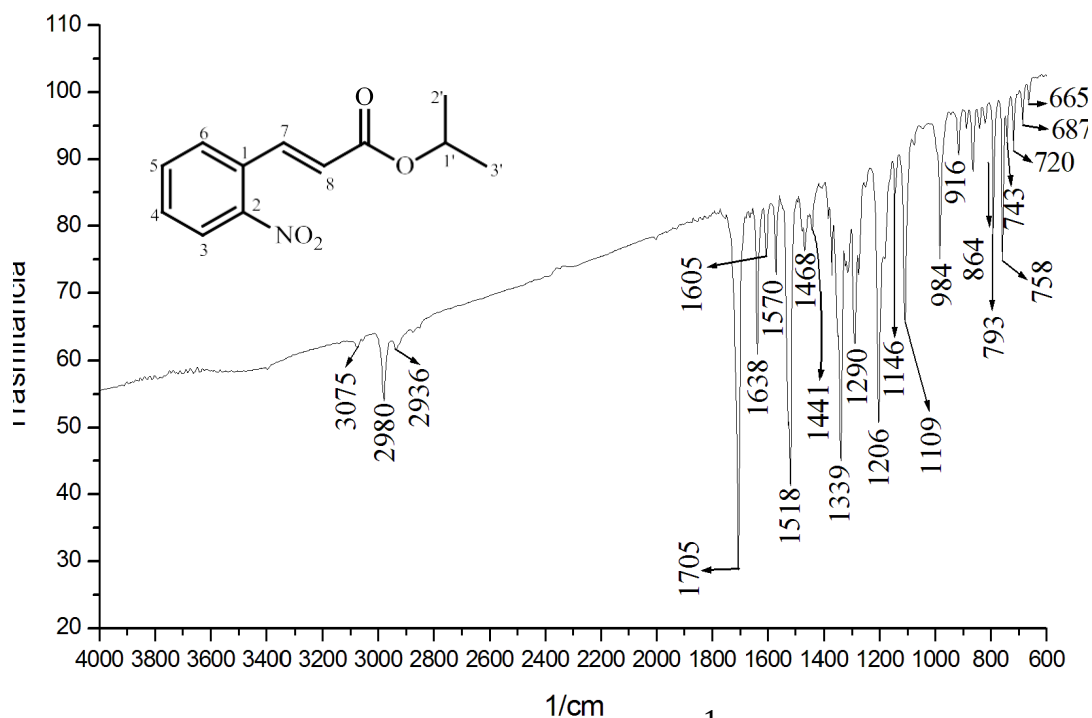
**Espectro 15.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-butil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL4**) (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

#### Éster - EL5

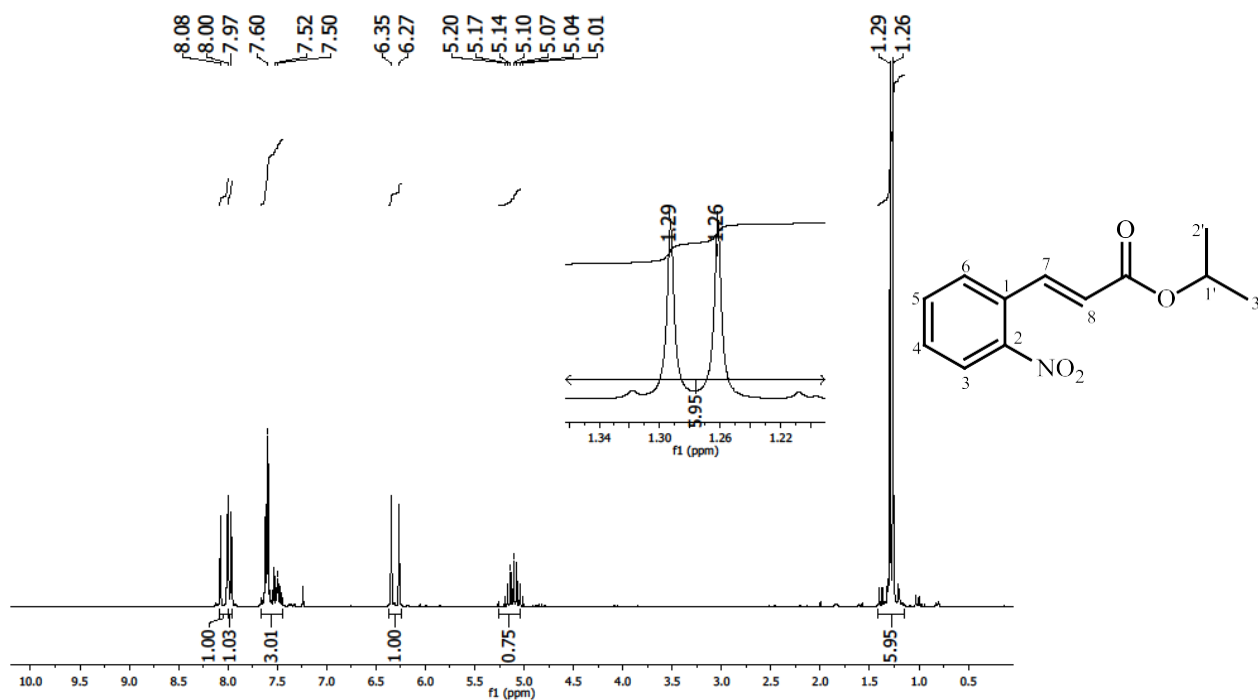


(*E*)-isopropil 3-(2-nitrofenil) acrilato

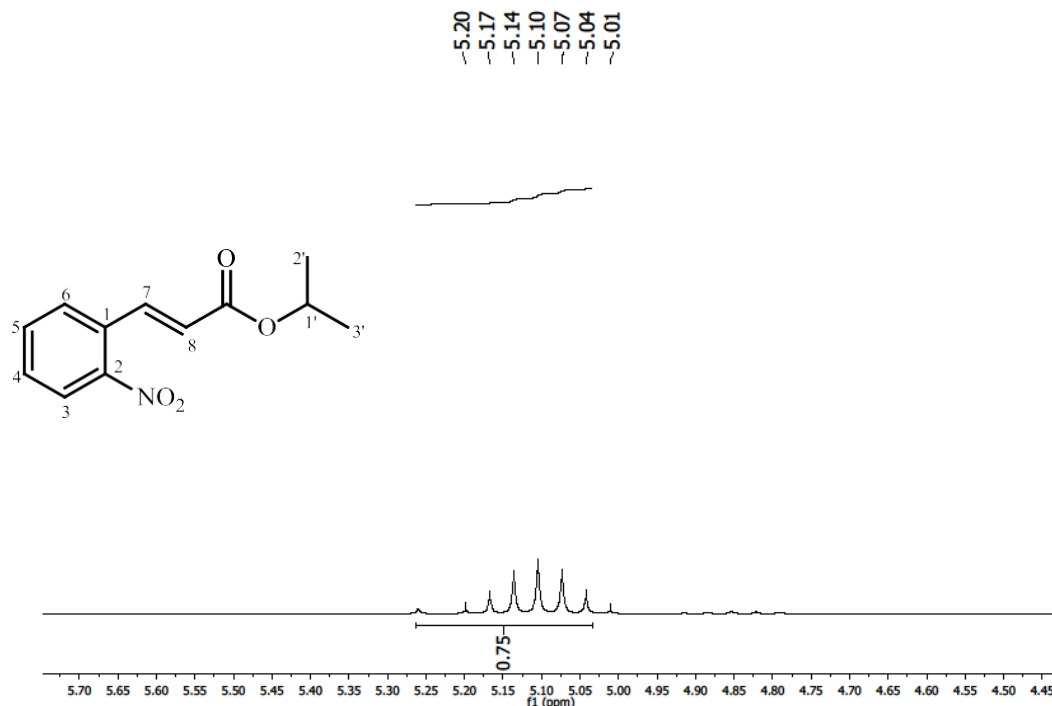
Obteve-se um óleo marrom escuro, 121 mg (0,52 mmol) com rendimento 97,68%, IV  $\nu_{\text{max}}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3075 (C-H  $sp^2$ ), 2980 (C-H  $sp^3$ ) 1705 (C=O), 1638 e 1468 (C=C aromático), 1518 e 1339 (estiramento C- $\text{NO}_2$ ), 1206 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,04 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 7,98 (*d*,  $J = 6,2$  Hz, 1H, H-3), 7,67-7,44(*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,31 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 5,20-5,00 (*sept*, 1H, H-1'), 1,28(*d*, 6H, H-2', H-3'). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165,2 (C=O), 148,2 (C-2), 139,4 (C-7), 133,4 (C-5), 130,5 (C-1), 130,1 (C-4), 129,0 (C-6), 124,8 (C-3), 123,7 (C-8), 68,3 (C-1'), 21,8(C-2'), 19,1 (C-3'), (DIBAKAR E PAUL, 2006).



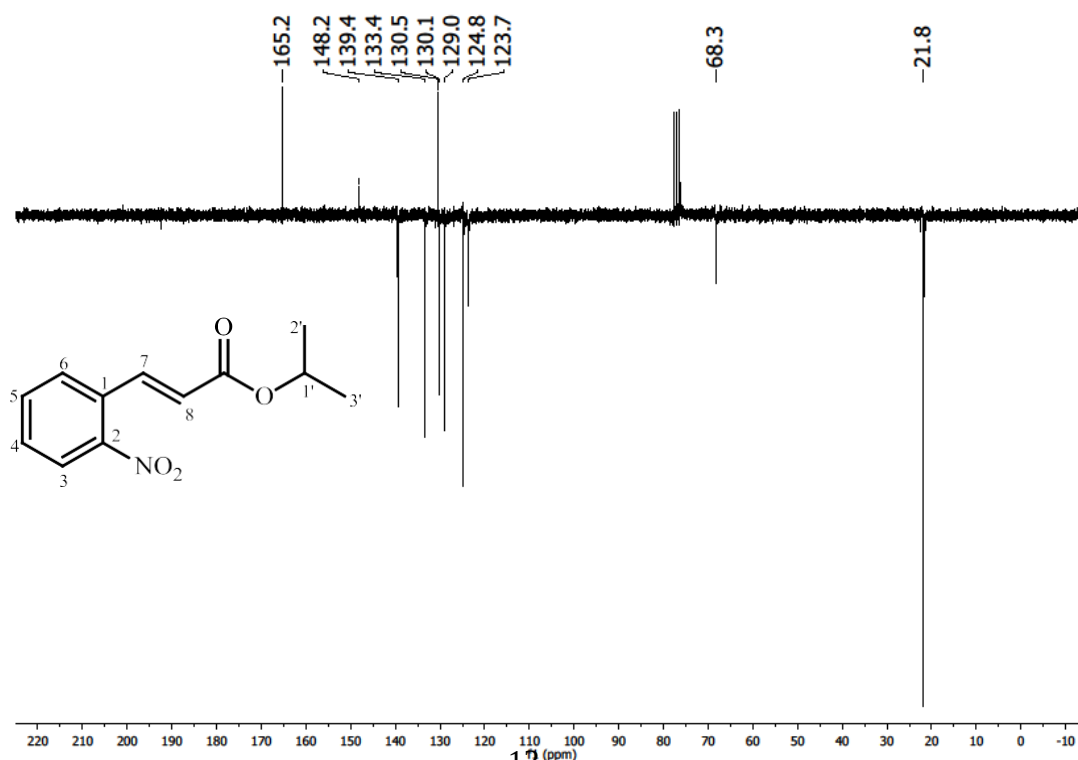
**Espectro 16.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-isopropil 3-(2-nitrofenil)acrilato (**EL5**).



**Espectro 17.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-isopropil 3-(2-nitrofenil)acrilato (**EL5**) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

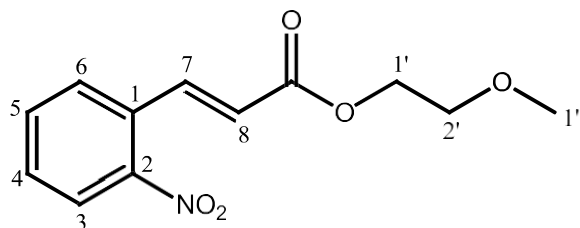


**Espectro 18.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (E)-isopropil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL5) (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



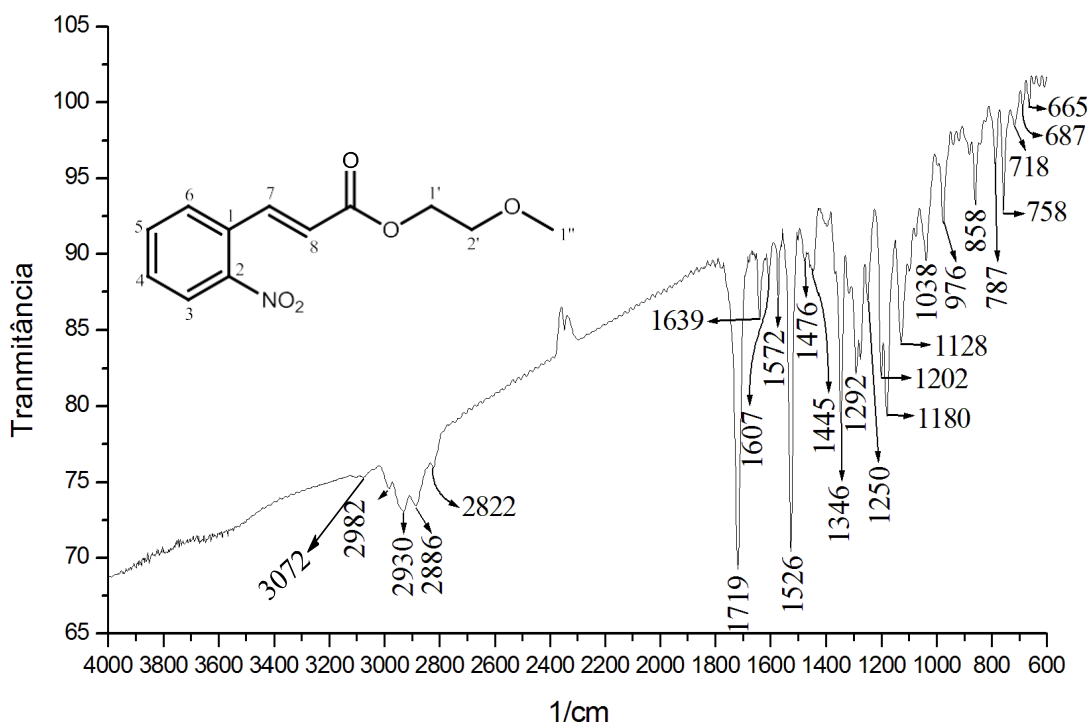
**Espectro 19.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (E)-isopropil 3-(2-nitrofenil) acrilato(EL5) (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

Éster - EL6

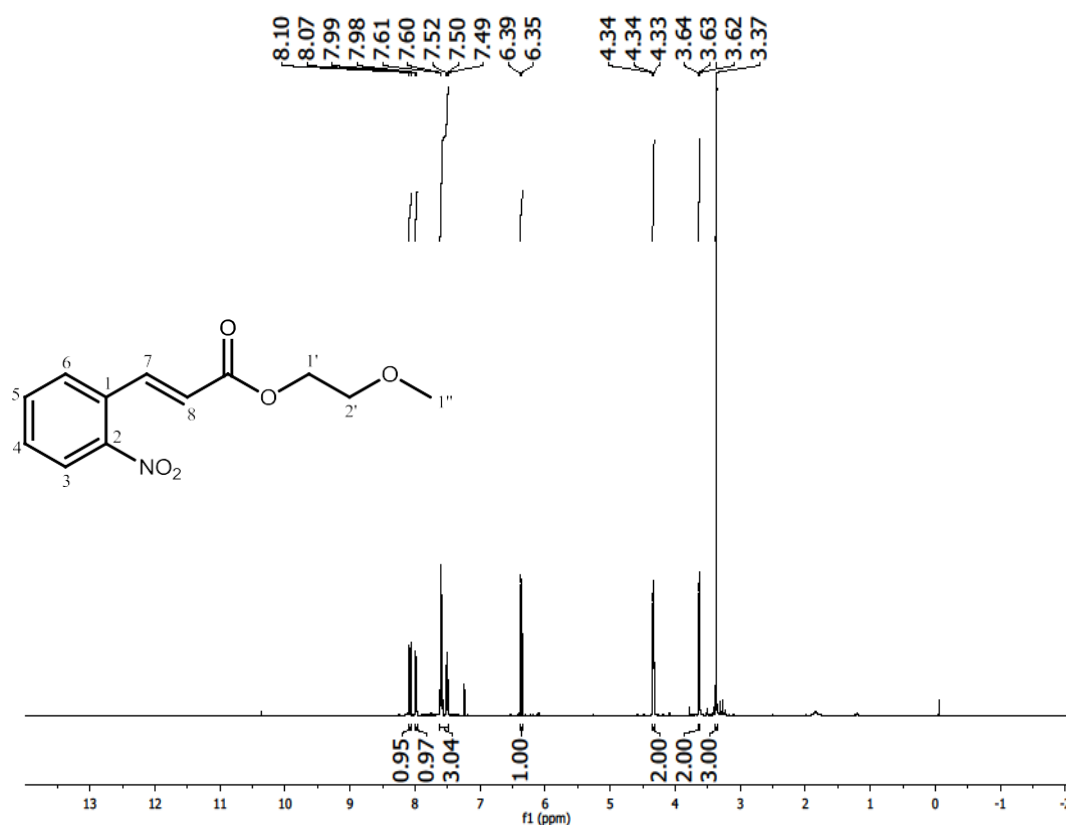


(*E*)-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil)acrilato

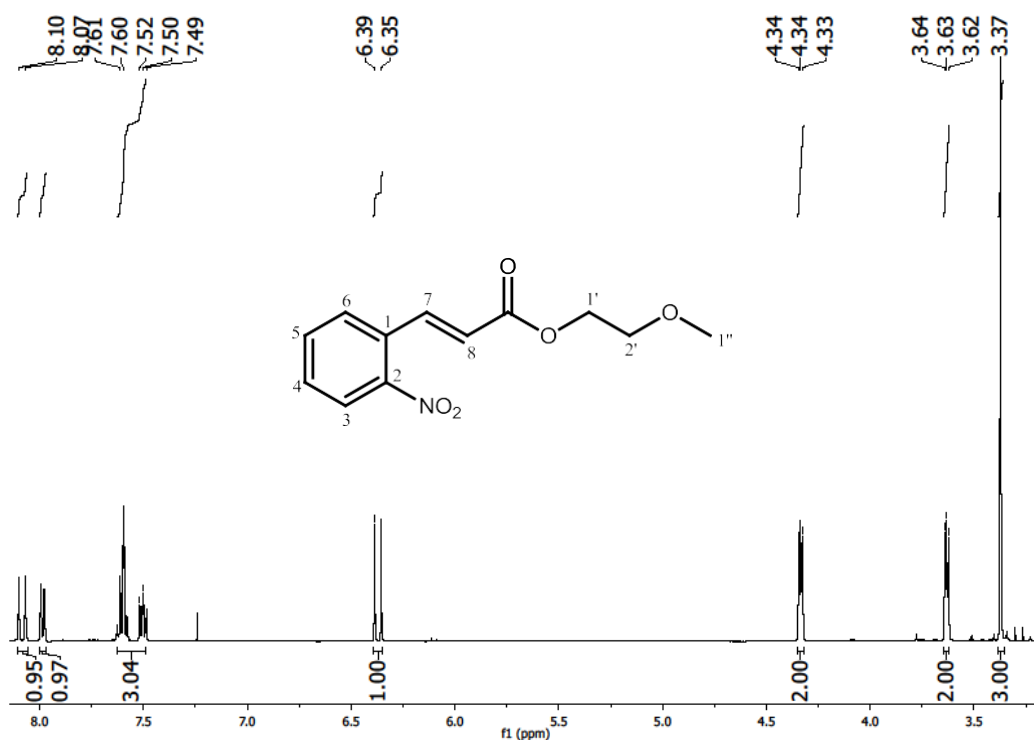
Obteve-se um óleo marrom escuro, 420 mg (1,67 mmol) com rendimento 64,44%, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3072 (C-H  $\text{sp}^2$ ), 2930 (C-H  $\text{sp}^3$ ) 1719 (C=O), 16439 e 1476 (C=C aromático), 1526 e 1346 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1180 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,08 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 7,98 (*d*,  $J = 8,6$  Hz, 1H, H-3), 7,63-7,48 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,37 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 4,34 (*t*, 2H, H-1'), 3,63 (*t*, 2H, H-2'), 3,37 (*s*, 3H, H-3'). RMN  $^{13}\text{C}$  (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165,62 (C=O), 148,22 (C-2), 140,28 (C-7), 133,45 (C-5), 130,38 (C-1), 130,26 (C-4), 129,01 (C-6), 124,79 (C-3), 122,73 (C-8), 70,30 (C-1'), 63,85 (C-2'), 58,92 (C-1''), (MAGENS E PLIETKER, 2010).



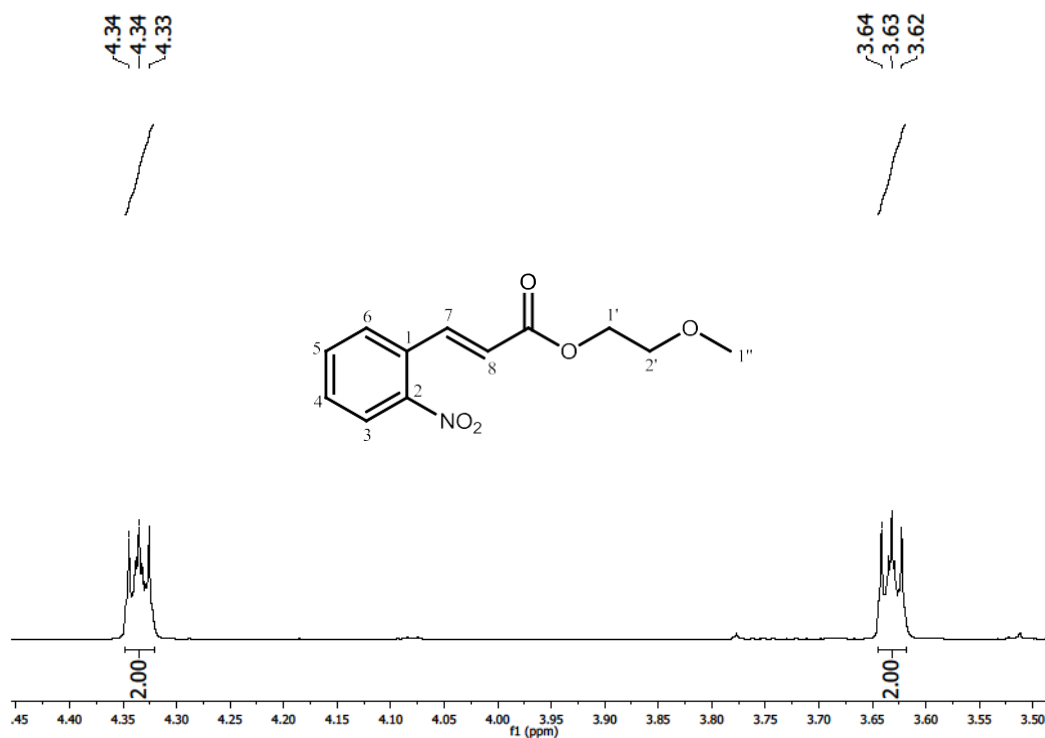
**Espectro 20.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-2-metoxietil 3- (2-nitrofenil) acrilato (**EL6**).



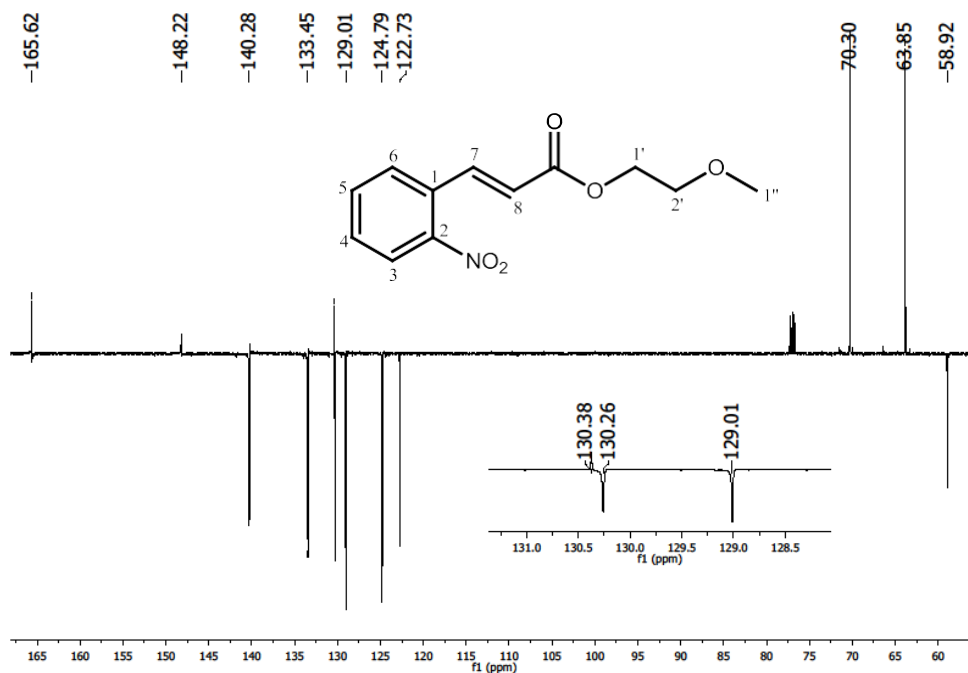
**Espectro 21.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato(EL6) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 22.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL6) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

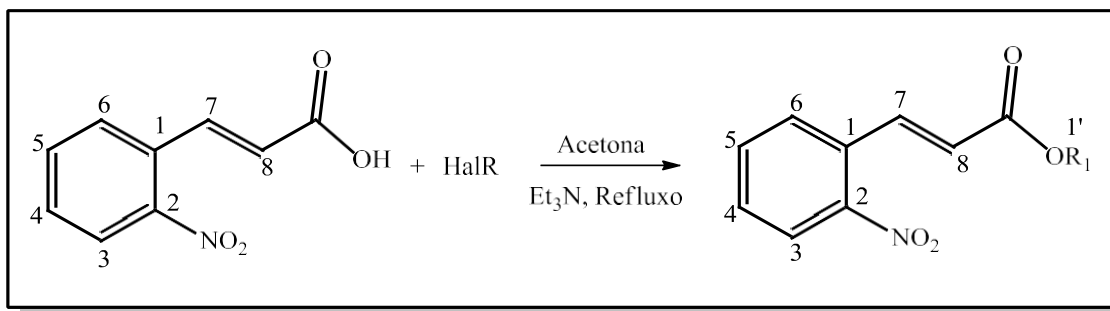


**Espectro 23.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL6**) (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



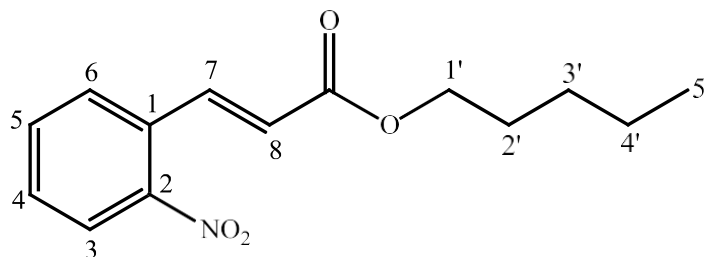
**Espectro 24.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-2-metoxietil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL6**) (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**8.2. Preparação dos ésteres EL7-EL13**

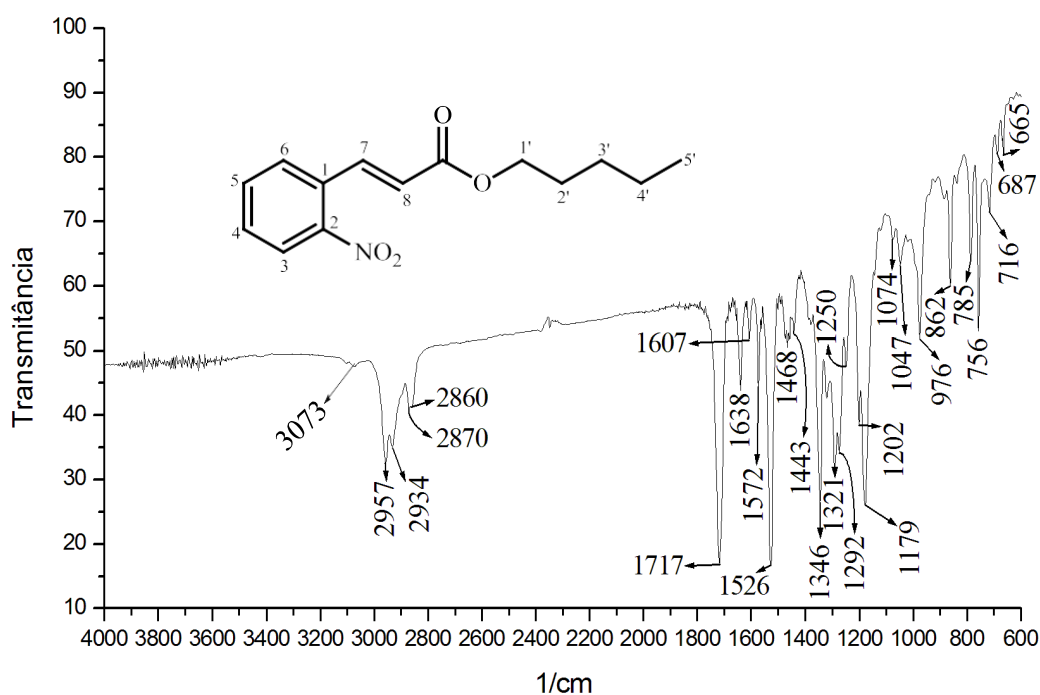
Em um balão de 100 mL equipado com uma barra magnética e tampado com um septo de borracha, contendo 0,5 g (2,59 mmol) do ácido *trans*-2-nitro-cinâmico, 31,4 mL de acetona anidra, 1,4 mL (10,36 mmol) de trietilamina adicionou-se haleto de alquila ou arila. Acoplou-se o balão a um condensador de refluxo e colocou em um banho de óleo, deixou-o em refluxo com agitação magnética por 12-55 horas. Ao final da reação, evaporou-se parcialmente o solvente em evaporador rotativo, sendo em seguida feita a extração com 3 x 20 mL de clorofórmio e água. Separou-se a fase orgânica e lavou a fase aquosa 3 x 20 mL de clorofórmio. Logo após, a fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente, o produto foi purificado através de cromatografia em coluna eluída com hexano acetato de etila, obtendo-se um produto purificado. (Sá et al.,2005).

Éster - EL7

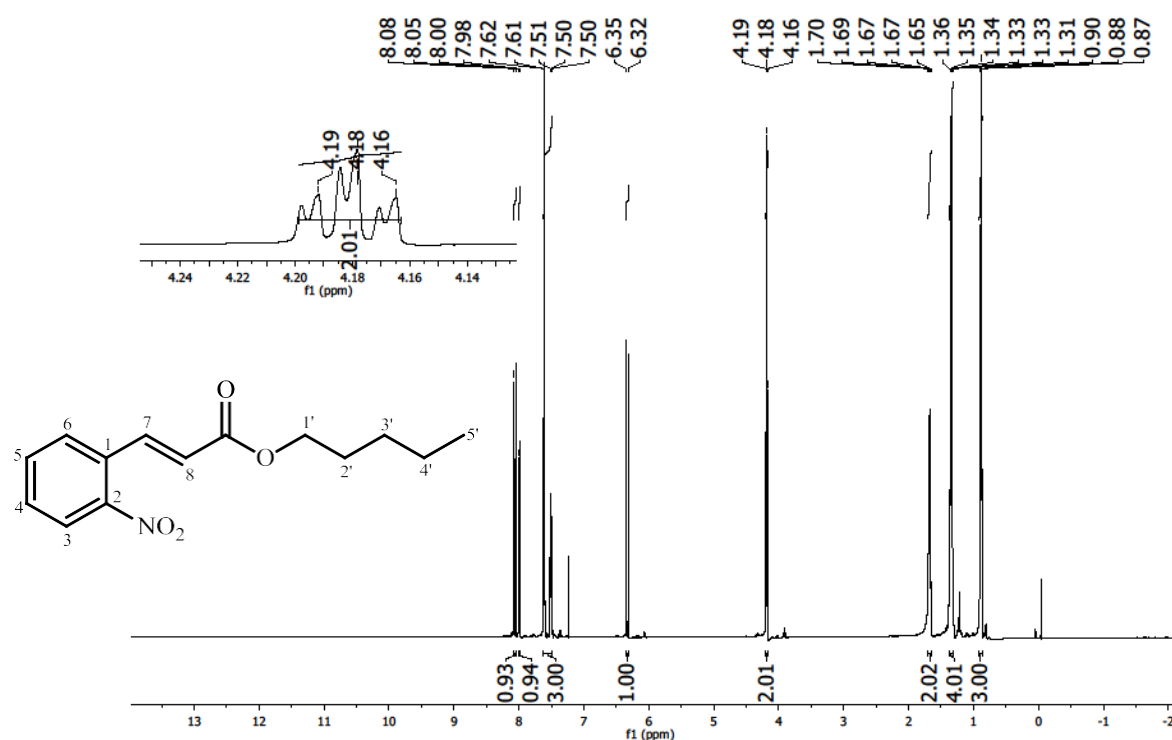


(*E*)-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato

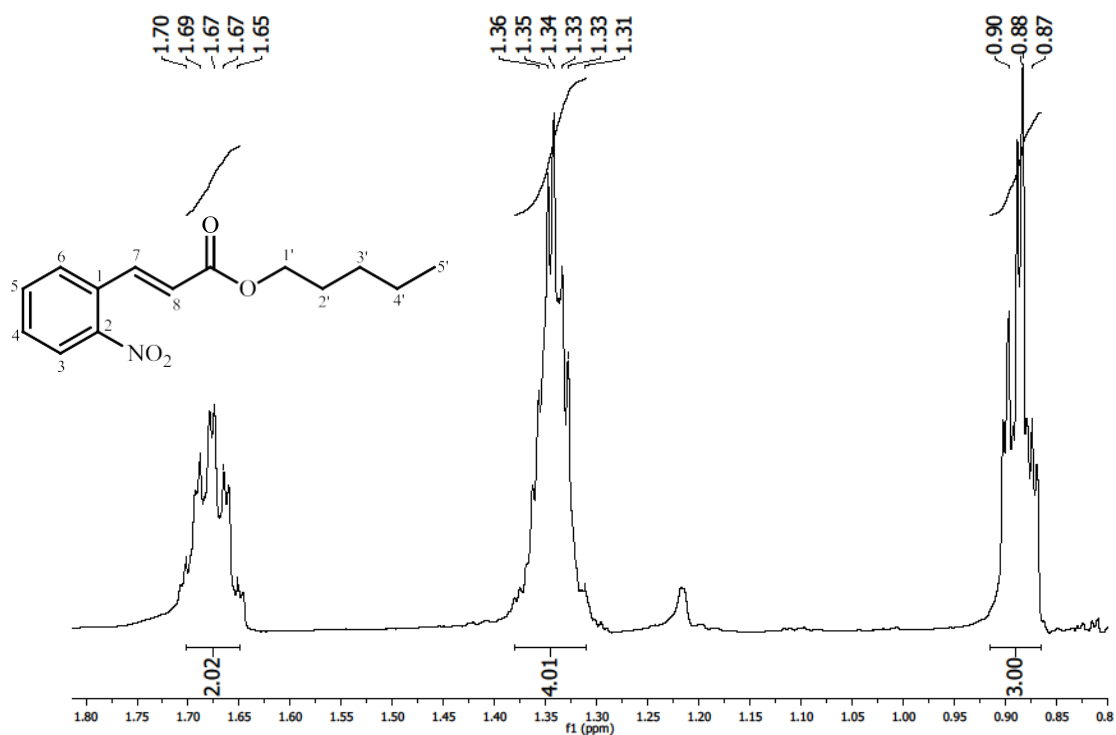
Obteve-se um óleo amarelo, 287,8 mg (1,09 mmol) com rendimento 42,23%, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3073 (C-H  $sp^2$ ), 2957 (C-H  $sp^3$ ), 1717 (C=O), 1638 e 1468 (C=Caromático), 1526 e 1346 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1179 (estiramento C-O). RMN <sup>1</sup>H(500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,06 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-7), 7,99 (*d*, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-3), 7,62 – 7,48 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,33 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-8), 4,18 (*t*, *J* = 6,8 Hz, 2H, H-1'), 1,71-1,65 (*m*, 2H, H-2'), 1,37-1,30 (*m*, 4H, H-3', H-4'), 0,88 (*t*, *J* = 5,7 Hz, 3H, H-5'). RMN <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,77 (C=O), 148,28 (C-2), 139,70 (C-7), 133,41 (C-5), 130,54 (C-1), 130,17 (C-4), 129,04 (C-6), 124,80 (C-3), 123,30 (C-8), 65,03 (C-1'), 28,27 (C-2'), 28,02 (C-3'), 22,25 (C-4'), 13,88 (C-5'), (REEVES et al., 2011).



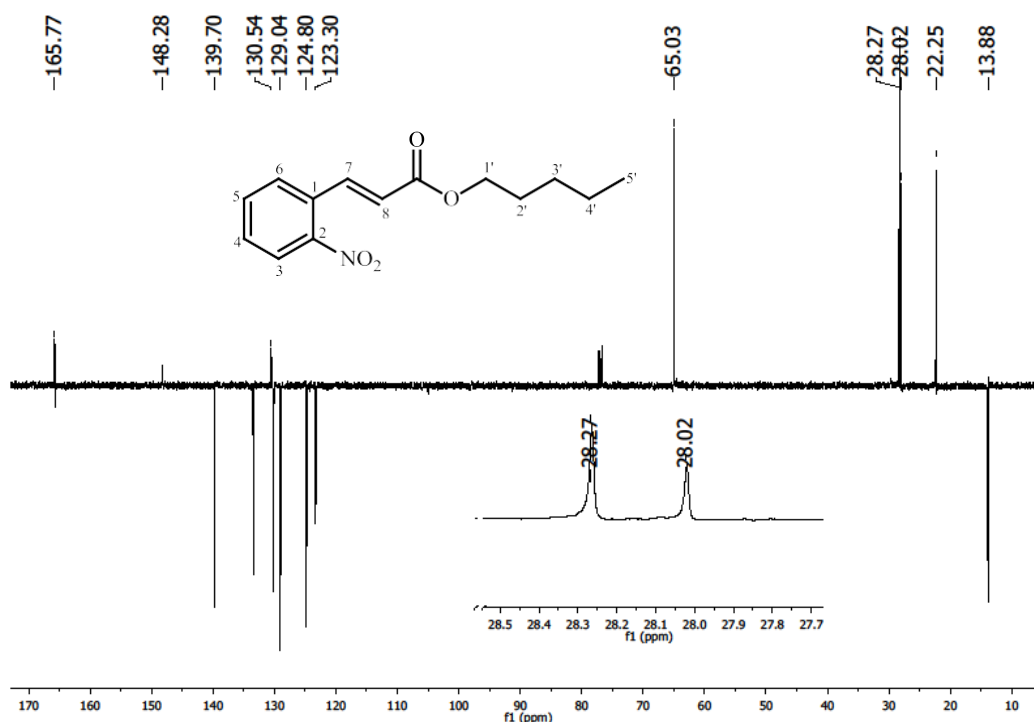
**Espectro 25.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL7**).



**Espectro 26.** Espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL7**) (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)

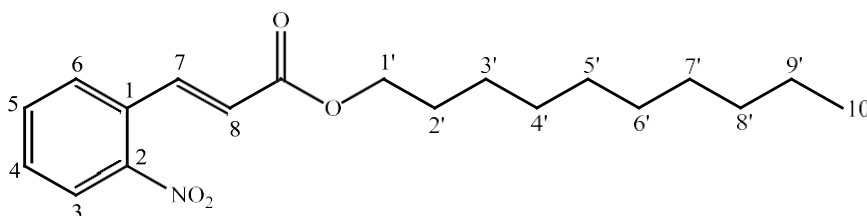


**Espectro 27.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL7**) (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

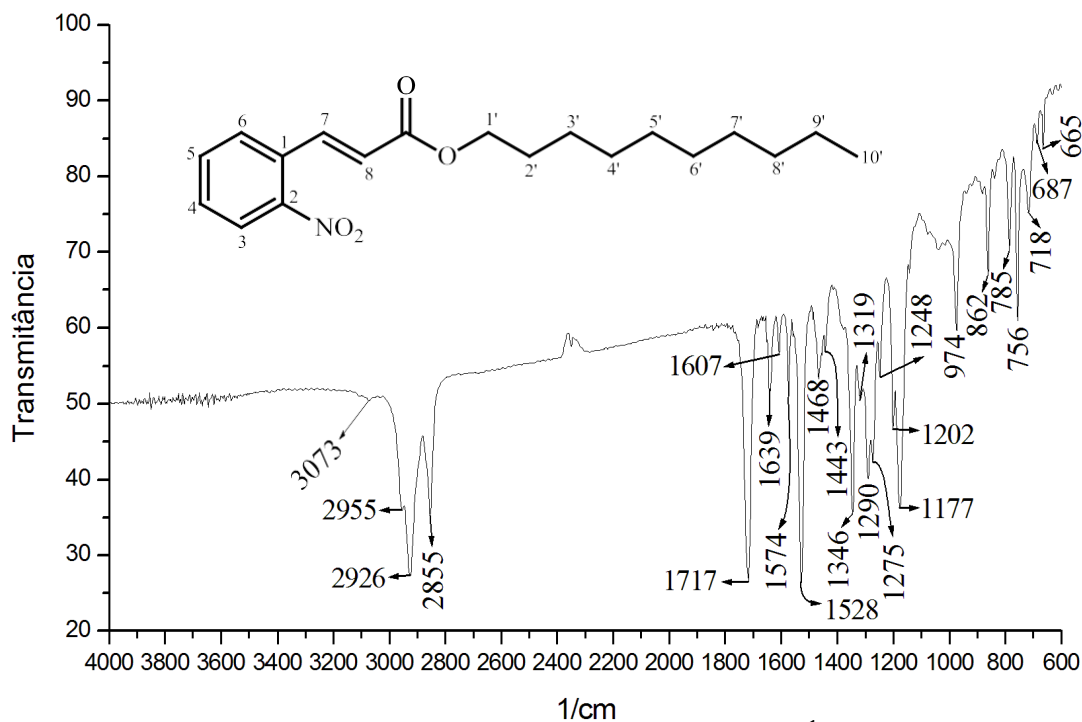


**Espectro 28.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-pentil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL7) (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

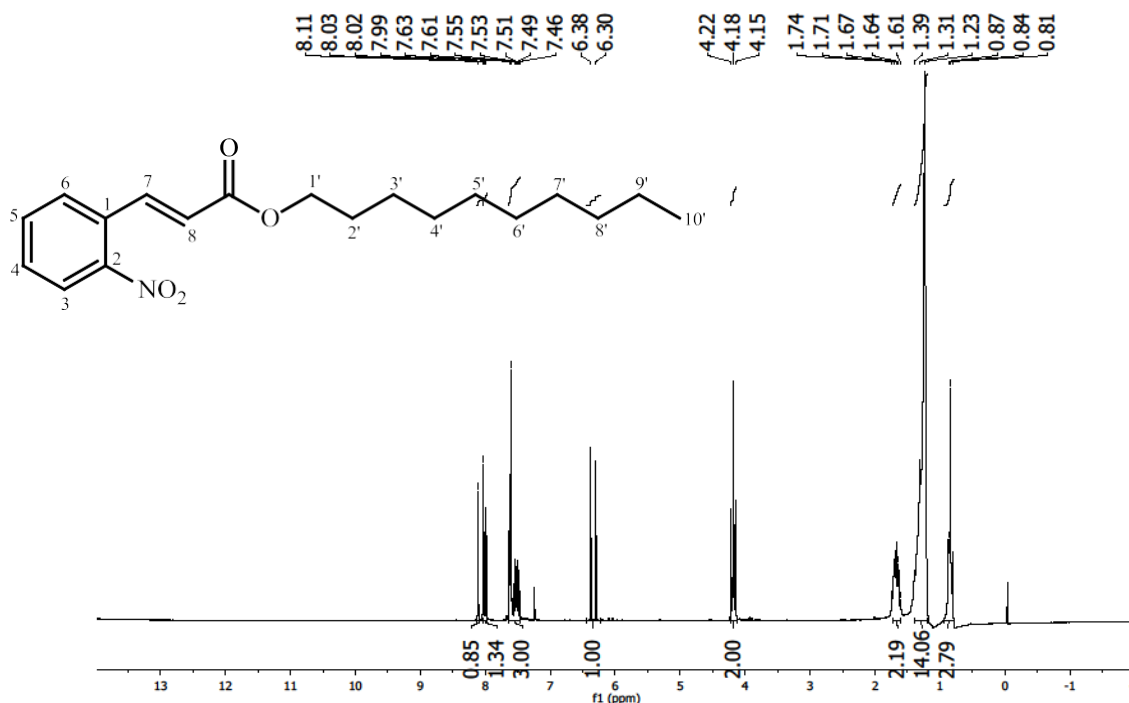
### Éster - EL8



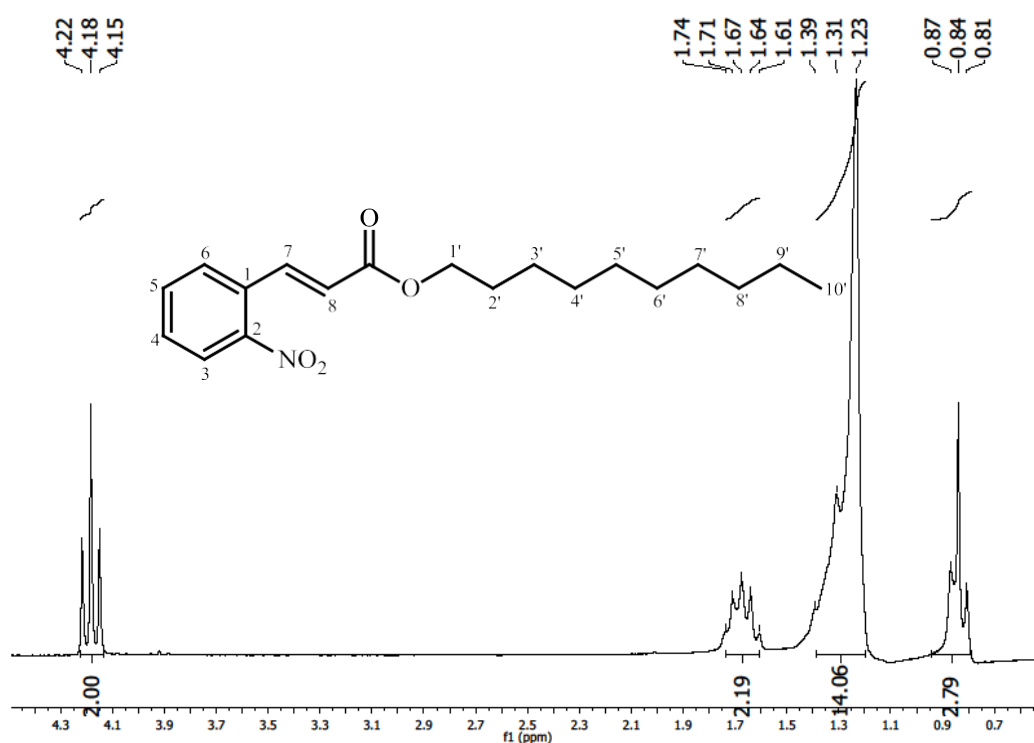
Obteve-se óleo marrom, 443,4 mg (1,33 mmol) com rendimento 51,35% e P.F.: 29-32 °C, IV  $\nu_{\text{max}}$  (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3073 (C-H *sp*<sup>2</sup>), 2926 (C-H *sp*<sup>3</sup>) 1717 (C=O), 1639 e 1468 (C=C aromático), 1528 e 1346 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1177 (estiramento C-O). RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,07 (*d*, *J* = 15,8 HZ, 1H, H-7), 8,00 (*d*, *J* = 7,1 HZ, 1H, H-3), 7,65-7,44 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,34 (*d*, *J* = 15,8 HZ, 1H, H-8), 4,18 (*t*, *J* = 6,7 HZ, 2H, H-1'), 1,79-1,50 (*quin*, 2H, H-2'), 1,40-1,21 (*m*, 14H, H-3', H-4', H-5, H-6, H-7, H-8, H-9), 0,84 (*t*, *J* = 6,4 HZ, 3H, H-10'). RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,8 (C=O), 148,2 (C-2), 139,8 (C-7), 133,4 (C-5), 130,6 (C-1), 130,2 (C-4), 129,1 (C-6), 124,8 (C-3), 123,3 (C-8), 65,1 (C-1'), 31,8 (C-2'), 29,5 (C-3'), 29,5 (C-4'), 29,2 (C-5'), 29,2 (C-6'), 28,6 (C-7'), 25,9 (C-8'), 22,6 (C-9') 14,1 (C-10') (MAGENS E PLIETKER, 2010).



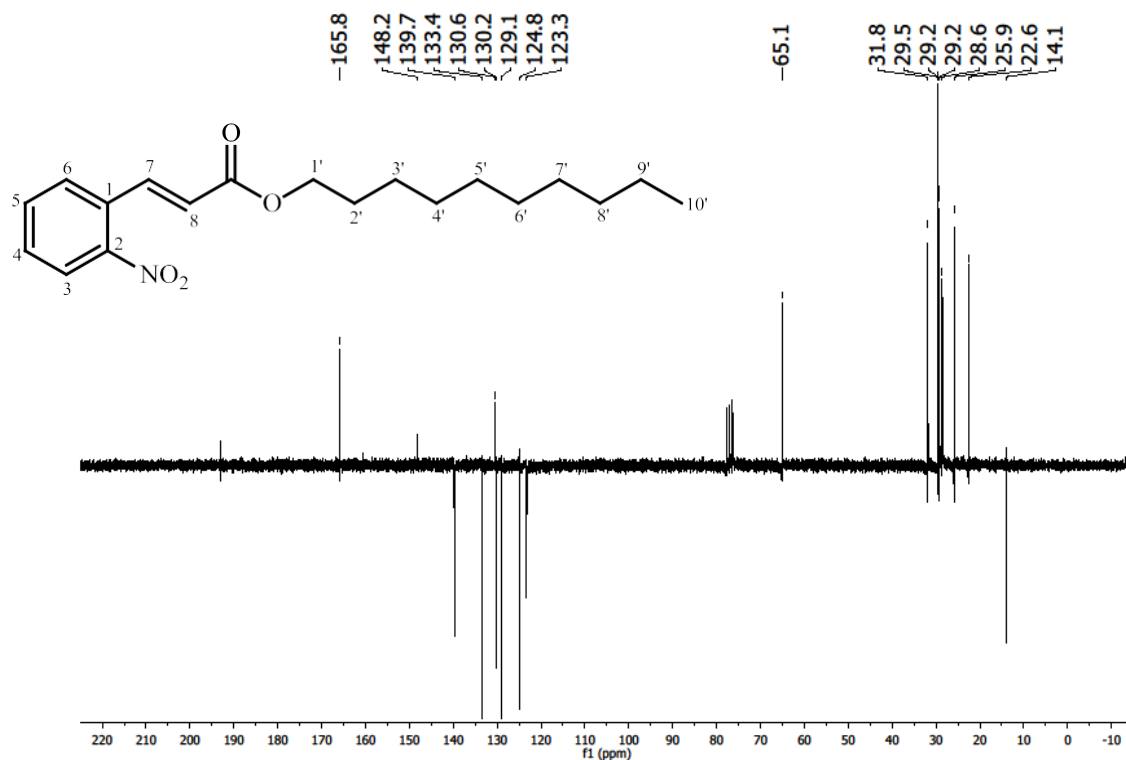
**Espectro 29.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL8**).



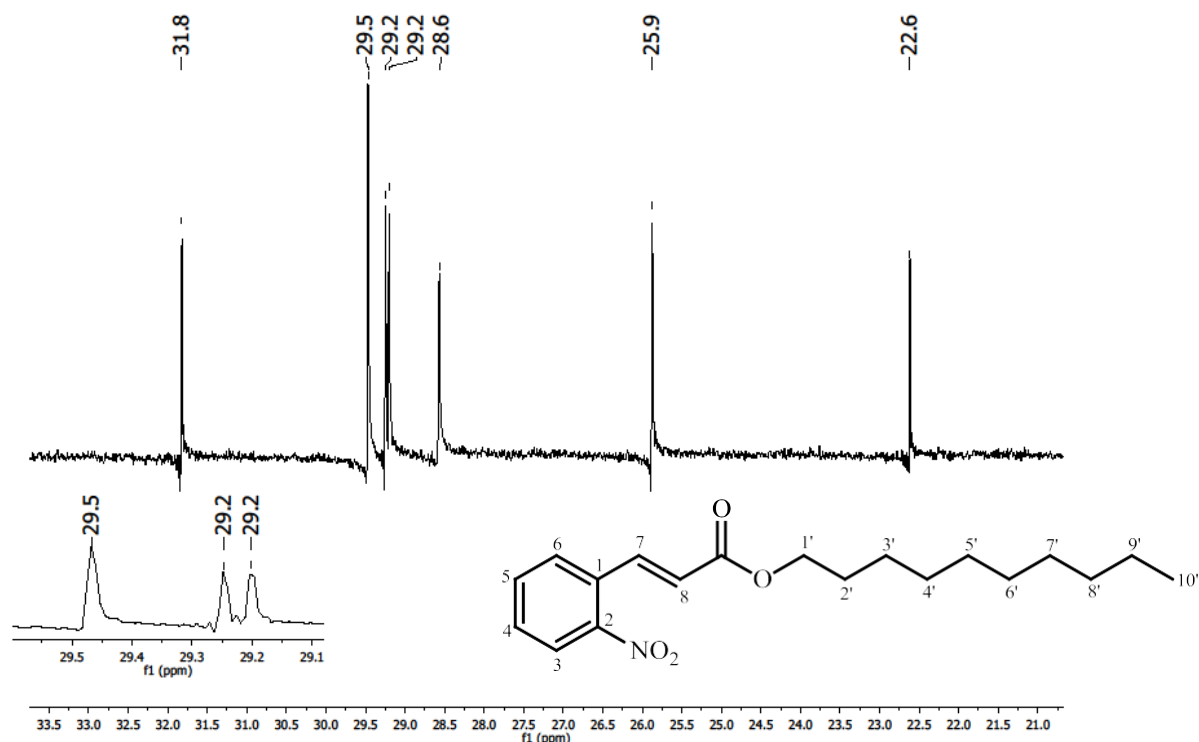
**Espectro 30.** Espectro de RMN<sup>1</sup>H de (*E*)-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL8**)(200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



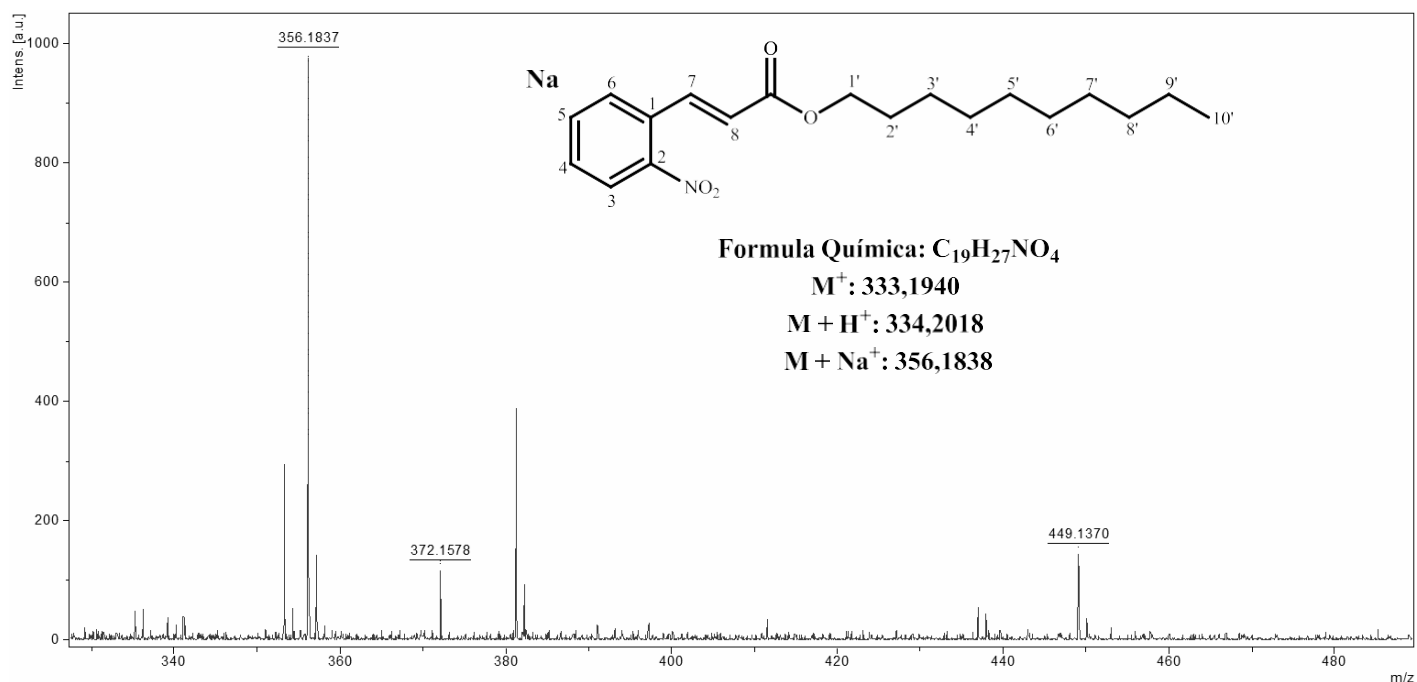
**Espectro 31.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL8**) (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Espectro 32.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-decil 3-(2-nitrofenil)acrilato (**EL8**) (50MHz, CDCl<sub>3</sub>).

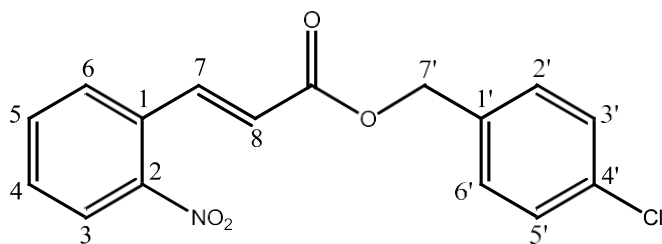


**Espectro 33.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-decil 3-(2- nitrofenil) acrilato (**EL8**) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



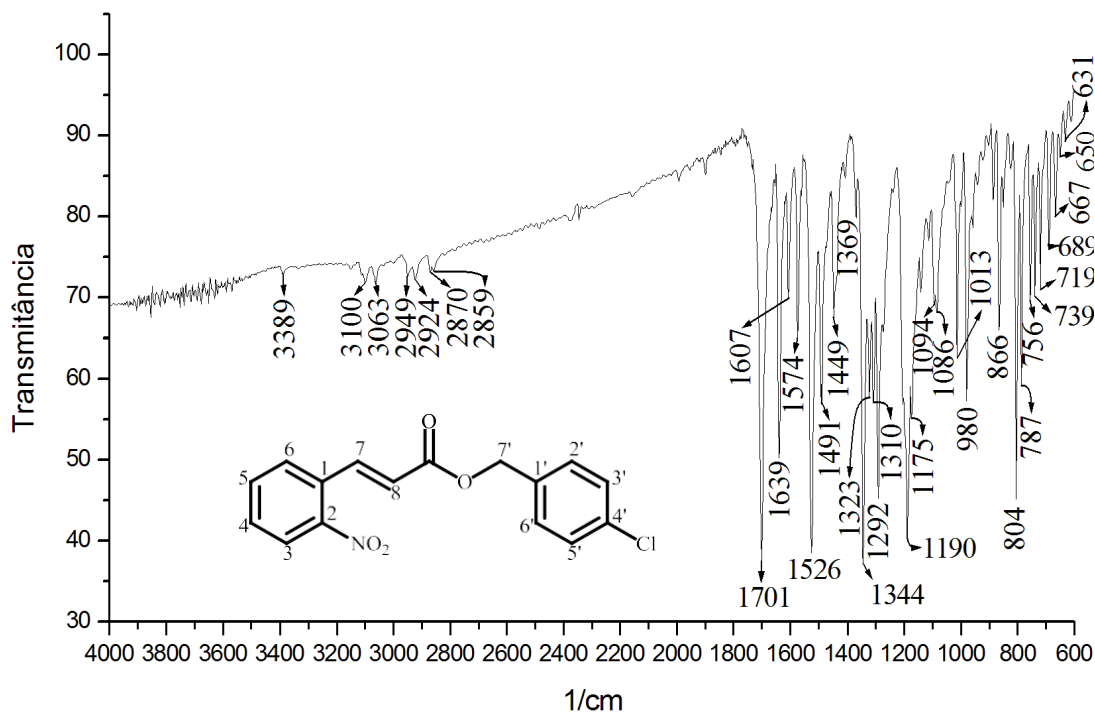
**Espectro 34.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI (*E*)-decil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL8**).

Éster - EL9



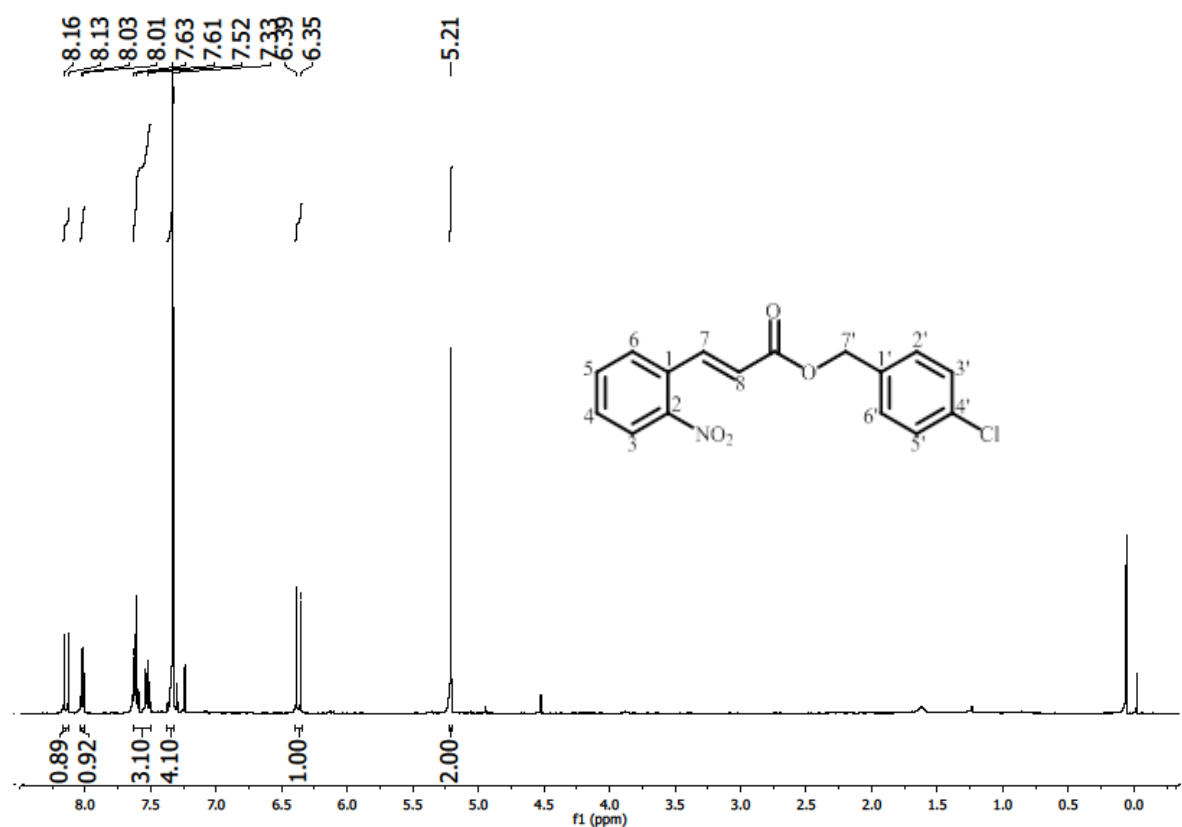
(*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato

Obteve-se um sólido amorfo amarelado, 86,1 mg (0,271 mmol) com rendimento 52,37% e P.F.: 115-120 °C, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3063 (C-H  $sp^2$ ), 2449 (C-H  $sp^3$ ), 1701 (C=O), 1639 e 1491 (C=C aromático), 1526 e 1344 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1190 (estiramento C-O), 1086 (estiramento C-Cl) RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,14 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-7), 8,02 (*d*, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-3), 7,63-7,50 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 7,39 -7,32 (*m*, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'), 6,37 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-8), 5,21 (*s*, 2H, H-7'). RMN <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,39 (C=O), 148,28 (C-2), 140,68 (C-7), 134,24 (C-1', C-4'), 133,50 (C-5), 130,42 (C-1), 130,38 (C-4), 129,65 (C-2', C-6'), 129,09 (C-6), 128,77 (C-3', C-5'), 124,91 (C-3), 122,66 (C-8), 65,79 (C-7'), (KIM et al., 2010).

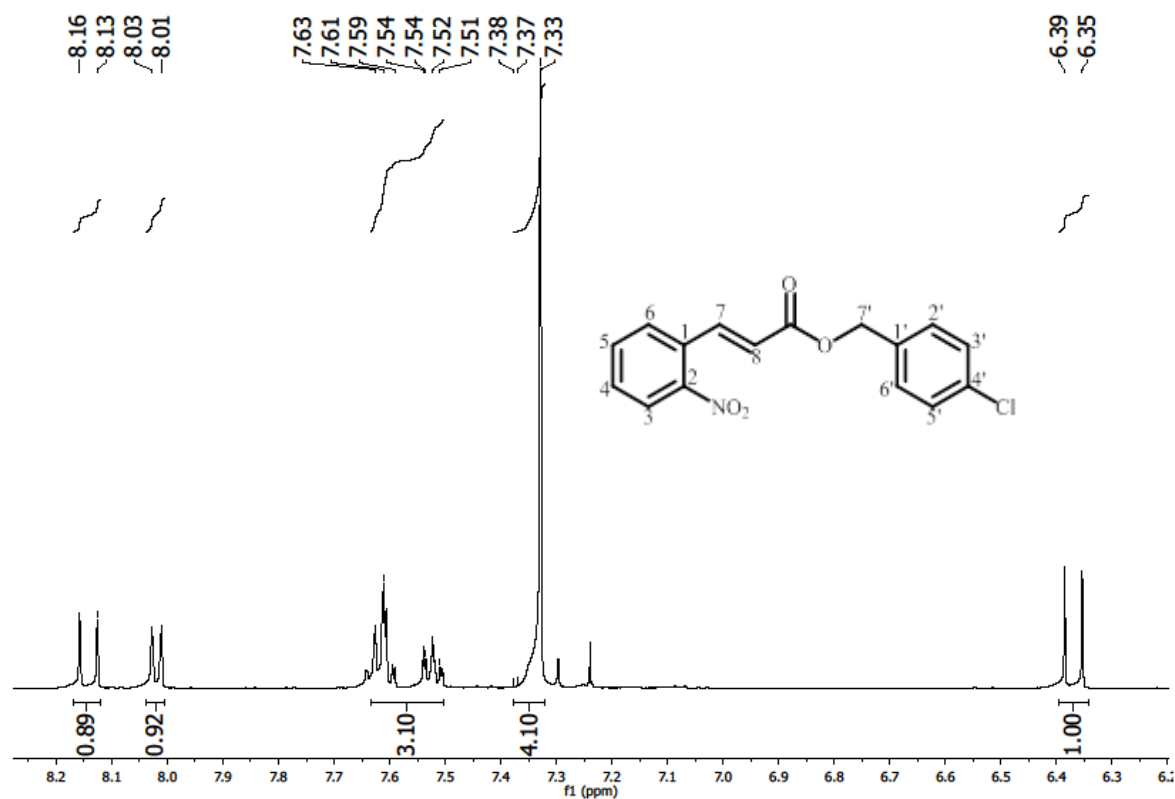


**Espectro 35.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL9**).

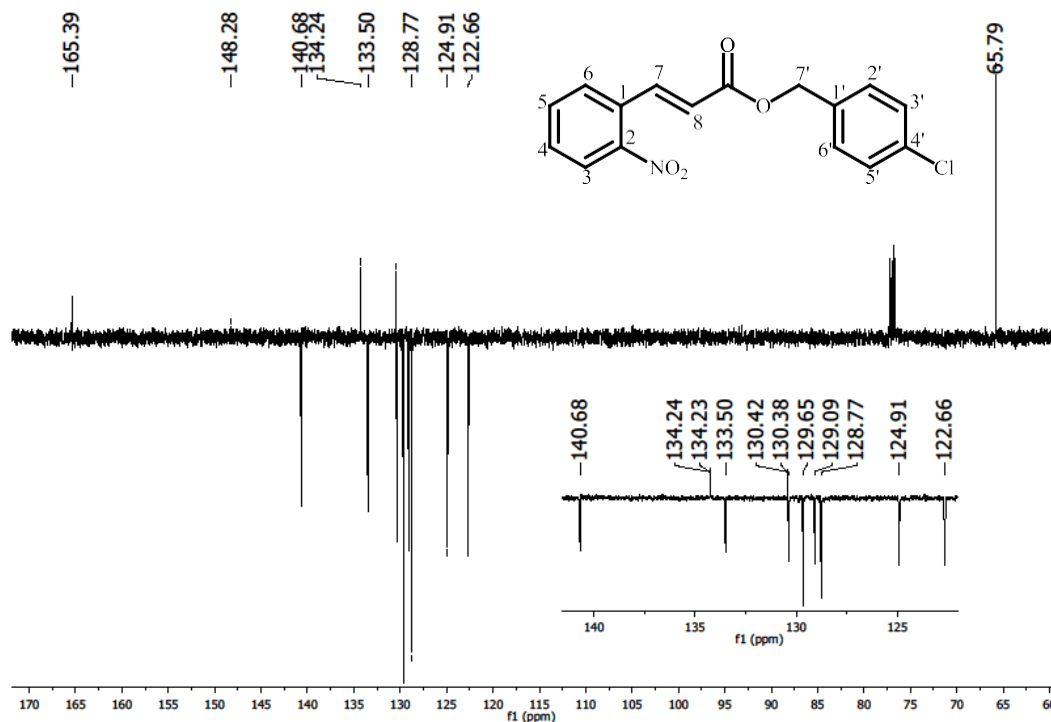




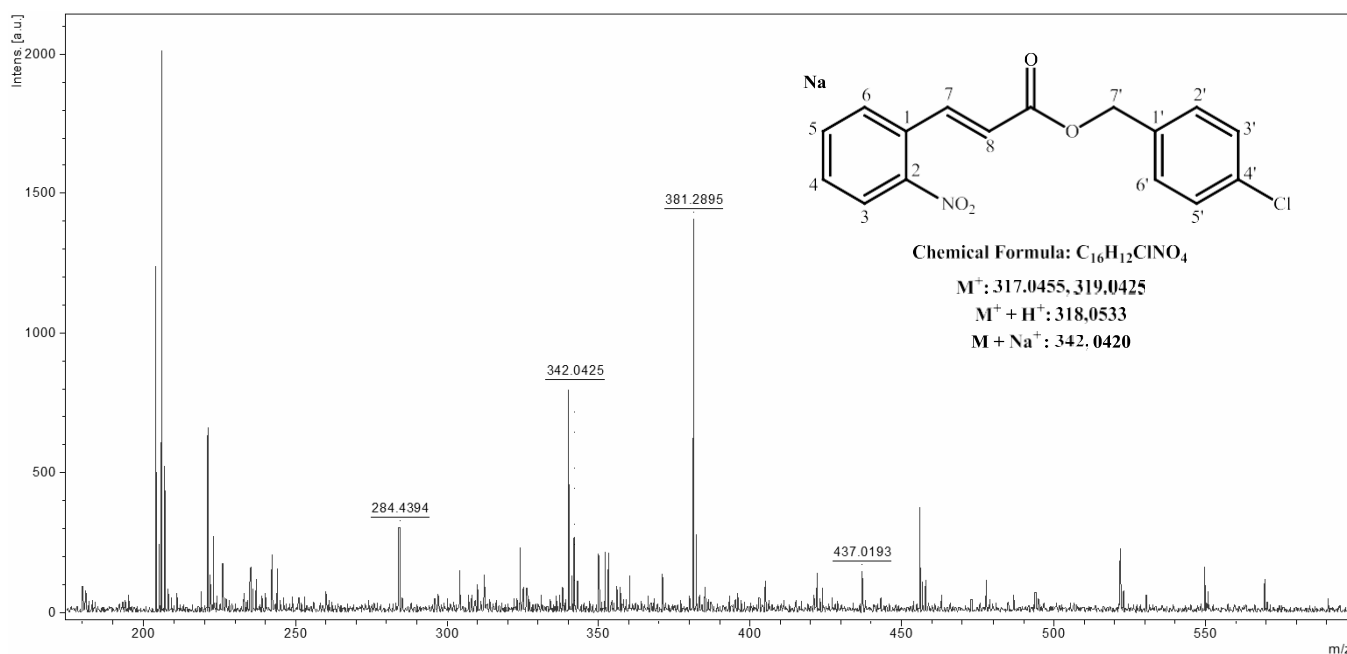
**Espectro 36.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato(**EL9**)(500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 37.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL9**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

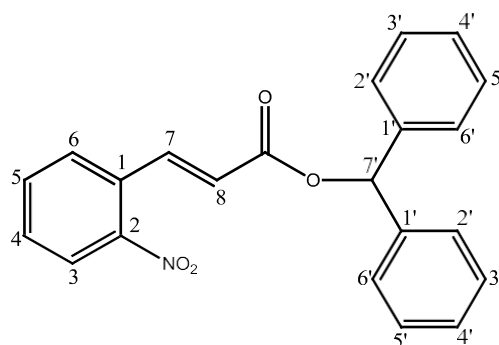


**Espectro 38.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL9**) (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



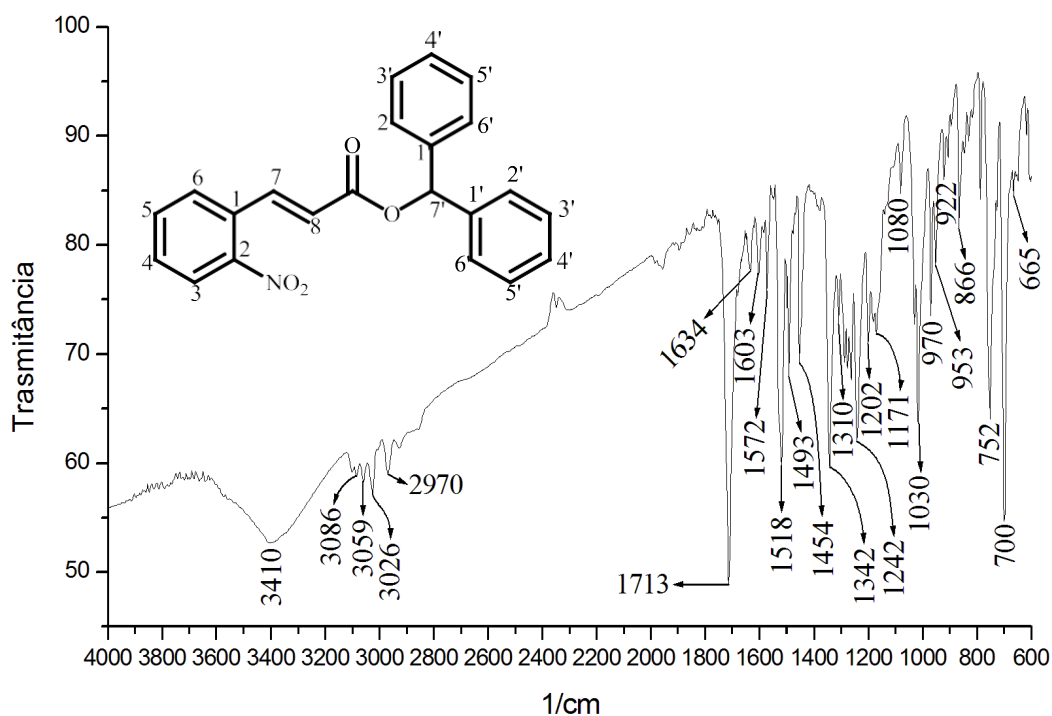
**Espectro 39.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI (*E*)-4-clorobenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL9**).

Éster - EL10

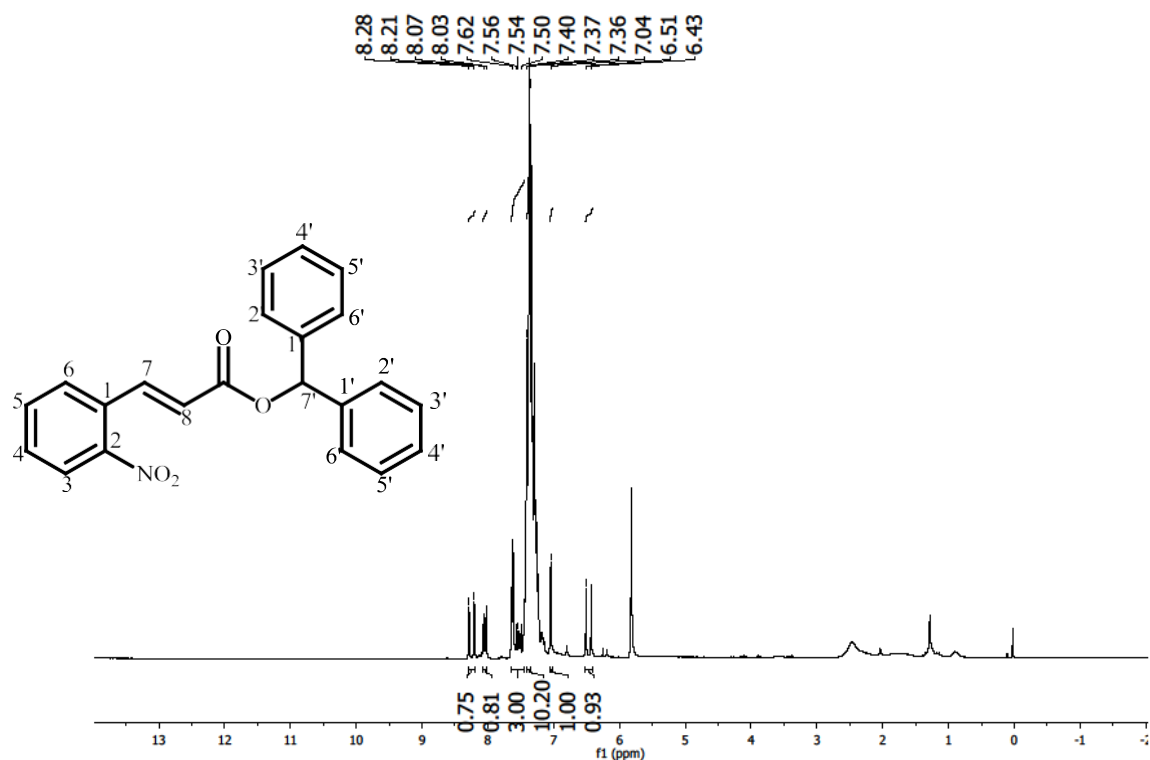


(*E*)-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato

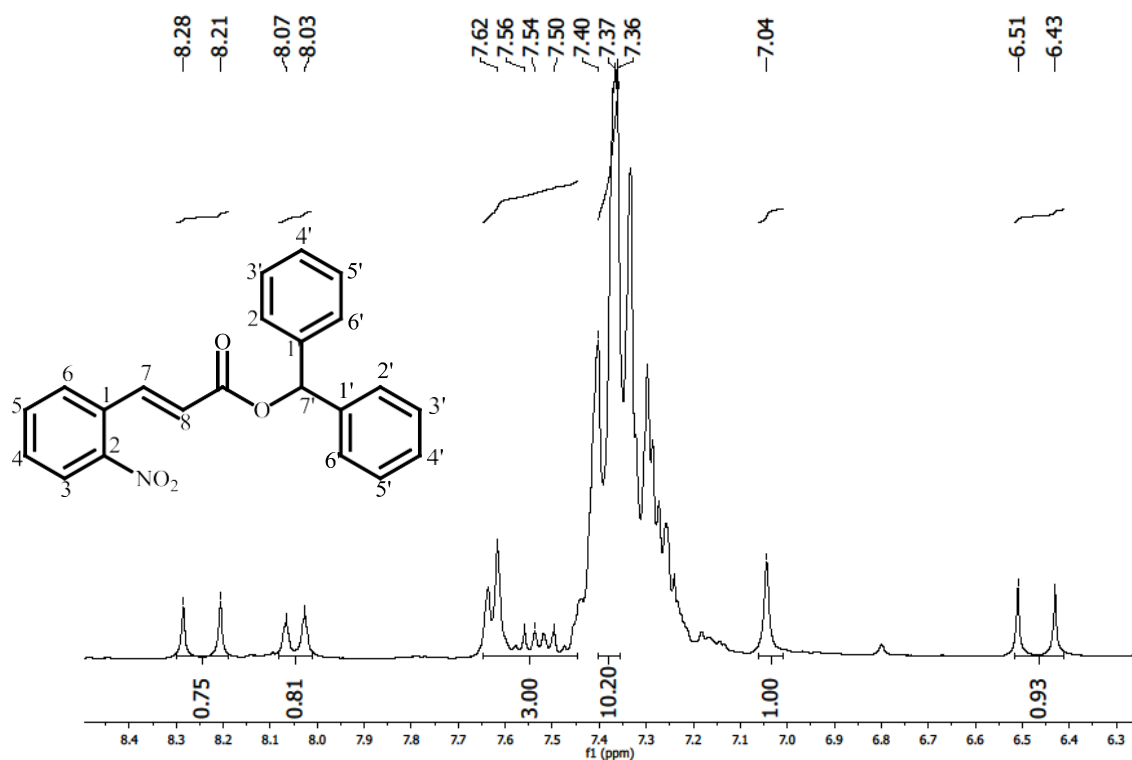
Obteve-se um sólido amorfo amarelado, 51,3 mg (0,143 mmol) com rendimento 28,00% e P.F.: 58-70 °C, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3086 (C-H  $sp^2$ ), 2970 (C-H  $sp^3$ ), 1713 (C=O), 1634 e 1493 (C=C aromático), 1518 e 1342 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1190 (estiramento C-O), 1086. RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,25 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 8,05 (*d*,  $J = 7,9$  Hz, 1H, H-3), 7,62-7,49 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 7,41- 7,36 (*m*, 10H: 2H-2', 2H-3', 2H-4', 2H-5', 2H-6'), 7,04 (*s*, 1H, H-7'), 6,47 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8). RMN  $^{13}\text{C}$  (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 164,7 (C=O), 148,1 (C-2), 140,7 (C-7), 139,9 (2C-1'), 133,5 (C-5), 130,4 (C-1), 130,3 (C-4), 129,1 (C-6), 128,5 (2C-3', 2C-5'), 128,4 (2C-2', 2C-6'), 126,5 (2C-4'), 124,9 (C-3), 122,9 (C-8), 77,3 (C-7'), (MAGENS E PLIETKER, 2010).



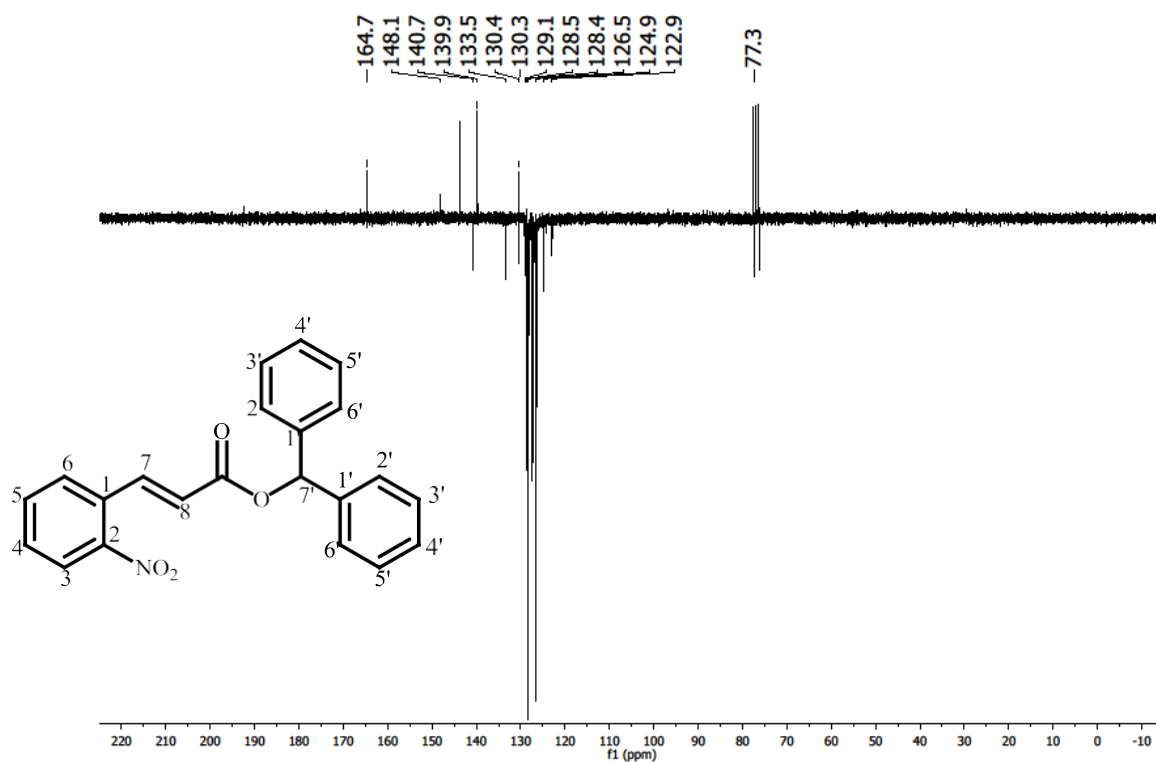
**Espectro 40.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL10**).



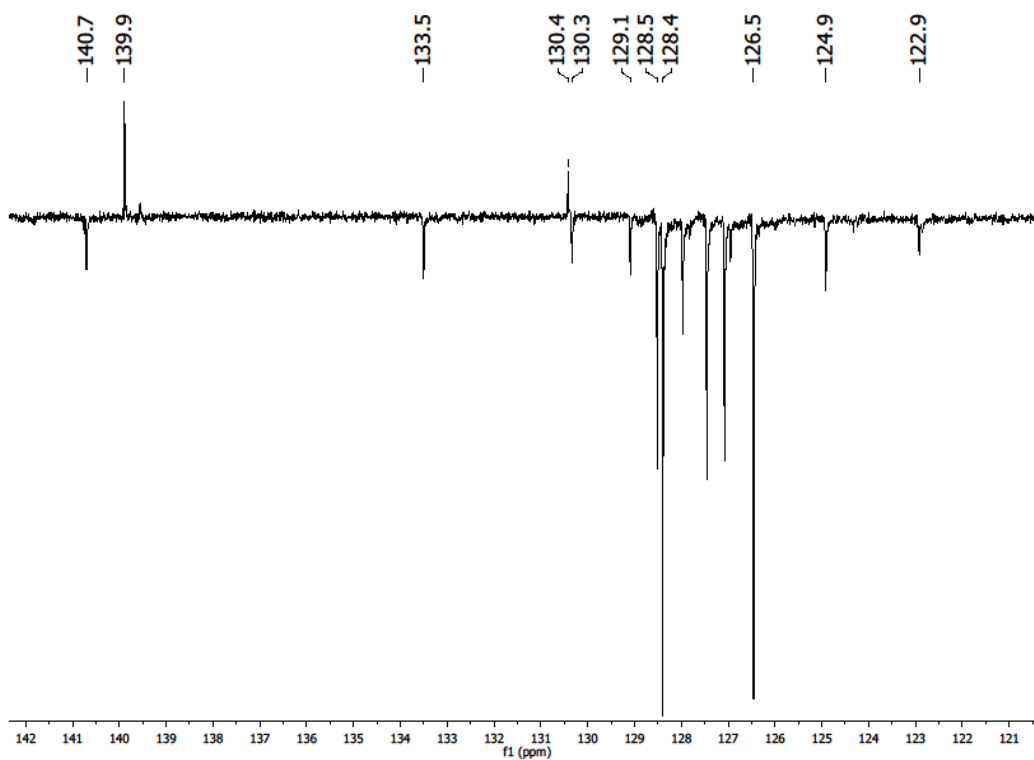
**Espectro 41.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL10**) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



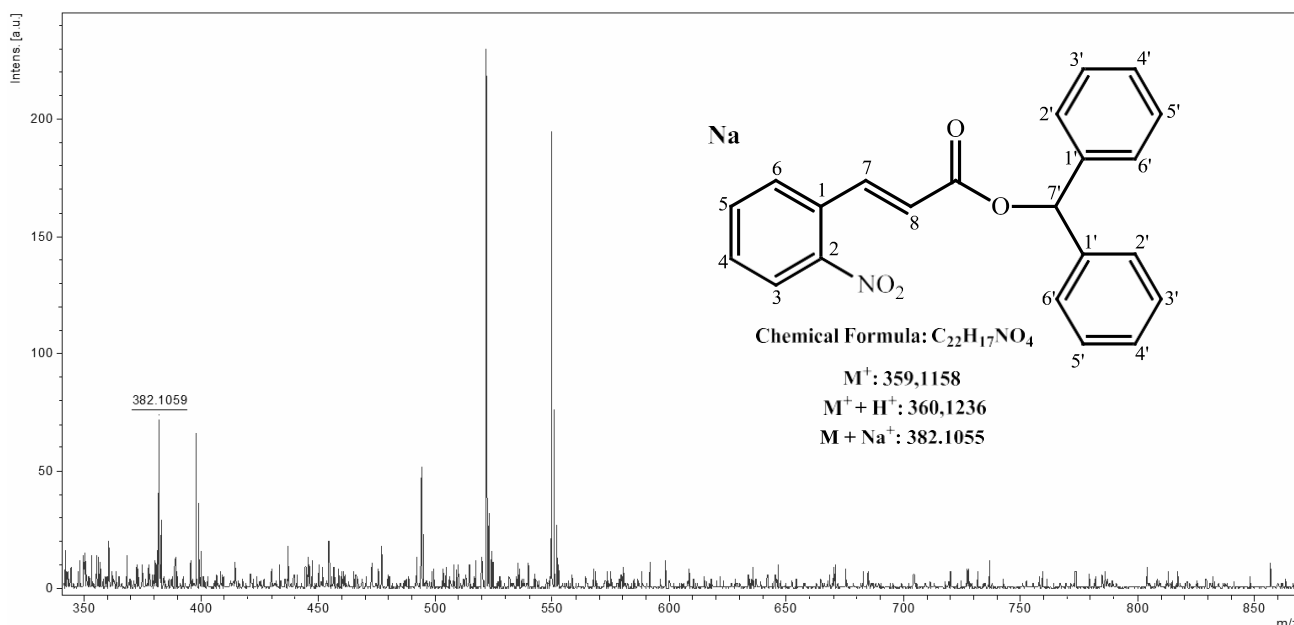
**Espectro 42.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-benzidril 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL10**) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 43.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-benzidril3-(2-nitrofenil) acrilato(EL10) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

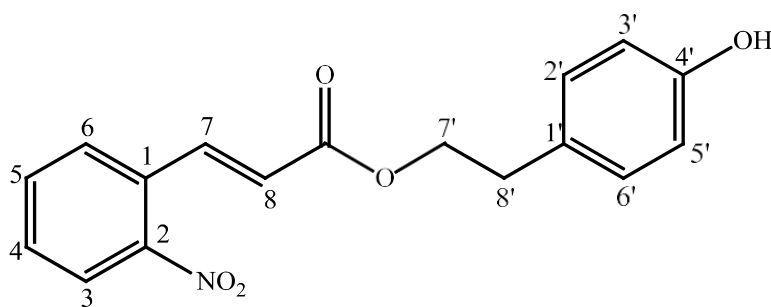


**Espectro 44.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-benzidril3-(2-nitrofenil) acrilato (EL10) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



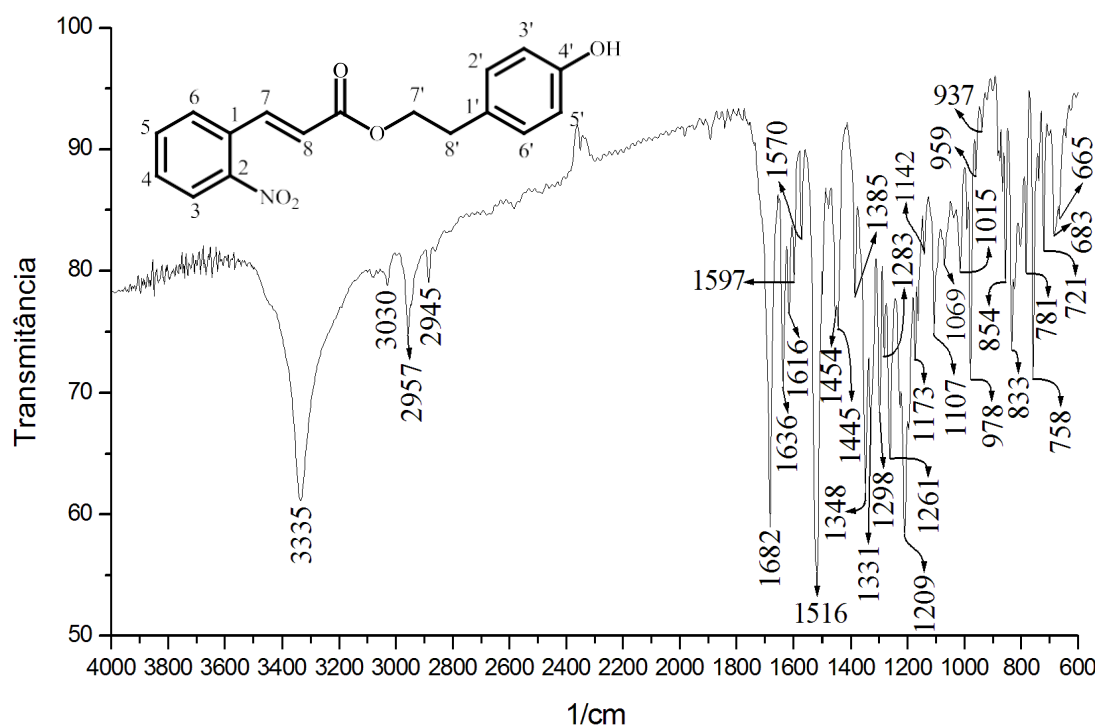
**Espectro 45.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI (*E*)-benzidril3-(2-nitrofenil) acrilato(EL10).

#### Éster - EL11

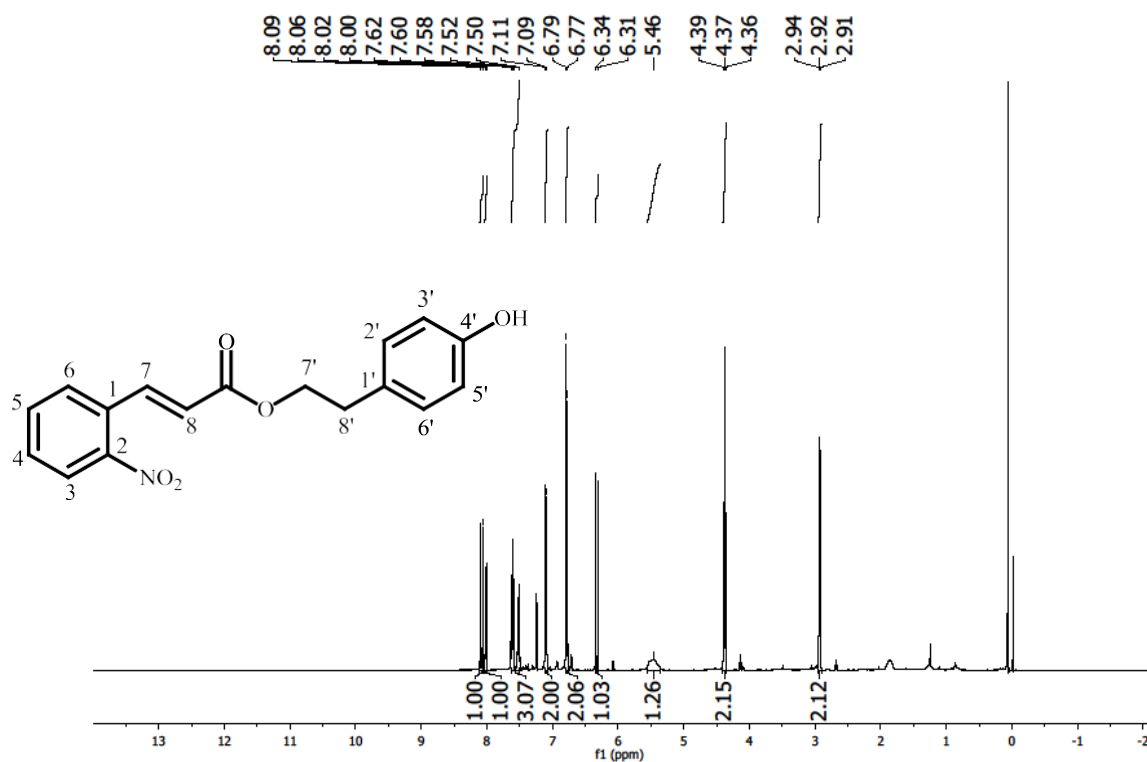


(*E*)-4-hidroxifenetil 3-(2-nitrofenil) acrilato

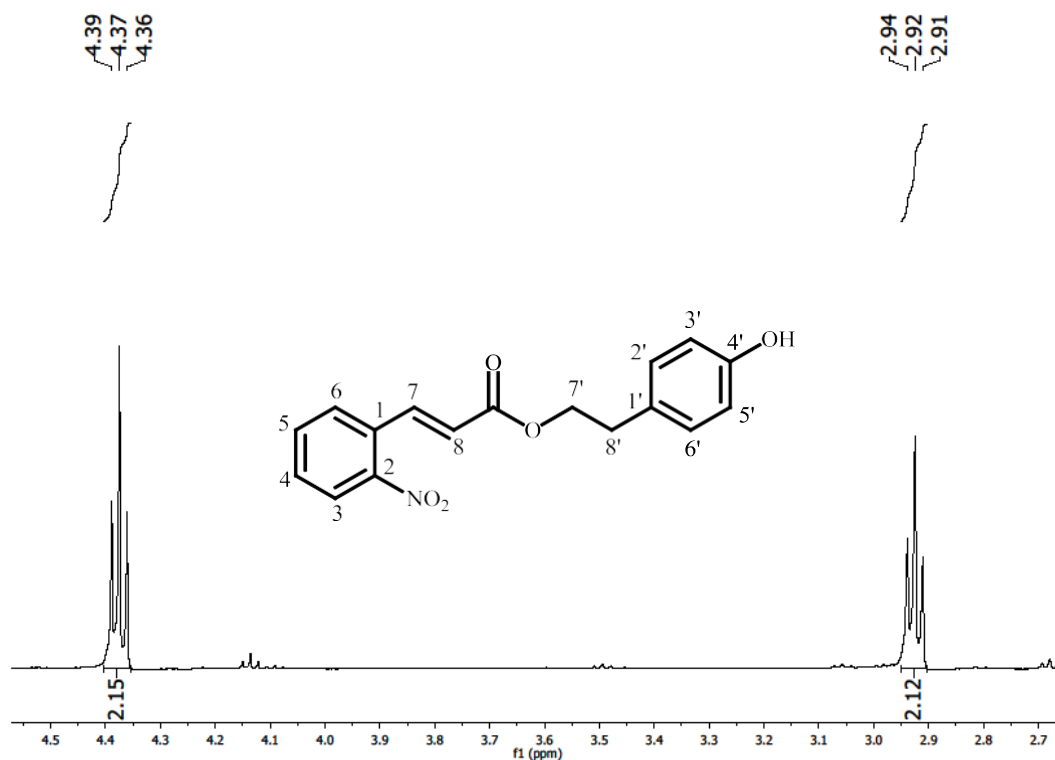
Obteve-se um sólido amarelo, 58,5 mg (0,1869 mmol) com rendimento 72,22%, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $cm^{-1}$ ): 3335(O-H), 3030(C-H $sp^2$ ), 2957(C-H $sp^3$ ), 1682(C=O), 1636 e 1454(C=C aromático), 1516 e 1348 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1209 (estiramento C-O). RMN  $^1H$  (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,08 (*d*,  $J$  = 15,8 Hz, 1H, H-7), 8,01 (*d*,  $J$  = 8,2 Hz, 1H, H-3), 7,62-7,49 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 7,10 (*d*,  $J$  = 8,3 Hz, 2H, H-2', H-6'), 6,78 (*d*,  $J$  = 8,6 Hz, 2H, H-3', H-5'), 6,32 (*d*,  $J$  = 15,8 Hz, 1H, H-8), 5,46 (*s*, 1H, H-4'), 4,37 (*t*,  $J$  = 7,0 Hz, 2H, H-7'), 2,92 (*t*,  $J$  = 7,0 Hz, 2H, H-8'). RMN  $^{13}C$  (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,14 (C=O), 154,46 (C-4'), 148,28 (C-2), 140,15 (C-7), 133,48 (C-5), 130,46 (C-1), 130,29 (C-4), 130,07 (C-2', C-6'), 129,61, 129,09 (C-6), (C-1'), 124,88 (C-3), 123,03 (C-8), 115,45 (C-3', C-5'), 65,75 (C-7'), 34,22 (C-8'), (FATEN, DARWISH E REINECKE, 2003)



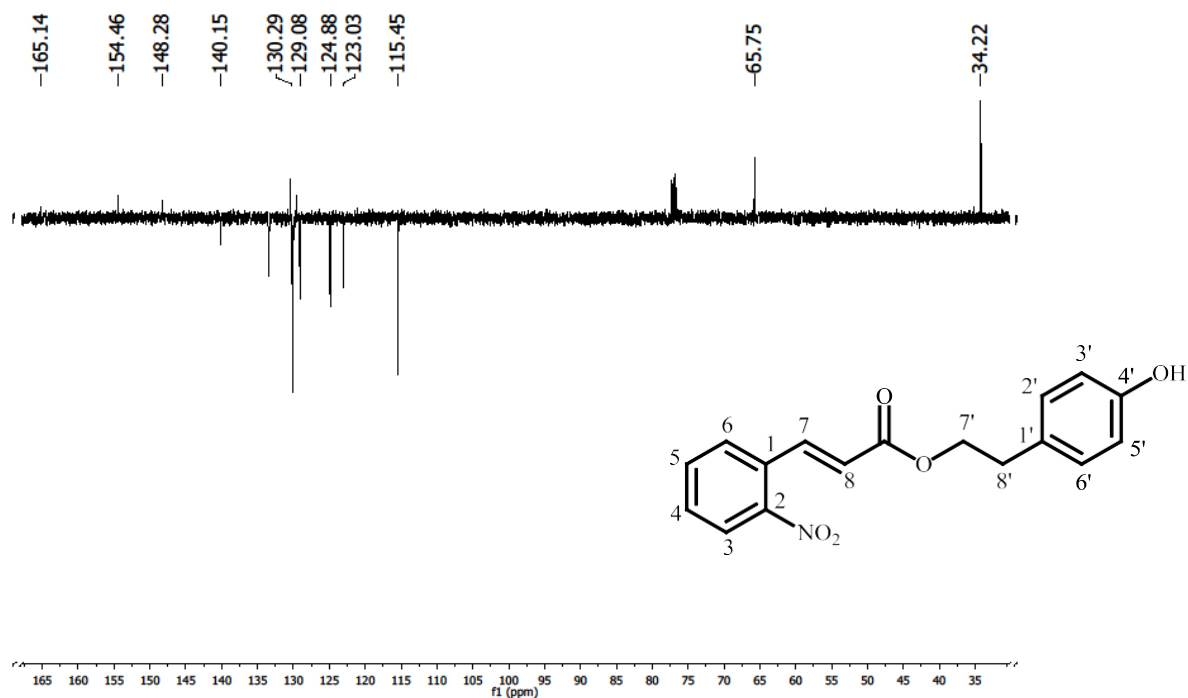
**Espectro 46.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-4-hidroxifenetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL11**).



**Espectro 47.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-4-hidroxifenetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL11**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).

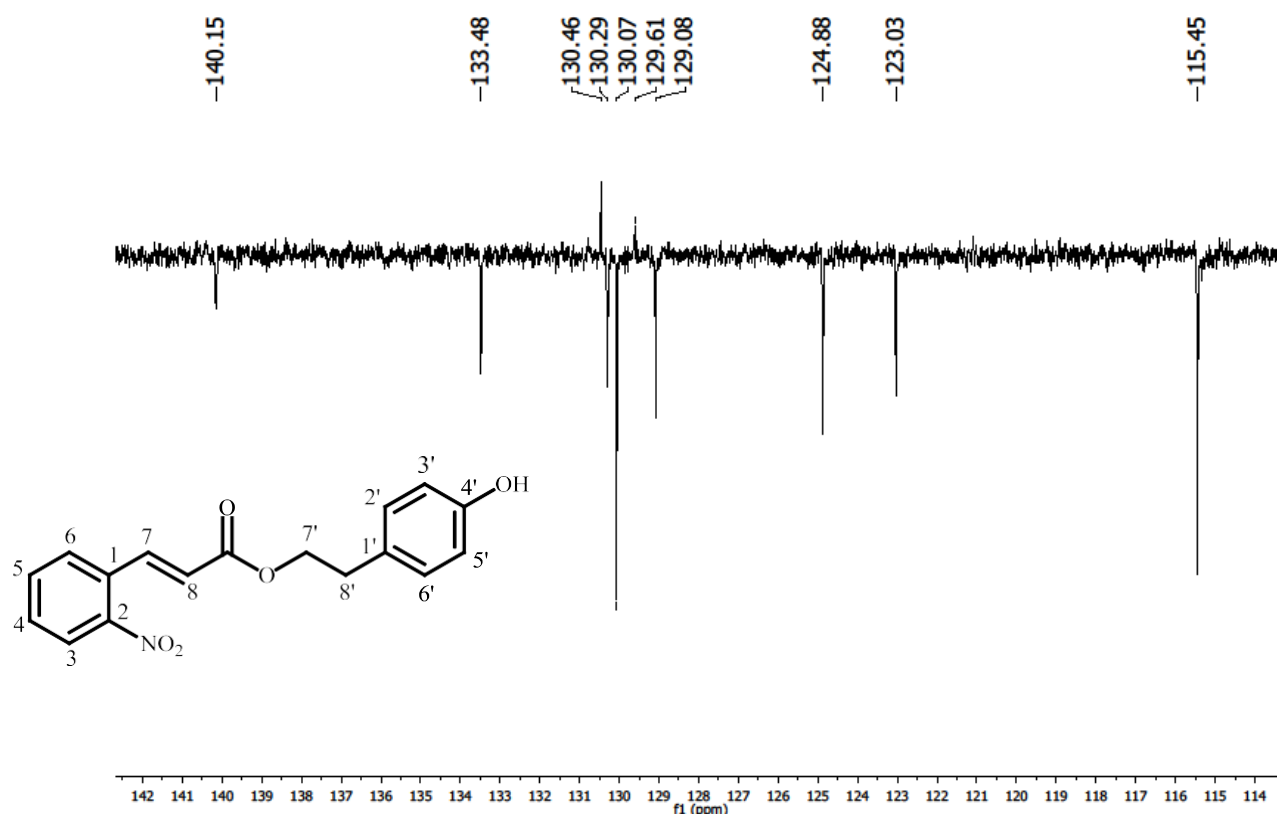


**Espectro 48.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-4-hidroxifenetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL11**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



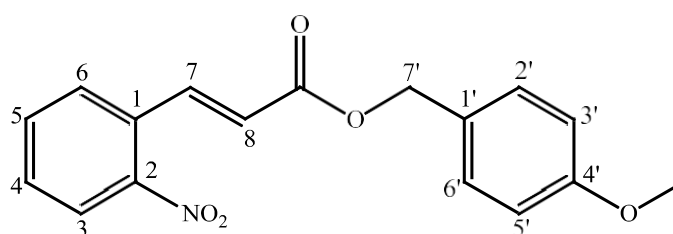
**Espectro 49.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-4-hidroxifenetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL11**) (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).





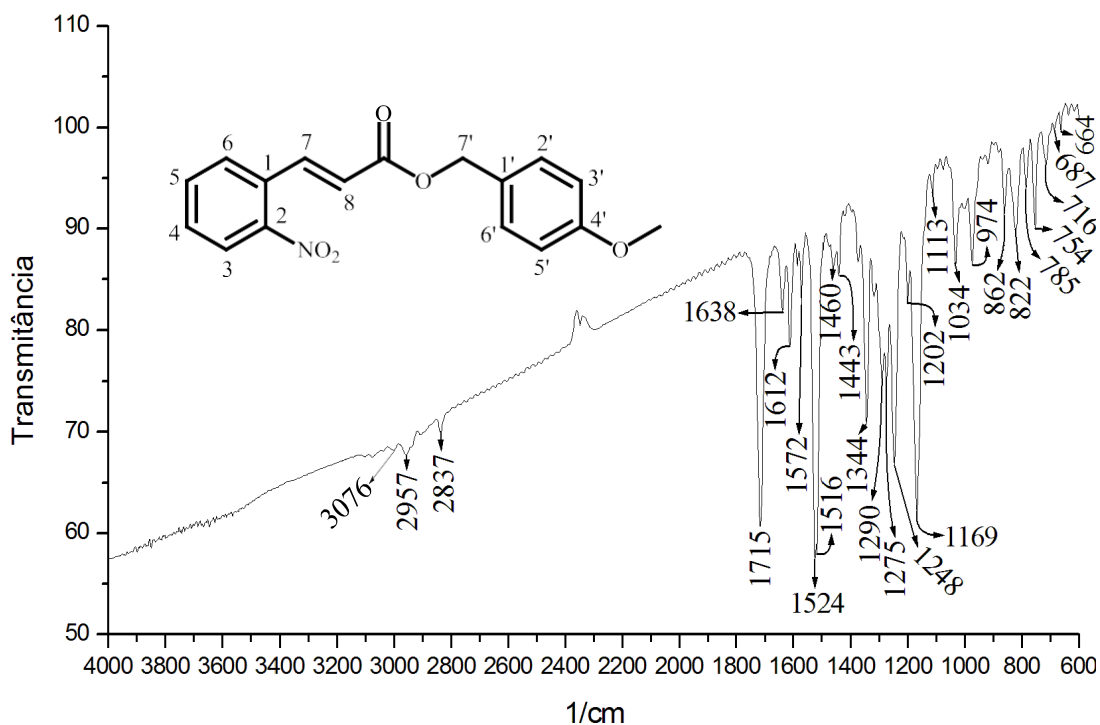
**Espectro 50.** Expansão do espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (E)-4-hidroxifenil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL11**) (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

### Éster - EL12

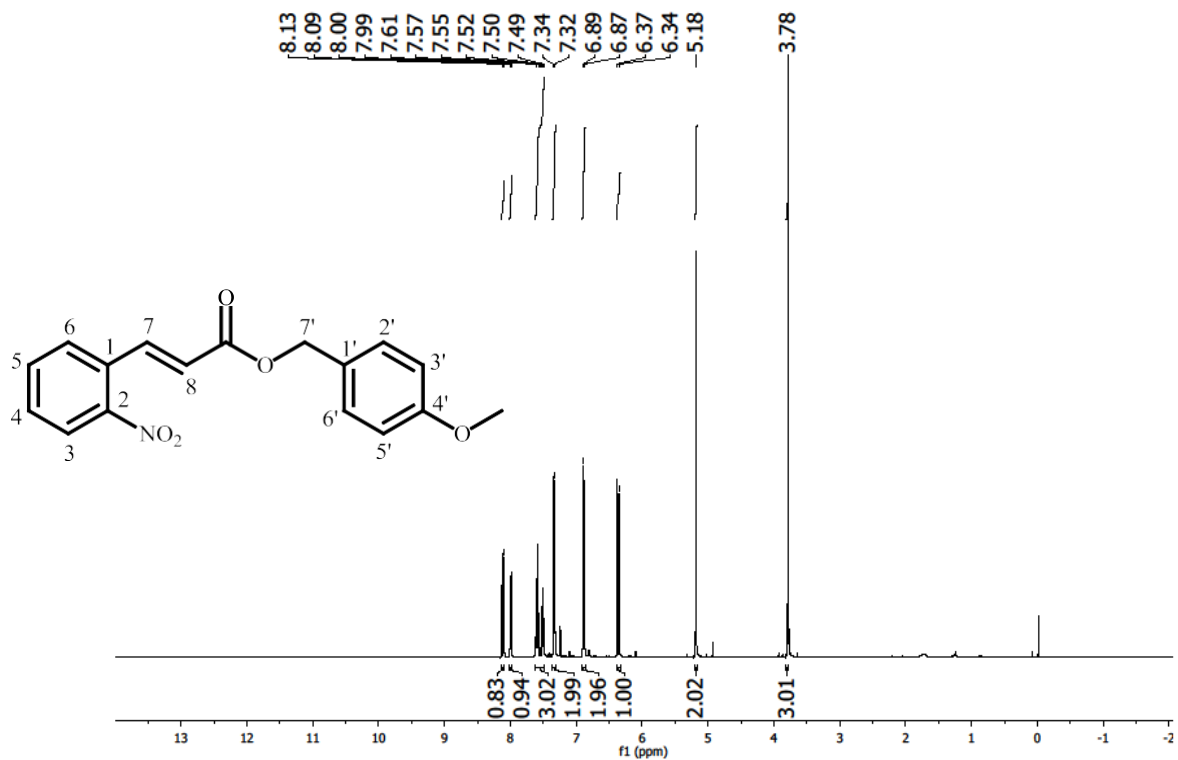


(E)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato

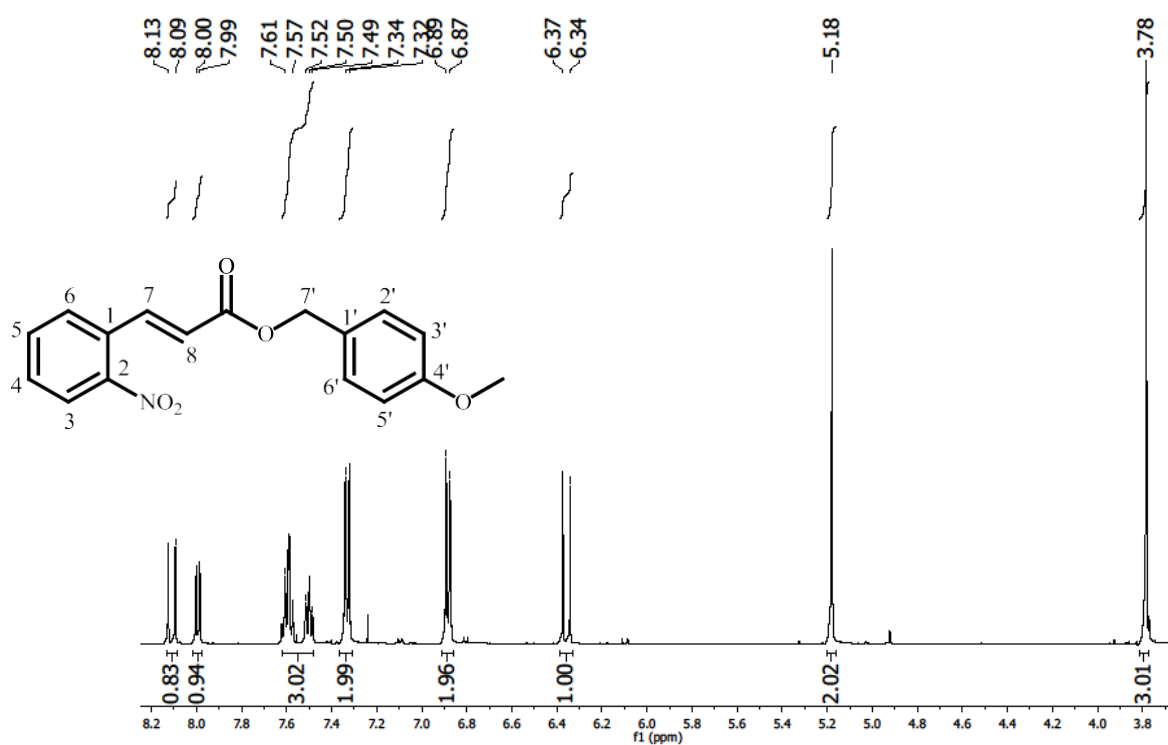
Obteve-se um sólido amarelado, 97,4 mg ( 0,311 mmol) com rendimento de 60,09% e P.F.: 65-75 °C, IV  $\nu_{\max}$  (KBr, cm<sup>-1</sup>): 3076 (C-H *sp*<sup>2</sup>), 2957 (C-H *sp*<sup>3</sup>), 1715 (C=O), 1638 e 1460(C=C aromático), 1524 e 1344 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1169 (estiramento C-O). RMN <sup>1</sup>H (500MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,11 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-7), 7,99 (*d*, *J* = 8,2 Hz, 1H, H-3), 7,61-7,48 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 7,33 (*d*, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-2', H-6'), 6,88 (*d*, *J* = 8,7 Hz, 2H, H-3', H-5'), 6,36 (*d*, *J* = 15,8 Hz, 1H, H-8), 5,18 (*s*, 2H, H-7'), 3,78 (*s*, 3-H, MeO). RMN <sup>13</sup>C (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,54 (C=O), 159,67 (C-4'), 148,23 (C-2), 140,16 (C-7), 133,42 (C-5), 130,44 (C-1), 130,22 (C-4), 130,10 (C-2', C-6'), 129,02 (C-6), 127,80 (C-1'), 124,80 (C-3), 123,01, (C-8), 113,94 (C-3', C-5'), 66,43 (C-7'), 55,20 (C-MeO), (KIM et al., 2010).



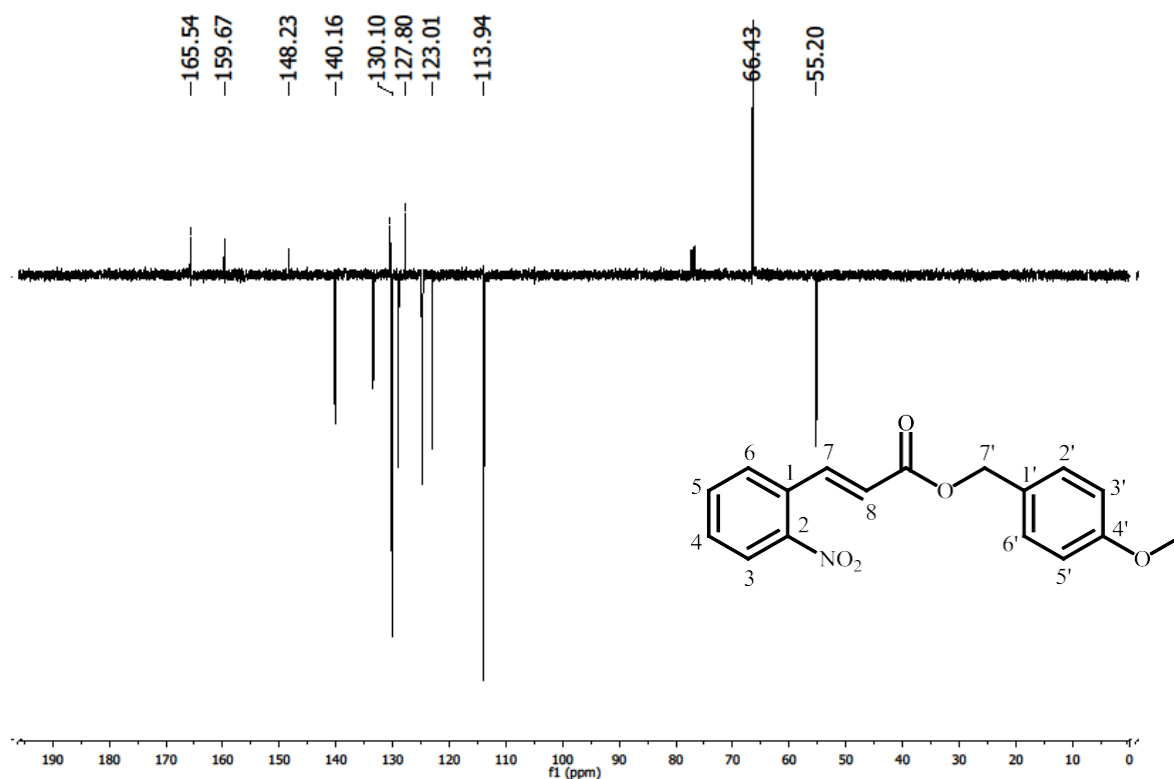
**Espectro 51.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL12**).



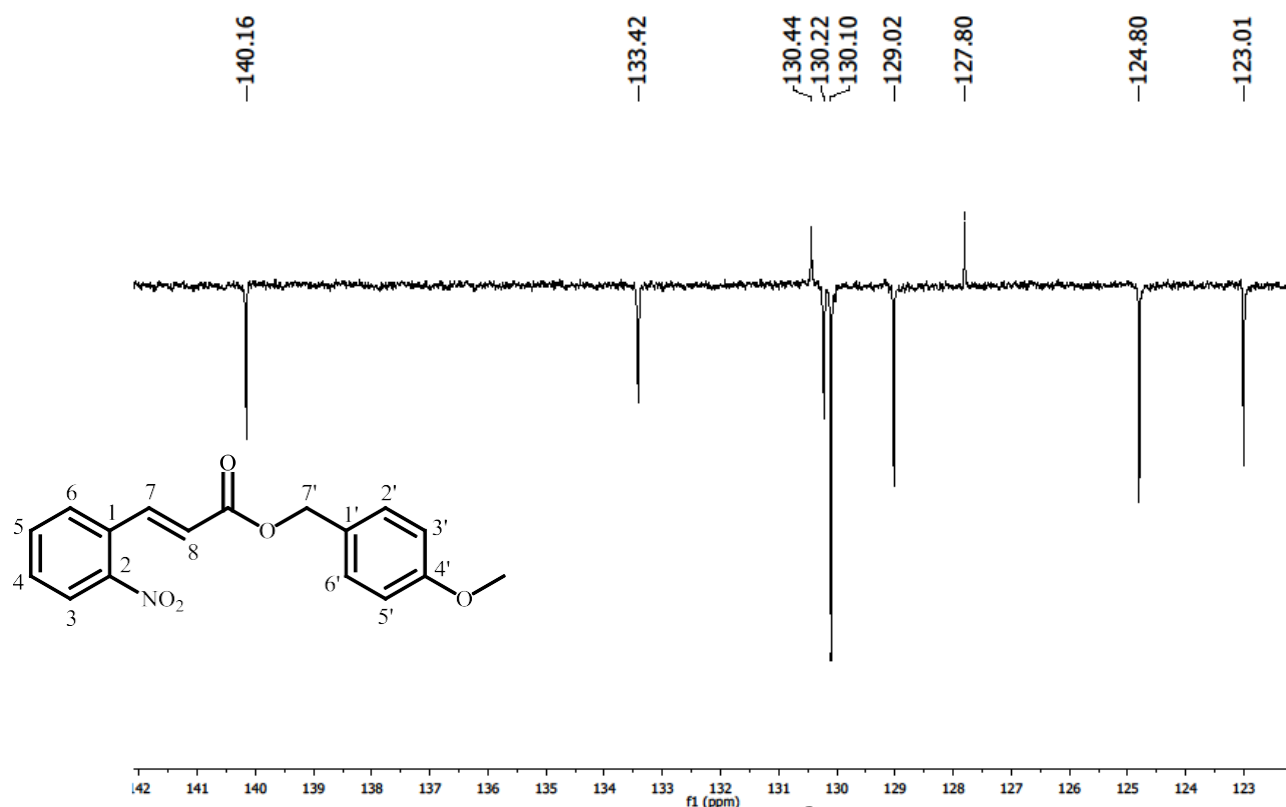
**Espectro 52.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL12**) (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



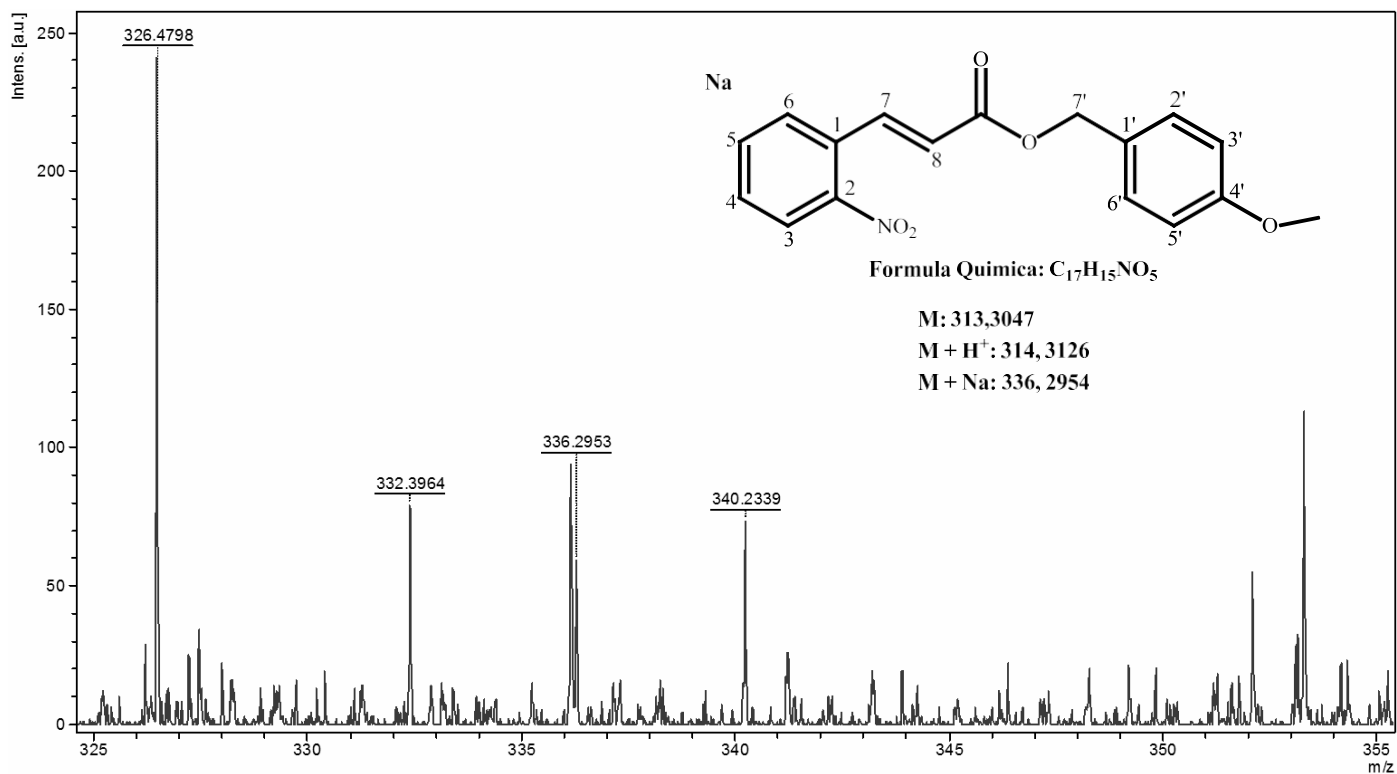
**Espectro 53.** Expansão do espectro de RMN <sup>1</sup>H de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(2- nitrofenil) acrilato (**EL12**) (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>).



**Espectro 54.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C-APT de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato(**EL12**) (126 MHz, CDCl<sub>3</sub>).

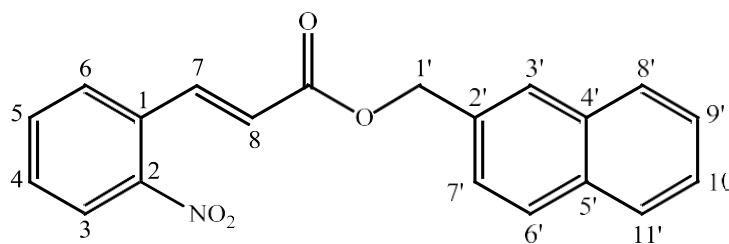


**Espectro 55.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (E)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12) (126 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



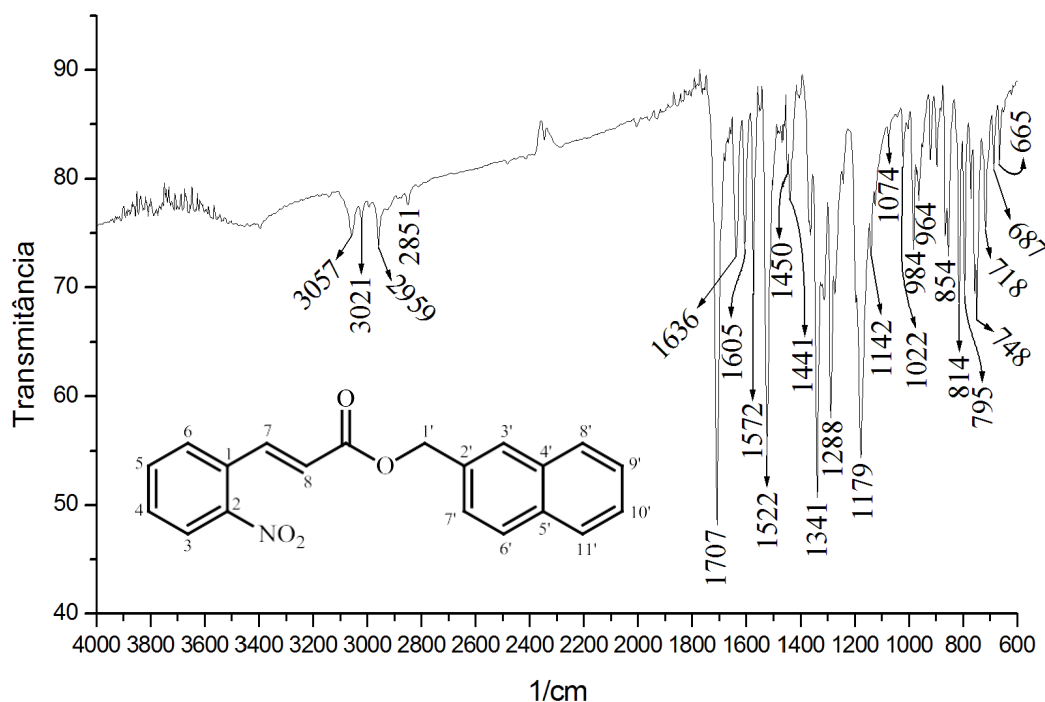
**Espectro 56.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (E)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL12).

Éster - EL13

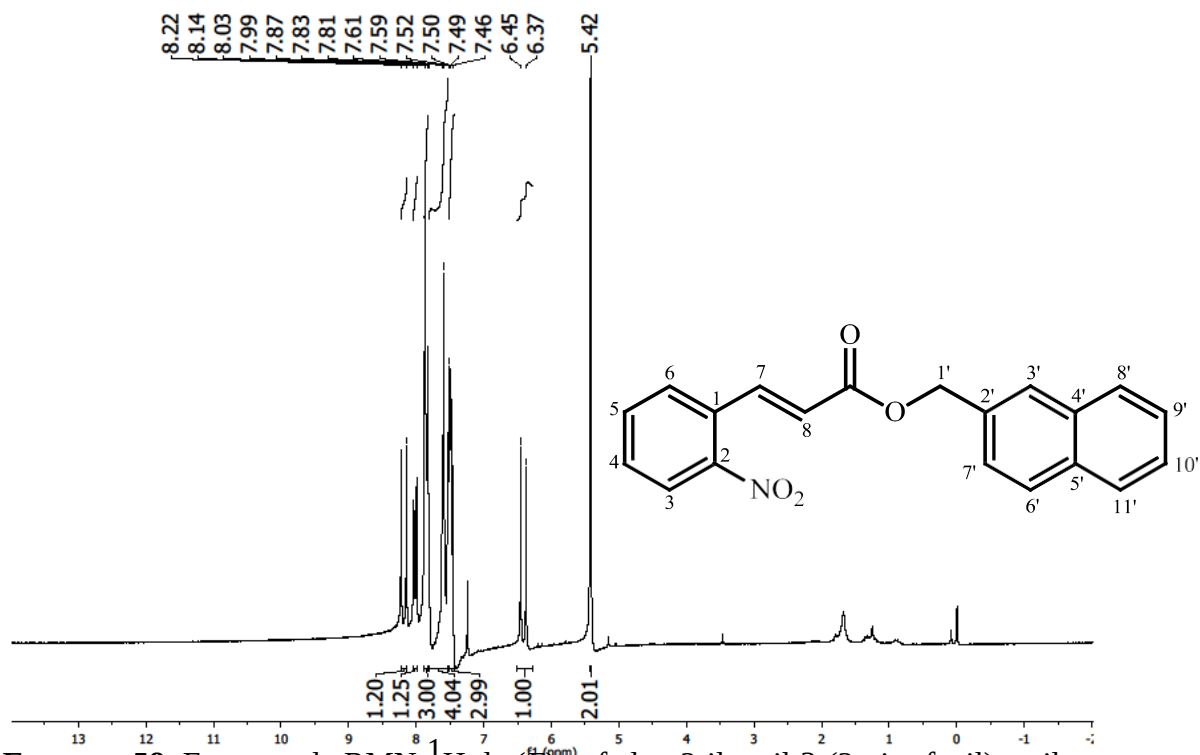


(*E*)-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato

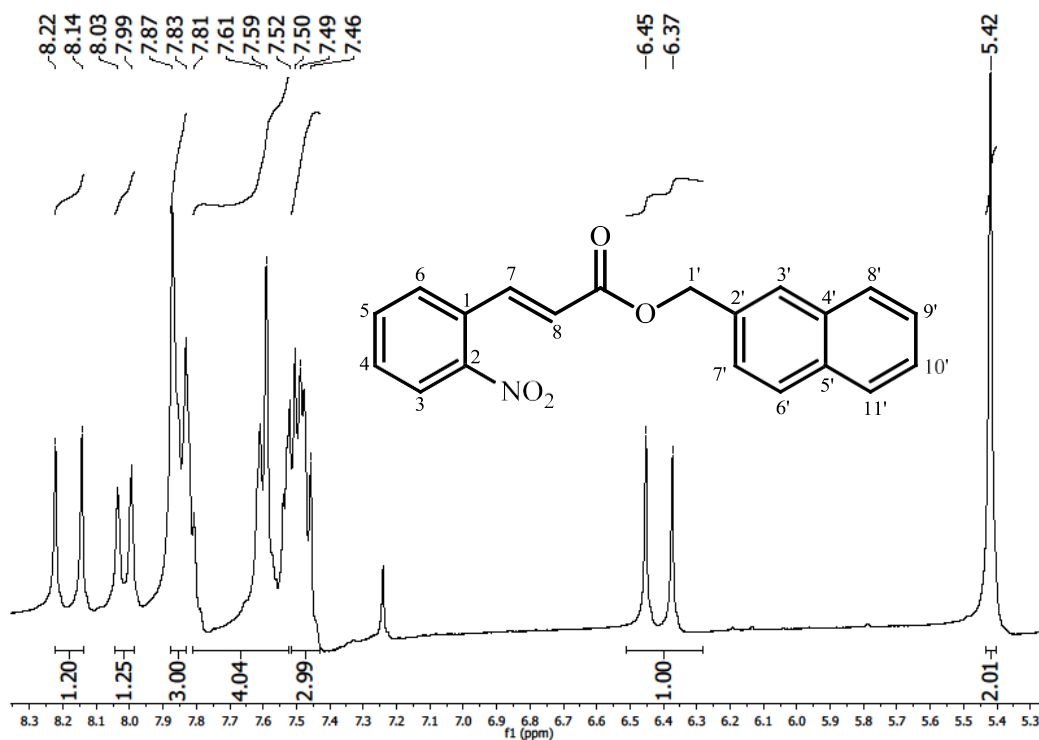
Obteve-se um sólido amarelado, 43 mg (0,129 mmol) com rendimento 25,0% e P.F.: 83-110°C, IV  $\nu_{\text{max}}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3057 (C-H  $\text{sp}^2$ ), 2959 (C-H  $\text{sp}^3$ ) 1707 (C=O), 1636 e 1450 (C=Caromático), 1522 e 1341 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1179 (estiramento C-O). RMN <sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 8,18 (d,  $J$  = 15,8 Hz, 1H, H-7), 8,00 (d,  $J$  = 8,0 Hz, 1H, H-3), 7,88 -7,80 (m, 3H, H-4, H-5, H-6), 7,82-7,58 (m, 4H, H-8', H-9', H- 10', H-11'), 7,51-7,45 (m, 3H, H-3', H- 6', H-7'), 6,41 (d,  $J$  = 15,8 Hz, 1H, H-8), 5,42 (s, 2H, H-1'). RMN <sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 165,6 (C=O), 148,2 (C-2), 140,2 (C-7), 133,5 (C-5), 133,1 (C-2', C-4', C-5'), 130,4(C-1), 130,3 (C-4), 129,1 (C-6), 128,4 (C-7'), 128,0 (C-8', C-11'), 127,7 (C-6'), 127,4 (C-3'), 126,3 (C-9'), 125,8(C-10'), 124,8 (C-3), 122, 8 (C-8), 66,8 (C-1').(DANDAPANI E CURRAN, 2004).



**Espectro 57.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL13**).



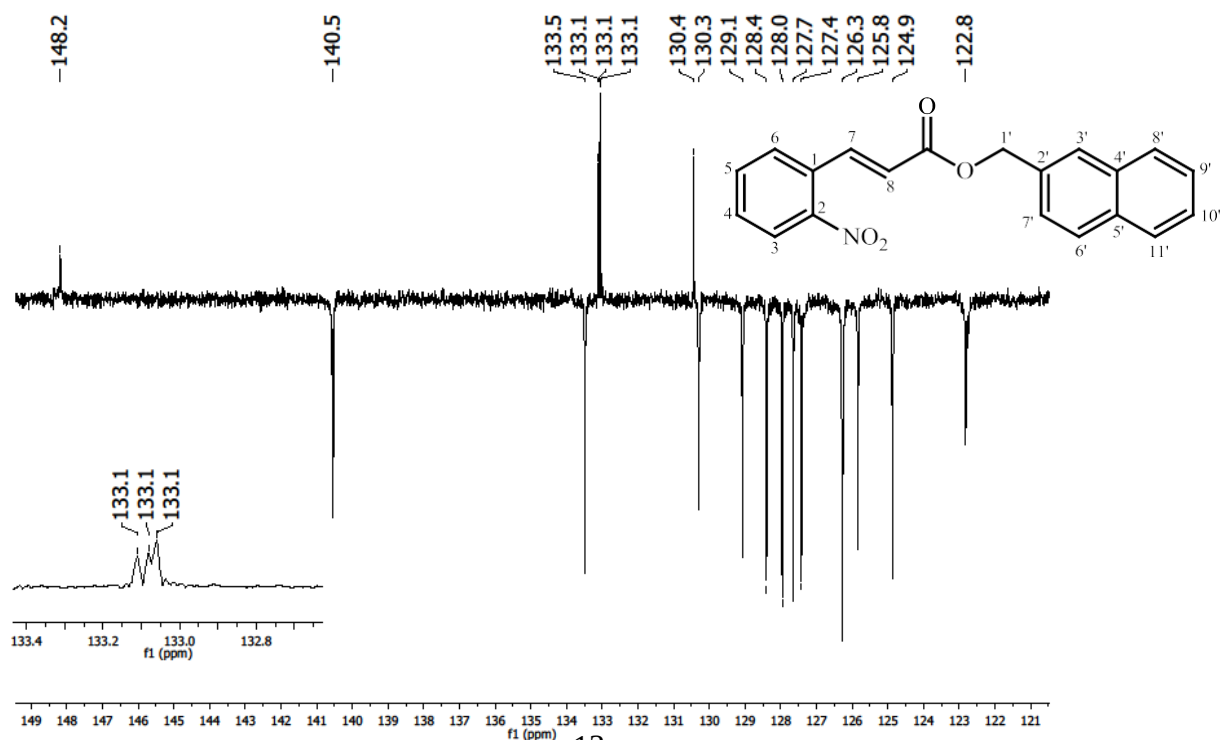
**Espectro 58.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13)(200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



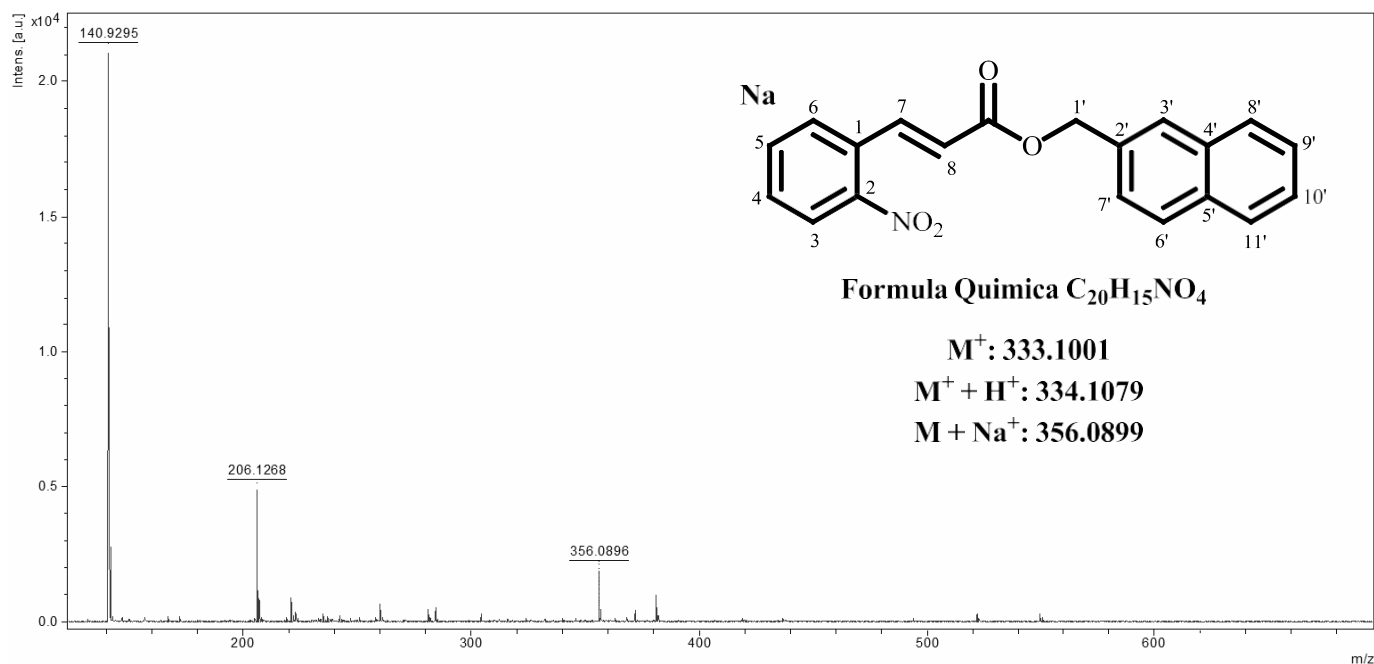
**Espectro 59.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (*E*)-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (EL13) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 60.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL13**) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



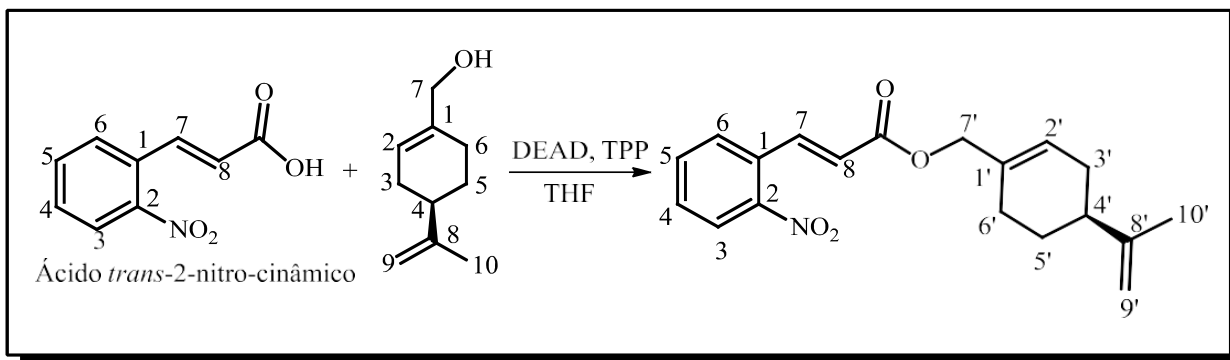
**Espectro 61.** Expansão do espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (*E*)-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL13**) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 62.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (*E*)-2-naftalen-2-ilmetil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL13**).

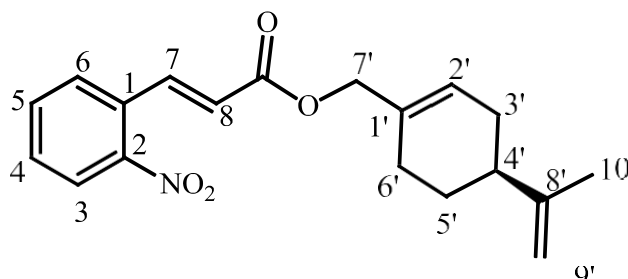


### 8.3. Preparação do éster EL14



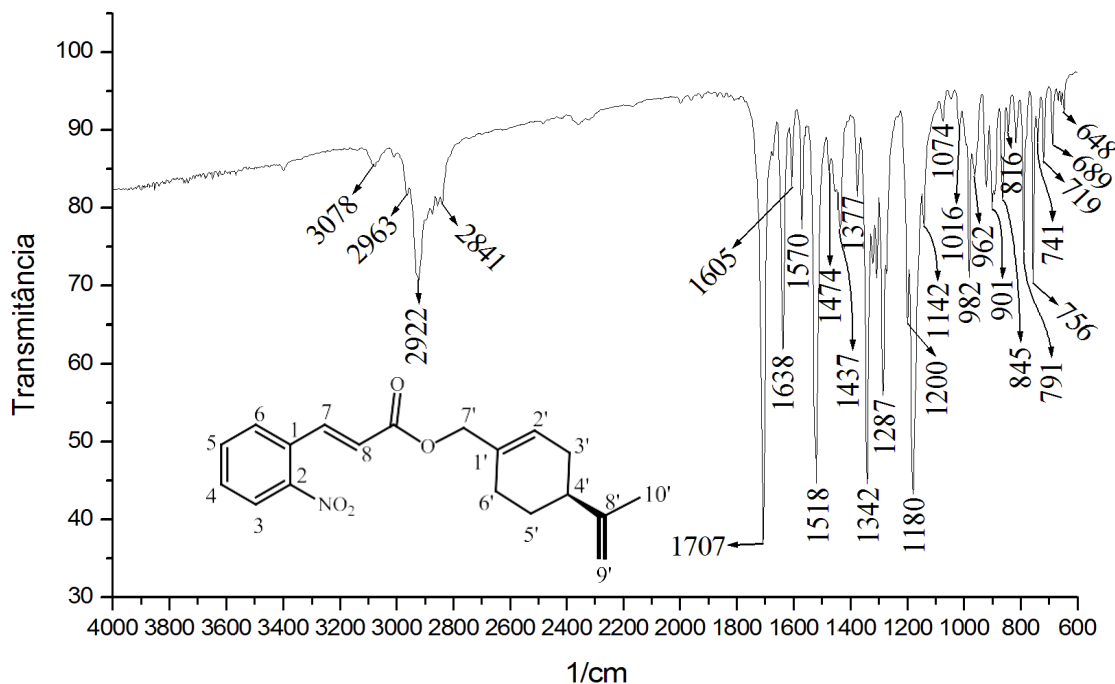
Em um balão de 50 mL equipado com uma barra magnética e tampado com um septo de borracha adicionou-se 0,1 g (0,52 mmol) do ácido *trans*-2-nitro-cinâmico e 0,082 mL (0,52 mmol) do álcool perílico, em 1,73 mL de THF. A reação foi realizada a uma temperatura de 0°C por 30 minutos sob agitação magnética. Em seguida, adicionou-se 0,14g (0,52 mmol) de TPP e 0,1 mL (0,52 mmol) DEAD. Deixou-se 5 minutos sob agitação a 0 °C, e 48h à temperatura ambiente. Ao final da reação, evaporou-se parcialmente o solvente em evaporador rotativo, sendo em seguida feita a extração com 3 x 15 mL de acetato de etila e água destilada, separou-se a fase orgânica, e lavou-se a fase aquosa 3 x 15mL com acetato de etila. A fase orgânica foi reunida e lavada 3 x 15mL com solução saturada de bicarbonato de sódio. Logo após, as fases orgânicas reunidas foram lavadas com 20 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio e seca com sulfato de sódio anidro. Após a evaporação do solvente, obteve-se o produto. O produto reacional foi purificado em coluna cromatográfica de sílica gel, utilizando um sistema Hex: AcOEt (9:1) em gradiente crescente de polaridade (BATOVSKA et al.,2005).

Éster - EL14

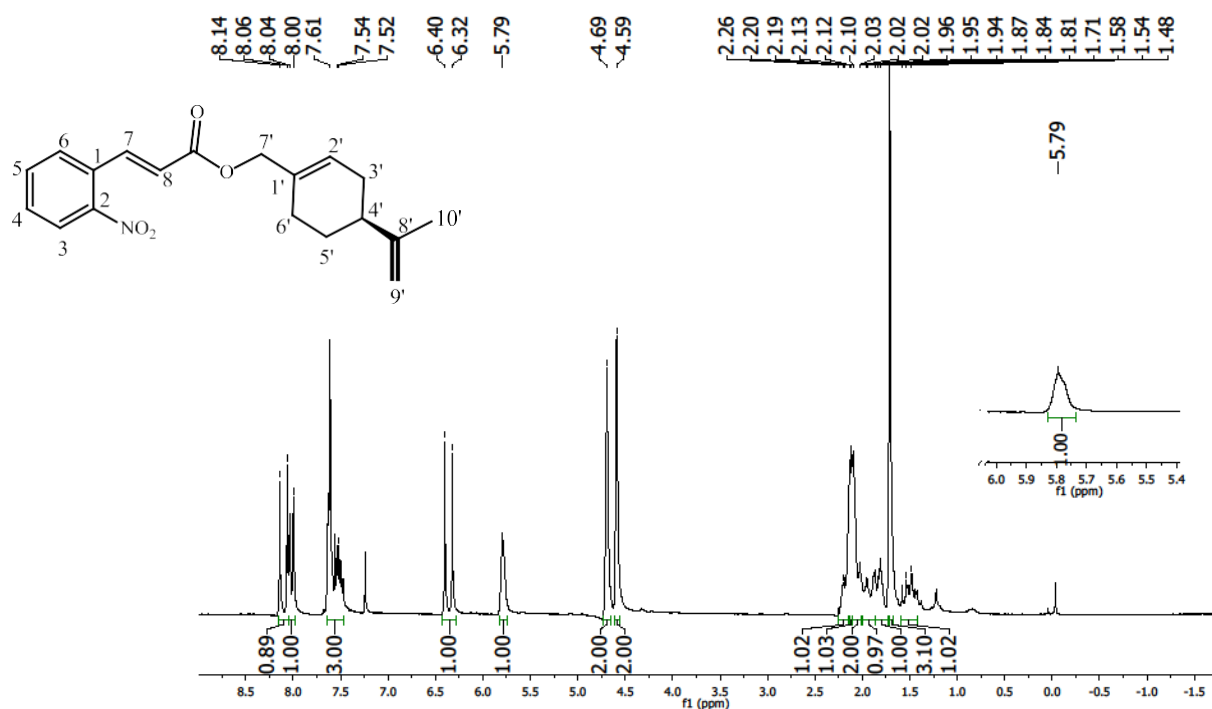


(*S,E*)-4-(prop-1-en-2-yl)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil)acrilato

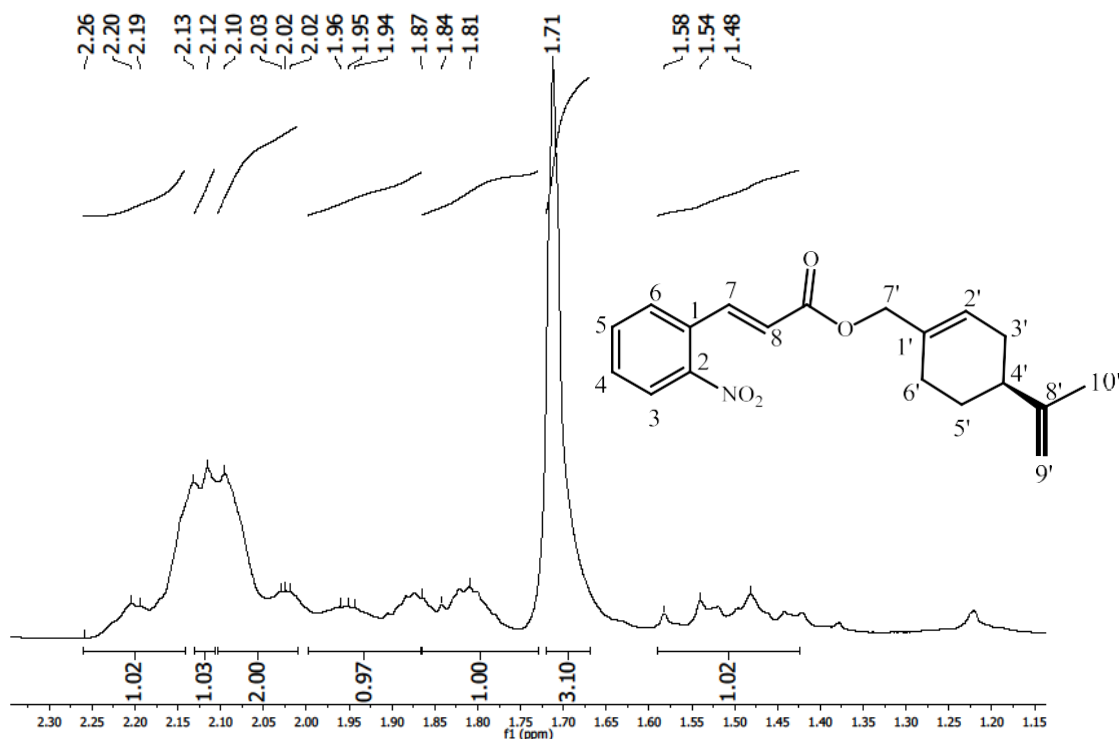
Obteve-se um sólido amarelado, 70 mg (0,214 mmol) com rendimento 41,34% e P.F.: 75-79 °C, IV  $\nu_{\max}$  (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ): 3078 (C-H  $\text{sp}^2$ ), 2922 (C-H  $\text{sp}^3$ ) 1707 (C=O), 1638 e 1437 (C=C aromático), 1518 e 1342 (estiramento C-NO<sub>2</sub>), 1180 (estiramento C-O). RMN  $^1\text{H}$  (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 8,10 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-7), 8,02 (*d*,  $J = 7,9$  Hz, 1H, H-3), 7,66-7,47 (*m*, 3H, H-4, H-5, H-6), 6,36 (*d*,  $J = 15,8$  Hz, 1H, H-8), 5,79 (*s*, 1H, H-2'), 4,69 (*s*, 2H, H-9'), 4,59 (*s*, 2H, H-7'), 2,27-2,13 (*m*, 1H, H-3'), 2,13-2,09 (*m*, 1H, H-4'), 2,04-2,01 (*m*, 2H, H-6'), 1,98-1,93 (*m*, 1H, H-3'), 1,97-1,77 (*m*, 1H, H-5'), 1,71 (*s*, 3H, H-10'), 1,59-1,45 (*m*, 1H, H-5'). RMN  $^{13}\text{C}$  (50MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 165,6 (C=O), 149,5 (C-8'), 148,2 (C-2), 140,0 (C-7), 133,5 (C-5), 132,4 (C-1'), 130,5 (C-1), 130,3 (C-4), 129,1 (C-6), 126,1 (C-2'), 124,9 (C-3), 123,1 (C-8), 108,7 (C-9'), 68,9 (C-7'), 40,7 (C-4'), 30,4 (C-3'), 27,2 (C-5'), 26,4 (C-6'), 20,7 (C-10'), (GONÇALVE E GUSEVSKAYA, 2004).



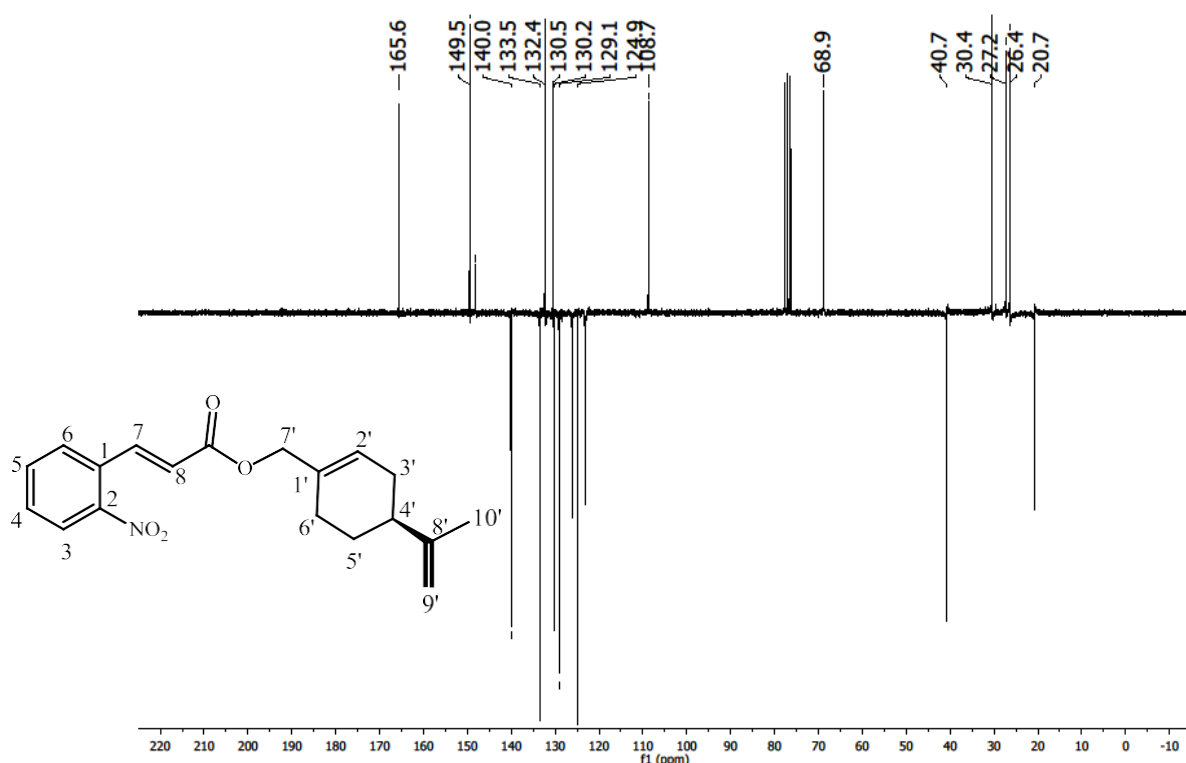
**Espectro 63.** Espectro de Infravermelho (KBr,  $\text{cm}^{-1}$ ) de (*S,E*)-4-(prop-1-en-2- il) ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil) acrilato 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL14**).



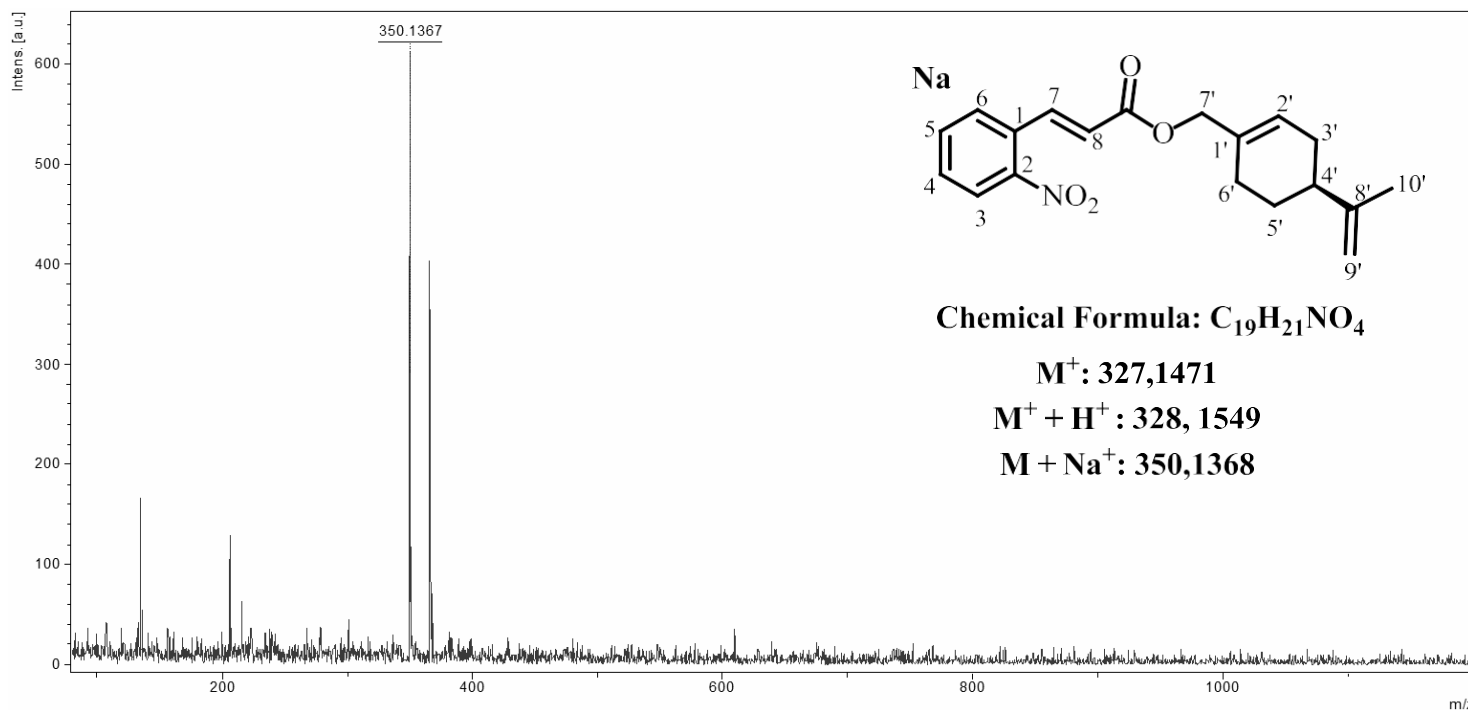
**Espectro 64.** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-yl)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil)acrilato (**EL14**) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 65.** Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-yl)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil)acrilato (**EL14**) (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 66.** Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$ -APT de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL14**) (50 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ).



**Espectro 67.** Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (S,E)-(4-(prop-1-en-2-il)ciclohex-1-en-1-il)metil 3-(2-nitrofenil) acrilato (**EL14**).

**9. REFERÊNCIAS**

- ALVES, M. J.; FERREIRA, I. C.; FROUFE, H. J.; ABREU, R. M.; MARTINS, A.; PINTADO, M. Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *J. Appl. Microbiol.* **2013**, v. 115: 346-357.
- ANSTEAD, G. M.; CADENA, J.; JAVERI, H. Treatment of infections due to resistant *Staphylococcus aureus*. *Methods Mol Biol.* **2014**, v. 10(85): pp. 259-309.
- BALTAS, P. M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents Review. *Curr. Med. Chem.* **2011**, v. 18: pp. 1672-1703
- BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. *Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis.* **2010**, v. 22(1), pp. 22-38.
- BATOVSKA, D. I.; KISHIMOTO, T.; BANKOV, V. S.; KAMENARSKA, Z. G.; UBUKATA, M. Synthesis of Some Phenylpropanoid Monoglycerides via the Mitsunobu Protocol. *Molecules.* **2005**, v. 10: pp. 552-558.
- BERGOLD, A. M.; GEORGIADIS, S. Novidades em fármacos antifúngicos: uma revisão. *Visão Acadêmica.* **2004**, v. 5(2): pp. 159-172.
- BEZERRA, D. P.; MILITAO, G. C.; DE CASTRO, F. O.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A.; ELMIRO, F. J.; COSTA-LOTUFO, L. V. Pi- plartine induces inhibition of leukemia cell proliferation triggering both apoptosis and necrosis pathways. *Toxicol. In Vitro.* **2007**, v. 21: pp. 1-8.
- BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; SAKER-NETO, N.; SILVEIRA, E. R.; COSTA-LOTUFO, L. V. Overview of the therapeutic potential of piplartine (piperlongumine). *Eur. J. Pharm. Sci.* **2012**, v. 48: pp. 453-463
- BEZERRA, D. P.; PESSOA, C.; DE MORAES, M. O.; SILVEIRA, E. R.; LIMA, M. A.; ELMIRO, F. J.; COSTA-LOTUFO, L. V. Antiproliferative effects of two amides, piperine and piplartine, from *Piper* species. *Z. Naturforsch. C. Biol. Sci.* **2005**, v. 60: pp. 539-543.
- BISOGNO, F.; MASCOTI, L.; SANCHEZ, C.; GARIBOTTO, F.; GIANNINI, F.; KURINASANZ, M.; ENRIZ, R. Structure–antifungal activity relationship of cinnamic acid derivatives. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, v. 55: pp. 10635-10640.
- BUT, T. Y. S.; TOY, P. H. The Mitsunobu Reaction: Origin, Mechanism, Improvements, and Applications, *Chem. Asian J.* **2007**, v. 2: pp. 1340-1355.
- CASTELLI, M. V.; BUTASSI, E.; MONTEIRO, M. C.; SVETAZ, L. A.; VICENTE, F.; ZACCHINO, S. A. Novel antifungal agents: A patent review (2011-present). *Expert Opin Ther Pat.* **2014**, v. 24: pp. 323-38.
- CASTELLI, M. V.; BUTASSI, E.; MONTEIRO, M. C.; SVETAZ, L. A.; VICENTE, F.; ZACCHINO, S. A. Novel antifungal agents: A patent review (2011-present). *Expert Opin Ther Pat.* **2014**, v. 24: pp. 323-38.

CHANDRASEKAR, P. Management of invasive fungal infections: A role for polyenes. *J. Antimicrob. Chemother.* **2011**, v. 66: pp. 457-65.

CHANG, S. T.; CHEN, P. F.; CHANG, S. C. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J. Ethnopharmacol.* **2001**, v. 77: pp. 123-127.

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

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, v.79: pp. 362-372.

COLOMBO, A. L.; GUIMARÃES, T.; SILVA, L. R. B. F.; MONFARDINI L, P. D.A.; CUNHA, A. K. B.; RADY, P. et al. Prospective observational study of Candidemia in São Paulo, Brazil: Incidence rate, epidemiology, and predictors of mortality. *Infect Control Hosp Epidemiol.* **2007**, v. 28: pp. 570-6.

CRAIG, P. N. Interdependence between physical parameters and selection of substituent groups for correlation studie. *J. Med. Chem.* **1971**, v. 14: pp. 680-684.

(a) CRICH,D.;DYKER,H.;HARRIS,R.J.*J.Org.Chem.***1989**,v.54:pp.257-259.

(b) GUTHRIE, R. D.; JENKINS, I. D. *Aust. J. Chem.* **1982**, v. 35: pp. 767-774. (c) BRUNN, E.; HUISGEN, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1969**, v. 8: pp. 513-515; *An- gew. Chem.* **1969**, v. 81: pp.534-536.

Da Cunha F.M.; Duma, D.; Assreuy, J.; Buzzi, F.C.; Niero, R.; Campos, M. M.; Ca- lixto, J. B. Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. *Free Radic. Res.* **2004**, v. 38(11): pp. 1241-1253.

DANDAPANI, S.; CURRAN, D. P. Second Generation Fluorous DEAD Reagents Have Expanded Scope in the Mitsunobu Reaction and Retain Convenient Separation Features. *J. Org. Chem.* **2004**, v. 69(25): pp. 8751-8757

DARWISH, F. M.; REINECKE, M. G. Ecdysteroids and other constituents from *Sida spinosa* L. *Phytochemistry.* **2003**, v. 62(8): pp. 1179-1184.

DAS, S.; LINDEMANN, C.; YOUNG, B. C.; MULLER, J.; OESTERREICH, B.; TERNETTE, N.; WINKLER, A.; PAPROTKA, K.; REINHARDT, R.; FOERST- NER,K. U.; ALLEN, E.; FLAXMAN, A.; YAMAGUCHI, Y.; ROLLIER, C. S.; VAN DIEMEN, P.; BLAETTNER, S.; REMMELE, C. W.; SELLE, M.; DITTRICH, M.; MUELLER, T.; VOGEL, J.; OHLSEN, K.; CROOK, D. W.; MASSEY, R.; WILSON, D. J.; RUDEL, T.; WYLLIE, D. H.; FRAUNHOLZ, M. J. Natural mutations in a *Staph-ylococcus aureus* virulence regulator attenuate cytotoxicity but permit bacteremia and abscess formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, **2016**.

DE CAMPOS BUZZI, F.; FRANZOI C. L.; ANTONINI, G.; FRACASSO, M.; FILHO, V. C.; YUNES, R. A.; NIERO, R. Antinociceptive properties of caffeic acid derivatives in mice.*Eur J Med Chem.***2009**, v. 44: pp. 4596-4602.

DE SOUSA, D. P. Medicinal Essential Oils: Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspects. 1. ed. New York: Nova Science Publishers. **2012**, v. 1: p. 236.

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents a review. *Curr. Med. Chem.* **2011**, v. 18: pp. 1672-1703.

DE, P.; VEAU, D.; BEDOS-BELVAL, F.; CHASSAING, S.; BALTAS, M. Cinnamic derivatives in tuberculosis. In *Understanding Tuberculosis-New Approaches to Fighting against Drug Resistance*; Cardona, P.-J., Ed.; In Tech Publishing: Rijeka, Croatia. **2012**; Chapter 15.

DEKA, D. C.; PAUL, M. Indirect olefination of *o*-aminobenzaldehyde. *J. Chem. Res.* **2006**, v. 2: pp. 102-103.

DENNING, D. W. Echinocandin antifungal drugs. *Lancet.* **2003**, v. 362: pp. 1142-51.

EGGIMANN, P.; GARBINO, J.; PITTET, D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis.* **2003**, v. 3: pp. 685- 702.

ERNAWATI, T.; KHOIRUNNI'MAH, Z. synthesis methyl nitrophenyl acrylate and cytotoxic activity test against p388 leukemia cells, *Indones. J. Chem.* **2015**, v. 15(1): pp. 70-76.

FILHO, R. B.; DE SOUZA, M. P.; MATTOS, M. E. O. Piplartine dimer A, a new alkaloid from *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry. Molecules.* **1981**, v. 20: pp. 345-346.

FINAN, J. E.; ROSATO, A. E.; DICKINSON, T. M.; KO, D.; GORDON, L. A. Conversion of oxacillin resistant Staphylococci from heterotypic to homotypic resistance expression. *Antimicrob Agent Chemoth.* **2001**, v. 46(1): pp. 24-30.

GERSHON, H.; MCNEIL, M. W.; PARMEGIANI, R.; GODFREY, P. K. Antifungal Activity of Substituted Nitrobenzenes and Anilines. *Applied Microbiology*, **1971**, pp. 438-440.

GONÇALVES, J. A.; GUSEVSKA, E. V. Palladium catalyzed oxidation of monoterpenes: multistep electron transfer catalytic systems Pd(OAc)<sub>2</sub>/ benzoquinone/M(OAc)<sub>2</sub> (M = Cu, Co or Mn) for the allylic oxidation of limonene with dioxygen. **2004**, v. 258(1): pp. 93-98

GRICE, E. A.; SEGRE, J. A. The skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* **2011**, v. 9(4): pp. 244-253.

GUDLAUGSSON, O.; GILLESPIE, S.; LEE, K.; VANDE; BERG, J.; HU, J.; MESSER, S. et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin. Infect. Dis.* **2003**, v. 37(9): pp. 1172-1177.

GUZMAN, J. D. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. *Molecules.* **2014**, v. 19: pp. 19292-19349.

HANAWA, F.; TAHARA, S.; TOWERS, G. H. Antifungal nitro compounds from skunk cabbage (*Lysichitum americanum*) leaves treated with cupric chloride. *Phytochemistry.* **2000**, v. 53(1): pp.55-8

HANSCH, C.; LEO, A. Exploring QSAR: fundamentals and applications in chemistry and biology. ACS: Washington, **1995**

HANSCH, C.; LEO, A.; HOEKMAN, D. Exploring QSAR: hydrophobic, electronic and steric constants. ACS: Washington, **1995**.

HANSCH, C.; SAMMES, P. G.; TAYLOR, J. B. Comprehensive medicinal chemistry: the rational design, mechanistic study & therapeutic application of chemical compounds. Pergamon Press: Oxford, **1990**, v. 4.

HASHIGUCHI, T.; ITOYAMA, T.; KODAMA, A.; UCHIDA, K.; YAMAGUCHI, H. *Arzneim-Forsch/Drug Res.* **1997**, v. 47: pp. 1218-1221.

HEERES, J.; MEERPOEL, L.; LEWI, P. Conazoles. *Molecules.* **2010**, v. 15: pp. 4129- 4188.

HORN, D. L.; FISHMAN, J. A.; STEINBACH, W. J.; ANAÏSSIE, E. J.; MARR, K. A.; OLYAEI, A. J. et al. Presentation of the PATH alliance registry for prospective data collection and analysis of the epidemiology, therapy, and outcomes of invasive fungal infections. *Diagn Microbiol Infect Dis.* **2007**, v. 59: pp. 407-14.

HOSKINS, J. A. The occurrence, metabolism and toxicity of cinnamic acid and related compounds *J. Appl. Toxicol.* 1984, v. 4(6): pp. 283-292.

Hyun, M. W.; Yun, Y. H.; Kim, J. Y.; Kim, S. H. Fungal and plant phenylalanine ammonia-lyase. *Mycobiology.* **2011**, v. 39: pp. 257-65.

JORDAN, I.; HERNANDEZ, L.; BALAGUER M, CASTILLA, J. D. L.; CASANUEVA, L.; SHUFFELMAN, C. et al. *C. albicans*, *C. parapsilosis* and *C. tropicalis* invasive infections in the PICU: Clinical features, prognosis and mortality. *Rev. Esp. Quimioter.* **2014**, v. 27: pp. 56-62.

KABIR, M. A.; HUSSAIN, M. A.; AHMAD, Z. *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *International Scholarly Research Network.* **2012**, ID 538694. pp. 1-15.

KHAN, A.; AHMAD, A.; AKHTAR, F.; YOUSUF, S.; XESS, I.; KHAN, L. A. et al. *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res. Microb.* **2010**, v. 161: pp. 816-23.

KIM, K. D.; SONG, M. H.; YUM, E. K.; JEON, O. S.; JU, Y. W.; SIKCHANG, M. Melanogenesis Inhibition by Mono-hydroxycinnamic Ester Derivatives in B16 Melanoma Cells. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2010**, v. 31(1): pp. 181-184.

KLOOS, W. E.; MUSSELWHITE, M. S. Distribution and persistence of Staphylococcus and Micrococcus species and bacteria on human skin. *Appl Microbiol.* **1975**, v. 30(3): pp. 381-385.

KLOOS, W.; SCHLEIFER, K. H. Staphylococcus. In: Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (eds) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore. **1986**.

KONTOYIANNIS, D. P.; VAZIRI, I.; HANNA, H. A.; BOKTOUR, M.; THORNBY, J.; HACHEM R. et al. Risk Factors for *Candida tropicalis* fungemia in patients with cancer. *Clin. Infect. Dis.* **2001**, 33: pp. 1676-81



KOO, H.; GOMES, B. P. F. A.; ROSALEN, P. L.; AMBROSANO, G. M. B.; PARK, Y. K.; CURY, J. A. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and *Arnica Montana* against oral pathogens. *Arch. Oral Biol.* **2000**, v. 45: pp. 141-148.

KOROŠEC, B.; SOVA, M.; TURK, S.; KRAŠEVEC, N.; NOVAK, M.; LAH, L.; STOJAN, J.; PODOBNIK, B.; BERNE, S.; ZUPANEC, N. Antifungal activity of cinnamic acid derivatives involves inhibition of benzoate 4-hydroxylase (CYP53). *J. Appl. Microbiol.* **2014**, v. 116: pp. 955-966.

KROON, P. A.; WILLIAMSON, G. Hydroxycinnamates in plants and food: current and future perspectives. *J. Sci. Food Agric.* **1999**, v. 79: pp. 355-361.

KUBINYI, H. QSAR: Hansch analysis and related approaches. VCH: New York, **1993**.

KUBINYI, H. Quantitative structure-activity relations. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character. *J. Med. Chem.* **1977**, v. 20(5): pp. 625-629.

KUBINYI, H. Strategies and recent technologies in drug discovery. *Pharmazie*, **1995**, v. 50(10): pp. 647-662.

KučÂ, J. Compounds accumulating in plants after infection. *Microbial Toxins*. 1972, v. 8 (pp. 211±247). New York: Academic Press. Liang, H. R., Vuorela, P., Vuorela, H., & Hiltunen, R. (1997).

LAFAY, S.; GIL-IZQUIERDO, A. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochem Rev.* **2008**, v. 7: pp. 301-311.

LAPEYRE, C.; DELOMENÈDE, M.; BEDOS-BELVAL, F.; DURAN, H.; NÈGRE-SALVAYRE, A.; BALTAS, M. Design, synthesis, and evaluation of pharmacological properties of cinnamic derivatives as antiatherogenic agents. *J. Med. Chem.* **2005**, v. 48: pp. 8115-8124.

LEO, A. J. "Methods of calculating partition coefficients", in C. Hansch, P. G. SAMMES, J. B. T. *Comprehensive Medicinal Chemistry: The Rational Design, Mechanistic Study and Therapeutic Application of Chemical Compounds*. Pergamon Press, Oxford - v. 4. Cap - 18.7. **1990**.

LI, W.; LI, N.; TANG, Y.; LI, B.; LIU, L.; ZHANG, X.; FU, H.; DUAN, J. Biological activity evaluation and structure-activity relationships Analysis of ferulic acid and caffeic acid derivatives for anticancer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, v. 22: pp. 6085-6088.

LICHTENTHALER, H. K.; SCHWEIGER, J. Cell wall bound ferulic acid, the major substance of the blue-green fluorescence emission of plants. *J. Plant Physiol.* **1998**, v. 152: pp. 272-282.

LLOYD-WILLIAMS, P.; ALBERICIO, F.; GIRALT, E. *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptide and Proteins*. CRC Press, Boca Raton. **1997**. ISBN 9780849391422.

MAGENS, S.; PLIETKER, B. Nucleophilic Iron Catalysis in Transesterifications: Scope and Limitations. *J. Org. Chem.* **2010**, v. 75(11): pp. 3715-3721

MARTIN-TANGUY, J.; CABANNE, F.; PERDRIZET, E.; MARTIN, C. The distribution of hydroxycinnamic acid amides in flowering plants. *Phytochemistry* **1978**, v. 17: pp. 1927-928.

MOHAMMADZADEH, S.; SHARIATPANAH, M.; HAMED, M.; AHMAD KHANIHA, R.; SAMADI, N.; OSTAD, S.N. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chem.* **2007**, v. 103: pp. 1097-1103.

MORRISON, D. C. Reactions of Alkyl Phosphites with Diethyl Azodicarboxylate. *J. Org. Chem.* **1958**, v. 23(7): pp. 1072-1074.

MUSKAWARA, P. N.; THENMOZHIB, K.; GAJBHIYEC J. M.; BHAGATA, P. R. Facile esterification of carboxylic acid using amide functionalized benzimidazolium dicationic ionic liquids. *Applied Catalysis A: General.* **2014**, v. 482: pp. 214-220.

NARASIMHAN, B.; BELSARE, D.; PHARANDE, D.; MOURYA, V.; DHAKE, A. Esters, amides and substituted derivatives of cinnamic acid: Synthesis, antimicrobial activity and QSAR investigations. *Eur. J. Med. Chem.* **2004**, v. 39: pp. 827-834.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing; Twelfth informational supplement M100-512. **2002**, vol. 22, nº 01 - NCCLS.

NEOH, C. F.; SLAVIN, M.; CHEN, S. C. A.; STEWART, K. KONG, D. C. M. Echinocandins in the treatment of candidaemia and invasive candidiasis: Clinical and economic perspectives. *Int. J. Antimicrob Agents.* **2014**, v. 43: pp. 207-14.

ODDS, F. C.; BROWN, A. J.; GOW, N. A. Antifungal agents: Mechanisms of action. *Trends Microbiol.* **2003**, v. 11: pp. 272-9.

OLASUPO, N. A.; FITZGERALD, D. J.; GASSON, M. J.; NARBAD, A. Activity of natural antimicrobial compounds against *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Lett. Appl. Microbiol.* **2003**, v. 37: pp. 448-451.

PALOMBO, E. A.; SEMPLÉ, S. J. Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and Vancomycin-resistant enterococci (VRE). *J. Basic Microbiol.* **2002**, v. 42: pp. 444-448.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos mecânicos da bioatividade e toxicidade de nitrocompostos. *Química Nova*, **2009**, v. 32(4): pp. 1013-1020.

PERLROTH, J.; CHOI, B.; SPELLBERG, B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Med. Mycol.* **2007**, v. 45: pp. 321-346.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin. Microbiol. Rev.* **2007**, v. 20(1): pp. 133-163.

PRAKASH, B.; SINGH, P.; MISHRA, P. K.; DUBEY, N. K. Safety assessment of *Zanthoxylum alatum* Roxb. essential oil, its antifungal, anti-aflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. *Int. J. Food Microbiol.* **2012**, v. 53(1-2): pp. 183-91

PRASAD, V. G. N. V.; KRISHNA, B. V.; SWAMY, P. L.; RAO, T. S.; RAO, G. S. Antibacterial synergy between quercetin and polyphenolic acids against bacterial pathogens of fish. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **2014**, v. 4 (Suppl. 1), S326–S329.

RASTOGI, N.; DOMADIA, P.; SHETTY, S.; DASGUPTA, D. Screening of natural phenolic compounds for potential to inhibit bacterial cell division protein FtsZ. *Ind. J. Exp. Biol.* **2008**, v. 46: pp. 783-787.

REEVES, D. C.; RODRIGUEZ, S.; LEE, H.; HADDAD, N.; KRISHNAMURTHY D.; SENANAYAKE, C. H. Palladium Catalyzed Alkoxy- and Aminocarbonylation of Vinyl Tosylates. *Org. Lett.* **2011**, v. 13(9): pp. 2495-2497.

ROGERS, K. L.; FEY, P. D.; RUPP, M. E. Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am.* **2009**, v. 23(1): pp. 73-98.

SÁ, M. M.; BOECK, P.; DE SOUZA B. S.; CERCENÁ, R.; ESCALANTE, A. M.; ZACHINO, S. A.; FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Simple Synthesis of Kaurenoic Esters and other Derivatives and Evaluation of their Antifungal Activity. *J. Braz. Chem. Soc.* **2005**, v. 16(6B): pp. 1360-1366

SAHOO, S.; SINGH, S.; NAYAK, S. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of essential oil and extract of *alpinia malaccensis* roscoe (zingiberaceae). *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **2014**, v. 6:(7); pp. 183-188.

SCHMIDT, E.; BAIL, S.; FRIEDL, S. M.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; WANNER, J.; DENKOVA, Z.; SLAVCHEV, A.; STOYANOVA, A.; GEISLER, M. Antimicrobial activities of single aroma compounds. *Nat. Prod. Commun.* **2010**, v. 5: pp. 1365-1368.

SCHMIDT, E.; BAIL, S.; FRIEDL, S. M.; JIROVETZ, L.; BUCHBAUER, G.; WANNER, J.; DENKOVA, Z.; SLAVCHEV, A.; STOYANOVA, A.; GEISLER, M. Antimicrobial activities of single aroma compounds. *Nat. Prod. Commun.* **2010**, v. 5: pp. 1365-1368.

SHARMA P. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *J. Chem. Pharm. Res.* 2011, v. 3(2): pp. 403-423.

SHARMA, P. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. *J. Chem. Pharm. Res.* **2011**, v. 3: pp. 403-423.

SIDRIM, J. J. C.; ROCHA, M. F. G. Micologia Médica à Luz de Autores Contemporâneos. Guanabara. **2004**, ed. 1, p. 265-274.

SIMONYAN, A. Activity of cinnamic acid derivatives and new methods for their synthesis (review). *Pharm. Chem. J.* **1993**, v. 27: pp. 92-100.

SOLECKA, D. Role of phenylpropanoid compounds in plant responses to different stress factors. *Acta. Physiol. Plant.* **1997**, v. 19: pp. 257-268.

SOLOMONS, T. W. GRAHAM. Química orgânica - vol. 2 - 10<sup>a</sup> ed. **2012** ISBN: 9788521620334.

SOUSA, L. U.; MIELKE, T. P.; HOMER, R.; RODRIGUES, M. A.; SANTOS, S. O.; SALLA, A. Avaliação de metodologias para a detecção de cepas de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e análise do perfil de sensibilidade frente aos antimicrobianos em um hospital terciário. *Rev. Saúde*. **2011**, v. 37(1): pp. 23-30.

SOVA, M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini Rev. Med. Chem.* **2012**, v. 12: pp. 749-767.

STEPANOVIĆ, S.; ANTIĆ, N.; DAKIĆ, I.; ŠVABIĆ-VLAHOVIĆ, M. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol. Res.* **2003**, v. 158: pp. 353-357.

TAVARES, L. C. QSAR: a abordagem de Hansch. *Quim. Nova*. **2004**, v. 27(4): pp. 631-639.

TAWATA, S.; TAIRA, S.; KOBAMOTO, N.; ZHU, J.; ISHIHARA, M.; TOYAMA, S. Synthesis and antifungal activity of cinnamic acid esters. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **1996**, v. 60: pp. 909-910.

TEBBETS, B.; STEWART, D.; LAWRY, S.; NETT, J.; NANTEL, A. et al. Identification and Characterization of Antifungal Compounds Using a *Saccharomyces cerevisiae* Reporter Bioassay. *PLoS ONE*. **2012**, v. 7(5): e36021. doi:10.1371/journal.pone.0036021.

TEVYASHOVA, A. N.; OLSUFYEVA, E. N.; SOLOVIEVA, S. E.; PRINTSEVSKAYA, S. S.; REZNIKOVA, M. I.; TRENIN, A. S.; GALATENKO, O. A.; TRESHALIN, I. D.; PEREVERZEVA, E. R.; MIRCHINK, E. P.; ISAKOVA, E. B.; ZOTCHEV, S. B.; PREOBRAZHENSKAYA, M. N. Structure-antifungal activity relationships of polyene antibiotics of the amphotericin B group. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, v. 57(8): pp. 3815-22.

URQUIAGA, I.; LEIGHTON, F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res.* **2000**, v. 33(2): pp. 55-64.

VAN, H. S. J.; JENSEN, S. O.; VASKA, V. L.; ESPEDIDO, B. A.; PATERSON D. L.; GOSBELL, I. B. Predictors of mortality in *Staphylococcus aureus* Bacteremia. *Clin. Microbiol. Rev.* **2012**, v. 25(2): pp. 362-86.

VARASI, M.; WALKER, K. A. M.; MADDIX, M. L. A revised mechanism for the Mitsunobu reaction. *J. Org. Chem.* **1987**, v. 52(19): pp. 4235-4238.

VERVERIDIS, F.; TRANTAS, E.; DOUGLAS, C.; VOLLMER, G.; KRETZSCHMAR, G.; PANOPOULOS, N. Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *J. Biotech.* **2007**, v. 2: pp. 1214-1234

VOGT, T. Phenylpropanoid biosynthesis. *Mol. Plant.* **2010**, v. 3, pp. 2-20.

WAHBI, Y.; TOURNARIE, C.; CAUJOLLE, R.; PAYARD, M.; LINAS, M. D.; EGULA, J. P. Aliphatic ethers and esters of 1-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-2-yl) ethanol: study of antifungal activity against yeasts and hydrophobic character. *Eur. J. Med. Chem.* **1994**, v. 29: pp. 701-706

(a) WATANABE, T.; GRIDNEV, I. D.; IMAMOTO, T. *Chirality*. **2000**, v. 12: 346-351. (b) HUGHES, D. L.; REAMER, R. A.; BERGAN, J. J.; GRABOWSKI, E. J. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, v. 110: pp. 6487-6491.

WEINTROB, A.; BEBU, I.; AGAN, B.; DIEM, A.; JOHNSON, E.; LALANI, T. et al. Randomized, double blind, placebo-controlled study on decolonization procedures for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among HIV-infected adults. *PLoS One*. **2015**, v. 10(5): e0128071.

WEN, A.; DELAQUIS, P.; STANICH, K.; TOIVONEN, P. Antilisterial activity of selected phenolic acids. *Food Microbiol.* **2003**, v. 20: pp. 305-311.

WIESNER, J.; MITSCH, A.; WIßNER, P.; JOMAA, H.; SCHLITZER, M. Structure–activity relationships of novel anti-malarial agents. Part 2: Cinnamic acid derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2001**, v. 11: pp. 423-424.

WILENSKY, A. J.; OJEMANN, L. M.; FRIEL, P. N.; ALMES, M. J.; LEVY, R. H.; DODRILL, C. B. Cinromide in epilepsy: A pilot study. *Epilepsia*. **1983**, v. 24: pp. 401- 409.

WILSON, S. R.; PEREZ, J.; PASTERNAK, A. ESI-MS detection of ionic intermediates in phosphine-mediated reactions. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, v. 115(5): pp. 1994-1997.

XU, Z.; ZHANG, D.; HU, J.; ZHOU, X.; YE, X.; REICHEL, K.; STEWART, N.; SYRENNE, R.; YANG, X.; GAO, P. ET AL. Comparative genome analysis of lignin biosynthesis gene families across the plant kingdom. *BMC. Bioinform.* **2009**, v. 10: S3.

YADAV, G. D.; KRISHNAN, M. S. An Ecofriendly Catalytic Route for the Preparation of Perfumery Grade Methyl Anthranilate from Anthranilic Acid and Methanol. *Organic Process Research & Development*. **1998**, v. 2: pp. 86-95.

ZAOUTIS, T. E.; ARGON, J.; CHU, J.; BERLIN, J. A.; WALSH T. J.; FEUDTNER, C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin. Infect. Dis.* **2005**. **V.** 41: pp. 1232e1239.

ZHANG, B.; CHAO, L. V.; LI, W.; CUI, Z.; CHEN, D.; CAO, F.; MIAO, F.; ZHOU, L. Ethyl Cinnamate Derivatives as Promising High-Efficient Acaricides against *Psoroptes cuniculi*: Synthesis, Bioactivity and Structure-Activity Relationship. *Chem. Pharm. Bull.* **2015**, v. 63: pp. 255-262.

ZHANG, J.; YANG, J.; CHANG, X.; ZHANG, C.; ZHOU, H.; LIU, M. Ozagrel for acute ischemic stroke: A meta-analysis of data from randomized controlled trials. *Neurol. Res.* **2012**, v. 34: pp. 346-353.

ZHANG, S. In: SATYANARAYANAJAIS S. D. editor. Drug design and discovery. Humana Press. **2011**. pp. 23-38.

SANTOS, N. Q.; A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar bacterial resistance in the context of hospital infection la resistencia bacteriana en el contexto de la infección hospitalaria. *Texto Contexto Enferm.* **2004**; v. 13: pp. 64-70.