



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO E
AVALIAÇÃO DAS SUAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS**

MARIANNA OLIVEIRA DE ARAÚJO

João Pessoa

UFPB-2017

MARIANNA OLIVEIRA DE ARAÚJO

**PREPARAÇÃO DE DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO E
AVALIAÇÃO DAS SUAS ATIVIDADES ANTIMICROBIANAS**

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 Mestra em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, área de Concentração: Farmacoquímica.

Orientador: Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa

João Pessoa

UFPB-2017

A663p Araújo, Marianna Oliveira de.
Preparação de derivados do ácido caféico e avaliação das
suas atividades antimicrobianas / Marianna Oliveira de Araújo.
- João Pessoa, 2017.
177 f.: il. -

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

1. Produtos naturais. 2. Ésteres. 3. Derivados caféicos.
4. Antifúngico. 5. Antibacteriano. I. Título.

UFPB/BC

CDU: 547.9(043)



PgPNSB

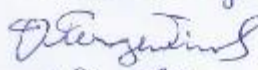
Pós Graduação em Produtos Naturais
e Sintéticos Bioativos

Ata da 370ª (trecentésima septuagésima) Dissertação de Mestrado da aluna do Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos **Marianna Oliveira de Araújo**, candidata ao Título de "Mestre" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica.

Às nove horas (09h00) 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 a aluna **Marianna Oliveira de Araújo**, candidata ao Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos na área de Farmacoquímica. Foram componentes da Banca Examinadora os doutores Luciana Scotti, Ph.D em Cosmetologia e Modelagem Molecular, Emídio Vasconcelos Leitão da Cunha, Ph.D em Ciências Farmacêuticas e Damião Pergentino de Sousa, Ph.D em Ciências. Sendo todos integrantes do corpo de pesquisadores da Universidade Federal da Paraíba. Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, professor Damião Pergentino de Sousa, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata **Marianna Oliveira de Araújo**, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema apresentado e intitulado "Derivados do Ácido Caféico e avaliação da atividade antimicrobiana". Após discorrer sobre o referido tema durante cerca de quarenta minutos, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Reg mental. Em seguida, passou a comissão, em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADA**. Em face da aprovação, declarou o Presidente achar-se a examinada **Marianna Oliveira de Araújo** legalmente habilitada a receber o Título de "MESTRE" em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, na Área de Farmacoquímica, cabendo a Universidade Federal da Paraíba, providências, como de direito, a expedição do Diploma que a mesma faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguieira, na qualidade de Secretária, lavrei a presente Ata que submeto a aprovação da Comissão Examinadora.

Caroline Helena Meireles de Medeiros Manguieira (Secretária) 

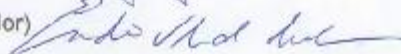
Prof. Dr. Damião Pergentino de Sousa (Orientadora)



Prof.ª Dr.ª Luciana Scotti (Examinadora)



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



Dedicatória

À Deus por nos amar incondicionalmente, aos meus pais Margareth Oliveira e Leônidas Campos por todo amor, ao meu esposo Anderson Araújo que esteve sempre me apoiando, aos meus filhos queridos João e Arthur, e a minha sogra pela ajuda essencial.

Agradecimentos

A Deus por iluminar sempre meus passos e por mim dar compreensão e esperança.

Aos meus pais Margareth e Leônidas por ter dado tanto carinho e ao mesmo não me deixa fraquejar nas horas mais difíceis. Quero agradecer por te me incentivado a estudar. Só pude chegar onde estou por me espelhar na imagem deles.

Ao meu esposo Anderson Araújo e aos meus filhos João e Arthur a quem eu amos muito e que sempre me deram incentivo moral e apoio sentimental.

A minha sogra Mauricea e ao meu sogro Antônio (*in-memorian*) por terem me aceitado como uma filha e me ajudarem em tudo que necessito.

As minhas irmãs Andressa e Sabrina pelo apoio e estímulo em busca dos meus propósitos.

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 para executar um projeto tão grandioso, o qual fiz o possível para concretizar. Espero que possamos trabalhar em outros projetos tão grandiosos como este.

Aos professores da Pós-Graduação, especialmente a Damião, Bagnólia, Fátima Vanderlei, Demetrius, Josean, Luiz César, Barbosa, por toda dedicação na minha formação como mestrandia de Farmácia, cujos ensinamentos me fizeram olhar um novo horizonte.

Aos companheiros de laboratório, especialmente Ricardo, Mayara, Lázaro, Flávio, Caroline, Anne Karine e seu esposo Silvio, Rayane e Ana Júlia que eu pude contar nas horas tristes e alegres.

As minhas amigas da Pós-Graduação, especialmente Élide por ter me incentivado a fazer o mestrado e ajuda que pode dar em minha caminhada, Denise e Daniele, as que tivemos muito momentos juntas com confiança, apoio e dedicação uma com a outra.

Aos técnicos e funcionários do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos (IPeFarM-UFPB) pela competência e apoio, pois foram fundamentais para o bom andamento deste trabalho.

À toda família do IPeFarM, onde, apesar das dificuldades, caminhei para a concretização de grandes realizações.

A todos aqueles que puderam contribuir de alguma forma com uma conversa, um conselho, uma compreensão ou um simples sorriso.

A todos vocês
Muito Obrigado!

RESUMO

ARAÚJO, Marianna Oliveira. **Preparação de derivados do ácido caféico e avaliação das suas atividades antimicrobianas.** 178 p. Dissertação (Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa – 2017

A presente dissertação apresenta os resultados obtidos do estudo de uma coleção de derivados do ácido caféico estruturalmente relacionados e sua avaliação antimicrobiana. O aumento da resistência microbiana aos fármacos, causando milhares de mortes por ano, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, motivou o desenvolvimento do presente estudo. Os ésteres derivados do ácido caféico possuem um amplo espectro de atividades farmacológicas, dentre elas, a atividade antimicrobiana. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de dezesseis ésteres derivados do ácido caféico sobre diferentes espécies de *Staphylococcus*, *Eschericia* e *Candida*. Os ésteres alquílicos e arílicos derivados do ácido caféico foram preparados através da esterificação de Fischer, reação com haletos de alquila e arila, e reação de Mitsunobu. Na caracterização dos produtos utilizou-se métodos espectroscópicos de infravermelho, ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C , bem como espectrometria de massas de alta resolução para os derivados inéditos. Todos os ésteres foram submetidos a testes antimicrobianos pelo método microdiluição em caldo, tendo como controle antimicrobiano o cloranfenil e a nistatina. Obteve-se 16 ésteres do ácido caféico, com rendimentos variando entre 11,82-93,06%, sendo 6 derivados inéditos na literatura. Seis ésteres apresentaram atividade antifúngica, enquanto todos os compostos foram bioativos no teste da atividade antibacteriana. Assim, os ésteres ME7 e ME13 demonstraram as melhores atividades antifúngicas (128 e 256 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente). Enquanto nos testes antibacterianos, os resultados foram mais sensíveis frente à cepa Gram negativa (50 a 400 $\mu\text{g/mL}$), com melhores resultados para os ésteres alquílicos ME3, ME6 e ME7, e para os arílicos ME10, ME13, ME14 e ME16. Esses resultados mostram que substituintes alquílicos de cadeia mediana e determinados grupos arílicos potencializam a atividade antimicrobiana.

Palavras-chaves: ésteres, derivados caféicos, antifúngico, antibacteriano.

ABSTRACT

ARAÚJO, Marianna Oliveira. **Preparation of caffeic acid derivatives and assessment of antimicrobial activities.** 178 p. Dissertation (Graduate Program in Natural Products and Synthetic Bioactive) – Health Sciences Center, Federal University of Paraíba, João Pessoa, 2017

The present dissertation show the results obtained from the study of a collection of structurally related caffeic acid derived and their antimicrobial evaluation. Increased microbial resistance to drugs, causing thousands of deaths per year, mainly in immunocompromised individuals, motivated the development of the present study. Esters derived from caffeic acid have a large spectrum of pharmacological activities, including antimicrobial activity. Therefore, the objective of this work was to evaluate the antimicrobial activity of sixteen esters derived from coffeic acid on different species of *Staphylococcus*, *Eschericia* and *Candida*. Alkyl and aryl esters derived from caffeic acid were prepared by Fischer esterification, reaction with alkyl and aryl halides, and Mitsunobu reaction. In the characterization of the products were used infrared spectroscopic methods, ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance, as well as high resolution mass spectrometry for the inedited derivatives. All the esters were submitted to antimicrobial tests by broth microdilution, with chloramphenyl and nystatin as antimicrobial control. 16 esters of caffeic acid were obtained in yields varying from 11.82-93.06%, 6 were inedited in the literature. Six esters presented antifungal activity, while all compounds were bioactive in the test of antibacterial activity. Thus, esters ME7 and ME13 demonstrated the best antifungal activities (128 and 256 $\mu\text{g} / \text{mL}$, respectively). While in the antibacterial tests, the results were more sensitive to the Gram negative strain (50 to 400 $\mu\text{g} / \text{mL}$), with better results for the alkyl esters ME3, ME6 and ME7, and for the aryl ME10, ME13, ME14 and ME16. These results show that middle chain alkyl substituents and certain aryl groups potentiate antimicrobial activity.

Keywords: Esters, Caffeic derivatives, Antifungal, Antibacterial.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de ácidos carboxílicos na (a) esterificação de Fischer, (b) esterificação com uso de agentes de acoplamento c) reação de Mitsunobu e (d) substituição nucleofílica SN ₂ com haletos.	14
Figura 2. Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de (e) cloretos de ácido, (f) anidridos, (g) ou por outros ésteres no processo de transesterificação.	15
Figura 3. Exemplos de drogas no mercado contendo grupo éster, ilustrando a importância desse grupo funcional na atividade biológica.	16
Figura 4 Mecanismo da reação de esterificação de Fischer	17
Figura 5. Mecanismo geral da substituição nucleofílica bimolecular	18
Figura 6. Mecanismo da reação de esterificação usando trietilamina e o haleto	19
Figura 7. Ilustração da reação de Mitsunobu	19
Figura 8. Mecanismo da reação de Mitsunobu	21
Figura 9 Ácido <i>trans</i> -3,4-dihidroxi-cinâmico.(ácido caféico)	26
Figura 10. Álcoois e haletos utilizados como reagentes na preparação dos ésteres derivados do ácido caféico.....	57
Figura 11. Ésteres alquílicos derivados do ácido caféico (ME1 – ME9) obtidos no presente trabalho.	58
Figura 12. Ésteres arílicos derivados do ácido caféico (ME10 – ME16) obtidos no presente trabalho.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Dados das reações de esterificação e dos ésteres derivados do ácido caféico. ...	31
Tabela 2. Assinalamentos de IV dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1–ME16)...	33
Tabela 3. Assinalamentos de RMN de ¹H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1 – ME4).	36
Tabela 4. Assinalamentos de RMN de ¹H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME5 – ME8).	37
Tabela 5. Assinalamentos de RMN de ¹H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME9 – ME12).....	38
Tabela 6. Assinalamentos de RMN de ¹H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME13 – ME16).....	39
Tabela 7. Assinalamentos de RMN de ¹³C dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1 – ME16).....	40
Tabela 8. Dados do espectro de massas tipo MALDI dos ésteres ME5, ME11, ME12, ME15 e ME16.....	41
Tabela 9. Resultados da Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/mL) de dezesseis substâncias sobre leveduras do gênero <i>Candida</i> – Técnica da Microdiluição.	45
Tabela 10. Resultados da Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM (µg/mL) de dezesseis substâncias sobre cepas de bactérias.	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Ácido caféico e seus derivados ésteres que se destacam por suas atividades antimicrobianas.11

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Delineamento da etapa química, estudo antimicrobiano e relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico25

Esquema 2. Esquema geral da esterificação de Fischer utilizando como material de partida o ácido caféico e álcool alifático.27

Esquema 3. Esquema geral de reações utilizando ácido caféico e haleto alquílico ou arílico em acetona sob refluxo.....28

Esquema 4. Esquema geral de reações utilizando ácido caféico e haleto alquílico ou arílico em K_2CO_3 a temperatura ambiente.....29

Esquema 5. Esquema geral da reação de Mitsunobu utilizando como material de partida o ácido caféico e álcool aromático.30

Esquema 6. Esquema geral dos ésteres derivados do ácido caféico.....34

LISTA DE ESPECTROS

Espectro 1. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME1).....	69
Espectro 2. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME1), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	69
Espectro 3. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME1), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	70
Espectro 4. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME1), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	70
Espectro 5 Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2).....	71
Espectro 6. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	72
Espectro 7. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	72
Espectro 8. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO, 200 MHz).....	73
Espectro 9. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	73
Espectro 10. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME3).....	75
Espectro 11. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME3), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	75
Espectro 12. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME3), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	76
Espectro 13. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME3), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	76
Espectro 14. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME3), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	77
Espectro 15. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME4).....	78

Espectro 16. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME4), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	79
Espectro 17. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME4), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	79
Espectro 18. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME4), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	80
Espectro 19. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME4) (CH ₃ D, 50 MHz).....	80
Espectro 20. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5).....	82
Espectro 21. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	82
Espectro 22. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	83
Espectro 23. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	83
Espectro 24. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	84
Espectro 25. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME5).....	84
Espectro 26. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6).....	86
Espectro 27. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6), (DMSO-d ₆ , 500 MHz).....	86
Espectro 28. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6), (DMSO-d ₆ , 500 MHz).....	87
Espectro 29. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6), (DMSO-d ₆ , 500 MHz).....	87
Espectro 30. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6), (DMSO-d ₆ , 500 MHz).....	88

Espectro 31. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME6), (DMSO-d ₆ , 125 MHz).....	88
Espectro 32. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7).....	90
Espectro 33. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	90
Espectro 34. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	91
Espectro 35. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	91
Espectro 36. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	92
Espectro 37. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME7), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	92
Espectro 38. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8).....	94
Espectro 39. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	94
Espectro 40. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	95
Espectro 41. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	95
Espectro 42. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	96
Espectro 43. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9).....	99
Espectro 44. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	99
Espectro 45. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	100

Espectro 46. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	100
Espectro 47. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	101
Espectro 48. Espectro de Infravermelho (KBr, cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12).....	102
Espectro 49. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	103
Espectro 50. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	103
Espectro 51. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	104
Espectro 52. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12).....	104
Espectro 53. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME14).	106
Espectro 54. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME14), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	106
Espectro 55. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME14), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	107
Espectro 56. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME14), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	107
Espectro 57. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME16).....	109
Espectro 58. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME16), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	109
Espectro 59. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME16), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	110
Espectro 60. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME16), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	110

Espectro 61. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME16).	111
Espectro 62. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (ME13).	114
Espectro 63. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (ME13), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	114
Espectro 64. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (ME13), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	115
Espectro 65. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (ME13), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	115
Espectro 66. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15).....	117
Espectro 67. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	117
Espectro 68. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	118
Espectro 69. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	118
Espectro 70. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	119
Espectro 71. Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15) (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	119
Espectro 72. Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	120
Espectro 73. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (ME15).	120
Espectro 74. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME10).	123
Espectro 75. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME10), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	123

Espectro 76. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME10), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	124
Espectro 77. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME10), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).....	124
Espectro 78. Expansão do espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME10), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	125
Espectro 79. Espectro de Infravermelho (KBr,cm ⁻¹) de (<i>E</i>)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME11).	126
Espectro 80. Espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME11), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).....	127
Espectro 81. Expansão do espectro de RMN ¹ H de (<i>E</i>)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME11), (DMSO-d ₆ , 200 MHz).	127
Espectro 82. Espectro de RMN ¹³ C-APT de (<i>E</i>)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME11), (DMSO-d ₆ , 50 MHz).	128
Espectro 83. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (<i>E</i>)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato, (ME11).....	128

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E FÓRMULAS

AcOEt: acetato de etila

APT: *Attached Proton Test*

CC: Cromatografia em coluna

CCDA: Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CIM: Concentração inibitória mínima

Cl: cloro

DCC: dicicloexilcarbodiimida

DCU: dicicloexiluréia

DIAD: Azodicarboxilato de diisopropila

DMF: dimetilformamida

DMSO: Dimetilsulfóxido

Et₃N: trietilamina

FDA: Food And Drug Administration

H₂SO₄: ácido sulfúrico

Hx: hexano

Hz: Hertz

IV: Infravermelho

Me: Metila

MHz: Megahertz

mL: mililitro

K₂CO₃: carbonato de potássio

NaCl: cloreto de sódio

NaHCO₃: bicarbonato de sódio

Na₂SO₄: sulfato de sódio

OMe: Metoxila

P.F.: Ponto de fusão

PKa: log da constante ácida

ppm: Partes por milhão

QSAR: Relação estrutura-atividade quantitativa

RMN ¹³C: Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze

RMN ¹H: Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

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

THF: tetrahidrofurano

TPP: Trifenilfosfina

UV: Ultravioleta

µg: Micrograma

δ: Deslocamento químico em ppm

s: Singleto

sl: Singleto largo

d: Dubleto

dd: Duplo dubleto

t: Tripleto

q: Quarteto

quint: Quinteto

sex: Sexteto

sept: Septeto

m: Multipleteo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	3
2.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE BACTÉRIAS E FUNGOS PATOGÊNICOS.....	3
2.1.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	3
2.1.2. <i>Escherichia coli</i>	4
2.1.3. Gênero <i>Candida</i>	6
2.2. CONSIDERAÇÕES SOBRE ÁCIDO CINÂMICO E O ÁCIDO CAFÉICO.....	8
2.2.1. Ácido cinâmico	8
2.2.2. Ácido caféico	9
2.2.2.1. A importância dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antimicrobiano	12
2.3. CONSIDERAÇÕES SOBRE A QUÍMICA DOS ÉSTERES	12
2.3.1 Mecanismos de esterificações	16
2.4. RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE.....	22
3. OBJETIVOS	24
3.1. GERAL.....	24
3.2. ESPECÍFICOS	24
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1. DELINEAMENTO DO ESTUDO DESENVOLVIDO	25
4.2. ETAPA QUÍMICA	26
4.2.1. Etapa de obtenção e preparação dos ésteres derivados do ácido caféico	26
4.3. ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO.....	32
4.3.1. Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos ME1 a ME 16.....	32
4.3.2. Interpretação dos espectros de RMN de ¹ H e ¹³ C dos compostos ME1 a ME16.....	34
4.3.3. Interpretação dos espectros de massas dos compostos ME5, ME11, ME12, ME15 e ME16	41
4.4. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO	42
4.4.1. Relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antifúngico	42
4.4.2. Relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antibacteriano	50

5. CONCLUSÃO	54
6. PERSPECTIVAS	55
7. PARTE EXPERIMENTAL	56
7.1. SUBSTÂNCIAS, REAGENTES E OUTROS MATERIAIS UTILIZADOS	56
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 Massas de Análise.....	61
7.5. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DOS ÉSTERES	61
7.5.1. Estudo de atividade antifúngica.....	61
7.5.1.1. Espaço e responsáveis para o desenvolvimento de estudo.....	62
7.5.1.2. Produtos testados	62
7.5.1.3. Antimicrobianos sintéticos	62
7.5.1.4. Meios de cultura usados nos ensaios	62
7.5.1.5. Microrganismos	62
7.5.1.6. Inóculo.....	63
7.5.1.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	63
7.5.2. Estudo de atividade antibacteriana	64
7.5.2.1. Espaço e responsáveis para o desenvolvimento de estudo.....	64
7.5.2.2. Produtos testados	64
7.5.2.3. Antimicrobianos sintéticos	64
7.5.2.4. Meios de cultura usados nos ensaios	65
7.5.2.5. Microrganismos	65
7.5.2.6. Inóculo.....	65
7.5.2.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)	65
8. PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO	67
8.1. PREPARAÇÃO DA PRIMEIRA COLEÇÃO DE ÉSTERES - (ME1-ME8).....	67
8.1.1. ME1 – Cafeato de metila.....	68
8.1.2. ME2 – Cafeato de etila.....	70
8.1.3. ME3 – Cafeato de propila	74
8.1.4. ME4 – Cafeato de isopropila.....	77

8.1.5. ME5 – Cafeato de métoxi-etila.....	81
8.1.6. ME6 – Cafeato de butila	85
8.1.7. ME7 – Cafeato de pentila.....	89
8.1.8. ME8 – Cafeato de isopentila	93
8.2. PREPARAÇÃO DA SEGUNDA COLEÇÃO DE ÉSTERES - (ME9, ME12, ME14 E ME16).....	97
8.2.1. ME9 – Cafeato de decila.....	98
8.2.2. ME12 – Cafeato de 4-cloro-benzila.....	101
8.2.3. ME14 – Cafeato de 4-metoxi-benzila.....	105
8.2.4. ME16 – Cafeato de difenilmetila.....	108
8.3. PREPARAÇÃO DA TERCEIRA COLEÇÃO DE ÉSTERES - (ME9, ME12, ME13, ME14 E ME15)	112
8.3.1. ME13 – Cafeato de di-(4-cloro-benzila).....	113
8.3.2. ME15 – Cafeato de di-(4-metoxi-benzila)	116
8.4. PREPARAÇÃO DA QUARTA COLEÇÃO DE ÉSTERES - (ME10, ME11 E ME14)	121
8.4.1. ME10 – Cafeato de benzila	122
8.4.2. ME11 – Cafeato de 4-metil-benzila.....	125
9. REFERÊNCIAS	129

1. INTRODUÇÃO

As doenças infecciosas causadas por bactérias e fungos são ainda um problema de saúde global proeminente, em especial nos países em desenvolvimento, de baixa renda (BYGBJERG, 2012; COKER et al., 2011). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) as infecções bacterianas são responsáveis por 25% das mortes mundiais e 45% para os países em desenvolvimento, acarretando 13 a 17 milhões de mortes por ano (BINDER et al., 1999; WANNMACHER, 2004). A respeito das doenças fúngicas, estas têm aumentado muito nas últimas duas décadas, causando um número estimado de 1,5 milhões de mortes por ano (MICROBIOLOGY SOCIETY, 2016).

Os antimicrobianos são substâncias naturais ou sintéticas que agem sobre os microrganismos inibindo seu crescimento ou causando sua destruição (SÁEZ-LLORENS et al, 2000). Os fármacos antimicrobianos começaram a ser utilizados na década de 1940 (POWERS, 2004), o sucesso na redução na morbidade e mortalidade das doenças infecciosas levou à necessidade da continuação de pesquisa sobre o tratamento e controle dos microrganismos (MARKLE; FISCHER; SMEGO JÚNIOR, 2015). A última década assistiu por um aumento considerável na prevalência da resistência aos agentes antimicrobianos associadas com tempos de tratamento mais longos, com maior toxicidade e custos mais elevados (COHEN, 1992; GOLD; MOELLERING JUNIOR, 1996), podendo ocorrer em pacientes da unidade de terapia intensiva (UTI) ou até mesmo no convívio social (EADY; COVE, 2003).

Atualmente, algumas infecções são extremamente difíceis de tratar como, *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina e vancomicina (BREVES et al., 2015), as cepas da *Escherichia coli* resistentes aos β -lactâmicos (SHAIKH et al., 2015), as infecções fúngicas oportunistas (CHUANG et al., 2007) e representam um enorme desafio para os pesquisadores e clínicos. Assim, há uma necessidade urgente de descobrir e desenvolver novas classes de compostos antimicrobianos para o tratamento de infecções bacterianas e fúngicas. Segundo dados do FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, nos últimos 10 anos, ocorreu um aumento na aprovação de medicamentos para infecções complexas e profundas provocadas por bactérias e fungos patogênicos (FDA, 2015).

A pesquisa de compostos derivados de produtos naturais aumentou e se destacou nos últimos anos devido ao seu papel chave no desenvolvimento de novos fármacos (ARIF et al., 2009; GEETHA; ANITHA, 2013; NEWMAN; CRAGG, 2012).

A busca por novos compostos antimicrobianos utilizando moléculas bioativas extraídas da natureza e seu uso como protótipo, realizando algumas alterações na estrutura com intuito de melhorar parâmetros farmacocinéticos e farmacodinâmicos, que possibilitará no patenteamento de moléculas inéditas (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001).

O estudo do design de fármacos através da síntese química se torna um caminho viável e prático, oferecendo uma rápida resposta e de baixo custo quando comparado ao desenvolvimento de drogas por biologia molecular e abordagens da farmacogenética. Um estudo de relação estrutura-atividade (SAR) correlacionado com o princípio ativo e a patologia em estudo, analisa as modificação por grupos substituintes em posições definidas no protótipo, e verifica as alterações das propriedades físico-químicas da molécula e sua atividade biológica, com o intuito de desenvolver análogos com aumento de potência e especificidade, que poderão servir de alternativas medicamentosas mais eficazes (LLOYD-WILLIAMS; ALBERICIO; GIRALT, 1997).

Os derivados fenilpropanóides formam um grupo de substâncias naturais com diferentes propriedades farmacológicas e biológicas. O ácido caféico é o mais abundante dos ácidos cinâmicos presente no reino vegetal (NARDINI et al., 1998), e apresenta grupos hidroxilas na posição 3 e 4 do anel arílico. É encontrado na natureza em várias formas tais como ácido, ésteres e amidas (FU et al., 2010). Muitas pesquisas têm sido realizadas para o desenvolvimento de métodos de preparação de compostos análogos do ácido caféico, devido a sua grande variedade de atividades, a exemplo da atividade antimicrobiana. Chakraborty e colaboradores (2007) isolaram das folhas *Basilicum polystachyon* (L) Moench, grande concentração do ácido caféico, e realizaram testes antimicrobianos contra cinco bactérias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus leuteus*) e três fungos (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Helminthosporium oryzae*), e apresentou sensibilidade às cepas testadas, com melhores resultados para as bactérias Gram positivas e para fungo *Aspergillus niger*.

O objetivo do presente trabalho foi preparar uma série de ésteres derivados do ácido caféico **ME1-ME16** e avaliar suas atividades antimicrobianas frente aos microorganismos *Staphylococcus aureus* ATCC-25619, *Escherichia coli* ATCC-2536, *Candida albicans* (ATCC 76645, LM-120 e LM-106), *Candida tropicalis* (ATCC-13803, LM-14 e LM-7A) e *Candida krusei* (LM-08 e LM-13), com o intuito de estudar a relação entre atividade antimicrobiana e estrutura química, a fim de obter um derivado sintético com melhor perfil antimicrobiano.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Considerações gerais sobre bactérias e fungos patogênicos

2.1.1. *Staphylococcus aureus*

O *Staphylococcus aureus* pertence a um grupo das bactérias Gram-positivas, em forma de cocos, atua como comensais na pele, mucosa e nas fossas nasais, e quando ocorre um desequilíbrio da microbiota do indivíduo, esta pode invadir o organismo do hospedeiro e causar infecções do tipo simples como acnes, furúnculos e abscessos, a formas mais graves como: pneumonia, meningite, endocardite, septicemia, entre outros (DAS et al., 2016; LINDSAY; HOLDEN, 2004).

Em ambiente hospitalar, essa espécie é uma das responsáveis por elevadas taxas de morbidade e mortalidade em vários países do mundo, em decorrência ao desenvolvimento de formas infecciosas resistentes, principalmente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, a MRSA (FATTOM et al, 2004; PALOMBO; SEMPLÉ, 2002).

A capacidade de *S. aureus* em infectar os seres humanos é apoiada por uma ampla gama de fatores de virulência. Esses fatores consistem em um grupo substâncias produzidas, secretadas e ou expostas na superfície da bactéria, o qual cada uma, tem uma função específica. A proteína estafilocócica A (SpA) (POWERS; WARDENBURG, 2014) e a proteína ligadas a fibronectina A e B (FnbpA e FnbpB), são adesinas e invasinas respectivamente, capazes de promover a entrada em vários tecidos (THAMMAVONGSA et al., 2015); nucleases (BERENDS et al., 2010, THAMMAVONGSA; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2013) responsáveis por clivar moléculas de DNA através de reconhecimento de sequências de nucleotídeos específicos; proteína estafilocócica inibidora de complemento, que bloqueia todas as vias do sistema complemento (BLOM; HALLSTRÖM; RIESBECKB, 2009; FOSTER, 2009; LAMBRIS; RICKLIN; GEISBRECHT, 2008; ROOIJAKKERS; VAN KESSEL; VAN STRIJP, 2005; SERRUTO et al 2010). Já as enzimas coagulase, catalase, hialuronidase, fibrinolisinase, lipase, nuclease, penicilinase, garantem o desenvolvimento e manutenção do microrganismo ao hospedeiro, além de promover a invasão e destruição de outros tecidos (DOS SANTOS et al, 2007).

Além disso, essa espécie produz várias toxinas que interferem na função imune do hospedeiro e promovem o surgimento de algumas síndromes como: a síndrome do choque tóxico resultante da toxina-1 do choque tóxico estafilocócico; a síndrome da

pele escaldada decorrente da esfoliatinas e intoxicações alimentares interligada com a ingestão de enterotoxinas estafilocócica pré-formada (DINGES; ORWIN; SCHILIEVERT, 2000).

O tratamento de escolha para as infecções por *S. aureus* são os β -lactâmicos, que atuam impedindo a formação da camada de peptidoglicano da parede celular e dessa forma induz a sua morte. No entanto, para as amostras resistentes, como é o caso do MRSA, a síntese da parede celular ocorre normalmente, uma vez que não responde a ação dos β -lactâmicos (GELATTI et al., 2009).

Para os casos de MRSA, a terapêutica é bastante limitada. Uma alternativa é a vancomicina administrada endovenosamente, porém esta vem acompanhada de vários efeitos colaterais como nefro e ototoxicidade (HIRAMATSU et al., 2001). Apesar de ser a opção de tratamento para a MRSA, caso de resistência intermediária a esta droga (VISA) em São Paulo, já foi relatado por Oliveira e colaboradores (2001). E, em 2002, nos Estados Unidos foi descrito o isolamento de uma amostra de *S. aureus* com resistência plena a vancomicina – VRSA (CHANG et al., 2003) .

2.1.2. *Eschericia coli*

A *Eschericia coli* é uma bactéria bacilar Gram negativo, anaeróbica facultativa, a qual nos organismos vivos exerce o papel de comensal no trato intestinal dos humanos e animais de sangue quente (RAJILIC-STOJANOVIC; SMIDT; DE VOS, 2007), gerando benefícios para a saúde, como a síntese de vitamina K₂ e defesa contra bactérias patogênicas (HUDAULT; GUIGNOT; SERVIN, 2001).

Para tanto, nos casos em que os indivíduos se encontram debilitados, ou quando a barreira gastrointestinal é violada, alguns sorotipos são capazes de causar graves intoxicações alimentares, gerando quadros simples de diarreias, muitas vezes sanguinolentas, com presença ou não de febre até formas mais severas como peritonite (SABRÁ, 2002). Essas bactérias podem ser disseminadas pelo organismo e causar patologias como a meningite e infecções urinárias (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

A bactéria *E. coli* é encontrada não só nos organismos vivos como também, nos solos e nas superfícies das plantas, nas comidas presente nos legumes, verduras, frutas e origem animal, nas águas doce e salgada, e nas fezes humanas e de animais (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008). Dessa forma, o alimento de origem animal e vegetal cru ou insuficiente cozido e a água mal tratada estão sujeitos à contaminação, sendo a transmissão oral-fecal a principal via utilizada pelas cepas patogênicas para desenvolver a doença, além disso, são consideradas indicadores da contaminação fecal

em água e alimentos, (OLANIRAN; NAICKER; PILLAY, 2011) como também de indicativos de falhas de higiênico-sanitário (JAY, 2005), pois essas bactérias não se multiplicam em ambiente aquático.

As linhagens patogênicas de *E. coli* consistem em: enteropatogênica (EPEC), enterotoxigênica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroagregativa (EAEC) e difuso-aderentes (DAEC) (FARROKH et al., 2013; GUTH et al., 2002). A EPEC utiliza adesina para aderir aos enterócitos do intestino delgado e destrói as microvilosidades, conseqüentemente gera má absorção, diarreia osmótica e inflamação, sendo muito encontrada nas diarreias infantis, especialmente em países pobres (TENAILLON et al., 2010). A ETEC é conhecida como a “diarreia dos viajantes”, caracterizada por diarreia aquosa com ou sem febre e muito frequente nos países em desenvolvimento, sua virulência é através das enterotoxinas termolábel e termoestável secretadas durante a adesão da mucosa intestinal mediada por fímbrias. A EAEC adere não só ao intestino delgado como também ao grosso, e secreta não só enterotoxinas com também citocinas, e resulta na formação de um biofilme como “empilhamento de tijolos” com danos na mucosa e diarreia secretória. A EIEC, como seu próprio nome diz, invade células epiteliais do cólon, com endocitose e multiplica-se, movendo para as células vizinhas através dos filamentos de actina. A DAEC realiza a transdução do sinal nos enterócitos do intestino delgado com fímbrias de aderência agregativa (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004).

A EHEC é forma mais grave da doença, possui uma toxina semelhante produzida pela *Shigella* a shiga-toxina, neste caso gera lesões no cólon, e pode ocasionar uma doença mais grave como a colite hemorrágica, a púrpura trombocitopênica trombótica e a síndrome hemolítica-urêmica-sanguinolenta (HUS), conduzindo a insuficiência renal e destruição das hemáceas, que são casos muito perigosos e ocorrem preferencialmente nos países desenvolvidos (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004). Dessa forma, o seu tratamento é bem mais rigoroso que dos outros sorotipos, pois, inclui o equilíbrio de fluídos e eletrólitos, controle da pressão arterial, além de que exige uso de diálise e transfusão sanguínea de acordo com a função renal e anemia existentes, em casos mais extremos há a necessidade de transplante renal (FERNANDEZ-BRANDO et al., 2011).

Recentemente foi sugerida a inserção de duas novas linhagens: aderente e inasiva (AIEC) e enteroagregativa produtora de Shiga toxina (STEAEC), (CLEMENTS et al., 2012).

O tratamento é a administração do antibiótico adequado para patologia específica (VIDAL et al., 2007), utilizado apenas nos casos mais graves, para tanto o ideal seria a realização de teste de susceptibilidade in vitro, devido ao elevado índice de resistência aos antimicrobianos.

A produção de β -lactamases nas linhagens de *E. coli*, a torna resistente frente aos fármacos β -lactâmicos, a enzima tem o papel de catalisar a hidrólise irreversível da ligação amida do anel β -lactâmico presente no antimicrobiano impossibilitando sua ação farmacológica (BUSH; JACOBY, 2010). Algumas espécies produzem β -lactamases de espectro estendido (ESBL), através de mutações de genes TEM-1, TEM-2 e SHV-1 localizados nos plasmídeos, que hidrolisam além de penicilinas, cefalosporinas e monobactâmicos – aztreonam, exceto as cefamicinas (cefotitina, cefotetan) e os carbapenêmicos (LIVERMORE, 2008). Além disso, os microorganismos ESBL são resistentes a outras classes de antibióticos como aminoglicosídeos, fluorquinolonas, tetraciclina, cloranfenicol e sulfametoxazol-trimetropina (PATERSON, 2000). Dessa forma, as opções terapêuticas para os organismos produtores de EBSL são limitadas, um tratamento eficaz muito utilizado é o uso do inibidor de β -lactamase associado ao β -lactâmico, como o ácido clavulônico, o sulbactam e o tazobactam, que protege o antimicrobiano contra sua destruição, essa terapia é muito benéfica para infecções não complicadas do trato urinário inferior, porque a infecção é localizada e o antibiótico é excretado em grande quantidade pela urina (BHATTACHARYA, 2006). Entretanto, essa combinação dos fármacos não é considerada uma terapia ótima para as infecções mais graves de ESBL, pois a maioria dos organismos produtores de EBSL produz mais de uma β -lactamase em quantidades diferentes ou até mesmo ocorre indução da produção de enzima durante o tratamento, logo essa hiperprodução pode levar a uma redução da atividade dos inibidores da β -lactamase (RAWAT; NAIR, 2010), assim, o paciente não obtém melhora e ocorre recidiva da infecção (NATHISUWAN; BURGESS; LEWIS, 2001). Já nas infecções mais graves de EBSL (infecções intra-abdominais e sepse), o uso de carbapenêmicos é indicado (PATERSON et al., 2004), contudo já existem relatos na literatura de cepas resistentes a este fármaco, que deve ser utilizado moderadamente para não ocorrer formação de cepas multirresistentes (GONZALEZ-PADILLA et al., 2015; MOAYEDNIA et al., 2014).

2.1.3. Gênero *Candida*

O gênero *Candida* contém mais de 200 espécies, onde aproximadamente 20 são consideradas patogênicas (LANCAZ, 2002), sendo as mais conhecidas *Candida*

albicans, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* e *Candida dubliniensis* (GUTIÉRREZ et al., 2002). Elas habitam a mucosa oral, o trato gastrointestinal e geniturinário da espécie humana (GLEHN; RODRIGUES, 2012); entretanto, esses microorganismos podem promover infecções fúngicas de forma oportunista, podendo provocar tanto o desenvolvimento de manifestações superficiais (pele e mucosas) ou sistêmicas, sendo este último frequentemente comum para pacientes susceptíveis, incluindo indivíduos com leucemia, transplantados, tratados com corticosteróides e soropositivos (GIRI; KINDO, 2012; TEICHERT et al., 2002).

Os fatores predisponentes a manifestação da candidíase, doença esta, causada por leveduras do gênero *Candida*, são: baixa imunidade; gravidez, infância ou velhice; hábitos alimentares e estados nutricionais; tabagismo; diminuição do fluxo salivar, uso de próteses e aparelhos ortodônticos; doenças degenerativas como diabetes *mellitus*; neoplasias em estágio avançado; HIV-positivo, entre outros (BARBEDO; SGARBI, 2010; ELLEPOLA et al., 2011; LUQUE et al., 2009). O uso de medicamentos imunossupressores e corticosteroides, além de antibióticos de amplo espectro por um longo período é outra questão importante para expor a doença, ao passo que diminui as bactérias aumenta a colonização desse gênero, modificando assim a microbiota normal do indivíduo (COLOMBO; GUIMARAES, 2003; TEKELI et al., 2004).

A *Candida albicans* é a espécie mais prevalente nas infecções fúngicas (MENEZES et al., 2015). Ela constitui 80 a 90% da microbiota fúngica em humanos e tem a diversidade de fatores de virulência (FREITAS et al., 2003). Esta espécie é um fungo dimórfico, que se apresenta sob formas leveduriformes no estado assintomático; ou como formas filamentosas (pseudo-hifas e hifas verdadeiras), presente em processos patogênicos (ÁLVARES; SVIDZINSKI; CONSOLARO, 2007). A sua plasticidade morfológica, ainda permite, com que estas se fixem a superfícies sólidas formando biofilmes. (KABIR; HUSSAIN; AHMAD, 2012). Esses biofilmes são estruturas tridimensionais constituído pelas formas leveduriformes e filamentosas, rodeadas pela matriz extracelular (polissacarídeos, proteínas e ácido nucleicos). Esse complexo tem a capacidade em ser resistente a defesas imunológicas, bem como a ação dos agentes antifúngicos (SILVA et al., 2010; VANDENBOSCH et al., 2010;).

Os fármacos podem ser classificados de acordo com o mecanismo de ação exercido sobre fungo patogênico, existem 6 classes de antifúngicos: derivados azólicos (cetoconazol, miconazol, clotrimazol, fluconazol), poliênicos (nistatina e anfotericina), alilaminas (terbinafina), equinocandinas (anidulafungina), análogos de pirimidina e inibidores da mitose (DE SENA et al., 2009). Apesar da variedade de antifúngicos para

tratamento da candidíase, temos casos já citados na literatura com sensibilidade diminuída ou até resistência plena a determinados medicamentos dessa classe. Segundo Dalazen e colaboradores (2011), a administração contínua de azólicos por indivíduos imunocomprometidos para tratamento das infecções fúngicas favoreceram o surgimento de cepas resistentes, principalmente as espécies não-*albicans*, como exemplo a *C. glabrata* e *C. krusei* são consideradas as espécies com resistência intrínseca aos azólicos, particularmente ao fluconazol (BARBEDO; SGARBI, 2010; CASTRO et al., 2006; DEMITTO et al., 2012).

Nas infecções fúngicas sistêmicas, em pacientes críticos, o tratamento de escolha é a anfotericina B, devido ao seu amplo espectro de ação, mas seu uso deve ser monitorado cuidadosamente devido aos efeitos colaterais de nefro e hepatotoxicidade (SCHLOTTFELDT et al., 2015). Um fármaco muito utilizado nas candidemias é anidulafungina, uma nova classe de antifúngicos que atua em nível da parede celular, bloqueando a síntese do polímero (1,3)- β -glucano (DENNING, 2003). Entretanto, segundo Arendrup e Perlin (2014), Maubon e colaboradores (2014), as espécies de *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* desenvolveram mecanismos de sensibilidade diminuídas às equinocandinas. Logo, o aumento de isolados resistentes, bem como da presença de toxicidade, tem mostrado que a terapêutica antifúngica vem revelando ser um desafio, necessitando na descoberta de novos fármacos para o combate do microorganismo (KHAN; MALIK; AHMAD, 2012; KIRAZ; YASEMIN, 2011).

2.2. Considerações sobre ácido cinâmico e o ácido caféico

2.2.1. Ácido cinâmico

O ácido cinâmico também denominado ácido 3-fenil-2-propenóico consiste em um ácido carboxílico aromático (C₆-C₃), encontrado normalmente na forma *trans*, e apresenta-se versátil com ampla distribuição nos vegetais superiores (DIXON, 1999) e tem eficácia como agente terapêutico antimicrobiano (EKMEKCIOGLU; FEYERTAG; MARKTL, 1998). Os compostos cinâmicos são provenientes da rota do chiquimato através da desaminação dos aminoácidos fenilalanina, e seus derivados são produzidos por reações de hidroxilação e metilação resultando no ácido *p*-cumárico, ácido caféico, ácido ferúlico e ácido sinápico (DEWICK, 2009), sendo o ácido caféico o maior representante desses derivados.

Os compostos cinâmicos e seus derivados são importantes na formação dos metabólitos secundários, como as ligninas (BHULLAR et al., 2014; DE; BALTAS; BEDOS-BELVAL, 2011;), e apresentam propriedades comuns entre eles como,

antioxidantes (FARAH et al., 2008; SOVA, 2012), atuam na redução da lipoproteína de baixa densidade importante na defesa de doenças cardiovasculares (AUGER et al., 2004), são agentes terapêuticos antimicrobianos e proporcionam a inibição do crescimento dos fungos (KOROŠEC et al., 2014), apresentam hepatoproteção (ADISAKWATTANA; MOONSAN; YIBCHOK-ANUN, 2008), e favorecem o aumento da absorção e síntese do glicogênio, importante na diabetes (JUNG et al., 2007).

Corroborando com as funções citadas acima, os derivados do ácido cinâmico com função éster, em especial o cinamato de metila, apresenta as seguintes atividades farmacológicas: hipoglicemiante (SHARMA, 2011); inibidor da síntese de lipídeos, importante nas patologias de dislipidemias (CHEN et al., 2012); antioxidante; ação antimicrobiana contra bactérias e fungos (PRAKASH et al., 2012).

2.2.2. Ácido caféico

O ácido cafeico apresenta duas hidroxilas no anel do ácido cinâmico, nas posições 3 e 4. É amplamente distribuído nos tecidos vegetais e encontrado na dieta alimentar, como frutas, vegetais, vinho, azeite de oliva e café (NARDINI et al., 1998), sendo o principal representante dos ácidos hidrocínâmicos na dieta. Este ácido é um composto fenólico muito importante, pois apresenta diversas propriedades farmacológicas e biológicas, tais como: antioxidante, antitrombose, anti-hipertensivo, antifibrótico, antiviral, anti-tumoral (BAILLY et al., 2013; CALHEIROS et al., 2008; CHAO; HSU; YIN, 2009; LI et al., 2005; PRASAD et al., 2011), efeito citotóxico contra a linhagem de células tumorais (KAMPA et al., 2004), hipoglicemiante (CHENG et al., 2003; JUNG et al., 2006), tratamento da hepatite e gota (CHIANG; LO; LU, 1994).

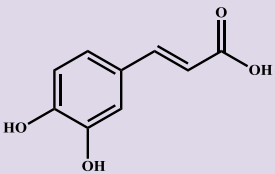
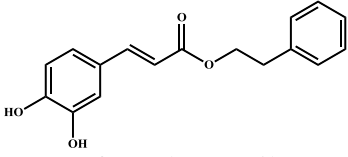
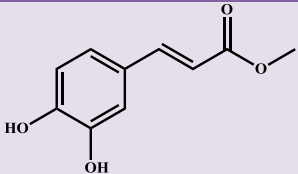
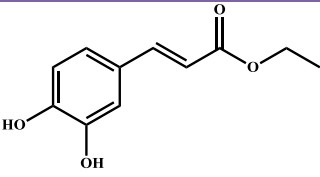
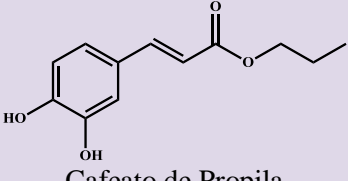
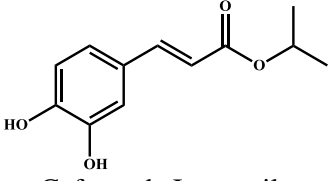
O ácido caféico apresenta-se sob diversas formas como ésteres e amidas (FU et al., 2010), e tem uma maior lipofilicidade com as células eucarióticas. Seus ésteres encontram-se amplamente distribuídos nos vegetais (SAHINLER; KAFTANOGLU, 2005; SON; LEWIS, 2002), sendo o éster fenetil do ácido caféico considerado o principal composto fenólico mais bioativo (GRUNBERGER et al., 1988) e é um dos componentes da própolis presente na colmeia de abelhas, ele possui um amplo espectro de atividades farmacológicas, entre elas: anti-inflamatório (DA CUNHA et al., 2004; JUMAN et al., 2012; LEE et al., 2000; ORBAN et al., 2000; TOYODA et al., 2009), antiviral (FESEN et al., 1993), antiaterosclerótico (NATARAJAN et al., 1996), anti-HIV (BURKE et al., 1995; FESEN et al., 1994, XIA et al., 2008), antioxidante (RUSSO; LONGO; VANELLA, 2002; YANG et al., 2011), Imunomodulatório (PARK

et al., 2004), antitumoral (CHEN et al., 2001; CHUU et al., 2012; LIN; JIANG; CHUU, 2012; NAGAOKA et al., 2002), neuroprotetor (ILHAN et al., 2004) antibacteriano (KUJUMGIEV et al., 1993) e atividade antifúngica, com a capacidade de inibir tanto os filamentos como a formação do biofilme da *Candida* (BREGER et al., 2007).

Diversos estudos têm sido realizados para o desenvolvimento de métodos de preparação dos ésteres derivados do ácido caféico, devido a sua grande variedade de atividades biológicas, tais como antimicrobiana. Balachandran e colaboradores (2012) isolaram cafeato de metila da *Solanum torvum* e mostraram atividade antibacteriana contra bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, além da atividade antifúngica contra *C. albicans* e *Aspergillus flavus*. Lee e colaboradores (2009) isolaram o cafeato de metila presente *Thesium chinense* Turcz e demonstraram atividade contra *M. tuberculosis*.

A própolis, produto produzido pelas abelhas a partir de exsudatos e secreções das plantas, por ser um ingrediente natural é extraída em muitos vegetais e parte integrante da alimentação humana. O Brasil é o segundo maior produtor de própolis, só perde para China (LUSTOSA et al., 2008), utilizam a *Apis mellifera*, espécie de abelha-europeia, para sua produção (MENEZES et al., 2007); dentre os compostos isolados temos, o ácido caféico e o éster fenetil do ácido caféico com propriedades antimicrobiana (KARTAL et al., 2003) contra *S. aureus* e *E. coli* (FU et al., 2010) e contra *Candida* sp (DE VITA et al., 2014). Velazquez e colaboradores (2007) isolaram da própolis, o cafeato de fenetila, e avaliaram a atividade antimicrobiana contra *E. coli* ATCC 25922 e *S. aureus* ATCC 6538P; nos testes, o éster apresentou atividade inibitória significativa frente *S. aureus*. Uzel e colaboradores (2005) testaram a própolis europeia-siberiano e irano-turaniano, verificaram a susceptibilidade das cepas microbianas para *S. aureus* 6538P, *E. coli* ATCC 11230, *C. albicans* ATCC 10231, *C. tropicalis* ATCC 665, *C. krusei* ATCC 6258, os melhores resultados foram para Gram positiva e *Candida* sp.

No **quadro 1**, temos alguns exemplos de publicações das propriedades antimicrobianas do ácido caféico e seus derivados ésteres.

Classe Química	Composto	Espécies microbianas	Referências
Ácidos	 Ácido Caféico	<i>Candida albicans</i> 62, <i>Candida albicans</i> biofilm, <i>Candida albicans</i> plactonic, <i>Escherichia coli</i> , <i>Escherichia coli</i> #916, <i>Escherichia coli</i> NCIMB 12210, <i>Escherichia coli</i> O157:H7, <i>Staphylococcus aureus</i> 209, <i>Staphylococcus aureus</i> #917, <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC 10657	ALVES et al. 2013 BARBER; MCCONNELL; DECAUX, 2000 DE VITA et al. 20014 GEORGIV et al. 2012 PARKAR; STEVENSON; SKINNER, 2008 RASTOGI et al. 2008 TUNÇEL; NERGIZ, 1993
	 Cafeato de Fenetila	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P	VELAZQUEZ et al. 2010
	 Cafeato de Metila	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	DE VITA et al. 20014
	 Cafeato de Etila	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	DE VITA et al. 20014
	 Cafeato de Propila	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	DE VITA et al. 20014
 Cafeato de Isopropila	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	DE VITA et al. 20014	

Quadro 1. Ácido caféico e seus derivados ésteres que se destacam por suas atividades antimicrobianas.

2.2.2.1. A importância dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antimicrobiano

O ácido caféico é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal com baixa biodisponibilidade, após a administração oral, o que limita seu uso clínico (LAFAY et al., 2006). Além disso, o ácido caféico é insolúvel em água e óleo o que limita suas aplicações. Por conseguinte a fim de aumentar lipossolubilidade e conseguir agentes antimicrobianos mais potentes, é necessário modificar a estrutura do ácido caféico, sendo a esterificação um caminho ideal para modificar as propriedades físico-químicas da molécula.

Considerando os efeitos dos ésteres derivados do ácido caféico sobre atividade antimicrobiana, segundo Sardi e colaboradores (2016) prepararam oito derivados ésteres do ácido caféico com radicais de cadeias lineares, diferindo pelo número de átomos de carbonos constituintes da molécula, com variações de um a oito átomos de carbono, e todos mostraram atividade fungicida contra *C. albicans* ATCC 90028; De Vita e colaboradores (2014), prepararam derivados ésteres do ácido caféico variando a cadeia de carbono tanto linear como ramificada com um a três átomos de carbono, como também um derivado contendo radical de anel aromático com substituinte metoxila, e todos apresentaram atividade fungicida contra *C. albicans* ATCC 10231, no biofilme em formação e estágio maduro; Merkl e colaboradores (2010) sintetizaram os ésteres derivados do ácido caféico, com radical de cadeias lineares e variação da cadeia carbônica de 1 a 4 átomos, e todos apresentaram atividade para *E. coli* DMF 7503, com melhores resultados para cafeato de propila e cafeato de butila; Jazly e colaboradores (2013), preparou 11 derivados ésteres do ácido caféico, utilizando radicais de cadeia de carbono linear curta e radicais de benzil clorado formado nas hidroxilas do anel caféico, neste caso os compostos cafeato de metila e etila apresentaram atividade bactericida contra *E. coli* e *S. aureus*, entretanto os produtos benzílicos clorados só foram ativos para Gram positiva. Assim, diante das publicações, os derivados preparados tornam-se promissores candidatos para redução das patologias bacterianas e fúngicas.

2.3. Considerações sobre a química dos ésteres

Os ésteres são compostos orgânicos cujas moléculas possuem o grupo acilato em sua estrutura, e são formados basicamente da reação do ácido carboxílico e um álcool com eliminação da água, ilustrados na **Figura 1**. Assim, sua nomenclatura consiste em dois nomes que refletem a sua origem, e, de acordo com a IUPAC, primeiro identifica o nome do radical ácido antes da carbonila, substituindo a terminação-ico por-

ato, em seguida, acrescenta o radical álcool que está ligado ao oxigênio com terminação-a (FRAVE; POWELL, 2013).

Os ésteres apresentam uma variação de reatividade, dependendo do radical que apresentam, sendo considerados os ésteres ativados, aqueles que possuem em seu radical o anel aromático, pois eles são mais propensos a reagir com a vasta gama de nucleófilos em decorrência da facilidade na hidrólise dos ésteres alquílicos (VALEUR; BRADLEY 2009).

As propriedades físicas dos ésteres orgânicos estão intrinsecamente ligadas ao peso molecular (TAU; ELANGO; MCDONOUGH, 1994), para os de baixo peso molecular são líquidos incolores e voláteis, e apresentam odores agradáveis, sendo muito utilizados na indústria de alimentos e presente nas frutas, por exemplo, acetato de etila no abacaxi e acetato de butila nas bananas; já para o de elevado peso molecular, eles são sólidos, com variação de pó a cristais, com uso na fabricação de sabão, óleo de soja, manteiga e margarina, azeite de oliva e ceras. Quanto ao seu ponto de fusão é inferior ao do ácido carboxílico correspondente, entretanto, o ponto de ebulição depende comprimento da cadeia lateral pertencente à molécula.

Os ésteres são obtidos a partir de várias metodologias, sendo o método mais comum sua origem a partir de ácidos carboxílicos. Dentre as reações, a mais utilizada é a esterificação de Fischer, que é uma condensação realizada entre um ácido carboxílico e um álcool com eliminação da água utilizando um catalisador ácido forte (alínea a). Além disso, podemos originar o éster com o uso dos mesmos substratos, apenas substituindo a técnica, temos na alínea b o uso de agente de acoplamento *N,N'*-dicicloexilcarbodiimida (DCC), com a formação de um produto indesejável dicicloexiluréia (DCU), (SON; LOBKOWSKY; LEWIS, 2001), ou com os agentes de esterificação como DIAD, TPP na alínea c (HANDIQUE et al., 2013). Outro método na alínea d, utilizando o mesmo material de partida é a substituição nucleofílica do tipo bimolecular com haletos.

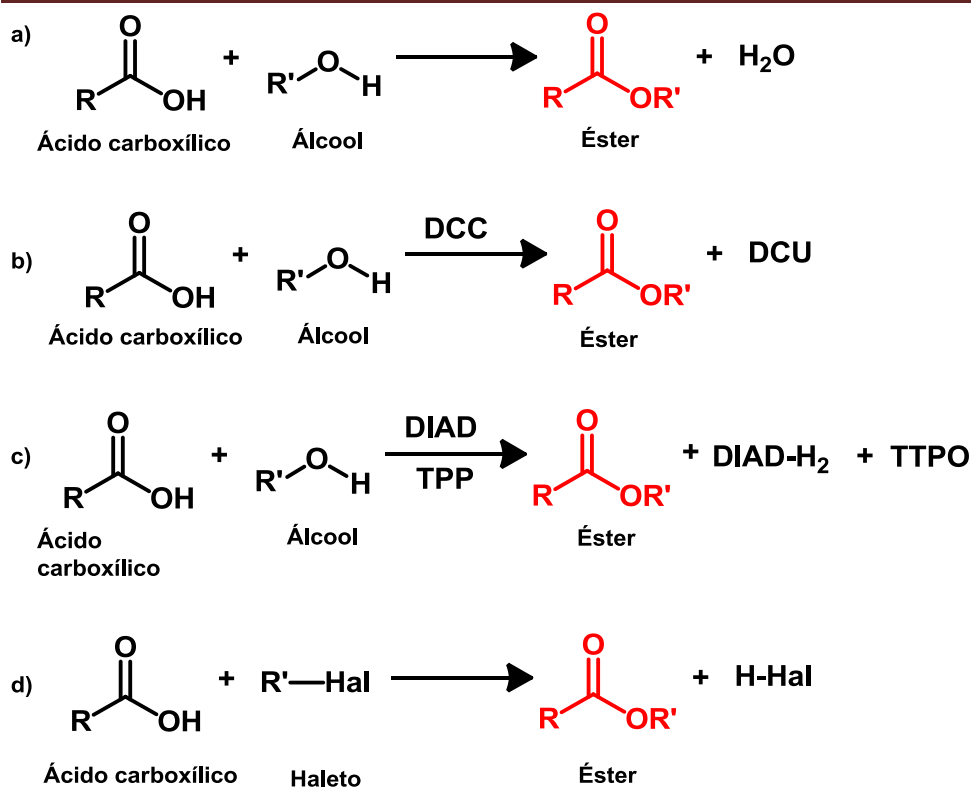


Figura 1. Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de ácidos carboxílicos na (a) esterificação de Fischer, (b) esterificação com uso de agentes de acoplamento c) reação de Mitsunobu e (d) substituição nucleofílica S_N2 com haletos.

Os ésteres aparecem como compostos estáveis e são encontrados em grande abundância na natureza como produtos naturais e sintéticos. Conseqüentemente, muitos métodos para síntese de ésteres têm sido descritos como, além dos citados anteriormente temos também as reações com os derivados de ácido carboxílico, como anidrido e cloreto de ácido, processo de transesterificação, ilustrados na **Figura 2**.

O anidrido reage com álcool para formar éster e ácido carboxílico como subproduto, essa reação utiliza a piridina para remover o próton do álcool e formar a ligação éster que envolve o grupo carbonila do anidrido com o oxigênio do álcool. A alcoólise é favorecida com aumento da temperatura, da piridina, e uma maior quantidade de equivalente mol para o reagente anidrido (INANAGA et al., 1979), com isso apresentam elevados rendimentos, entretanto por ser de alto custo muitas vezes só é utilizada quando a reação ácido-álcool não pode ser efetuada.

O cloreto de acila por ser mais reativo que o anidrido, resulta na melhor preparação laboratorial do éster, pelo fato de possuir menores pK_a não necessitando de um catalisador ácido (SOLOMONS; FRYHLE, 2012) e são rápidos grupos

abandonadores permitindo a dissociação do íon cloreto do grupo carbonila (CLAYDEN et al. 2001).

A transesterificação é muito utilizada na formação de biodiesel utilizando óleos vegetais ou gorduras animais (DIAS et al., 2013). Devido elevada atividade reacional e baixo custo, o biodiesel é atualmente produzido por catálise ácida, H_2SO_4 , ou catálise alcalina, NaOH (MA et al., 2016). O procedimento laboratorial ocorre quando os ésteres de baixo ponto de ebulição são aquecidos a refluxo no meio reacional junto com o álcool, na presença de um catalisador, resultando na troca do grupo éster com elevado ponto de ebulição. A troca de éster ou transesterificação ocorre sob condições semelhantes à esterificação de Fischer, só que de maneira inversa, e na presença de um grande excesso de álcool o ponto de equilíbrio é deslocado para formação de um novo éster (CHRISTIE, 1993).

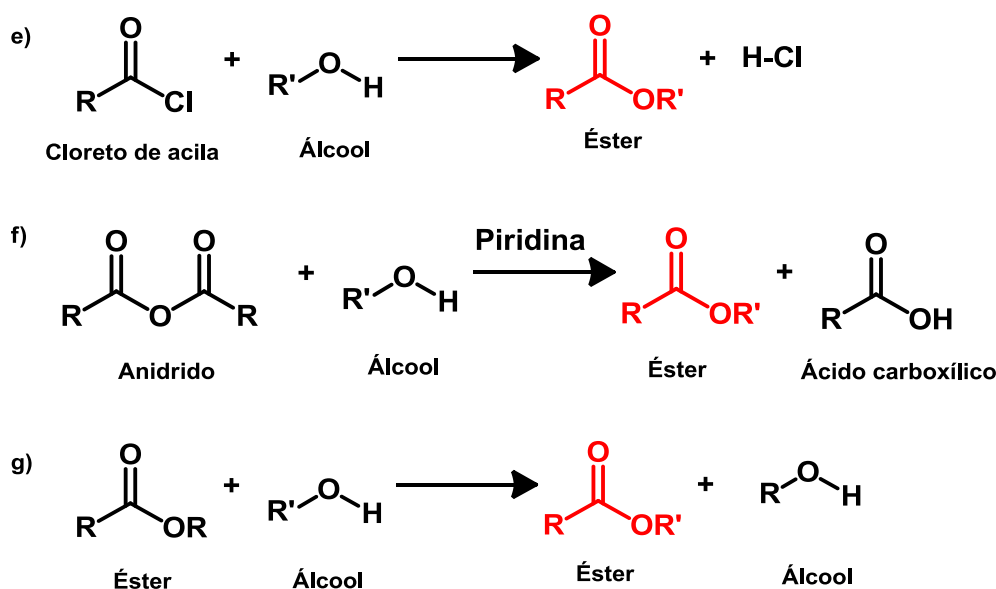


Figura 2. Métodos usados na síntese de ésteres. Os produtos podem ser obtidos a partir de (e) cloretos de ácido, (f) anidridos, (g) ou por outros ésteres no processo de transesterificação.

Os ésteres tiveram um grande marco no desenvolvimento de fármacos a partir de produtos naturais, com o isolamento do salicilato da *Salix alba*, por Edward Stone em 1757, demonstrando que o isolado da casca do salgueiro apresentava propriedades analgésicas e antipiréticas; mas, só em 1898, Felix Hofmann conseguiu melhorar a acidez do ácido salicílico, construindo a molécula ácido acetil-salicílico, através da adição de um grupo éster na estrutura, conhecida comercialmente como aspirina, a qual manteve as suas propriedades analgésicas (VIEGAS JÚNIOR; BOLZANI; BARREIRO, 2006). Em seguida, em 1904, foi sintetizado a benzocaína, anestésico

local pertencente à classe dos ésteres do ácido *para*-aminobenzoico. Na década de 50, foi introduzido no mercado a eritromicina para combate da *Streptococos pneumoniae*, um antibiótico macrolídeo, utilizado nas infecções Gram-positivas. Outro exemplo de éster sintético é o clofibrato, muito utilizado na redução do colesterol e triglicerídeo do plasma sanguíneo. Todos estes fármacos são ilustrados na **Figura 3**.

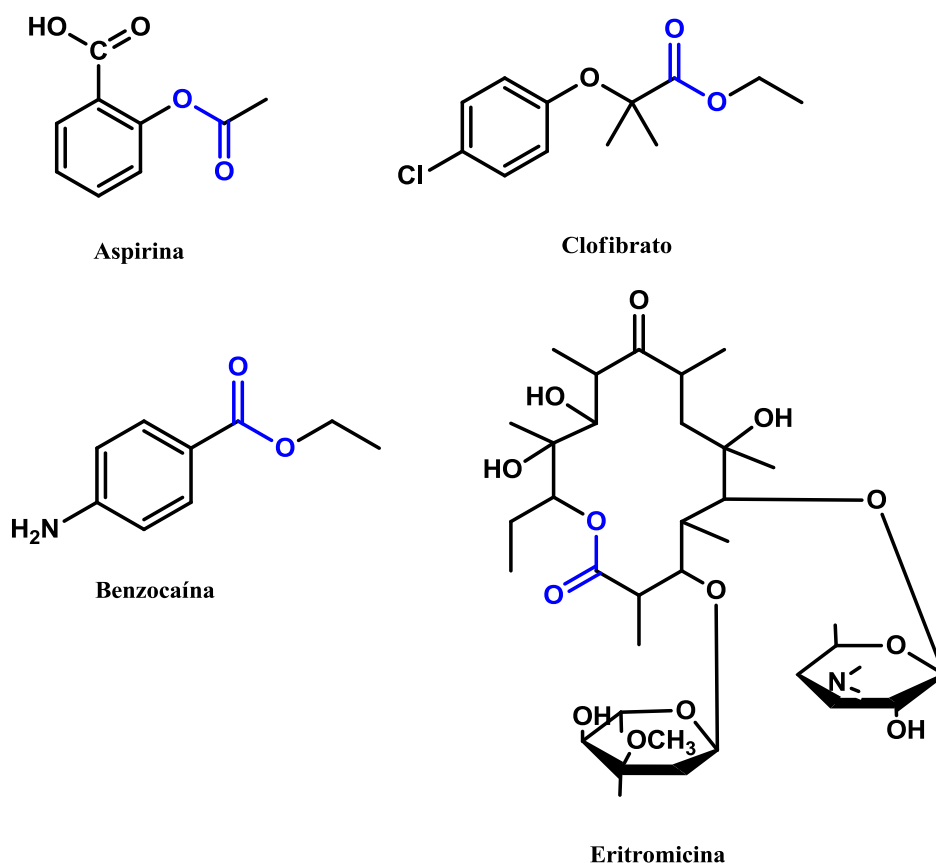


Figura 3. Exemplos de drogas no mercado contendo grupo éster, ilustrando a importância desse grupo funcional na atividade biológica.

2.3.1 Mecanismos de esterificações

As preparações de ésteres utilizadas dentro da metodologia deste trabalho se basearam em três tipos de reação: a esterificação de Fischer, a substituição nucleofílica bimolecular com haletos alquílicos e arílicos, e a reação de Mitsunobu.

Os ésteres são oriundos de diversas metodologias, sendo a esterificação de Fischer a mais comum, devido ser simples e ocorrer em curto espaço de tempo. Ela utiliza um ácido carboxílico juntamente com um álcool em excesso (CHRISTIE, 1993), sob condições de aquecimento na presença de um catalisador ácido, ácido sulfúrico ou ácido clorídico. A esterificação é reversível e prossegue lentamente na ausência do catalisador e basta uma pequena quantidade deste para que a reação prossiga e atinja o equilíbrio (SHI; WANG; HUA, 2015).

O mecanismo inicia pelo ácido por ser um eletrófilo, o seu par de elétrons do oxigênio da carbonila será protonado pelo próton do catalisador, ficando o oxigênio com três ligações, adquirindo carga positiva, tornando-o mais reativo em relação aos nucleófilos. Em seguida, o par de elétrons do oxigênio da hidroxila do álcool ataca o carbono da carbonila do ácido protonado gerando um intermediário tetraédrico, e o par de elétrons da ligação *pi* se desloca para o oxigênio, estabilizando o grupo hidroxila. No terceiro passo, o composto tem a intenção de formar um grupo abandonador através do próton tropismo, assim não importa qual hidroxila será protonada, pois ambas são equivalentes (HERNÁNDEZ-MONTELONGO; GARCÍA-SANDOVAL; AGUILAR-GARNICA, 2015); e, o resultado é a saída da água, regeneração do próton do catalisador e formação do éster, ilustrado na **Figura 4**

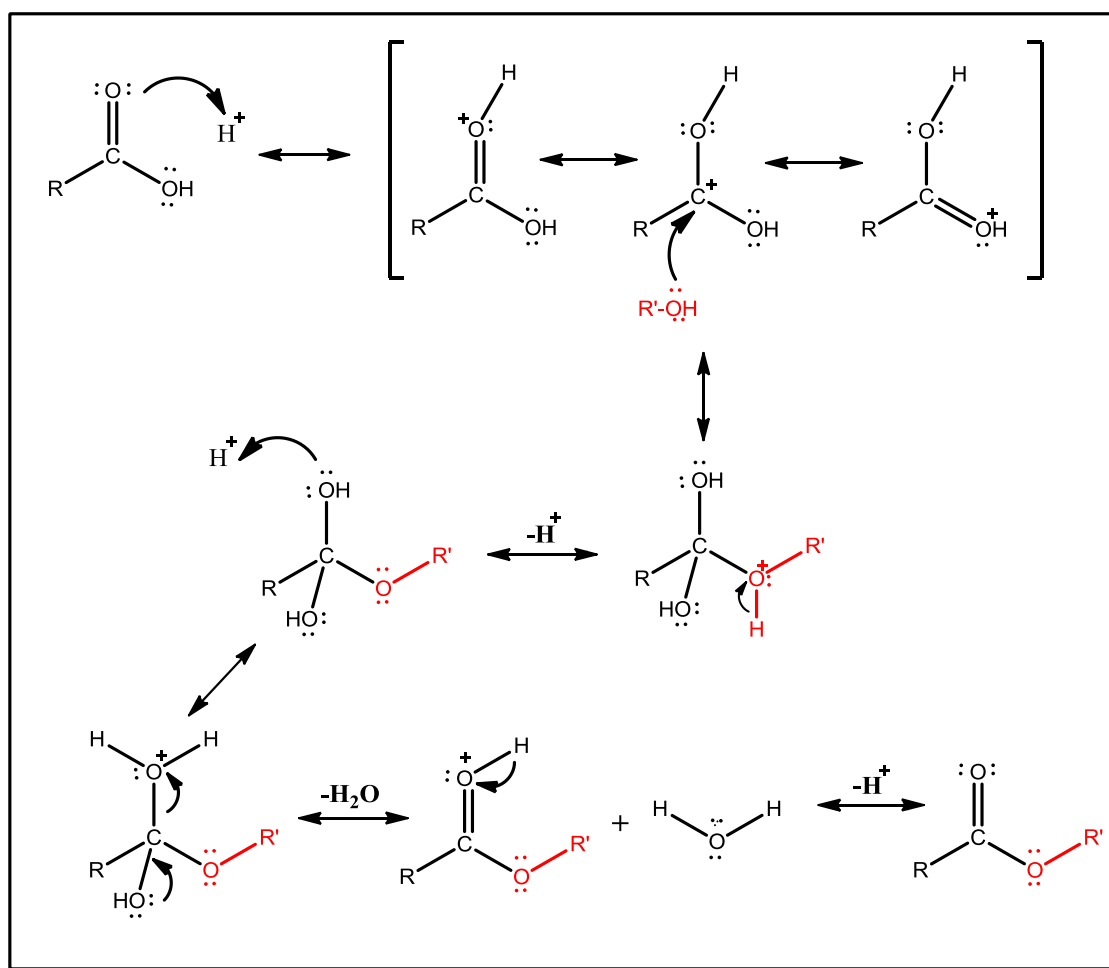


Figura 4 Mecanismo da reação de esterificação de Fischer (Adaptado: BUZZI et al, 2009).

As reações de substituição são sínteses orgânicas que envolvem um par de elétrons do doador (nucleófilo) e um par de elétrons do receptor (eletrófilo), que implica

em etapas de transferência de elétrons (ROSSI; PIERINI; PEÑÉÑORY, 2003). Essas reações ocorrem em organismos vivos nos processos bioquímicos (MCKEE; MCKEE, 2009) como, por exemplo, a alquilação de uma cadeia de DNA no desenvolvimento do câncer (SORRELL, 2006; VOLLHARDT; SCHORE, 2010). A reação de substituição nucleófila se divide em dois tipos: mononuclear ou primeira ordem, que ocorre em duas etapas através da formação de um carbocátion estável seguido do ataque frontal pelo nucleófilo; bimolecular ou segunda ordem ocorre de maneira inversa a da anterior, em que se processa em uma única etapa, sem formação de carbocátion e o ataque do nucleófilo é posterior ao grupo abandonador.

A segunda reação de formação de éster utilizada neste projeto é a substituição nucleofílica bimolecular, que ocorreu nas reações do ácido caféico juntamente com os haletos alquílicos e arílicos, a reação se processa em uma única etapa com o ataque do par de elétrons do nucleófilo ao carbono na posição de 180° do eletrófilo, a energia liberada da primeira ligação rompida é utilizada para formação da nova ligação (MCLENNAN, 1976) desencadeando uma mudança de configuração intermediária bipiramidal trigonal, para então saída do grupo abandonador e formação da ligação com o nucleófilo (MATSUBARA; ITO, 2016), visto na **Figura 5**.

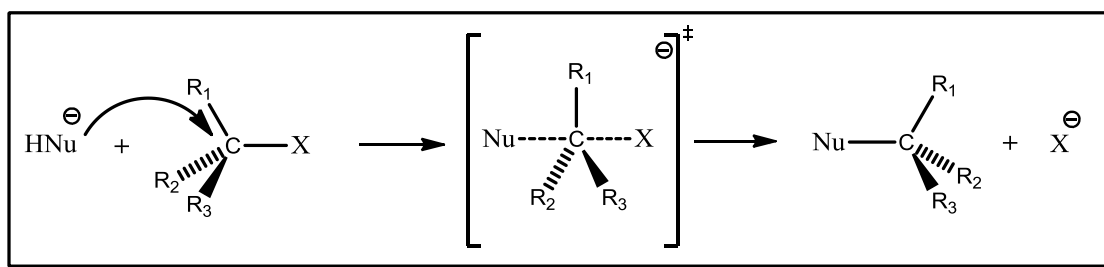


Figura 5. Mecanismo geral da substituição nucleofílica bimolecular (Adaptado: MATSUBARA; ITO, 2016).

Essa metodologia é evidenciada na reação de esterificação com haletos em acetona ou carbonato de potássio, o mecanismo é iniciado com a desprotonação do ácido carboxílico, tornando-o mais reativo, para então ocorrer à substituição nucleofílica com o haleto e a formação do éster (**Figura 6**).

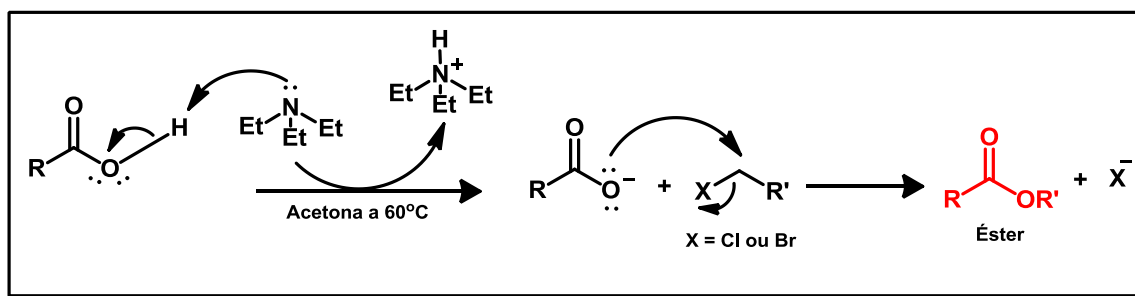


Figura 6. Mecanismo da reação de esterificação com haletos alquílicos e arílicos em acetona anidra na presença de trietilamina (Adaptado: ISENMANN, 2013).

A reação de Mitsunobu é a terceira reação deste trabalho para formação de ésteres, que consiste no acoplamento desidratado utilizado álcool e ácido na presença de agentes oxido-redutores como o agente oxidante Azodicarboxilato de diisopropila (DIAD) e agente redutor Trifenilfosfina (TPP), e envolve inversão da configuração estereoquímica do centro do carbono pertencente ao álcool (BUT; TOY, 2007). Além do éster desejado, formam-se subprodutos como a hidrazina dietil azodicarboxilato e o óxido de trifenilfosfina, mostrados na **Figura 7**.

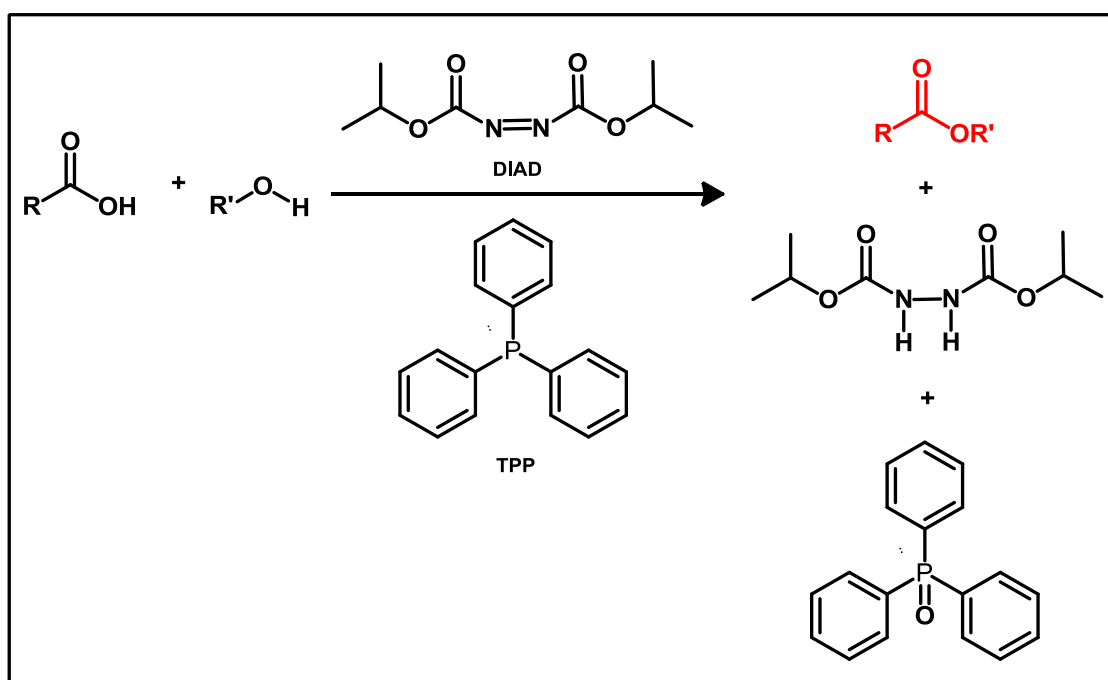


Figura 7. Ilustração da reação de Mitsunobu (Adaptado: SWAMY et al., 2009)

O mecanismo inicia com o ataque nucleofílico do TPP **1** a ligação dupla dos átomos de nitrogênio do agente oxidante DEAD **2** para formar o intermediário reativo estável de cinco membros, betaína ou oxadiazafosfato **3**, este passo da reação é

irreversível. Este composto pode participar de dois caminhos **A** e **B** distintos, que funcionam de maneira inversa. No caminho **A**, o **3** reage com duas moléculas de álcoois produzindo hidrazina DEAD-H₂ **4**, dialcoxifosforano **5**, e em seguida, reage com o ácido formando um sal de oxifosfônio **7**. No caminho **B**, primeiro o ácido é desprotonado pelo composto **3**, formando o composto **6**, para depois reagir com um equivalente de álcool e os produtos citados anteriormente são formados, a hidrazina **4** e o sal de alcoxifosfônio **7**; nesta fase, o composto **6** pode desviar a rota ocorrendo sua degradação, reação esta secundária, formando o composto **8** e o óxido de fosfina, que ocorre quando o ácido utilizado é muito fraco com pKa >15 (SWAMY et al., 2009). Independente do caminho que a reação percorreu, a hidrazina é o primeiro subproduto a ser formado, já o óxido de fosfina só será formado depois com o produto. Posteriormente, ocorre uma reação de substituição nucleofílica SN₂ com o carboxilato e o composto **7**, para formar o óxido de trifenilfosfina TPPO e o produto éster desejado **9**, sendo com estereoquímica invertida do álcool no caminho **A**. Entretanto, se álcool for estericamente impedido e o ácido muito fraco, a reação processa numa outra rota, o carboxilato juntamente com o composto **7** gera aciloxialcoxifosforano **10**, que por sua vez esta em equilíbrio com o sal aciloxifosfônio **11**, e este pode sofrer ataque nucleófilo de um íon carboxilato resultando no anidrido, resumidos na **Figura 8** (SCHENK; WESTON; ANDERS, 2005).

A reação de Mitsunobu se processa em um equilíbrio entre um grupo sal alcoxifosfônio e o sal aciloxifosfônio, dependendo da estereoquímica do álcool. Caso não seja estericamente impedido, o sal de alcoxifosfônio é favorecido, resultando no deslocamento nucleófilo de TPPO pelo carboxilato e a formação do éster com inversão de configuração, produto resultante utilizado para a maioria das aplicações da reação de Mitsunobu. Por outro lado, se o grupo for estericamente impedido, o aciloxifosfônio é favorecido, e os resultados são formação de éster com retenção da configuração e anidrido (AHN; CORREIA; DESHONG, 2002).

Para uma explicação melhorada do parágrafo anterior, temos que este mecanismo apresenta algumas particularidades, onde o composto **7** mantém um equilíbrio com o sal aciloxifosfônio **11**, mediada por **4** e dependente do pKa do ácido, caso o pKa apresente um teor mais alcalino, a molécula **7** não será favorecida, formando o produto com a estereoquímica original do álcool **9** e o anidrido **12**; isso só ocorre em situações muito raras, como álcoois estericamente impedidos que façam lactonização intramolecular (AHN; DESHONG, 2002).

2.4. Relação estrutura-atividade

Muitas pesquisas realizadas na Química Farmacêutica estudam a estrutura molecular de compostos relacionados com suas atividades farmacológicas. Propriedades físico-químicas, características eletrônicas, solubilidade, são algumas variáveis que influenciam na interação do fármaco com uma macromolécula receptora, desencadeando a resposta biológica desejada. O estudo de relação estrutura-atividade (SAR) interpreta as estruturas semelhantes dos análogos e as suas respectivas atividades biológicas, pois a similaridade química entre os compostos pressupõe atividades farmacológicas similares, entretanto eles se diferenciam pela potência e efeitos colaterais indesejáveis, podendo até atuar em sítios alvos diferentes ocasionando uma atividade distinta do esperado. (ECKERT; BAJORATH, 2007; THOMAS, 2003). Logo, o SAR determina as pequenas alterações na molécula líder, em sua cadeia carbônica por grupos substituintes em posições definidas (LIMA, 2007), seguida da avaliação de sua atividade biológica, com o intuito de diminuir a toxicidade e potencializar a ação do fármaco, aumentando a seletividade e a melhora nos perfis farmacocinéticos (BARREIRO, 2014; TAVARES, 2004).

Na estrutura molecular, podemos medir parâmetros físico-químicos que são determinantes para as características da molécula, dentre os principais parâmetros que influenciam no perfil farmacoterapêutico temos o coeficiente de partição, que representa a relação entre o perfil de hidro e lipossolubilidade, e o coeficiente de ionização, expresso pelo pKa, que representa as espécies neutras e ionizadas da molécula em cada compartimento (BARREIRO, 2014). Assim o fármaco é dependente intrinsecamente desses fatores para atingir concentrações plasmáticas capazes de reproduzir o efeito biológico e uma pequena mudança na molécula pode acarretar grandes variações em sua atividade (TAVARES, 2004).

A lipossolubilidade é mensurada através do coeficiente de partição, que é determinado pela distribuição da molécula em dois compartimentos imiscíveis. Assim, se a molécula possui um alto coeficiente de partição terá mais afinidade em ambientes orgânicos apolares e se difundirá prontamente pelas membranas lipídicas, ocorrendo precisamente sua extensão de absorção e velocidade de distribuição, atingindo o alvo desejado. Apesar deste parâmetro conferir a molécula um melhor perfil de biodisponibilidade e conseqüentemente otimização da atividade, entretanto o aumento da sua estrutura pode afetar sua capacidade de ligação ao sítio alvo e isto resultará numa perda de atividade através da formação de micelas no lúmen intestinal pela ação dos sais biliares (KIMURA, 2009).

A constante de ionização, relativo às formas neutras e ionizadas da molécula, depende da natureza química e do pH do meio. Essa propriedade é inversamente proporcional a lipofilicidade, de forma que as espécies não ionizadas conseguem atravessar as membranas biológicas por transporte passivo, portanto a otimização no perfil de absorção gastrointestinal após a administração oral de um análogo pode ser alcançada por meio do balanço de seu perfil de permeabilidade e hidrossolubilidade (BARREIRO, 2014).

A rotação das ligações covalente sigma, denominada de conformação, desencadeiam variações no arranjo espacial que dificulta qual a conformação é responsável pelo reconhecimento do ligante com o receptor. Entretanto, algumas estratégias de modificação molecular resultam num confôrmero mais estável de forma a possibilitar a interação mais favorável (SCHWYZER, 1995). A conformação mais adequada da molécula envolve o grau de flexibilidade que seja capaz de facilitar o encaixe do análogo ao sitio alvo ou receptor; entretanto a rigidez da estrutura química através de insaturações favorece a formação de análogos mais sensíveis à oxidação metabólica e torna o fármaco mais reativo; já a introdução de anéis muda a conformação e aumenta o tamanho global do análogo, e isto muitas vezes favorece no preenchimento de uma fenda hidrofóbica num sítio alvo o que intensifica essa ligação, concede estabilidade à molécula com a redução da formação de confôrmeros e produz análogos mais resistentes ao ataque enzimático (THOMAS, 2003).

Os parâmetros estéricos influenciam tanto a fase farmacocinética como a farmacodinâmica, e os análogos sintetizados devem apresentar o mesmo arranjo espacial para ocorrer à atividade biológica estudada, em decorrência na manutenção da ligação do ligante com o centro assimétrico do biorreceptor (SILIPO; VITTORIA, 1990); pois os enantiômeros que apresentam as mesmas propriedades físico-químicas exceto o desvio do plano da luz polarizada, podem apresentar respostas biológicas distintas, mesmo possuindo ligações químicas e distâncias semelhantes (SILVERMAN, 1992). Assim como diferenças no arranjo espacial dos grupos olefínicos vinculado à interação com o receptor acarreta no insucesso da complementariedade dessa ligação, resultando numa diminuição da atividade farmacológica (BARREIRO, 2014).

Portanto, a adequação das propriedades físico-químicas, conformação e estereoquímica aliadas a sua interação com receptor farmacológico, concede ao fármaco alcançar seu efeito terapêutico desejado; e no estudo de relação estrutura- atividade, a estrutura química dos análogos frente ao seu protótipo, descreve os grupos substituintes na molécula que influencia na otimização e seletividade da resposta biológica.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Preparar e avaliar a atividade antimicrobiana de uma coleção de ésteres derivados do ácido cafeíco estruturalmente relacionados e estabelecer uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas.

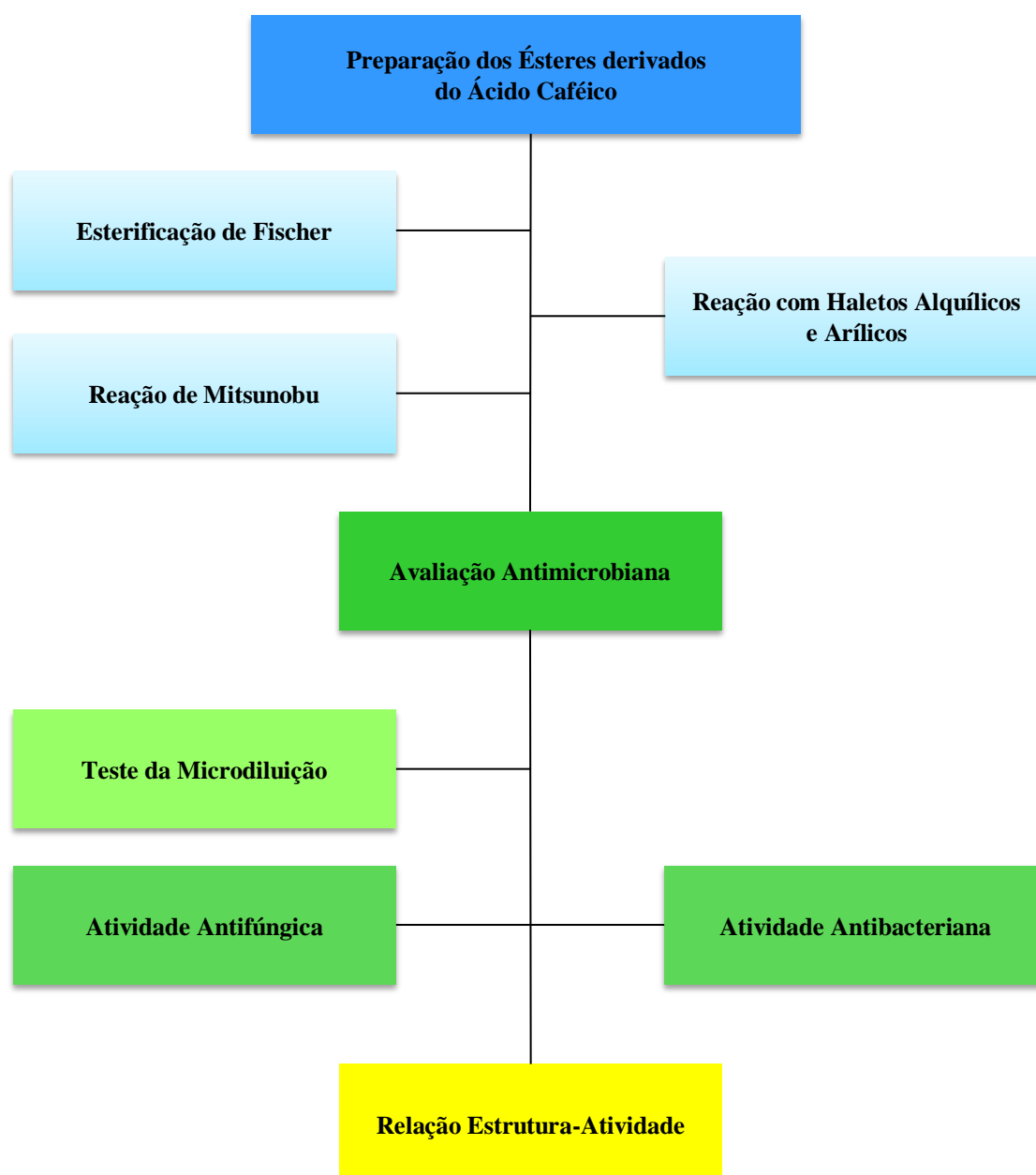
3.2. Específicos

- Preparar os ésteres potencialmente bioativos derivados do ácido cafeíco;
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos derivados;
- Traçar uma relação estrutura-atividade das substâncias avaliadas e determinar influência dos grupos substituintes na atividade antimicrobiana dos ésteres.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Delineamento do estudo desenvolvido

O estudo desenvolvido na presente dissertação foi estruturado conforme o Esquema 1



Esquema 1. Delineamento da etapa química, estudo antimicrobiano e relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico.

4.2. Etapa Química

4.2.1. Etapa de obtenção e preparação dos ésteres derivados do ácido caféico

O ácido caféico (**Figura 9**) foi utilizado como material de partida para preparar uma coleção de ésteres e posteriormente testar sua atividade antimicrobiana.

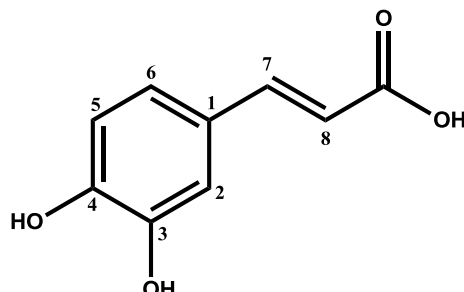
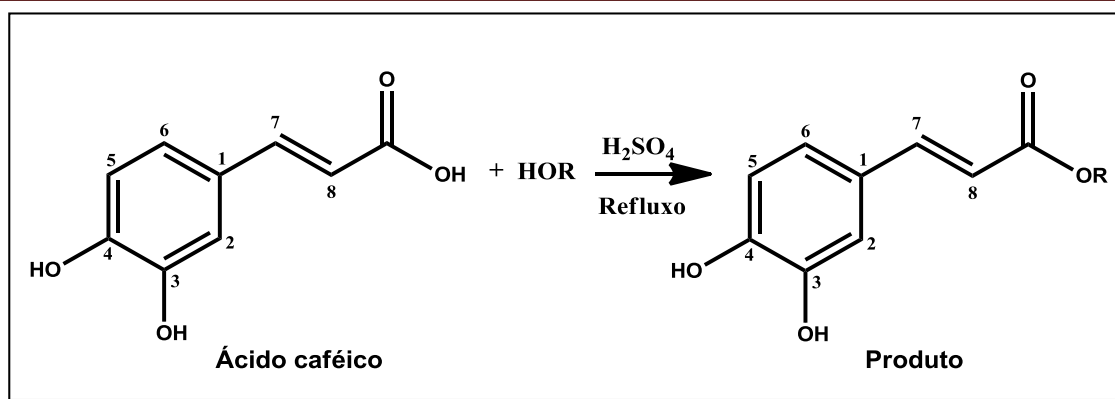


Figura 9 Ácido *trans*-3,4-dihidroxi-cinâmico (ácido caféico).

Os compostos foram obtidos por três tipos de reação: a esterificação de Fischer; reação utilizando haletos alquílicos e arílicos, e reação de Mitsunobu.

A primeira reação utilizada foi a Esterificação de Fischer com a produção de oito compostos (**ME1** a **ME8**), os quais foram obtidos a partir da reação entre o ácido caféico, com álcool em excesso, utilizando ácido sulfúrico (H_2SO_4) como catalisador sob refluxo, monitorado por cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), segundo a metodologia de SANDERSON e colaboradores (2013). Os álcoois utilizados nas reações foram: metanol, etanol, n-propanol, n-butanol, n-pentanol, álcool isopropílico, etilenoglicol e isopentílico, como mostrado no **Esquema 2**. De acordo com a **Tabela 1**, as reações duraram entre 3-21 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 49,00-93,06%, sendo o éster **ME4** com maior rendimento.

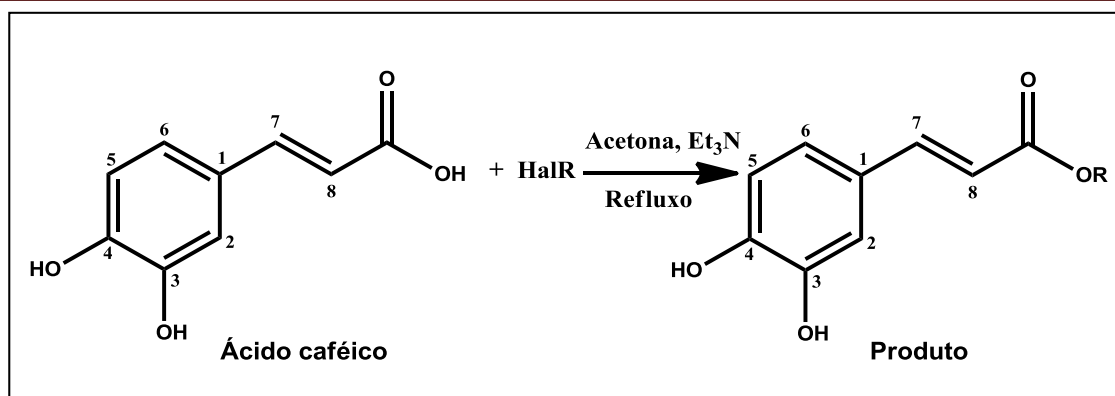


- (1) R = CH₃
 (2) R = CH₂CH₃
 (3) R = CH₂CH₂CH₃
 (4) R = CH(CH₃)₂
 (5) R = CH₂CH₂OCH₃
 (6) R = CH₂CH₂CH₂CH₃
 (7) R = CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
 (8) R = CH₂CH₂CH(CH₃)₂

Esquema 2. Esquema geral da esterificação de Fischer utilizando como material de partida o ácido caféico e álcool alifático.

Foram preparados 8 (oito) ésteres derivados do ácido caféico, e identificados por métodos espectroscópicos de infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C, e Espectrometria de Massas de Alta Resolução para o composto inédito **ME5**, inédito na literatura. Os produtos foram obtidos em curto tempo reacional (3-21 horas), apresentando rendimentos satisfatórios (49,00-93,06%) e utilizando reagentes de baixo custo.

A segunda e a terceira coleção de ésteres foram obtidas pela reação utilizando haletos alquílicos e arílicos, só que em metodologias diferentes. O segundo grupo de ésteres (**ME9**, **ME12**, **ME14** e **ME16**) foi obtido a partir da reação entre o ácido caféico, com acetona anidra na presença trietilamina (Et₃N) sob refluxo, utilizando haletos de alquila e arila como reagente, monitorado por CCDA, segundo a metodologia de BOECK e colaboradores (2005) e LI e colaboradores (2012). Os haletos utilizados nas reações foram: 1-bromo-decano, cloreto de 4-clorobenzila, cloreto de 4-metóxi-benzila e bromo-difenil-metano, como mostrado no **Esquema 3**. De acordo com a **Tabela 1**, as reações duraram entre 46-120 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 11,53-47,53%, sendo o éster **ME9** com maior rendimento (47,53%) e o éster **ME12** o de menor rendimento (11,53%) e reacional (44 horas).

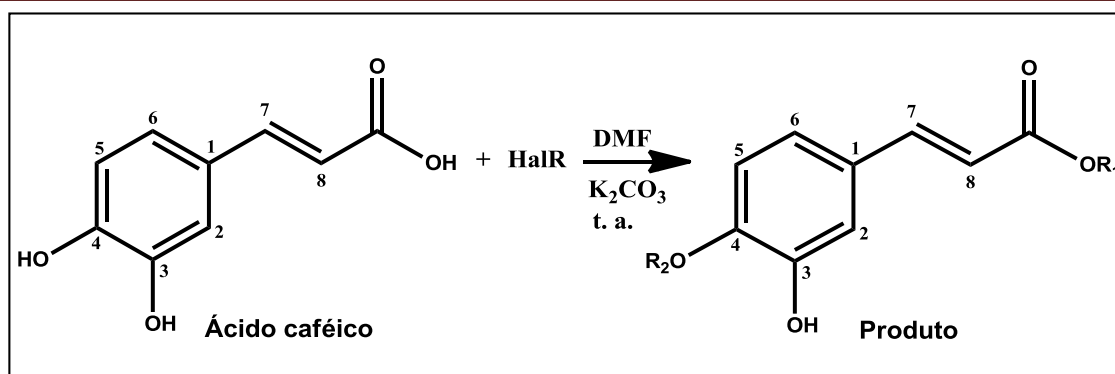


- (9) R = CH₂(CH₂)₇CH₂CH₃
 (12) R = 4-Cl-PhCH₂
 (14) R = 4-OCH₃-PhCH₂
 (16) R = Ph₂CH

Esquema 3. Esquema geral de reações utilizando ácido caféico e haleto alquílico e arílico em acetona sob refluxo.

Preparou-se 4 (quatro) ésteres derivados do ácido caféico, sendo um alifático e três aromáticos, os quais foram identificados por métodos espectroscópicos de Infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C e Espectrometria de Massas de Alta Resolução para os produtos **ME12** e **ME16**, inéditos na literatura. As reações ocorreram em um tempo reacional longo, em especial para o composto **ME16**, que teve cinco dias para formação do produto, além de sua purificação que é mais dificultada por ter a presença do haleto e do produto com RFs muito próximos.

Na obtenção do terceiro grupo de ésteres (**ME9**, **ME12**, **ME13**, **ME14**, **ME15**), utilizou-se o ácido caféico e a base carbonato de potássio (K₂CO₃), juntamente com dimetilformamida (DMF) como solvente e o haleto de alquila e arila como reagente, sob agitação magnética à temperatura ambiente, até o consumo do material de partida, monitorados por CCDA, segundo a metodologia de SHI e colaboradores (2014). Os haletos utilizados nas reações foram: 1-bromo-decano, cloreto de 4-clorobenzila, cloreto de 4-metóxi-benzila, como mostrado no **Esquema 4**. De acordo com a **Tabela 1**, as reações duraram entre 27-50 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 8,20-36,98%, sendo o éster **ME15** com maior rendimento (36,98%).



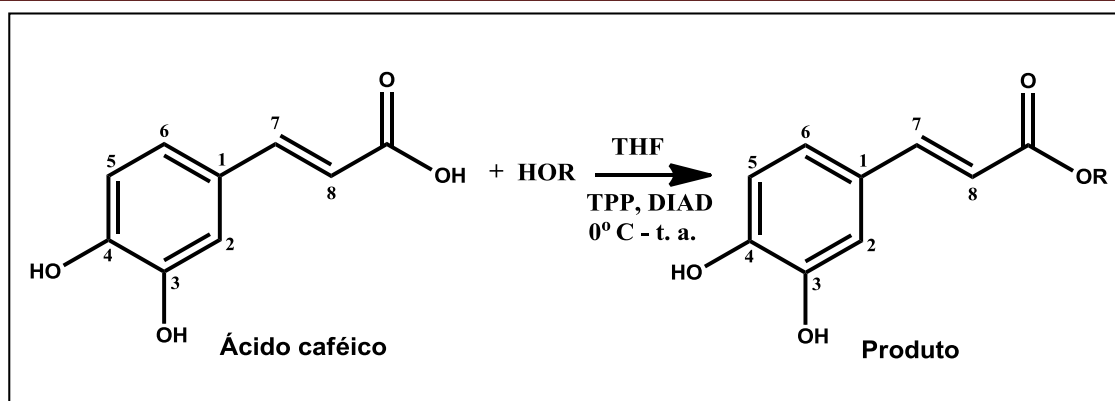
- | | |
|---|--------------------------------------|
| (9) $R_1 = \text{CH}_2(\text{CH}_2)_8\text{CH}_3$ | $R_2 = \text{H}$ |
| (12) $R_1 = 4\text{-Cl-PhCH}_2$ | $R_2 = \text{H}$ |
| (13) $R_1 = 4\text{-Cl-PhCH}_2$ | $R_2 = 4\text{-Cl-PhCH}_2$ |
| (14) $R_1 = 4\text{-OCH}_3\text{-PhCH}_2$ | $R_2 = \text{H}$ |
| (15) $R_1 = 4\text{-OCH}_3\text{-PhCH}_2$ | $R_2 = 4\text{-OCH}_3\text{-PhCH}_2$ |

Esquema 4. Esquema geral de reações utilizando ácido caféico e haleto alquílico e arílico em K_2CO_3 à temperatura ambiente.

Foram preparados 3 (três) ésteres com produtos e mais 2 (dois) derivados como subprodutos, sendo um com substituinte alifático e quatro aromáticos, os quais foram identificados por métodos espectroscópicos de Infravermelho, RMN de ^1H e ^{13}C , além de Espectrometria de Massas de Alta Resolução para o **ME15**, inédito na literatura.

Ao empregar esta metodologia, o propósito era melhorar o rendimento desenvolvido na reação anterior; entretanto, o composto **ME9** apresentou o menor rendimento; para **ME12**, seu rendimento foi melhorado; para **ME14**, seu rendimento foi piorado e o produto **ME16** não se formou nesta metodologia, sendo formados dois subprodutos, o **ME13** (subproduto do **ME12**) e **ME15** (subproduto do **ME14**), fato que contribuiu no baixo rendimento do produto principal.

Os ésteres (**ME10**, **ME11**, **ME14**) foram obtidos por um quarto método, a reação de Mitsunobu, em que o ácido caféico e o álcool aromático foram dissolvidos com tetrahydrofurano (THF) a 0°C . Em seguida, trifenilfosfina (TPP) e o azodicarboxilato de diisopropila (DIAD) foram adicionados a temperatura ambiente, monitorados por CCDA, segundo a metodologia de HANDIQUE e colaboradores (2013). Os álcoois utilizados nas reações foram: álcool benzílico, álcool de 4-metil-benzil, álcool de 4-metóxi-benzil como mostrado no **Esquema 5**. De acordo com a **Tabela 1**, os tempos reacionais foram 46-50 horas, tendo-se obtido rendimentos entre 37,37-53,10%, sendo o éster **ME10** com maior rendimento (53,10%).



(10) R = PhCH₂

(11) R = 4-CH₃-PhCH₂

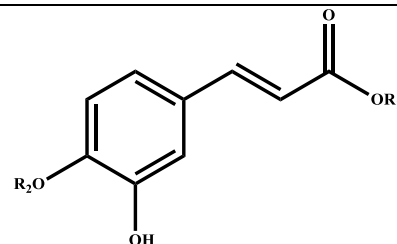
(14) R = 4-OCH₃-PhCH₂

Esquema 5. Esquema geral da reação de Mitsunobu utilizando como material de partida o ácido caféico e álcool aromático.

Os três ésteres aromáticos derivados do ácido caféico foram identificados por métodos espectroscópicos de Infravermelho, RMN de ¹H e ¹³C, e Espectrometria de Massas de Alta Resolução para o produto **ME11**, inédito na literatura.

Em comparação com as outras metodologias, apresenta tempo reacional semelhante e rendimentos superiores que a das reações de haletos alquílicos e arílicos. O produto **ME14** foi produzido por três reações diferentes, constatando que a formação de ésteres pode ocorrer por diversas metodologias.

Tabela 1. Dados das reações de esterificação e dos ésteres derivados do ácido caféico.



Composto	R ₁	R ₂	Fórmula molecular	Massa molar (g/mol)	Faixa de fusão	Tempo de reação (h)	Quantidade em massa mg	Sistema da coluna (Hex:AcOEt)	Rendimento (%)
ME1	CH ₃	OH	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	194,18	245-250 °C	I - 5	I - 189,2	06:04	I - 87,77
ME2	C ₂ H ₅	OH	C ₁₁ H ₁₂ O ₄	208,21	170-178 °C	I - 5	I - 200,0	06:04	I - 86,53
ME3	C ₃ H ₇	OH	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222,24	165-170 °C	I - 6	I - 267,5	06:04	I - 85,96
ME4	C ₃ H ₇	OH	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	222,24	155-160 °C	I - 8	I - 287,0	07:03	I - 93,06
ME5	C ₃ H ₇ O	OH	C ₁₂ H ₁₄ O ₅	238,24	-	I - 9	I - 203,8	05:05	I - 61,64
ME6	C ₄ H ₉	OH	C ₁₃ H ₁₆ O ₄	236,26	-	I - 7	I - 300,1	06:04	I - 91,53
ME7	C ₅ H ₁₁	OH	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250,29	-	I - 21	I - 175,4	07:03	I - 50,50
ME8	C ₅ H ₁₁	OH	C ₁₄ H ₁₈ O ₄	250,29	150-154 °C	I - 3	I - 169,5	05:05	I - 49,00
ME9	C ₁₀ H ₂₁	OH	C ₁₉ H ₂₈ O ₄	320,42	-	II - 48 III - 27	II - 174,2 III - 29,0	08:02	II - 47,53 III - 8,20
ME10	C ₇ H ₇	OH	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270,28	129-135 °C	IV - 46	IV - 159,3	07:03	IV - 53,10
ME11	C ₈ H ₉	OH	C ₁₇ H ₁₆ O ₄	284,31	180-186 °C	IV - 50	IV - 80,4	07:03	IV - 50,95
ME12	C ₇ H ₆ Cl	OH	C ₁₆ H ₁₃ ClO ₄	304,73	105-109 °C	II - 44 III - 50	II - 39,0 III - 89,4	07:03	II - 11,53 III - 26,43
ME13	C ₇ H ₆ Cl	C ₇ H ₆ Cl	C ₂₃ H ₁₈ Cl ₂ O ₄	429,29	173-179 °C	III - 50	III - 40,0	08:02	III - 11,82
ME14	C ₈ H ₉ O	OH	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300,31	177-182 °C	II - 46 III - 45 IV - 48	II - 146,7 III - 72,4 IV - 62,3	07:03	II - 42,70 III - 21,72 IV - 37,37
ME15	C ₈ H ₉ O	C ₈ H ₉ O	C ₂₅ H ₂₄ O ₆	420,45	245-251 °C	III - 45	III - 172,6	08:02	III - 36,98
ME16	C ₁₃ H ₁₁	OH	C ₂₂ H ₁₈ O ₄	346,38	-	II - 120	II - 162,2	08:02	II - 27,29

I - Reação de Esterificação de Fischer; II - Reação da Acetona; III - Reação do K₂CO₃; IV - Reação de Mitsunobu.

4.3. Análise espectroscópica dos ésteres derivados do ácido caféico

A caracterização estrutural dos compostos foi estabelecida através de dados de IV, RMN de ^1H e ^{13}C e HR-MS.

4.3.1. Interpretação dos espectros de infravermelho dos compostos ME1 a ME16

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

Na análise dos espectros dos diferentes análogos, as estruturas moleculares dos compostos **ME1** a **ME16** apresentam o mesmo anel do ácido caféico devido serem oriundos desse ácido, e exibem bandas de absorção semelhantes como, acima de 3000 referentes ao estiramento de C-H sp^2 , juntamente com bandas de absorção de estiramento do anel C=C que ocorre aos pares nas regiões de 1600 e 1475 cm^{-1} , e sugerem a presença do anel aromático; bandas de estiramento C=O na faixa de 1750-1735 cm^{-1} características de carbonilas de ésteres, no entanto observamos a diminuição da frequência de absorção da carbonila devido à conjugação da dupla ligação da cadeia lateral α , β insaturado com o grupo carbonila, resultando um caráter de ligação simples para as ligações duplas; estiramento C-O atribuída a ligação C-O no éster aparecem com duas bandas na faixa de 1300 a 1000 cm^{-1} ; estiramento O-H é um pico agudo na região 3650 - 3600 cm^{-1} , atribuído as hidroxilas fenólicas. Esses resultados são apresentados na

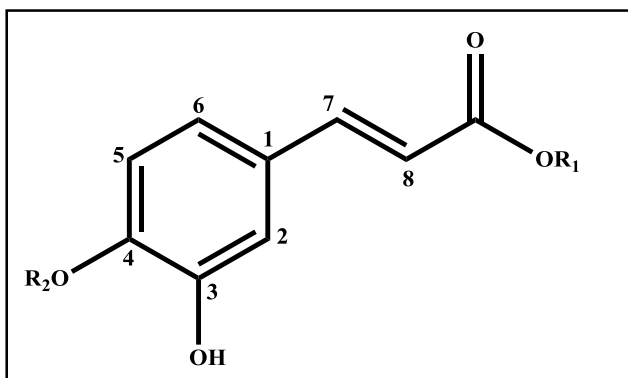
Tabela 2

Os análogos alquílicos são observados bandas de estiramento C-H de alcano por volta de 3000 cm^{-1} , grupo metilenos com absorção de dobramento em 1465 cm^{-1} e grupos metila em 1375 cm^{-1} . Nos derivados arílicos, observamos uma banda forte de vibração de dobramento para posição *para*, na região entre 800-850 cm^{-1} , com uma absorção característica para seu substituinte na posição *para*.

Tabela 2. Assinalamentos de IV dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1–ME16).

Composto	ν (O-H)	ν (C-H ^{sp2})	ν (C-H ^{sp3})	ν (C=O)	ν (C=C)	ν (C-O)
ME1	3313	3097	2957	1676	1600 1440	1276 1178
ME2	3179	3065	2990	1657	1606 1448	1283 1220
ME3	3459	3085	2970	1663	1606 1442	1277 1188
ME4	3307	3047	2976	1677	1594 1442	1277 1188
ME5	3319	3071	2945	1689	1600 1442	1272 1176
ME6	3334	3059	2957	1683	1606 1448	1277 1181
ME7	3402	3039	2957	1695	1606 1460	1283 1175
ME8	3313	3053	2957	1677	1606 1448	1283 1181
ME9	3299	3059	2964	1677	1606 1442	1277 1175
ME10	3299	3039	2964	1689	1600 1454	1283 1181
ME11	3332	3027	2976	1677	1600 1435	1271 1163
ME12	3338	3053	2964	1677	1600 1435	1258 1175
ME13	3332	3059	2976	1695	1606 1442	1277 1169
ME14	3338	3059	2945	1702	1614 1435	1194 1125
ME15	3344	3059	2831	1702	1620 1435	1188 1112
ME16	3370	3059	2970	1702	1606 1448	1271 1149

4.3.2. Interpretação dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos ME1 a ME16



(1) $\text{R}_1 = \text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(2) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(3) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(4) $\text{R}_1 = \text{CH}_3\text{CHCH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(5) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(6) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(7) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(8) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHCH}_3\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(9) $\text{R}_1 = \text{CH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_6\text{CH}_2\text{CH}_3$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(10) $\text{R}_1 = \text{PhCH}_2$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(11) $\text{R}_1 = 4\text{-CH}_3\text{PhCH}_2$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(12) $\text{R}_1 = 4\text{-ClPhCH}_2$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(13) $\text{R}_1 = 4\text{-ClPhCH}_2$	$\text{R}_2 = 4\text{-ClPhCH}_2$
(14) $\text{R}_1 = 4\text{-OCH}_3\text{PhCH}_2$	$\text{R}_2 = \text{H}$
(15) $\text{R}_1 = 4\text{-OCH}_3\text{PhCH}_2$	$\text{R}_2 = 4\text{-OCH}_3\text{PhCH}_2$
(16) $\text{R}_1 = \text{CHPh}_2$	$\text{R}_2 = \text{H}$

Esquema 6. Esquema geral dos ésteres derivados do ácido caféico.

De acordo com a **Esquema 6**, os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos produtos sintetizados provenientes do ácido caféico, demonstram a presença de 5 (cinco) hidrogênios em comum (**H2, H5, H6, H7, H8**) sendo 3 (três) do anel aromático e 2 (dois) na cadeia lateral ligada na posição 1 (um) do anel aromático; como também, 9 (nove) carbonos em comum (**C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7, C8, C=O**), sendo 6 (seis) do anel aromático e 3 (três) da cadeia lateral com a presença da carbonila do éster, que confirmam as estruturas dos ésteres derivados do ácido caféico.

Os sinais de hidrogênios obtidos em (DMSO-d₆, 200 MHz, ppm), com maior deslocamento, referente ao composto **M16**, foram: para os hidrogênios olefínicos temos dois dubletos em δ 7,59 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 6,43 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), atribuídos aos hidrogênios **H7** e **H8**, respectivamente, a configuração *trans* é confirmada pela constante de acoplamento ($J = 16,0$ Hz); para os hidrogênios aromáticos temos dois dubletos e um duplo dubleto em δ 7,10 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,06 (dd, $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H) e 6,77 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H) concedido aos prótons **H2**, **H6** e **H5**, respectivamente, esses valores das constantes de acoplamento mostra que o **H6** acopla tanto com o **H5** e **H2**. As constantes de acoplamento semelhantes evidenciam o acoplamento que ocorre entre os hidrogênios vizinhos e os sinais dos hidrogênios metilênicos e metílicos das cadeias laterais saturadas assim como os sinais metínicos dos hidrogênios aromáticos são mostrados nas **Tabelas 3, 4, 5 e 6** abaixo.

Os dados de RMN ¹³C, evidenciados na **Tabela 7**, apresentam valores de deslocamentos químicos que confirmam também a identidade dos compostos. Para os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze, os sinais obtidos em (DMSO-d₆, 50 MHz, ppm), com maior deslocamento, foram: 168,8 característico de C=O de éster, três sinais próximo a região 149,4 - 144,9 atribuídos a carbonos **C4**, **C3**, **C7**, respectivamente, sinal 127,6 (**C1**), sinal 122,9 (**C6**), sinais 116,5 - 113,6 atribuídos aos carbonos **C5**, **C8**, **C2** respectivamente, como mostrado na **Tabela 7**. Além desses sinais, também são evidenciados os deslocamentos químicos dos carbonos das cadeias laterais saturadas e aromáticas, confirmando a estrutura de cada composto.

A atribuição dos sinais correspondentes aos hidrogênios assim como aos carbonos foi efetuada por comparação com dados publicados na literatura para compostos idênticos ou análogos.

Tabela 3. Assinalamentos de RMN de ^1H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1 – ME4).

	ME1	ME2	ME3	ME4
Posição				
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-	-	-
2	7,06 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,05 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,05 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,04 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,75 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	7,00 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	7,00 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	7,00 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	6,99 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)
7	7,48 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,47 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,47 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,44 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)
8	6,27 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,25 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,26 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,23 (<i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H)
C=O	-	-	-	-
1'	3,68 (<i>s</i> , 3H)	4,15 (<i>q</i> , $J = 7,0$ Hz, 2H)	4,06 (<i>t</i> , $J = 6,6$, 2H)	4,98 (<i>sept</i> , $J = 6,2$ Hz, 1H)
2'	-	1,23 (<i>t</i> , $J = 7,0$ Hz, 3H)	1,63 (<i>sex</i> , $J = 7,0$, 2H)	1,23 (<i>d</i> , $J = 6,2$ Hz, 6H)
3'	-	-	0,91 (<i>t</i> , $J = 7,4$, 3H)	-

Tabela 4. Assinalamentos de RMN de ^1H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME5 – ME8).

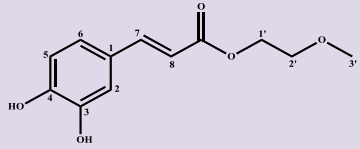
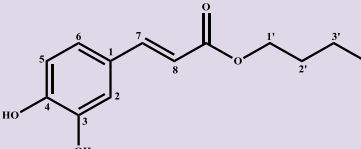
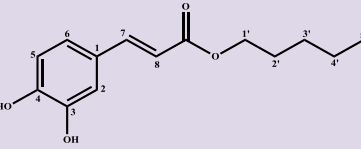
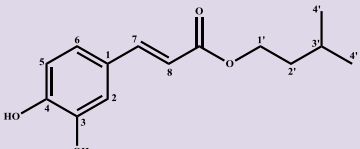
	ME5	ME6	ME7	ME8
Posição				
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-	-	-
2	7,06 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,05 (<i>d</i> , $J = 2,5$ Hz, 1H)	7,05 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,04 (<i>s</i> , 1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	7,01 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	6,99 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,5 Hz, 1H)	7,00 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	6,99 (<i>dd</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
7	7,47 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,46 (<i>d</i> , $J = 15,5$ Hz, 1H)	7,46 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,46 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)
8	6,28 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,26 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,26 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,25 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)
C=O	-	-	-	-
1'	4,22 (<i>t</i> , $J = 4,8$, 2H)	4,11 (<i>t</i> , $J = 6,5$ Hz, 2H)	4,10 (<i>t</i> , $J = 6,6$ Hz, 2H)	4,13 (<i>t</i> , $J = 6,6$ Hz, 2H)
2'	3,56 (<i>t</i> , $J = 4,8$, 2H)	1,60 (<i>quint</i> , $J = 6,5$ Hz, 2H)	1,62 (<i>quint</i> , $J = 6,8$ Hz, 2H)	1,51 (<i>q</i> , $J = 6,4$ Hz, 2H)
3'	3,27 (<i>s</i> , 3H)	1,36 (<i>sex</i> , $J = 7,5$ Hz, 2H)	1,36 – 1,22 (<i>m</i> , 4H)	1,78 – 1,58 (<i>m</i> , 1H)
4'	-	0,90 (<i>t</i> , $J = 7,5$ Hz, 3H)	1,36 – 1,22 (<i>m</i> , 4H)	0,90 (<i>d</i> , $J = 6,4$ Hz, 6H)
5'	-	-	0,87 (<i>t</i> , $J = 7,0$ Hz, 3H)	-

Tabela 5. Assinalamentos de RMN de ^1H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME9 – ME12).

	ME9	ME10	ME11	ME12
Posição				
	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}	δ_{H}
1	-	-	-	-
2	7,04 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,07 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,06 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)	7,07 (<i>d</i> , $J = 2,0$ Hz, 1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	6,75 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,75 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)	6,76 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 1H)
6	6,99 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	7,02 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)	7,00 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,2 Hz, 1H)	7,02 (<i>dd</i> , $J = 2,0$ Hz; 8,0 Hz, 1H)
7	7,46 (<i>d</i> , $J = 15,8$ Hz, 1H)	7,45 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,50 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	7,53 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)
8	6,25 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,33 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,30 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)	6,33 (<i>d</i> , $J = 16,0$ Hz, 1H)
C=O	-	-	-	-
1'	4,10 (<i>dd</i> , $J = 6,2$ Hz, 2H)	-	-	-
2'	1,60 (<i>quint</i> , $J = 6,2$ Hz, 2H)	7,41 – 7,32 (<i>m</i> , 5H)	7,29 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 2H)	7,44 (<i>sl</i> , 4H)
3'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)	7,41 – 7,32 (<i>m</i> , 5H)	7,18 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 2H)	7,44 (<i>sl</i> , 4H)
4'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)	7,41 – 7,32 (<i>m</i> , 5H)	-	-
5'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)	7,41 – 7,32 (<i>m</i> , 5H)	7,18 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 2H)	7,44 (<i>sl</i> , 4H)
6'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)	7,41 – 7,32 (<i>m</i> , 5H)	7,29 (<i>d</i> , $J = 8,0$ Hz, 2H)	7,44 (<i>sl</i> , 4H)
7'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)	5,19 (<i>s</i> , 2H)	5,13 (<i>s</i> , 2H)	5,18 (<i>s</i> , 2H)
8'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)		2,29 (<i>s</i> , 3H)	
9'	1,30 - 1,23 (<i>m</i> , 14H)			
10'	0,84 (<i>t</i> , $J = 6,0$ Hz, 3H)			

Tabela 6. Assinalamentos de RMN de ¹H dos ésteres derivados do ácido caféico (ME13 – ME16).

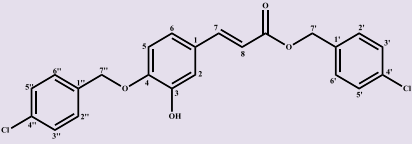
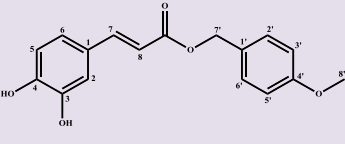
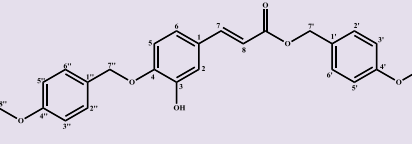
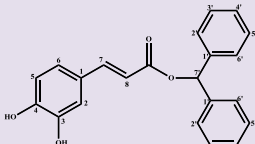
	ME13	ME14	ME15	ME16
Posição				
	δ_H	δ_H	δ_H	δ_H
1	-	-	-	-
2	7,14 (s, 1 H)	7,05 (d, J = 2,0 Hz, 1H)	7,10 (s, 1H)	7,10 (d, J = 2,0 Hz, 1H)
3	-	-	-	-
4	-	-	-	-
5	7,00 (d, J = 8,4 Hz, 1H)	6,75 (d, J = 8,0 Hz, 1H)	6,94 – 6,86 (m, 5H)	6,77 (d, J = 8,0 Hz, 1H)
6	7,10 (d, J = 2,0 Hz, 1H)	7,00 (dd, J = 2,0 Hz; 8,0 Hz, 1H)	7,02 (dd, J = 2,0 Hz, 8,0 Hz, 1H)	7,06 (dd, J = 2,0 Hz; 8,0 Hz, 1H)
7	7,56 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	7,49 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	7,51 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	7,59 (d, J = 16,0 Hz, 1H)
8	6,41 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	6,29 (d, J = 16,0 Hz, 1H)	6,36 (d, J = 15,8 Hz, 1H)	6,43 (d, J = 16,0 Hz, 1H)
C=O	-	-	-	-
1'	-	-	-	-
2' e 6'	7,49 – 7,43 (m, 8H)	7,35 (d, J = 8,8 Hz, 2H)	7,35 (d, J = 8,6 Hz, 2H)	7,47 -7,28 (m, 10H)
3' e 5'	7,49 – 7,43 (m, 8H)	6,93 (d, J = 8,6 Hz, 2H)	6,94 – 6,86 (m, 5H)	7,47 -7,28 (m, 10H)
4'	-	-	-	7,47 -7,28 (m, 10H)
7'	5,19 (s, 2H)	5,11 (s, 2H)	5,11 (s, 2H)	6,90 (s, 1H)
8'	-	3,75 (s, 3H)	3,74 (s, 3H)	-
1''	-	-	-	-
2'' e 6''	7,49 – 7,43 (m, 8H)	-	7,22 (d, J = 8,6 Hz, 2H)	-
3'' e 5''	7,49 – 7,43 (m, 8H)	-	6,94 – 6,86 (m, 5H)	-
4''	-	-	-	-
7''	5,16 (s, 2H)	-	5,07 (s, 2H)	-
8''	-	-	3,74 (s, 3H)	-

Tabela 7. Asinalamentos de RMN de ^{13}C dos ésteres derivados do ácido caféico (ME1 – ME16).

	ME1	ME2	ME3	ME4	ME5	ME6	ME7	ME8	ME9	ME10	ME11	ME12	ME13	ME14	ME15	ME16
	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c	δ_c
1	125,6	125,6	125,6	127,6	125,5	125,57	125,5	125,5	125,6	125,6	125,5	125,5	127,2	125,5	127,1	125,5
2	113,8	114,1	114,1	115,1	113,8	114,09	114,1	114,1	114,1	113,7	113,8	113,6	113,7	113,6	113,6	113,7
3	145,7	145,6	145,7	146,7	145,6	145,62	145,6	145,6	145,7	145,7	145,6	145,6	147,0	145,6	147,2	145,6
4	148,5	148,5	148,5	149,4	148,5	148,42	148,4	148,4	148,5	148,6	148,6	148,5	148,8	148,5	149,2	148,6
5	115,8	115,8	115,8	116,5	115,8	115,79	115,8	115,8	115,9	115,8	115,8	115,8	115,0	115,8	115,1	115,8
6	121,6	121,5	121,5	122,9	121,6	121,43	121,4	121,4	121,5	121,7	121,6	121,6	121,2	121,5	121,3	121,7
7	145,3	145,1	145,1	146,6	145,5	145,05	145,1	145,1	145,2	145,5	145,5	145,8	145,2	145,4	144,9	146,0
8	114,8	114,8	114,8	115,6	114,9	114,80	114,9	114,8	114,9	114,9	114,9	114,9	114,8	114,9	114,6	115,0
C=O	167,2	166,7	166,8	168,8	166,7	166,70	166,7	166,7	166,7	166,6	166,5	166,3	166,3	166,6	166,5	165,6
1'	51,4	59,8	65,3	69,0	69,9	63,49	63,8	62,2	63,7	136,5	133,5	135,5	136,0	128,4	128,9	140,8
2'	-	14,4	21,8	22,2	63,0	30,42	28,1	37,1	31,4	128,0	129,1	128,5	128,5	130,1	130,3	126,6
3'	-	-	10,4	-	58,2	18,75	27,7	24,7	29,1	128,7	128,3	129,9	129,9	113,9	113,9	128,6
4'	-	-	-	-	-	13,66	21,9	22,4	29,1	128,3	137,4	132,6	132,7	159,2	159,3	127,8
5'	-	-	-	-	-	-	14,0	-	28,8	128,7	128,3	129,9	129,9	113,9	113,9	128,6
6'	-	-	-	-	-	-	-	-	28,8	128,0	129,1	128,5	128,5	130,1	130,3	126,6
7'	-	-	-	-	-	-	-	-	28,4	65,4	65,3	64,5	68,9	65,2	69,6	76,1
8'	-	-	-	-	-	-	-	-	25,6	-	21,9	-	-	55,2	55,2	-
9'	-	-	-	-	-	-	-	-	22,2	-	-	-	-	-	-	-
10'	-	-	-	-	-	-	-	-	14,1	-	-	-	-	-	-	-
1''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	135,4	-	128,4	-
2''-6''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	128,4	-	129,8	-
3''-5''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	129,5	-	113,8	-
4''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	132,4	-	159,1	-
7''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	64,6	-	65,4	-
8''	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55,1	-

4.3.3. Interpretação dos espectros de massas dos compostos ME5, ME11, ME12, ME15 e ME16

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 derivados do ácido caféico com precisão de 4 casas decimais. Segundo Brenton e Godfrey (2010), foram considerados como massas exatas, aqueles sinais cujos valores ficaram entre $\pm 20\%$ das massas calculadas teóricas, os quais estão descritos na tabela a seguir.

Tabela 8. Dados do espectro de massas tipo MALDI dos ésteres ME5, ME11, ME12, ME15 e ME16.

Composto	Pico íon-molecular	Massa calculada	Massa do espectro	Erro percentual (%)
ME5	$[M+H]^+$	239,0919	239,1599	2,84
ME11	$[M]^+$	284,1049	284,4357	11,64%
ME12	$[M]^+$	304,0502	304,3855	11,03%
ME15	$[M]^+$	420,1573	420,0234	-3,19
ME16	$[M]^+$	346,1205	346,2877	4,83

4.4. Atividade antimicrobiana dos ésteres derivados do ácido caféico

4.4.1. Relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antifúngico

A avaliação da atividade antifúngica dos ésteres derivados do ácido caféico foi realizada pela técnica da microdiluição em caldo de acordo com o protocolo do CLSI (2008), utilizando oito cepas de *Candida*: *C. albicans* ATCC 76645; *C. albicans* LM-106; *C. albicans* LM-120; *C. tropicalis* ATCC-13803; *C. tropicalis* LM-14; *C. krusei* LM-7A; *C. krusei* LM-08 e *C. krusei* LM-13. A atividade antifúngica (**Tabela 9**) dos produtos foi interpretada e considerada ativa ou não de acordo com os seguintes parâmetros: 50-100 µg/mL = boa atividade; 100-500 µg/mL = atividade moderada; 500-1000 = fraca atividade; > 1000 µg/mL = produto inativo (HOLETZ et al., 2002).

O estudo da relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico foi baseado nos resultados da concentração inibitória mínima sobre as cepas fúngicas testadas do gênero *Candida*. A preparação desses compostos estruturalmente semelhantes, com mudança no número da cadeia alquílica e no tipo de substituintes no anel aromático como doadores ou retiradores de elétrons, podem causar alterações significativas nas propriedades dos compostos e resultar em diferentes atividades antifúngicas. Logo os resultados obtidos neste trabalho podem servir de referência para o desenvolvimento de novos protótipos antifúngicos com perfil biológico mais promissor.

Os resultados dos ensaios de atividade antifúngica dos ésteres **ME1** a **ME16**, desenvolvido no laboratório de microbiologia da Universidade Federal da Paraíba, coordenado pela profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima, estão registrados na **Tabela 09** (pág 47). As espécies de leveduras apresentaram sensibilidade aos ésteres **ME1**, **ME2**, **ME3**, **ME4**, **ME7** e **ME13**. As demais substâncias não produziram inibição sobre o crescimento das cepas.

De acordo com os resultados explanados na **Tabela 09**, observamos que o composto **ME1** apresentou CIM = 512 µg/mL em todas as cepas testadas o qual serviu de base para comparação aos demais análogos devido sua estrutura simples com apenas um átomo de carbono, ao passo que com o aumento da cadeia lateral alquílica observado para cadeia com dois e três átomos de carbono, como também através da ramificação com três átomos de carbono, esta atividade foi diminuída como verificado para **ME2**, **ME3**, **ME4**, respectivamente, os quais obtiveram resultados da CIM = 1024

µg/mL em todas as cepas testadas. Dando continuidade, o composto **ME5**, que apresenta um heteroátomo numa cadeia lateral e o **ME6**, cadeia alquílica com quatro átomos de carbono, não apresentaram atividade. Entretanto, o resultado da atividade do composto **ME7** com CIM = 128 µg/mL contrasta a informação citada acima, pois esse composto apresenta uma cadeia lateral simples com cinco átomos de carbono, sensibilidade 4x maior que **ME1** e 8x maior que **ME2**, **ME3**, **ME4**. Dessa forma, pode sugerir que a cadeia com cinco átomos de carbono confere uma lipofilicidade maior ao composto **ME7**, devido ao maior coeficiente de partição, tendem a ultrapassar com mais facilidade as biomembranas hidrofóbicas, assim apresentam um melhor perfil de biodisponibilidade e torna-o mais potente frente às cepas testadas. Ainda dentro desse raciocínio, observa-se que os ésteres **ME8**, com cadeia ramificada de cinco átomos de carbono e **ME9**, com cadeia lateral de dez átomos de carbono, não apresentaram atividade. Portanto, diante dos resultados das amostras testadas frente aos testes antifúngicos, eles propõem que a ramificação bem como o aumento da cadeia carbônica até certo ponto não se mostra interessante no melhoramento da atividade, pois o aumento no número dos grupos metílenos pode resultar na formação de micelas, que são agregados cujas dimensões não conseguem ligar-se ao seu sítio alvo. Sardi e colaboradores (2016), mostra que o composto cafeato de hexila é o mais sensível frente à *Candida albicans* ATTC 90028 com CIM = 7,81 µg/mL, frente aos ésteres derivados do ácido caféico testados que variaram apenas o tamanho da cadeia carbônica linear como radical. De Vita e colaboradores (2014), testou as mesmas estruturas dos cafeatos **ME1-ME4**, e todos apresentaram atividade antifúngica contra *Candida albicans* ATTC 10231 com CIM = 256 µg/mL. Os resultados acima apresentados corroboram com os publicados na literatura.

Ao analisar a atividade antifúngica dos ésteres aromáticos, tomando como referência o composto **ME10**, com um anel benzílico em seu radical, o mesmo não apresentou atividade diante das cepas. Ao passo que, os demais também foram inativos como, **ME11**, anel com substituinte metila, **ME12**, anel com substituinte cloro, **ME14**, anel com substituinte metoxila, **ME15**, anel aromático com substituinte metoxila, tanto no seu radical como na hidroxila da posição *para* do ácido caféico, e **ME16**, radical com dois anéis aromáticos. É possível concluir que os análogos arílicos não tem potencial fungicida para inibir o crescimento antifúngico em comparação com os alquílicos, devido ser um grupo volumoso e provavelmente dificulta a ligação com seu alvo. De Vita e colaboradores (2014) testou o cafeato com o radical benzílico tendo como

substituinte metoxila na posição *para* e o flúor na *meta*, CIM = 256 µg/mL, isso nos mostra que o fluoreto é essencial para a molécula apresentar atividade.

O único éster benzílico que teve atividade antifúngica foi o composto **ME13** com CIM = 256 µg/mL, anel aromático com substituinte clorado tanto no seu radical como na posição *para* do anel caféico do éster. O composto apresenta atividade frente a 100% das cepas testadas, fato este que está relacionado com o substituinte *para* clorado no anel caféico, visto que é a única diferença observada entre as moléculas citadas.

Diante dos resultados obtidos, os compostos mais sensíveis foram **ME7** e **ME13** com atividade moderada, enquanto que os compostos **ME1**, **ME2**, **ME3** e **ME4** apresentaram fraca atividade de acordo com o protocolo Holetz e colaboradores (2002), os demais compostos foram inativos para as cepas testadas. A relação estrutura-atividade desses compostos mostra que o produto com cadeia lateral alquílica mediana com cinco átomos de carbono, assim como o substituinte benzílico clorado na posição radicalar e no anel caféico apresentaram as melhores atividades antifúngicas encontradas.

Tabela 9. Resultados da Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM ($\mu\text{g/mL}$) de dezesseis substâncias sobre leveduras do gênero *Candida* – Técnica da Microdiluição.

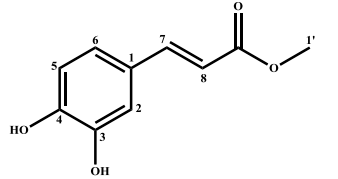
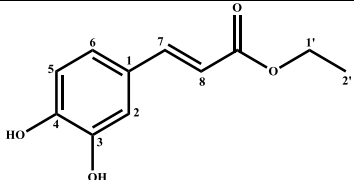
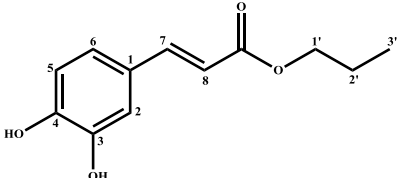
CIM									
Éster $\mu\text{g/mL}$	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-120	<i>Candida albicans</i> LM-106	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-14	<i>Candida tropicalis</i> LM-7A	<i>Candida krusei</i> LM-08	<i>Candida krusei</i> LM-13	Estruturas
ME1	512	512	512	512	512	512	512	512	 <p>Cafeato de metila</p>
ME2	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	 <p>Cafeato de etila</p>
ME3	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	 <p>Cafeato de propila</p>

Tabela 9. Continuação.

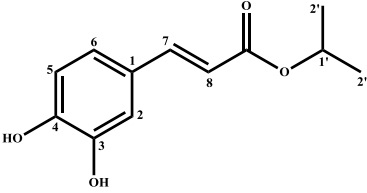
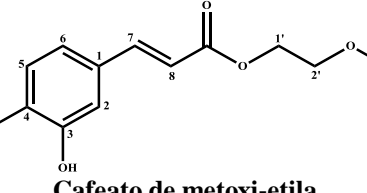
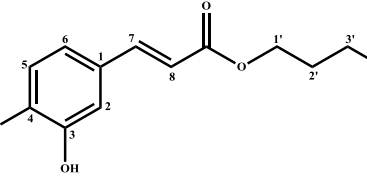
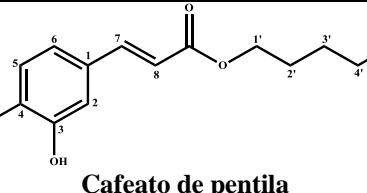
CIM									
Éster µg/mL	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-120	<i>Candida albicans</i> LM-106	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-14	<i>Candida tropicalis</i> LM-7A	<i>Candida krusei</i> LM-08	<i>Candida krusei</i> LM-13	Estruturas
ME4	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	1024	 <p>Cafeato de isopropila</p>
ME5	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de metoxi-etila</p>
ME6	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de butila</p>
ME7	128	128	128	128	128	128	128	128	 <p>Cafeato de pentila</p>

Tabela 9. Continuação.

CIM									
Éster µg/mL	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-120	<i>Candida albicans</i> LM-106	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-14	<i>Candida tropicalis</i> LM-7A	<i>Candida krusei</i> LM-08	<i>Candida krusei</i> LM-13	Estruturas
ME8	+	+	+	+	+	+	+	+	<p>Cafeato de isopentila</p>
ME9	+	+	+	+	+	+	+	+	<p>Cafeato de decila</p>
ME10	+	+	+	+	+	+	+	+	<p>Cafeato de benzila</p>
ME11	+	+	+	+	+	+	+	+	<p>Cafeato de 4-metil-benzila</p>

Tabela 9. Continuação.

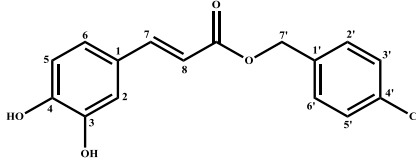
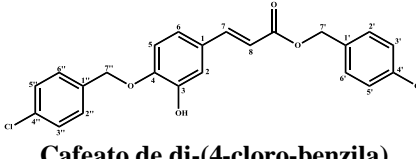
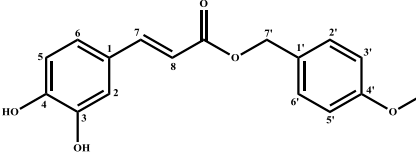
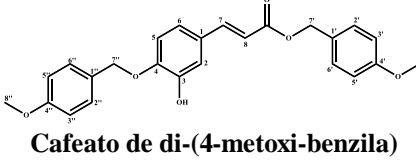
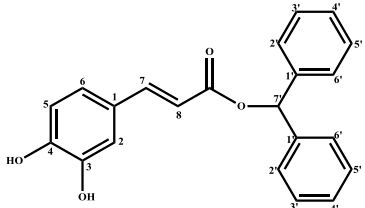
CIM									
Éster µg/mL	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-120	<i>Candida albicans</i> LM-106	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-14	<i>Candida tropicalis</i> LM-7A	<i>Candida krusei</i> LM-08	<i>Candida krusei</i> LM-13	Estruturas
ME12	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de 4-cloro-benzila</p>
ME13	256	256	256	256	256	256	256	256	 <p>Cafeato de di-(4-cloro-benzila)</p>
ME14	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de 4-metoxi-benzila</p>
ME15	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de di-(4-metoxi-benzila)</p>

Tabela 9. Continuação.

CIM									
Éster kyµg/mL	<i>Candida albicans</i> ATCC-76645	<i>Candida albicans</i> LM-120	<i>Candida albicans</i> LM- 106	<i>Candida tropicalis</i> ATCC-13803	<i>Candida tropicalis</i> LM-14	<i>Candida tropicalis</i> LM-7A	<i>Candida krusei</i> LM-08	<i>Candida krusei</i> LM-13	Estruturas
ME16	+	+	+	+	+	+	+	+	 <p>Cafeato de difenil-metila</p>
Micro-organismo	+	+	+	+	+	+	+	+	
Nistatina	-	-	-	-	-	-	-	-	

4.4.2. Relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico no estudo antibacteriano

A avaliação da atividade antibacteriana dos ésteres derivados do ácido caféico foi medida pela técnica de microdiluição em caldo de acordo com o protocolo de Gerhardt e colaboradores (1994), utilizando duas cepas, *Staphylococcus aureus* ATCC-25619 e *Escherichia coli* ATCC-2536.

Todas as substâncias testadas apresentaram atividade antibacteriana frente a linhagens Gram-positiva e Gram-negativa utilizadas no ensaio, sendo evidenciada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que variou de 50 a 400 µg/mL. A linhagem de *Escherichia coli* ATCC 2536 foi mais sensível para as substâncias testadas.

Para os testes realizados com a cepa *Staphylococcus aureus*, os ésteres com radical alquil do **ME1-ME9**, apresentaram ótima atividade, o produto de referência **ME1** tem apenas um radical metila, apresentando uma CIM = 100 µg/mL, que por sua vez foi o mesmo resultado para o **ME2**, dois átomos de carbono, o **ME3**, três átomos de carbono, e o **ME4**, cadeia ramificada de três átomos de carbono. Ao adicionar na molécula um heteroátomo com uma cadeia de três átomos de carbono, **ME5**, essa atividade reduziu, com CIM = 200 µg/mL. Seguindo a mesma linha de raciocínio, **ME6**, cadeia com quatro átomos de carbono, a atividade foi melhorada em dobro em relação ao referencial, CIM = 50 µg/mL. Aumentando a cadeia para cinco átomos de carbono, **ME7**, a atividade mantém a mesma do referencial; entretanto, ramificando a cadeia de cinco átomos de carbono, **ME8**, e duplicando a cadeia para dez átomos de carbono, a atividade diminui em duas vezes a do referencial. Logo, é possível sugerir que cadeias alquílicas longas e ramificadas não são muito interessantes para bioatividade, assim como a presença do heteroátomo na estrutura, pois decai a atividade, e a atividade atinge seu máximo no éster com cadeia lateral mediana, conferindo lipofilicidade para a molécula.

Analisando os resultados apresentados para os mesmos compostos na cepa de *Escherichia coli*, observou-se que os ésteres **ME3**, **ME6** e **ME7** foram os que apresentaram melhor atividade, indicando que a cadeia carbônica não está interferindo na atividade dos três compostos alquílicos, embora se aumentarmos a cadeia para dez átomos de carbono, assim como a presença de um heteroátomo, essa atividade decai para quatro vezes, ao passo que ramificações na cadeia como também cadeias muito

curtas mantém valores iguais do referencial. Gangan e colaboradores (2014) demonstraram a atividade do cafeato de etila (**ME2**) contra as cepas *S. aureus* e *E. coli*. Merkl e colaboradores (2014) testaram os cafeatos com mesmas estruturas do **ME1**, **ME2**, **ME3** e **ME6**, e todos apresentaram atividade para *E. coli* DMF 7503, com melhores sensibilidades para **ME3** e **ME6**. O composto mais bioativo tanto para bactérias Gram positiva como negativa, foi **ME6**, confirmado com os dados publicados na literatura.

Em relação aos compostos com a presença do radical arílico do **ME10-ME16**, para cepa *Staphylococcus aureus*, usando como referencial o **ME10** com CIM = 200 µg/mL, observamos que os valores se mantêm os mesmos para o radical com substituinte metoxila na posição *para*, **ME14**, e com dois anéis aromáticos, **ME16**. Essa atividade é diminuída em dobro para os substituintes na posição *para* do anel, metila, **ME11**, cloreto, **ME12**, e os subprodutos gerados na reação, **ME13** e **ME15**. Ao utilizar a cepa de *Escherichia coli*, para os mesmos compostos, observamos que os resultados foram bem mais sensíveis em relação aos anteriores adquirindo CIM = 100 µg/mL para **ME10**, **ME13**, **ME14** e **ME16**; CIM = 200 µg/mL para **ME11** e **ME15**; CIM = 400 µg/mL para **ME12**. Isso nos mostra que radicais sem substituição, com um ou dois anéis são favoráveis, aumentam a lipofilicidade, assim como o substituinte utilizado metoxi, melhoram a atividade, quando comparado com outro grupo substituinte doador, metila, na mesma posição diminuem a sensibilidade em dobro. Outro parâmetro estrutural é o composto **ME13** com o substituinte *para* clorado no anel caféico e no radical, expondo sua excelente atividade antibacteriana, principalmente para Gram negativa *E. coli* e antifúngica, citada anteriormente, isto conclui que o radical benzílico clorado na posição *para* do anel caféico contribui no aumento de potência da atividade em quatro vezes ao do referencial **ME12**, o inverso ocorre para o composto **ME15** com o substituinte *para* metoxilado no anel caféico e no radical em que sua atividade é diminuída em dobro a do seu referencial **ME14**. Isso esclarece que esses subprodutos formados na reação apresentam melhores resultados com os substituintes retiradores de elétrons. E, mais além, segundo Jazly e colaboradores (2013) exibiram um derivado éster caféico com radical benzílico clorado na posição *para* e *meta* do anel caféico e com radicais metila e etila, e os dois compostos validaram atividade apenas para *E. coli* e negativa para *S. aureus*. Possivelmente, considerando o composto com radical benzílico clorado na posição *meta* e *para* do anel caféico, inibiria a atividade para a Gram positiva *S. aureus*.

Tabela 10. Resultados da Avaliação da Concentração Inibitória Mínima – CIM ($\mu\text{g/mL}$) de dezesseis substâncias sobre cepas de bactérias.

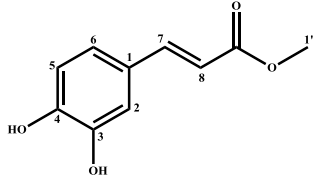
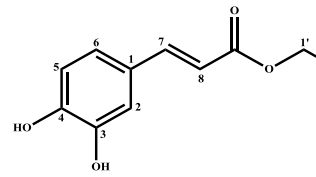
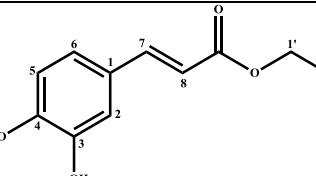
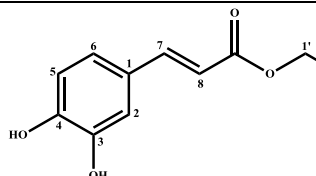
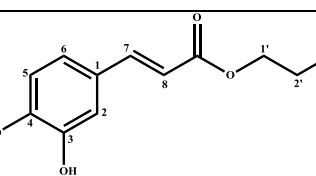
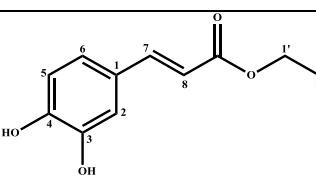
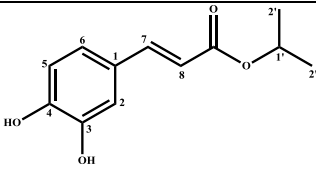
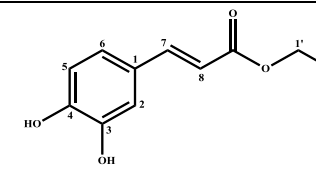
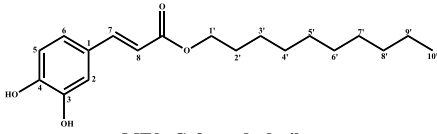
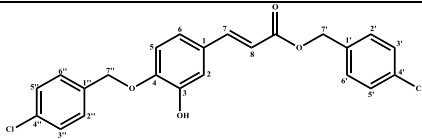
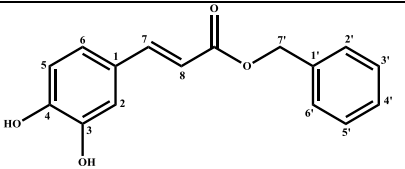
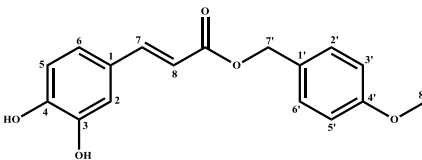
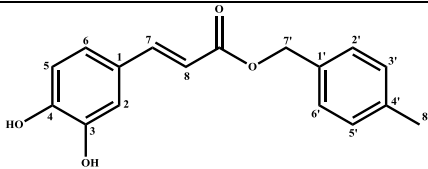
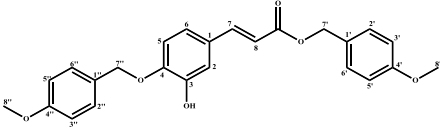
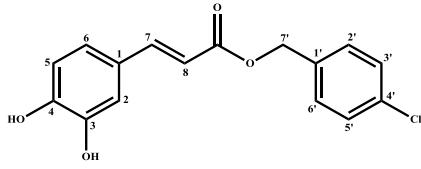
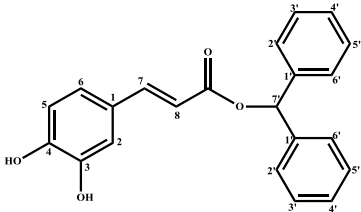
CIM					
Éster $\mu\text{g/mL}$	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-25619	<i>Eschericia coli</i> ATCC-2536	Éster $\mu\text{g/mL}$	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-25619	<i>Eschericia coli</i> ATCC-2536
 ME1: Cafeato de metila	100	100	 ME5: Cafeato de metoxi-etila	200	200
 ME2: Cafeato de etila	100	100	 ME6: Cafeato de butila	50	50
 ME3: Cafeato de Propila	100	50	 ME7: Cafeato de pentila	100	50
 ME4: Cafeato de isopropila	100	100	 ME8: Cafeato de isopentila	200	100

Tabela 10. Continuação.

CIM					
Éster µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-25619	<i>Eschericia coli</i> ATCC-2536	Éster µg/mL	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC-25619	<i>Eschericia coli</i> ATCC-2536
 <p>ME9: Cafeato de decila</p>	200	200	 <p>ME13: Cafeato de di-(4-cloro-Benzila)</p>	400	100
 <p>ME10: Cafeato de benzila</p>	200	100	 <p>ME14: Cafeato de 4-metoxi-benzila</p>	200	100
 <p>ME11: Cafeato de 4-metil-benzila</p>	400	200	 <p>ME15: Cafeato de di-(4-metoxi-benzila)</p>	400	200
 <p>ME12: Cafeato de 4-cloro-benzila</p>	400	400	 <p>ME16: Cafeato de difenil-metila</p>	200	100
Cloranfenicol	100	100		100	100

5. CONCLUSÃO

A relação de estrutura-atividade (SAR) no desenvolvimento de novos fármacos determina as alterações na estrutura química dos análogos referentes aos resultados apresentados da atividade biológica, que pode acarretar em um aumento de potência, numa maior facilidade de administração do fármaco, e até causar efeitos coleterais indesejáveis como também atividade farmacológica distinta. Neste trabalho, foi possível conferir análogos de ésteres derivados do ácido caféico otimizados através SAR, com aumento da atividade, verificado pela alteração no número de grupos metileno na cadeia carbônica e a introdução de grupos substituintes no anel aromático.

No presente estudo foram preparados 16 ésteres derivados do ácido caféico, os quais foram identificados por meio de técnicas espectroscópicas de IV, RMN ^1H e ^{13}C , e Espectrometria de Massas de Alta Resolução para os compostos inéditos, como também foram verificados seus pontos de fusão para verificar seu grau de pureza.

Na análise da relação estrutura-atividade nos radicais de cadeias alquílicas, ambos os testes antimicrobianos demonstraram melhores atividades para os compostos com cadeia linear mediana, sendo o melhor resultado para ambas as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC-25619 e *Eschericia coli* ATCC-2536, o **ME6**, e para os fungos do gênero *Candida* (*C. albicans* ATCC 76645; *C. albicans* LM-106; *C. albicans* LM-120; *C. tropicalis* ATCC-13803; *C. tropicalis* LM-14; *C. krusei* LM-7A; *C. krusei* LM-08 e *C. krusei* LM-13), o **ME7**. Para os radicais arílicos, o **ME13** foi um dos compostos que teve atividade antimicrobiana superior em relação aos demais, seu diferencial foi à presença do radical cloreto benzílico na posição *para* do anel caféico. Os demais compostos arílicos com boa atividade antimicrobiana para ambas as bactérias Gram positiva e negativa foram **ME10**, **ME14** e **ME16**, radicais sem substituição, com um ou dois anéis, assim como a presença de substituinte metoxi na posição *para*.

6. PERSPECTIVAS

Os resultados demonstraram eficácia para os pesquisadores que tentam encontrar antimicrobianos mais potentes, esclarecendo os possíveis radicais ou substituintes de anel nos ésteres derivados do ácido caféico, que aumentam a sensibilidade ou tornam a molécula resistente. A abordagem da química combinatória, na desprotonação da hidroxila da posição *para* do anel caféico é uma alternativa estratégica para a descoberta de novos fármacos, pois essa molécula foi à chave na ampliação das atividades encontradas.

O estudo de relação estrutura-atividade dos ésteres derivados do ácido caféico esclarecem alguns pontos, porém ficaram algumas lacunas que poderão ser feitas em estudos futuros. Dos ésteres alquílicos que se destacaram (**ME6** e **ME7**) por sua atividade antimicrobiana devido à presença da cadeia lateral linear mediana. Entretanto poderíamos realizar a síntese de derivados com cadeias laterais com seis a nove átomos de carbono para concluir de forma mais precisa esse parâmetro. Assim como, o composto **ME13** foi o que apresentou melhor atividade antimicrobiana, poderíamos fazer novos análogos com substituintes diferentes na posição *para* e *meta* do anel do ácido caféico. Essas modificações estruturais podem aumentar a sensibilidade do composto frente à cepa.

7. PARTE EXPERIMENTAL

7.1. Substâncias, reagentes e outros materiais utilizados.

A etapa química foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica (LQF), já a etapa biológica no Laboratório de Micologia, ambos da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Todos os reagentes foram obtidos da Sigma Aldrich. Para preparação dos ésteres, foram utilizados 11 álcoois e 4 haletos. Os 15 reagentes foram submetidos a uma reação com o ácido caféico. Os álcoois e os haletos utilizados para a preparação dos ésteres estão dispostos na **figura 10** abaixo:

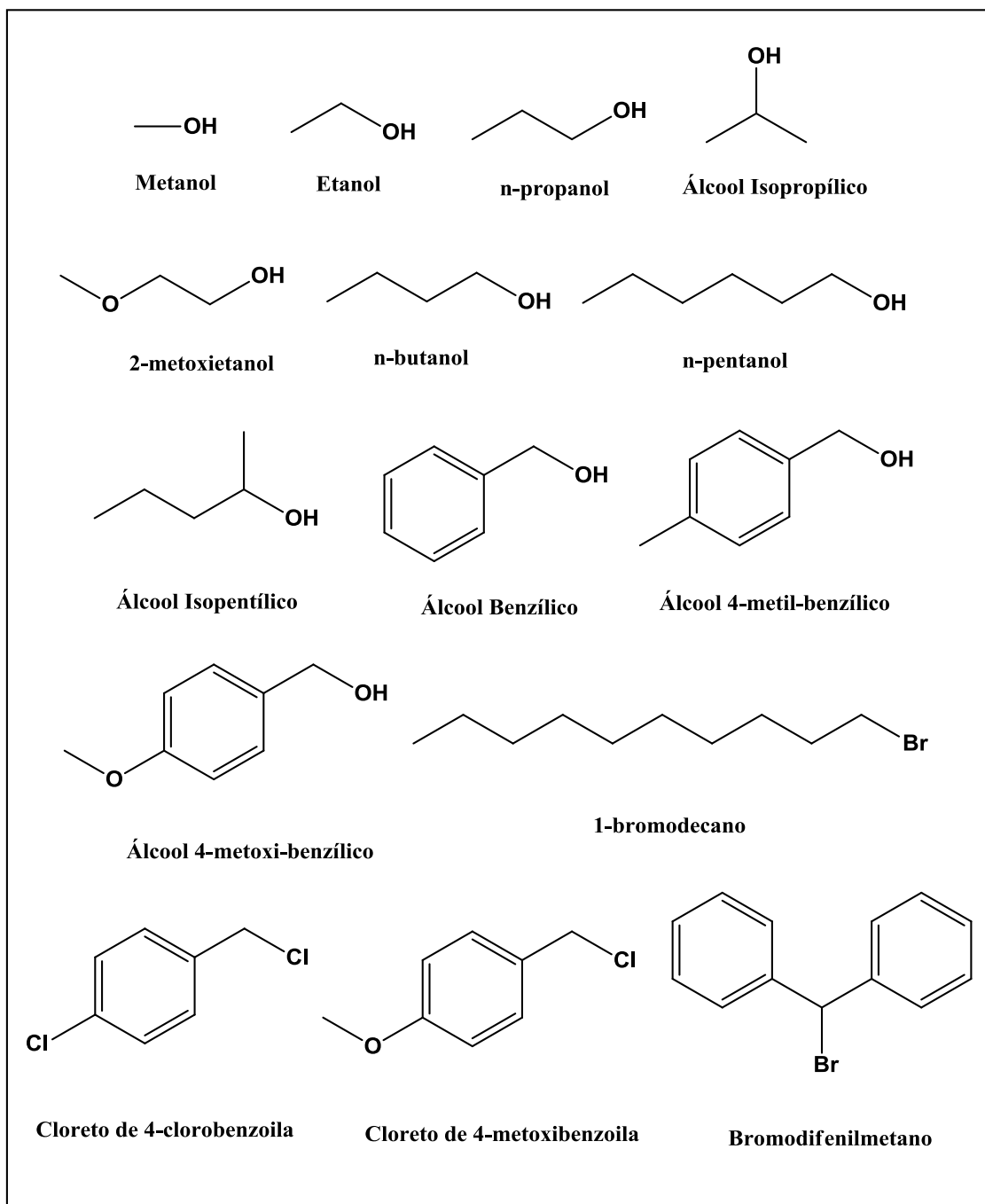


Figura 10. Álcoois e haletos utilizados como reagentes na preparação dos ésteres derivados do ácido caféico.

Os ésteres derivados do ácido caféico obtidos estão dispostos nas **Figuras 11 e 12.**

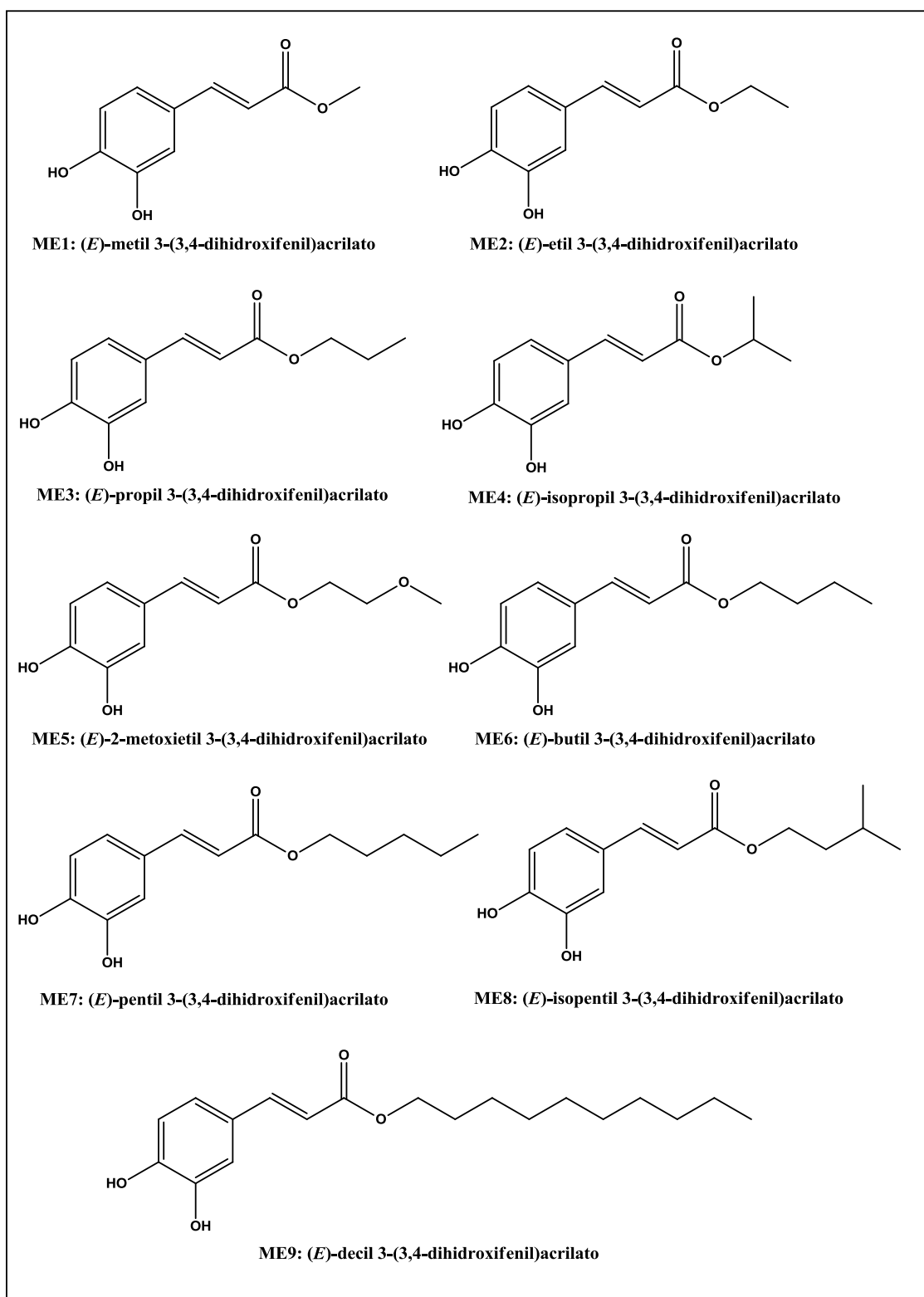


Figura 11. Ésteres alquílicos derivados do ácido aaféico (ME1 – ME9) obtidos no presente trabalho.

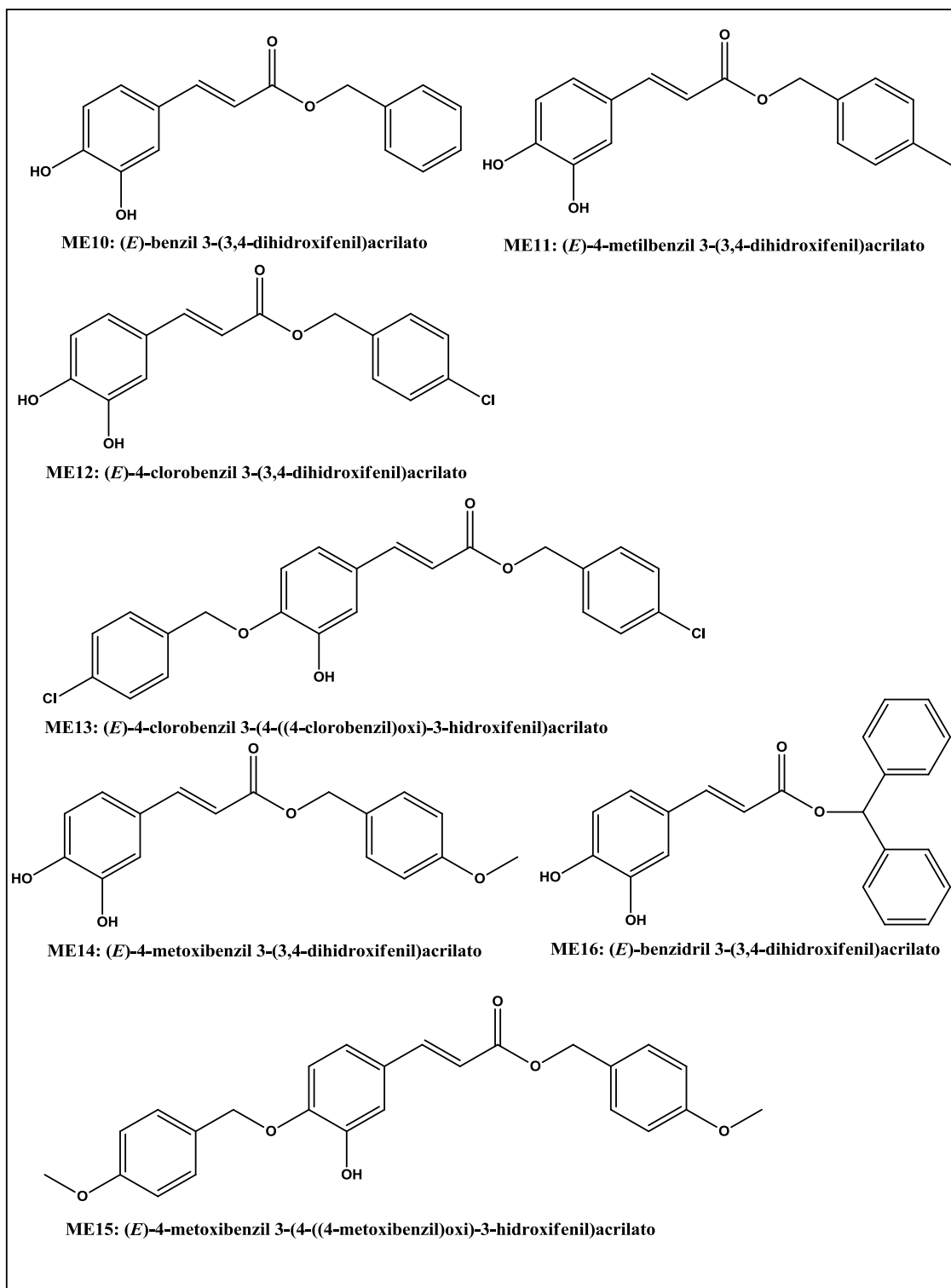


Figura 12. Ésteres arílicos derivados do ácido caféico (ME10 – ME16) obtidos no presente trabalho.

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 variam 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 misturas binárias com gradiente crescente de polaridade. O acompanhamento reacional foi realizado através de cromatografia em camada delgada analítica (CCDA), em cromato folhas com sílica gel 60 F254 suportada em placa de alumínio MERCK (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) por meio de aparelho MINERALIGHT, modelo UVGL-58..

7.3. Ponto de Fusão

O ponto de fusão (PF) de cada amostra foi determinado em placa de aquecimento de aparelho digital da marca GEHAKA, modelo PF 1500, funcionado a 110 V, 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 FTIR Bruker - Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho Médio por Transformada de Fourier - FTIRIR, modelo Vertex 70, com comprimento de onda do LASER de 1064 nm e uma faixa espectral na região de 4500 - 600 cm^{-1} , do Laboratório de Laboratório Multiusuário de Nanotecnologia – CETENE/UFPE, utilizando de 5,00 mg de amostra em pastilhas de KBr, com frequência medida em cm^{-1} .

7.4.2. Ressonância Magnética Nuclear

Os compostos foram identificados por espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Ressonância Magnética Nuclear de Carbono Treze (RMN de ^{13}C) unidimensional. Obteve-se os mesmos por meio de espectrômetro

MERCURY-VARIAN (NUCAL-Núcleo de Caracterização e Análise/UFPB) operando a 200 MHz (^1H) e 50 MHz (^{13}C) e VARIAN-RMN-SYSTEM (NUCAL-Núcleo de Caracterização e Análise/UFPB) operando a 500 MHz (^1H) e 125 MHz (^{13}C). Para as análises das amostras preparou-as dissolvendo uma pequena quantidade da mesma em DMSO deuterado (DMSO- d_6) da **MERCK**. Os deslocamentos químicos (δ) foram expressos em partes por milhão (ppm). Como referência para RMN de ^1H , pegou-se os picos característicos dos hidrogênios pertencentes às frações não deuteradas do solvente DMSO ($\delta\text{H} = 2,50$ ppm, quinteto). Para os espectros de RMN de ^{13}C , estes mesmos parâmetros foram utilizados, através dos picos do DMSO ($\delta\text{C} = 39,5$ ppm). As multiplicidades das bandas de RMN ^1H foram indicadas segundo as convenções: *s* (singlete), *d* (duplete), *dd* (duplo duplete) *t* (triplete), *q* (quarteto), *quint* (quinteto), *sext* (sexteto), *sept* (septeto), *m* (multiplete).

7.4.3. Espectrometria de Massas de Alta Resolução

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 Daltonics GmbsH, Bremen, Alemanha).

As amostras foram irradiadas com um laser de potência de 20% e medida 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; Bruker Daltonics GmbsH). Os espectros de massas foram à 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 de Atividade Antifúngica

As substâncias testadas apresentaram atividade antifúngica frente às linhagens da *Candida* sp. testadas, sendo evidenciada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que variou de 1024 $\mu\text{g/mL}$ a 128 $\mu\text{g/mL}$.

7.5.1.1. Espaço e responsáveis para o desenvolvimento de 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 Ana Luíza Alves de L. Pérez, André Parente de Brito Bezerra, com a supervisão da Profa. Dra. Edeltrudes de Oliveira Lima no período de novembro de 2015 e 2016.

7.5.1.2. Produtos testados

Nos ensaios de atividades biológicas foram utilizados dezesseis compostos, codificados de **ME1** até **ME16**, sendo testadas nas concentrações de 1024 até 32 µg/mL. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção até 10 %, para não ocorrer interferência sobre a biologia do micro-organismo. Foi adicionado 10 µL de tween 80 e, em seguida, água destilada esterilizada na quantidade suficiente para 2mL, de modo a obter uma suspensão na concentração inicial de 1024 µg/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991).

7.5.1.3. Antimicrobianos Sintéticos

O controle da atividade antimicrobiana foi realizado com nistatina (100 UI /mL), adquirida comercialmente da SIGMA-ALDRICH®.

7.5.1.4. Meios de cultura usados nos ensaios

Para o controle de atividade antifúngica, os ensaios foram realizados em meio líquido RPMI 1640 (ACUMEDIA/Índia), os quais foram preparados e utilizados conforme as instruções do fabricante.

7.5.1.5. Microrganismos

Nos ensaios para avaliação da atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas as seguintes cepas:

Leveduras: *Candida albicans* ATCC-76645, *C. albicans* LM-120, *C. albicans* LM-106, *Candida tropicalis* ATCC-13803, *C. tropicalis* LM-14; *C. tropicalis* LM-7A; *C. krusei* LM-08 e *C. krusei* LM-13.

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 meio de cultura apropriado como Agar Sabouraud Dextrose - ASD (DIFCO LABORATORIES/ France/ USA) e conservadas a 4°C e a 35°C.

7.5.1.6. Inóculo

Para obtenção do inóculo, a suspensão das cepas de leveduras mantidas em meios de culturas foi preparada conforme o padrão 0.5 da Escala McFarland, ajustada através de leitura espectrofotométrica (Leitz-Photometer 340-800), para 90% T (530 nm), correspondendo, aproximadamente, $1-5 \times 10^6$ UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

7.5.1.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Cleeland e Squires (1991). A determinação da CIM dos produtos testados foi realizada pela técnica de microdiluição, utilizando placas de microdiluição contendo 96 cavidades com fundo em forma de “U” e em duplicata. Inicialmente, em cada orifício da placa de microdiluição foram distribuídos 100 µL do meio líquido RPMI duplamente concentrado. Em seguida, 100 µL do produto solubilizado 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 32 µg/mL, onde a primeira linha da placa especifica a maior concentração e a última a menor concentração. Por último, foi adicionado 10 µL das suspensões das cepas de leveduras nas cavidades, onde cada coluna da placa refere-se, especificamente, a uma cepa.

Os controles de crescimento de micro-organismos foram realizados utilizando: micro-organismos (RPMI+leveduras), meio de cultura (RPMI) e droga padrão (RPMI+ inóculo fúngico+ nistatina 100UI).

Por fim, as placas após preparadas e assepticamente fechadas, foram submetidas à incubação numa temperatura de 35-37° C por 24 - 72 horas. A CIM foi definida como a menor concentração do produto capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento fúngico 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. (CLEELAND; SQUIRES, 1991; DE SOUZA et al., 2007; ELOFF, 1998).

A atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; > acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo (HOLETZ et al., 2002; HOUGHTON et al., 2007; MITSCHER et al., 1972; SARTORATTO et al., 2004).

7.5.2. Estudo de atividade antibacteriana

As substâncias testadas apresentaram atividade antibacteriana frente a linhagens Gram-positiva e Gram-negativa testadas, sendo evidenciada pela determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), que variou de 400 µg/mL a 50 µg/mL. A linhagem de *Escherichia coli* ATCC 2536 foi mais sensível às substâncias testadas.

7.5.2.1. Espaço e responsáveis para o desenvolvimento de estudo

O estudo antibacteriano foi desenvolvido no Laboratório de Ensaio Toxicológicos – Labetox/ IPerfarm/ Programa de Pós-Graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos da Universidade Federal da Paraíba. A responsável para o desenvolvimento desse trabalho foi à aluna de pós-graduação Andressa Brito Lira com a orientação da Profa. Dra. Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz e a co-orientação da Profa. Dra. Hilzeth de Luna Freire, no período de setembro de 2016.

7.5.2.2. Produtos testados

Nos ensaios de atividades biológicas foram utilizados dezesseis compostos, codificados de **ME1** até **ME16**, sendo testadas nas concentrações de 200 até 12,5 µg/mL. Os mesmos foram devidamente solubilizados em dimetil-sulfóxido (DMSO) numa proporção até 7%, para não ocorrer interferência sobre a biologia do micro-organismo.

7.5.2.3. Antimicrobianos Sintéticos

O controle da atividade antimicrobiana foi realizado com cloranfenicol (100 µg/mL), adquirida comercialmente da SIGMA-ALDRICH®.

7.5.2.4. Meios de cultura usados nos ensaios

Para o controle de atividade antibacteriana, os ensaios foram realizados em meio líquido Caldo Brain Heart Infusion (BHI) (DIFCO Laboratories/USA/France), os quais foram preparados e utilizados conforme as instruções do fabricante.

7.5.2.5. Microrganismos

Nos ensaios para avaliação da atividade biológica dos produtos testes, foram utilizadas tanto bactérias Gram-positivas como as Gram-negativas oriundas da American Type Culture Collection (ATCC):

Bactérias: *Staphylococcus aureus* ATCC 25619 e *Eschericia coli* ATCC 2536

As cepas pertencem a BACTERIOTECA do Laboratório de Ensaio Toxicológicos, do Instituto de Pesquisa em Fármacos e Medicamentos da Universidade Federal da Paraíba. Todas as cepas foram mantidas em meio de cultura apropriado como BHI (DIFCO LABORATORIES/France/USA) e conservadas a 4 °C e a 35 °C.

7.5.2.6. Inóculo

Para obtenção do inóculo, a suspensão das cepas de bactérias mantidas no meio BHI são inoculadas e incubadas a 37° C durante 24 h. Em seguida, as colônias foram suspensas em BHI e ajustadas de acordo com o padrão 0,5 da escala de McFarland, contendo $1-5 \times 10^8$ UFC/mL (CLEELAND; SQUIRES, 1991; HADACEK; GREGER, 2000).

7.5.2.7. Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os ensaios de atividade antimicrobiana foram realizados conforme os protocolos de Gerhardt e colaboradores (1994). A determinação da CIM das substâncias sobre cepas bacterianas foram realizadas através da técnica da microdiluição utilizando placas de 96 poços e o fundo em forma de “U”. Inicialmente, em cada orifício da placa de microdiluição foram distribuídos 100 µL do meio líquido BHI em todos os poços, exceto a primeira linha que receberam 160 µL. Posteriormente, adicionou 40 µL da solução a 20 mg/mL de cada uma das substâncias testes nas cavidades da primeira linha da placa. E, por meio de uma diluição seriada a uma razão de dois, foi obtida concentrações de 200 µg/mL até 12,5 µg/mL, onde a primeira linha da placa especifica a maior concentração e a última a menor concentração. Em seguida, foi adicionado mais 100 µL do meio BHI em todos os poços e por último acrescentou-se 10 µL da suspensão

de cada inóculo bacteriano (*S. aureus* ATCC 25619 e *E. coli* ATCC 2536) nas cavidades, onde cada coluna da placa referiu-se a uma substância testada, especificamente.

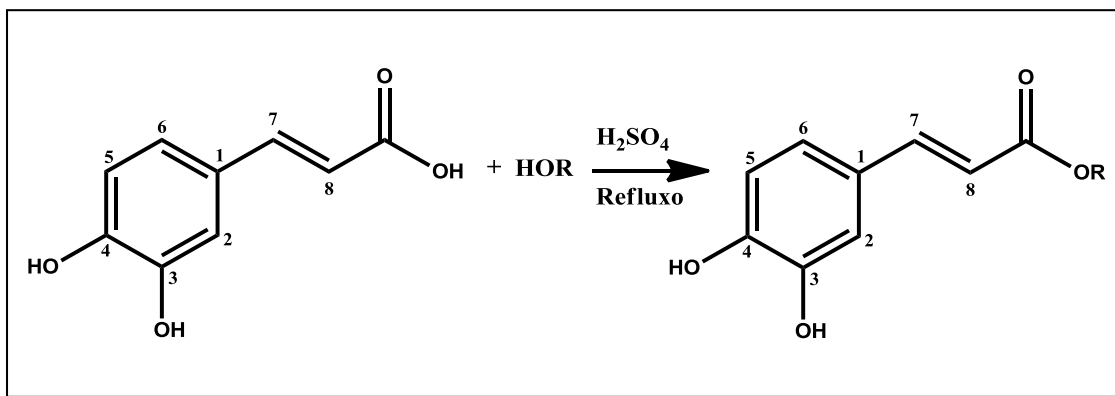
Os controles de crescimento de micro-organismos foram realizados utilizando: controle positivo (meio + inóculo bacteriano + cloranfenicol), controle negativo (meio de cultura) e com o veículo DMSO, sendo este último feito adicionando-se as cavidades 100 µL do meio, 100 µL do DMSO e 10 µL da suspensão contendo o inóculo bacteriano.

Por fim, as placas após preparadas e assepticamente fechadas, foram submetidas à incubação numa temperatura de 37°C por 24 horas, para posterior leitura, realizada com a adição de 10 µL de uma solução 0,01% (p/v) de resazurina sódica (SIGMA), um indicador colorimétrico de atividade metabólica. A CIM foi definida como a menor concentração do produto capaz de produzir inibição visível sobre o crescimento bacteriano verificado nos orifícios, quando em comparação com seu controle, sendo estabelecido pela manutenção da cor azul da resazurina. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado expresso pela média aritmética das CIM's obtidas nos dois ensaios.

Segundo Sartoratto e colaboradores (2004), a atividade antimicrobiana dos produtos foi interpretada e considerada como ativa ou inativa, conforme os seguintes critérios: 50-500 µg/mL= forte/ótima atividade; 600-1500 µg/mL= moderada atividade; acima de 1500 µg/mL=fraca atividade ou produto inativo.

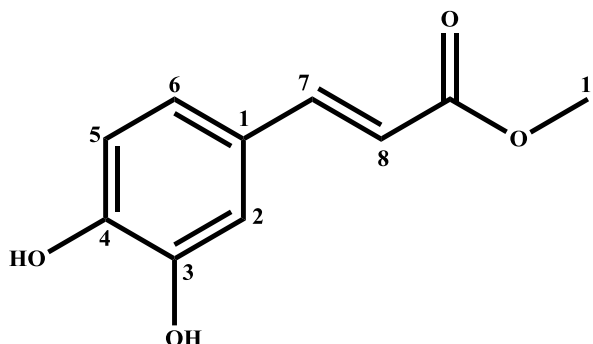
8. PREPARAÇÃO DOS ÉSTERES DERIVADOS DO ÁCIDO CAFÉICO

8.1. Preparação da primeira coleção de ésteres - (ME1-ME8)



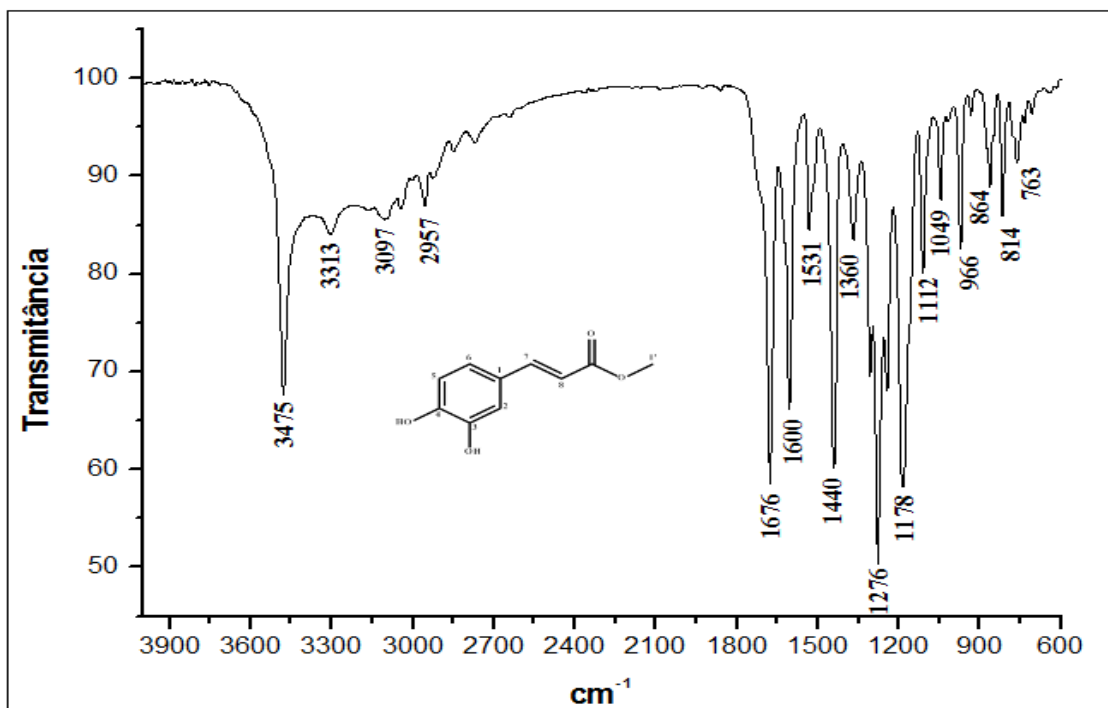
Em um balão de 250 mL, o ácido caféico (0,25 g; 1,39 mmol), foi dissolvido em 50 mL do álcool alifático. À solução foi adicionada 0,4 mL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e colocado em um banho de óleo. A mistura reacional foi aquecida sob refluxo, com agitação magnética, durante cerca de 3-21 horas, monitorados por CCDA. Após a reação, o solvente foi parcialmente evaporado sob pressão reduzida até cerca da metade. A solução obtida foi transferida para um funil de separação, adicionado 20 mL de água destilada e extraída com acetato de etila (3 x 15 mL). As fases orgânicas resultantes foram reunidas, neutralizada com bicarbonato de sódio a 5% (3 x 5 mL), lavadas com água destilada (10 mL), e seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e evaporado o solvente com auxílio da pressão reduzida. O resíduo foi então purificado por meio de uma coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluentes o hexano e o acetato de etila, em gradiente crescente de polaridade. (SANDERSON et al., 2013).

8.1.1. ME1 – Cafeato de metila

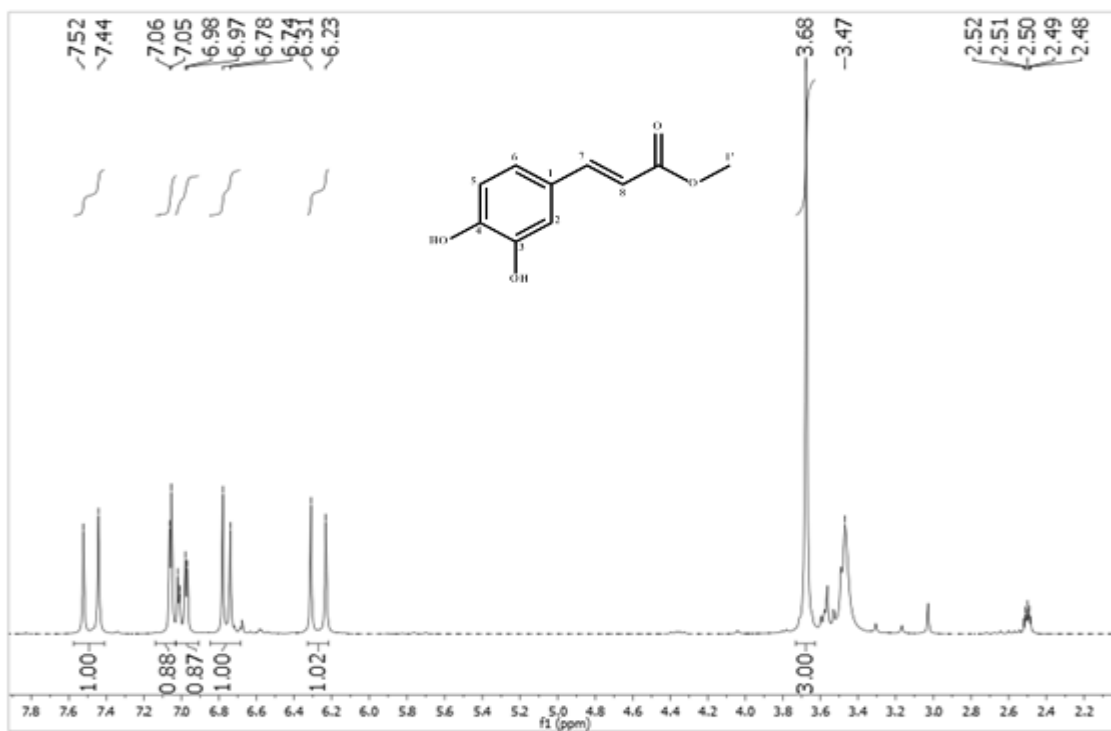


(*E*)-metil 3-(3,4-dihidroxfenil)acrilato

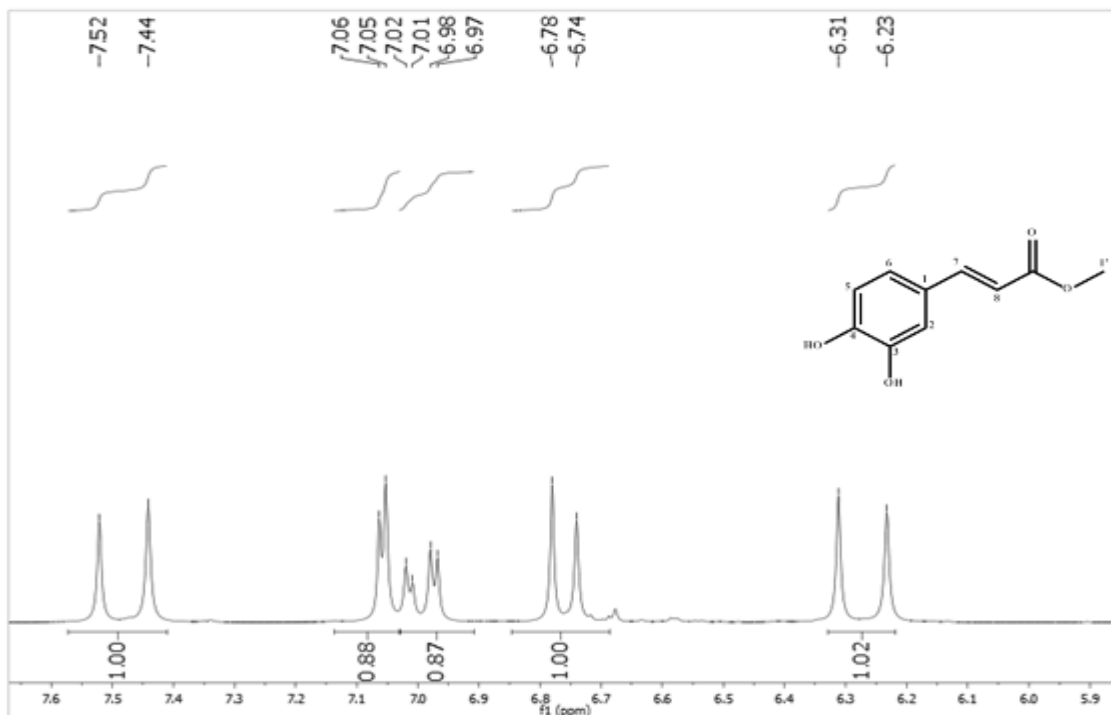
Sólido amorfo de cor âmbar; rendimento 87,77% (189,2 mg); P.F.: 245-250 °C; ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3313 (O-H), 3097 (C-H sp^2), 2957 (C-H sp^3), 1676 (C=O), 1600 e 1440 (C=C aromático), 1276 e 1178 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,48 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,06 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,27 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 3,68 (*s*, 3H, H-1'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 167,2 (C=O); 148,5 (C-4); 145,7 (C-3); 145,3 (C-7); 125,6 (C-1); 121,6 (C-6); 115,8 (C-5); 114,8 (C-8); 113,8 (C-2); 51,4 (C-1'), (SHIN et al., 2004).



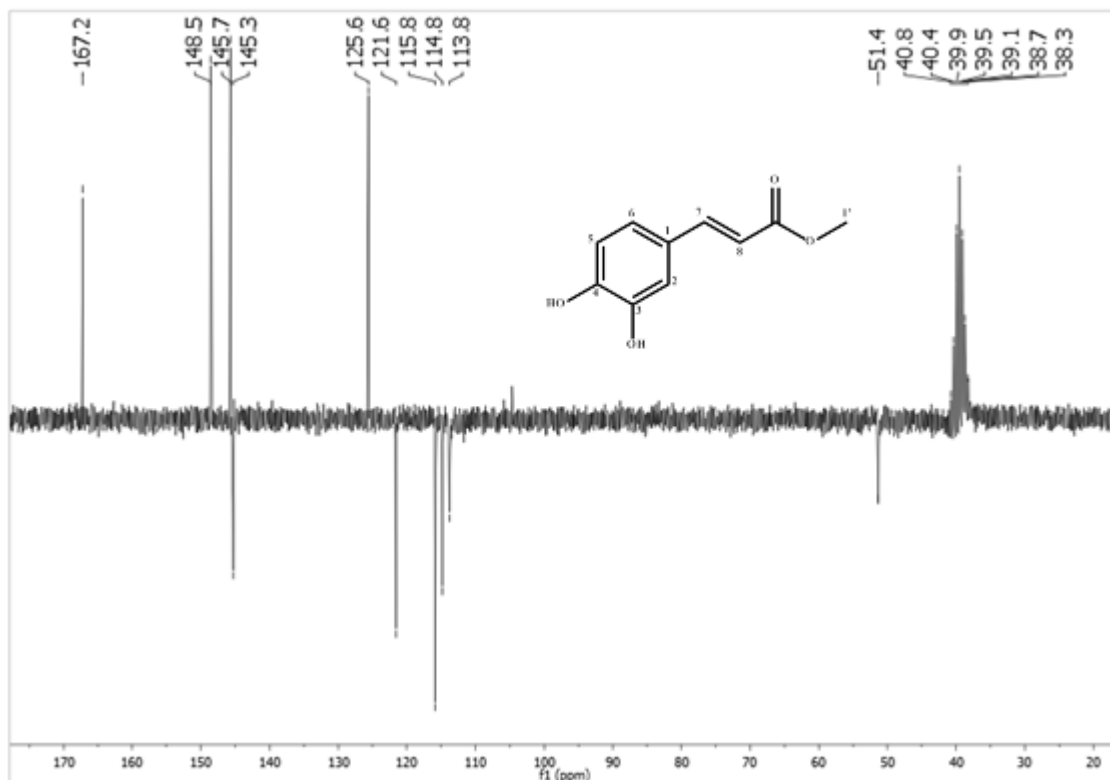
Espectro 1. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de (*E*)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME1**).



Espectro 2. Espectro de RMN ¹H de (*E*)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME1**), (DMSO-d₆, 200 MHz).

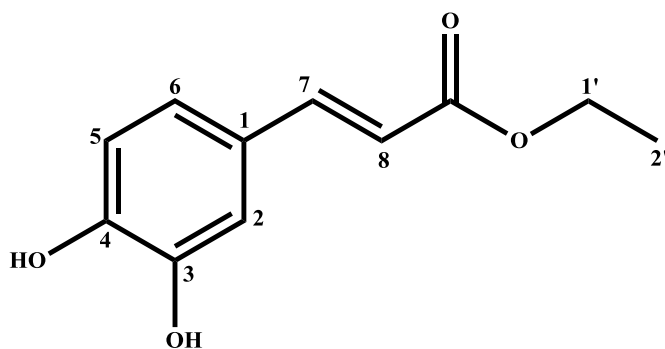


Espectro 3. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME1**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 4. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-metil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME1**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

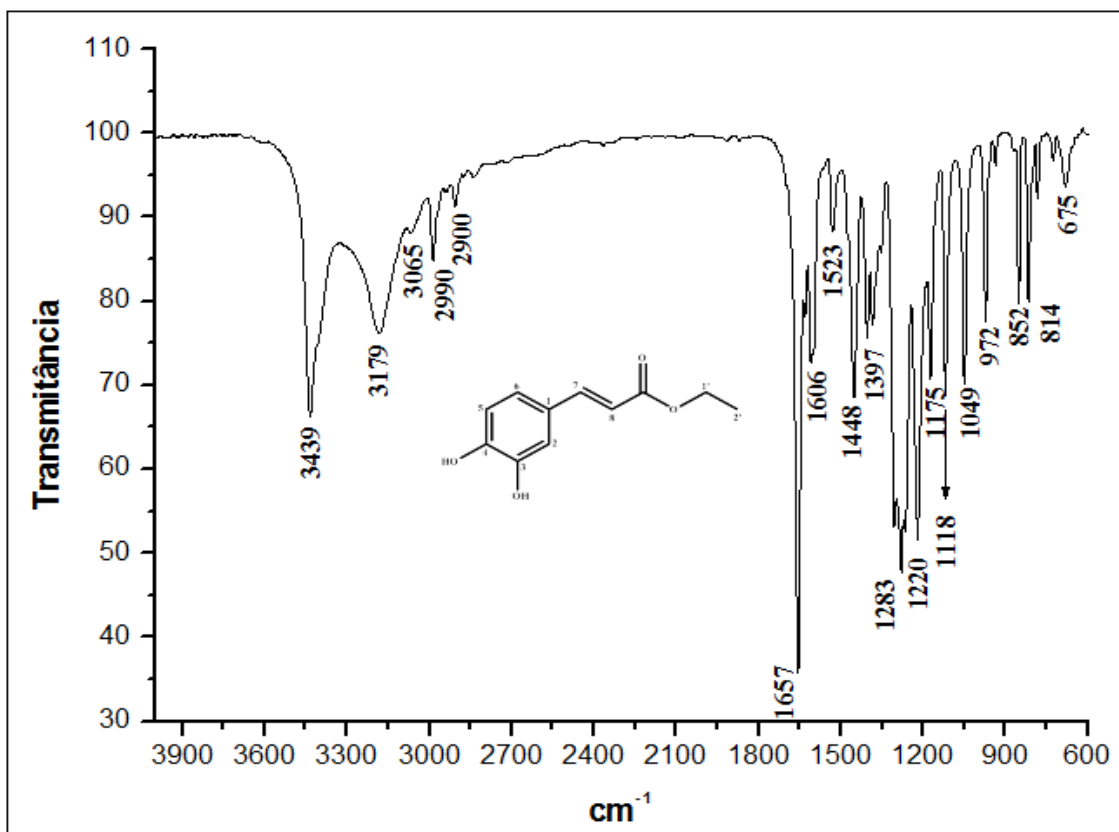
8.1.2. ME2 – Cafeato de etila



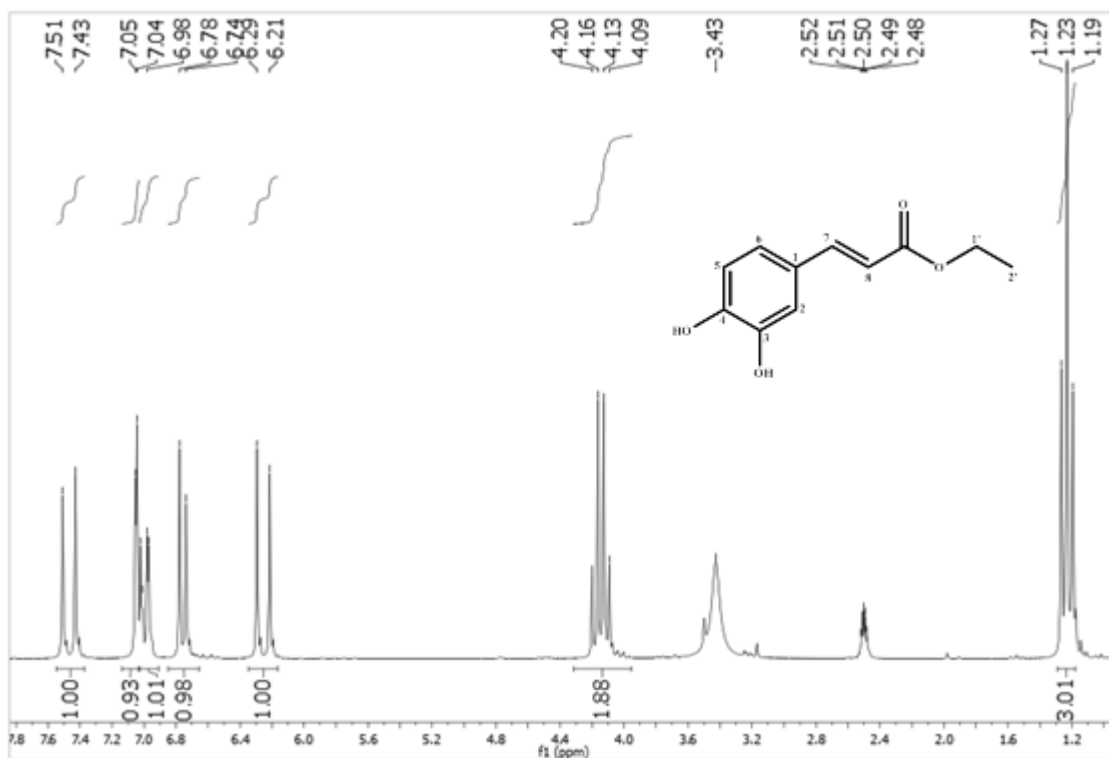
(*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

Sólido amorfo cinza; rendimento 86,53% (200 mg); P.F.: 170-178 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3179 (O-H), 3065 (C-H sp^2), 2990 (C-H sp^3), 1657 (C=O), 1606 e 1448 (C=C

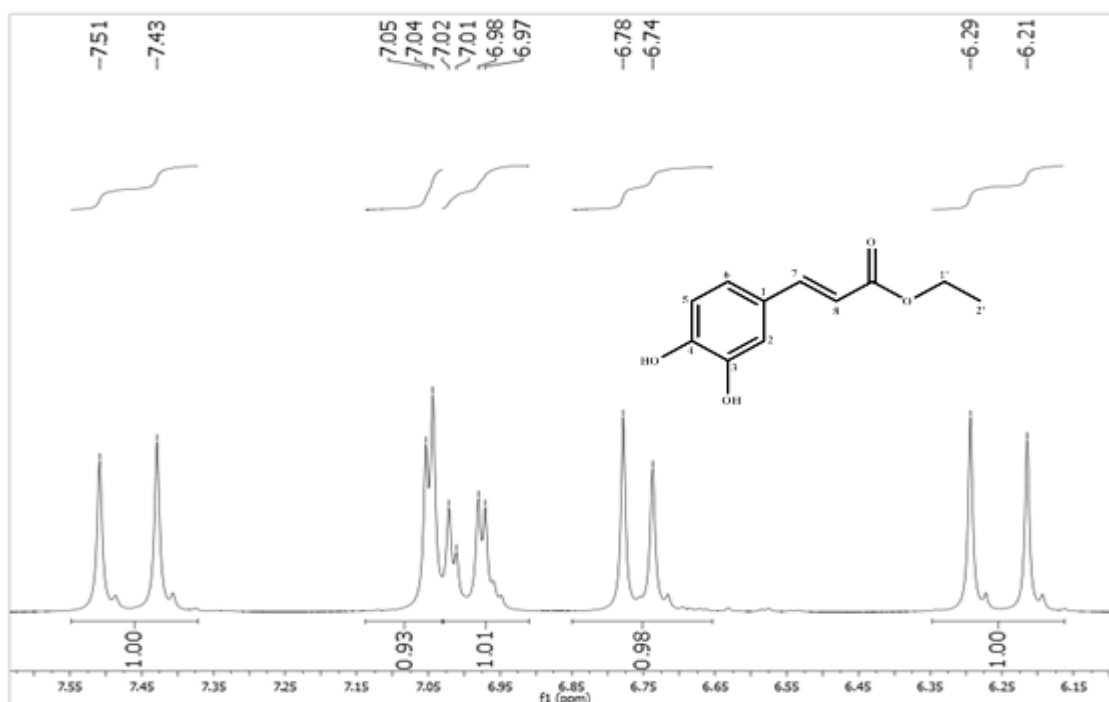
aromático), 1283 e 1220 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,47 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,05 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,25 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,15 (*q*, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-1'); 1,23 (*t*, $J = 7,0$ Hz, 3H, H-2'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,7 (C=O); 148,5 (C-4); 145,6 (C-3); 145,1 (C-7); 125,6 (C-1); 121,5 (C-6); 115,8 (C-5); 114,8 (C-8); 114,1 (C-2); 59,8 (C-1'); 14,4 (C-2'), (UWAI et al., 2008).



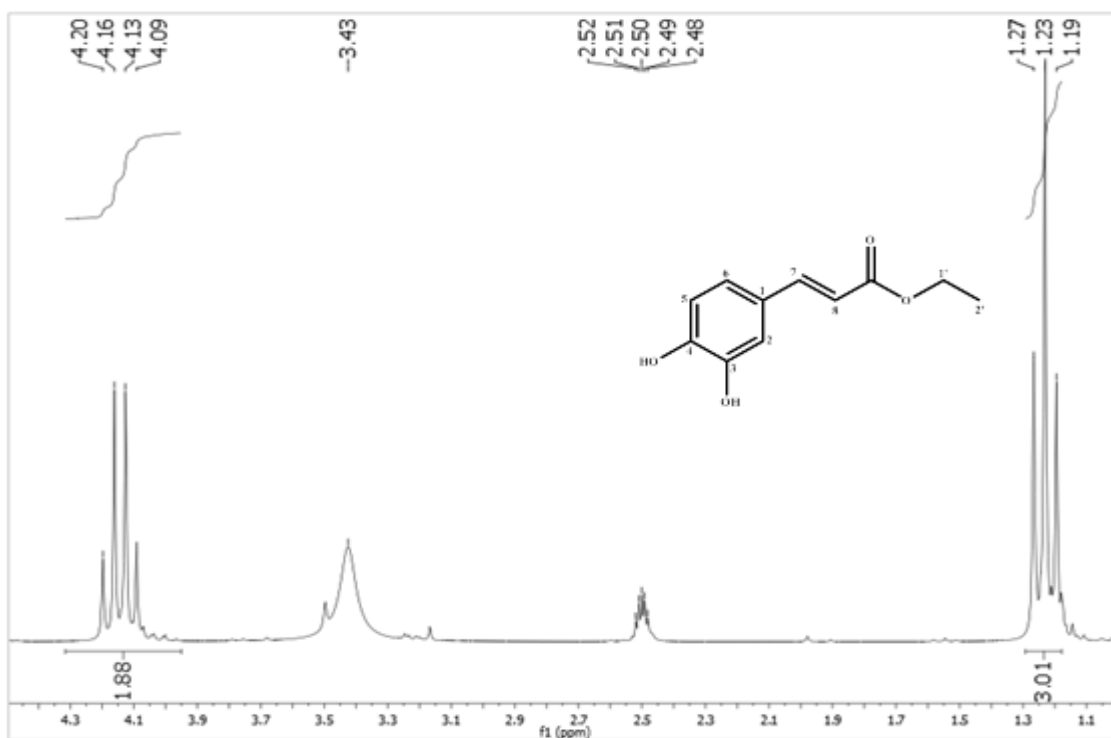
Espectro 5 Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil) acrilato (ME2).



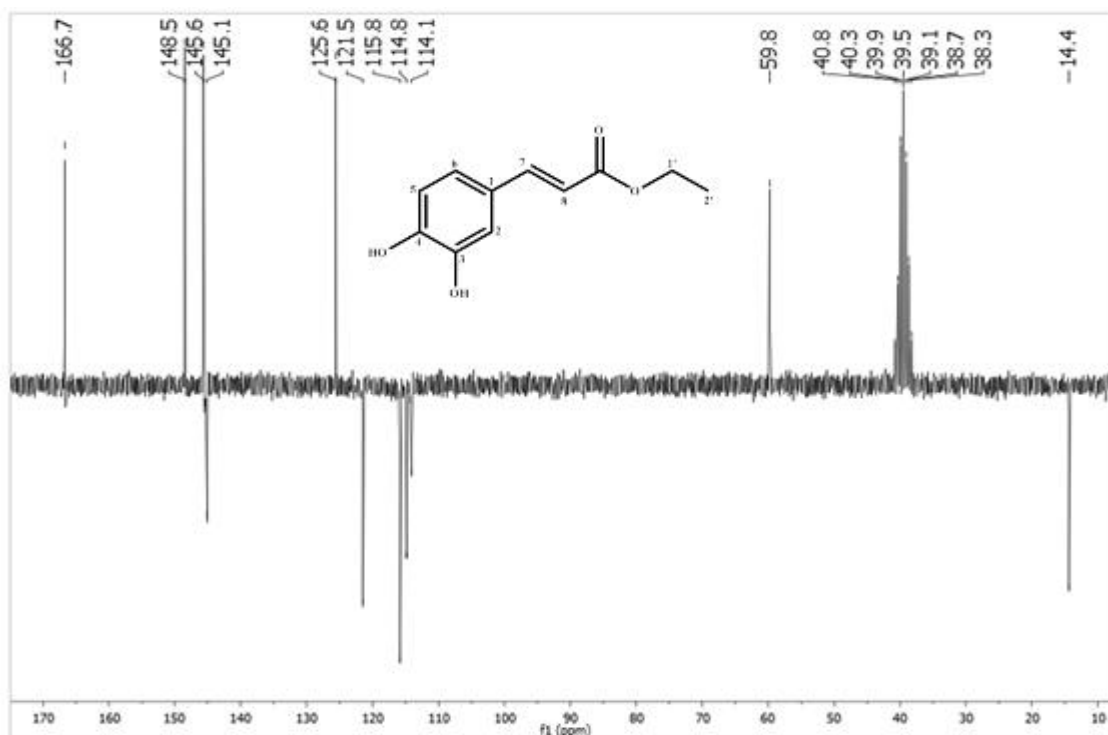
Espectro 6. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME2**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 7. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME2**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

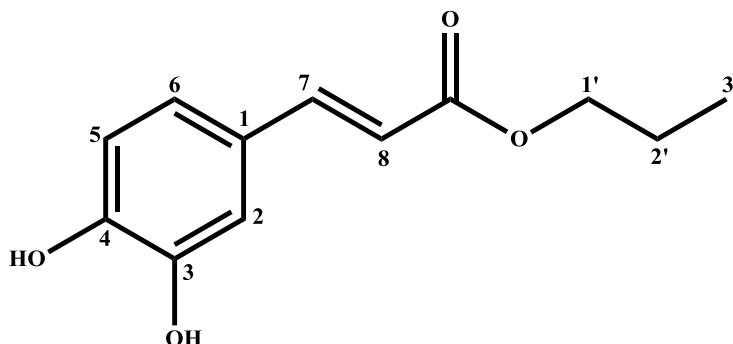


Espectro 8. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO, 200 MHz).



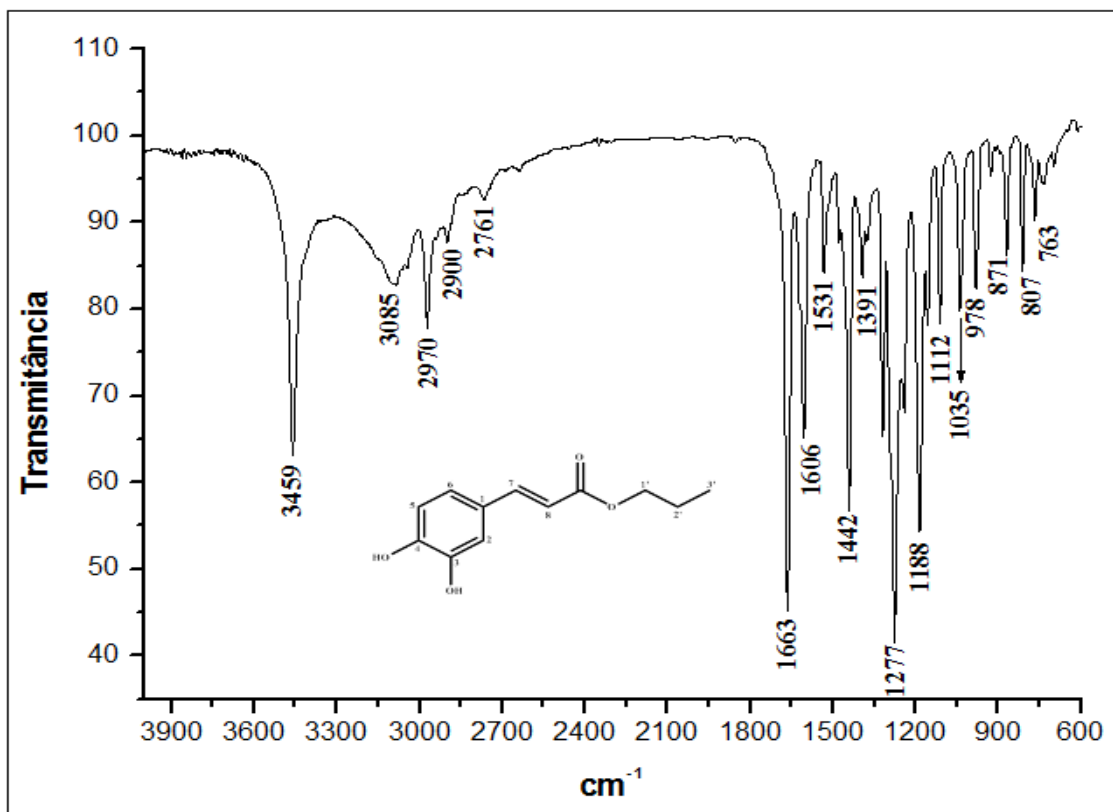
Espectro 9. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-etil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME2), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

8.1.3. ME3 – Cafeato de propila

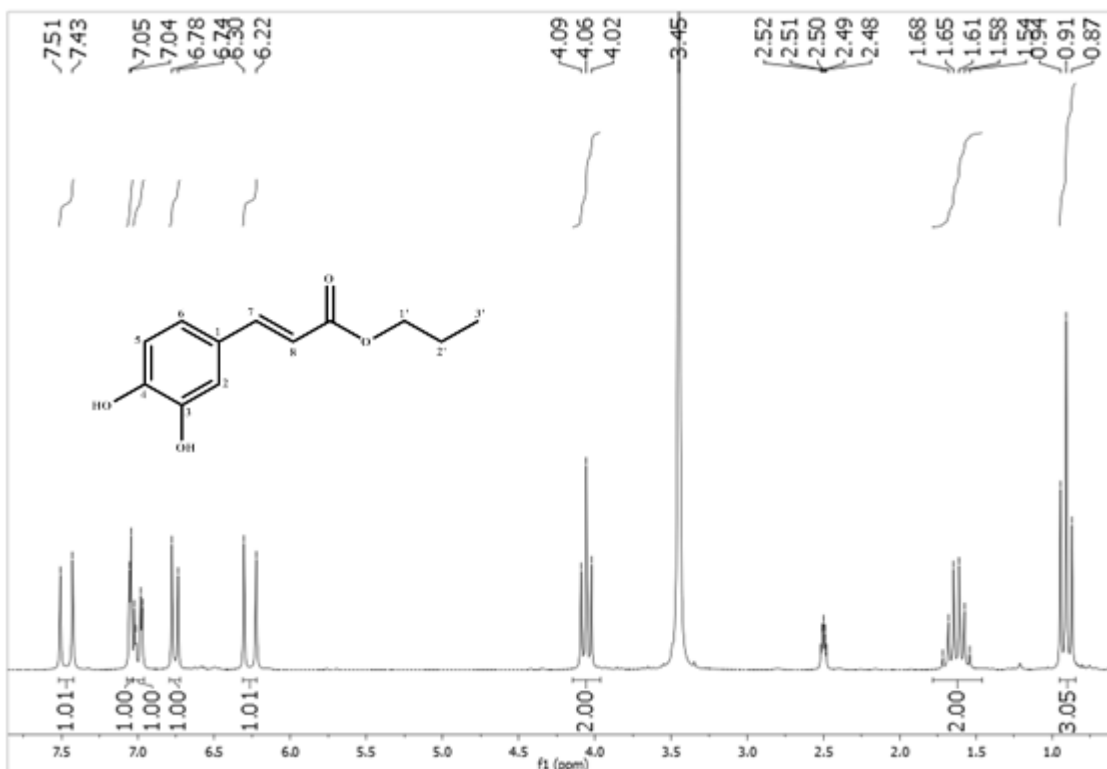


(*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

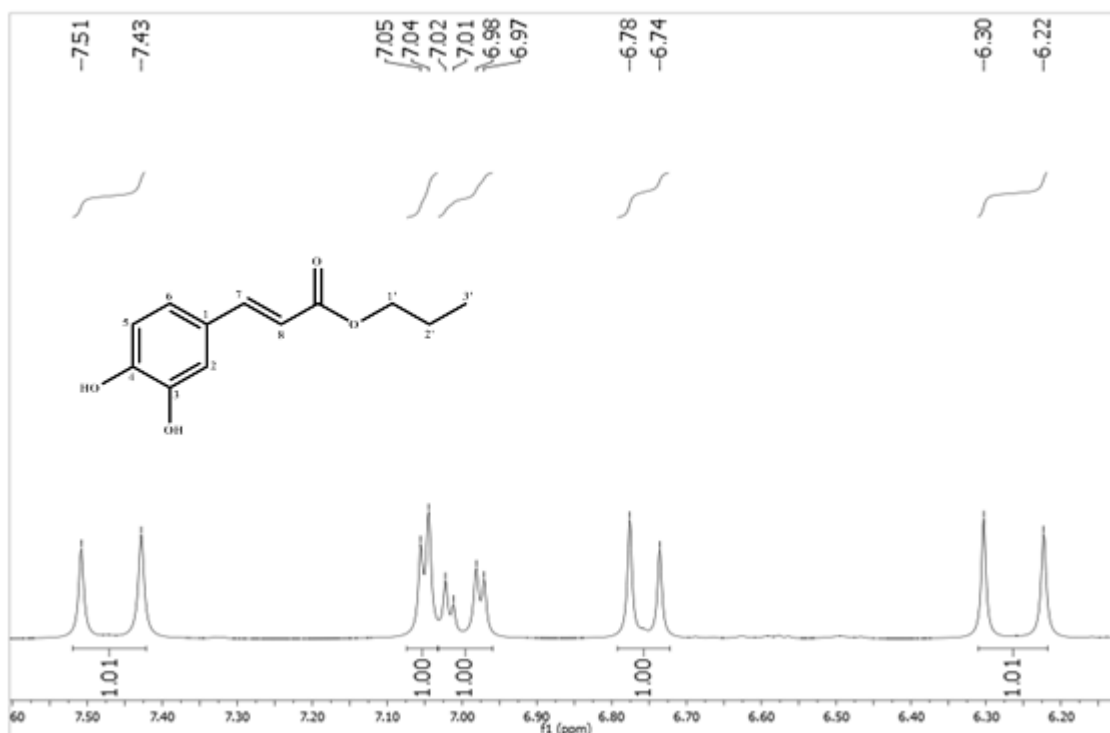
Sólido amorfo de cor marron; rendimento 85,96% (267,5 mg); P.F.: 165-170 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3459 (O-H), 3085 (C-H sp^2), 2970 (C-H sp^3), 1663 (C=O), 1606 e 1442 (C=C aromático), 1277 e 1188 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,47 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,05 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,26 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,06 (*t*, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 1,63 (*sext*, $J = 7,0$ Hz, 2H, H-2'); 0,91 (*t*, $J = 7,4$ Hz, 3H, H-3'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,8 (C=O); 148,5 (C-4); 145,7 (C-3); 145,1 (C-7); 125,6 (C-1); 121,5 (C-6); 115,8 (C-5); 114,8 (C-8); 114,1 (C-2); 65,3 (C-1'); 21,8 (C-2'); 10,4 (C-3'), (JAYAPRAKASAM et al., 2006).



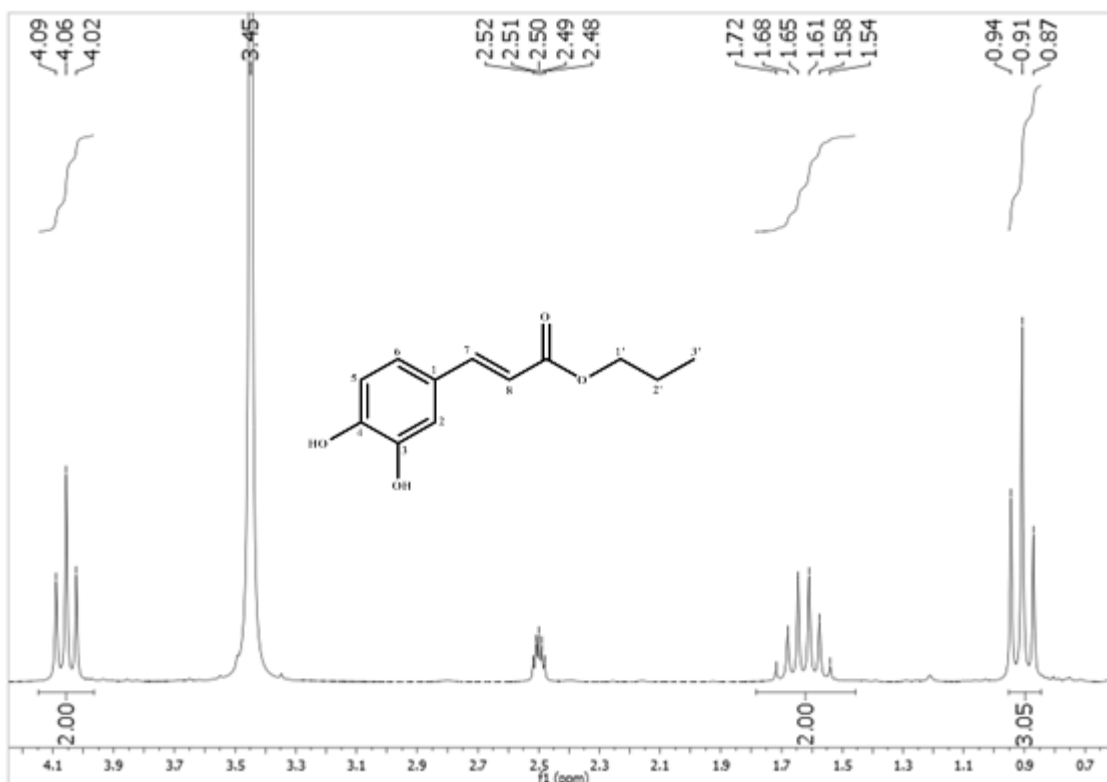
Espectro 10. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME3**).



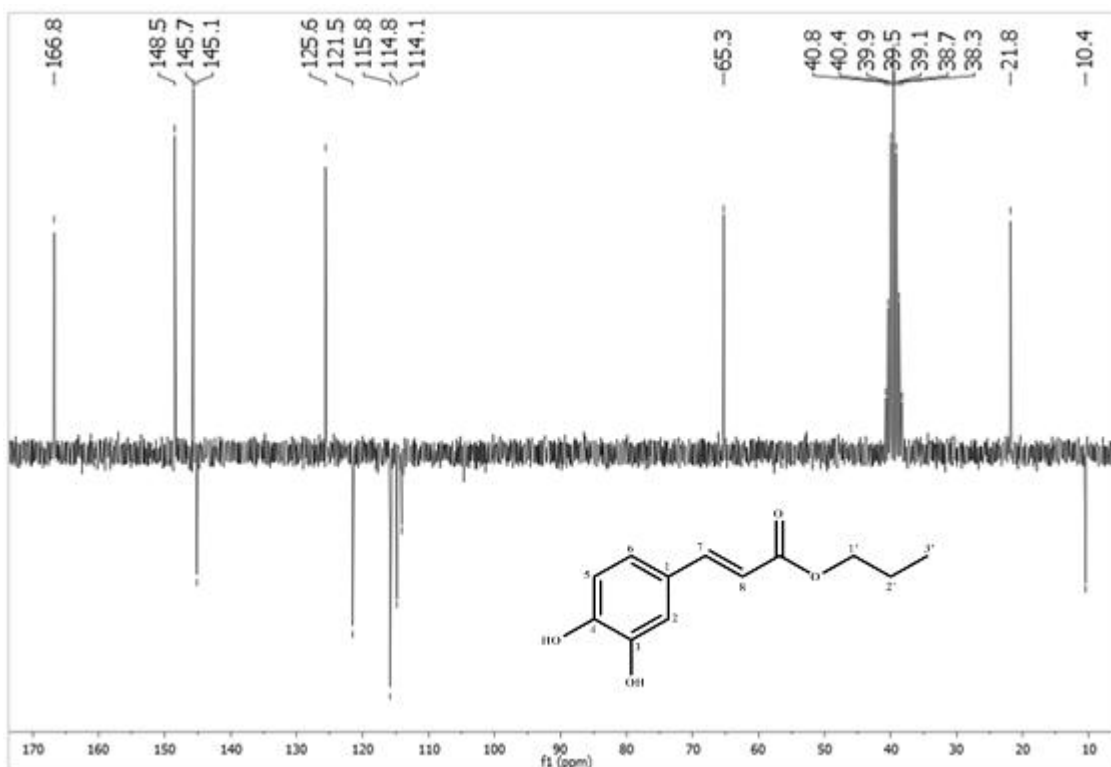
Espectro 11. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME3**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 12. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME3**), (DMSO-d₆, 200 MHz).

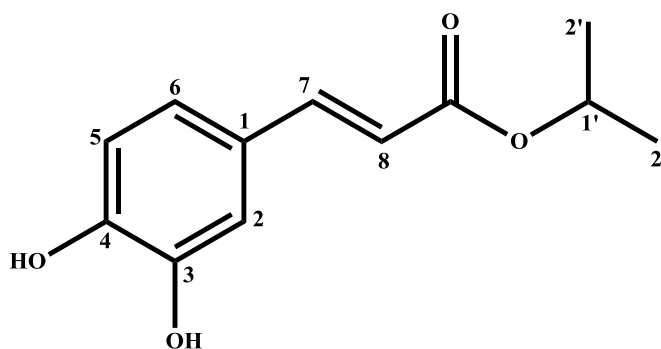


Espectro 13. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME3**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



Espectro 14. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-propil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME3**), (DMSO-d_6 , 50 MHz).

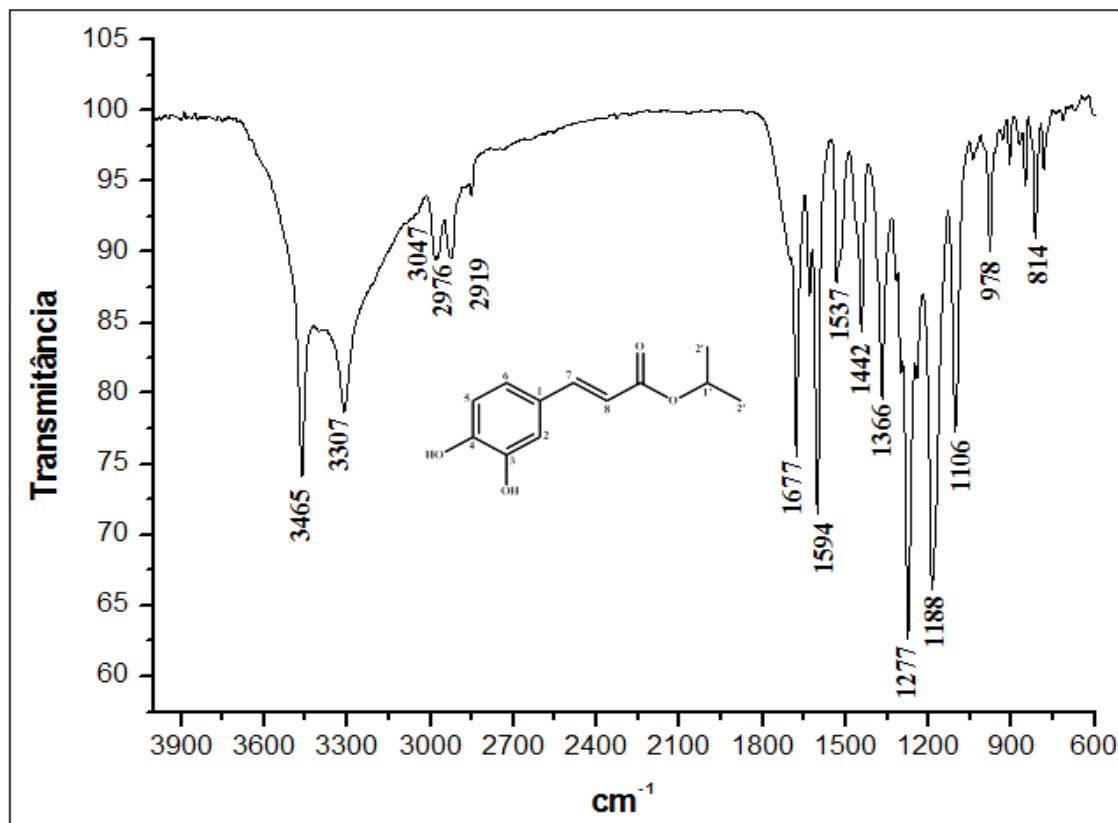
8.1.4. ME4 – Cafeato de isopropila



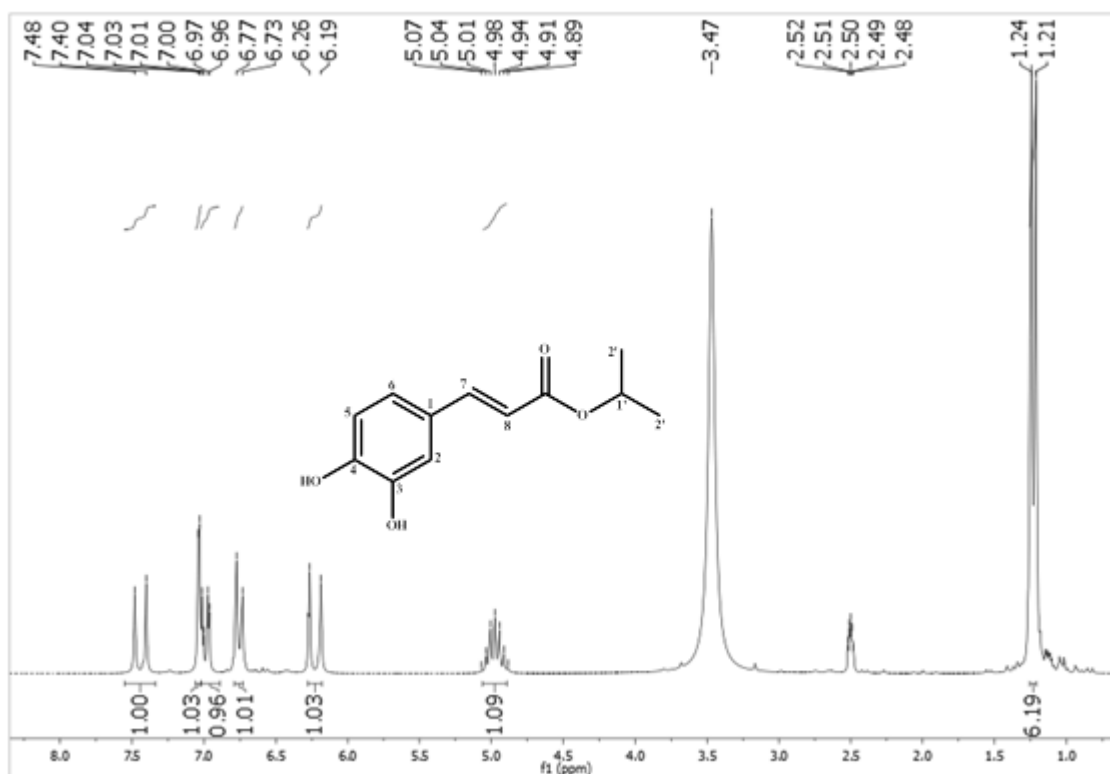
(*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

Sólido amorfo de cor preta; rendimento 93,06% (287,0 mg); P.F.: 155-160 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3307 (O-H), 3047 (C-H sp^2), 2976 (C-H sp^3), 1677 (C=O), 1594 e 1442 (C=C aromático), 1277 e 1188 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO-d_6): 7,44 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,04 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 6,99 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,75 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,23 (*d*, $J = 15,8$ Hz, 1H, H-8); 4,98 (*sept*,

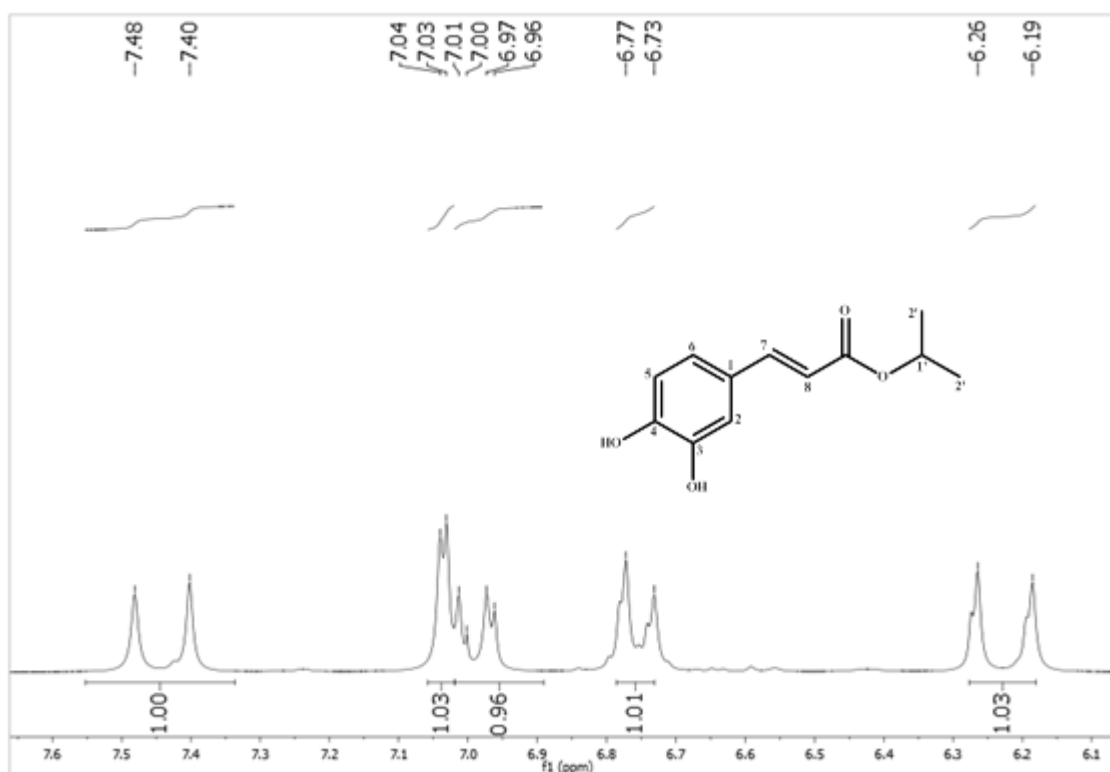
$J = 6,2$ Hz, 1H, H-1'); 1,23 (*d*, $J = 6,2$ Hz, 6H, H-2').RMN de ^{13}C (50 MHz, CH_3OD): 168,8 (C=O); 149,4 (C-4); 146,7 (C-3); 146,6 (C-7); 127,6 (C-1); 122,9 (C-6); 116,5 (C-5); 115,6 (C-8); 115,1 (C-2); 69,0 (C-1'); 22,2 (C-2'), (UWAI et al., 2008).



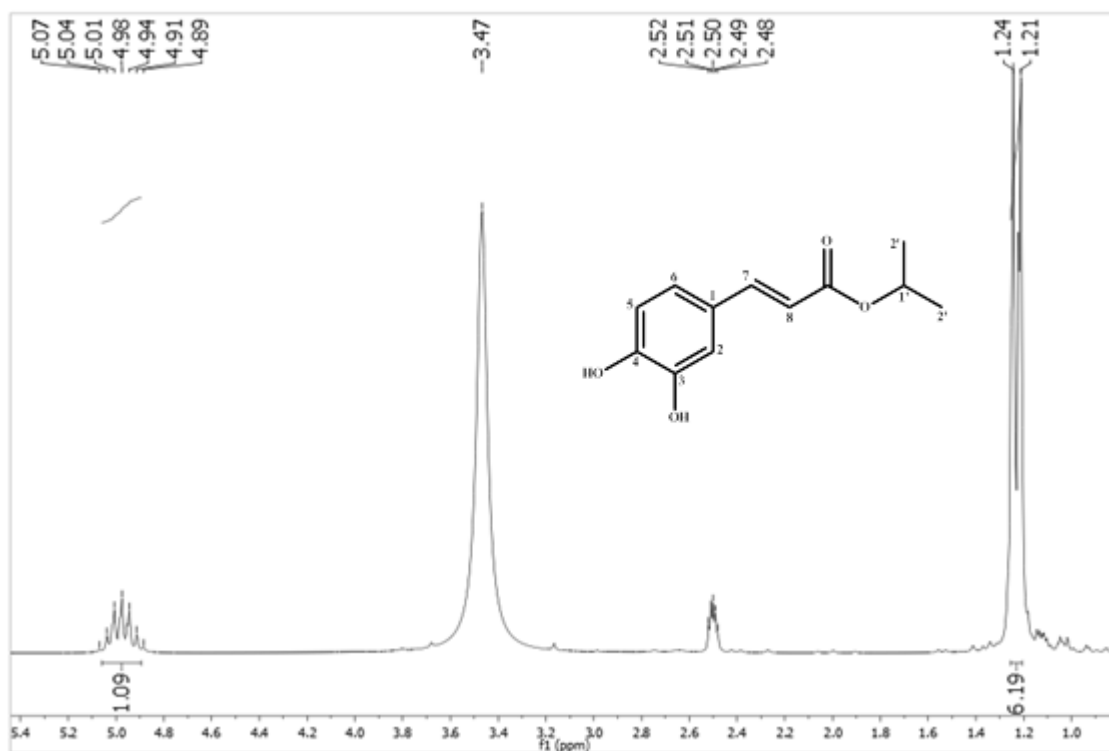
Espectro 15. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME4**).



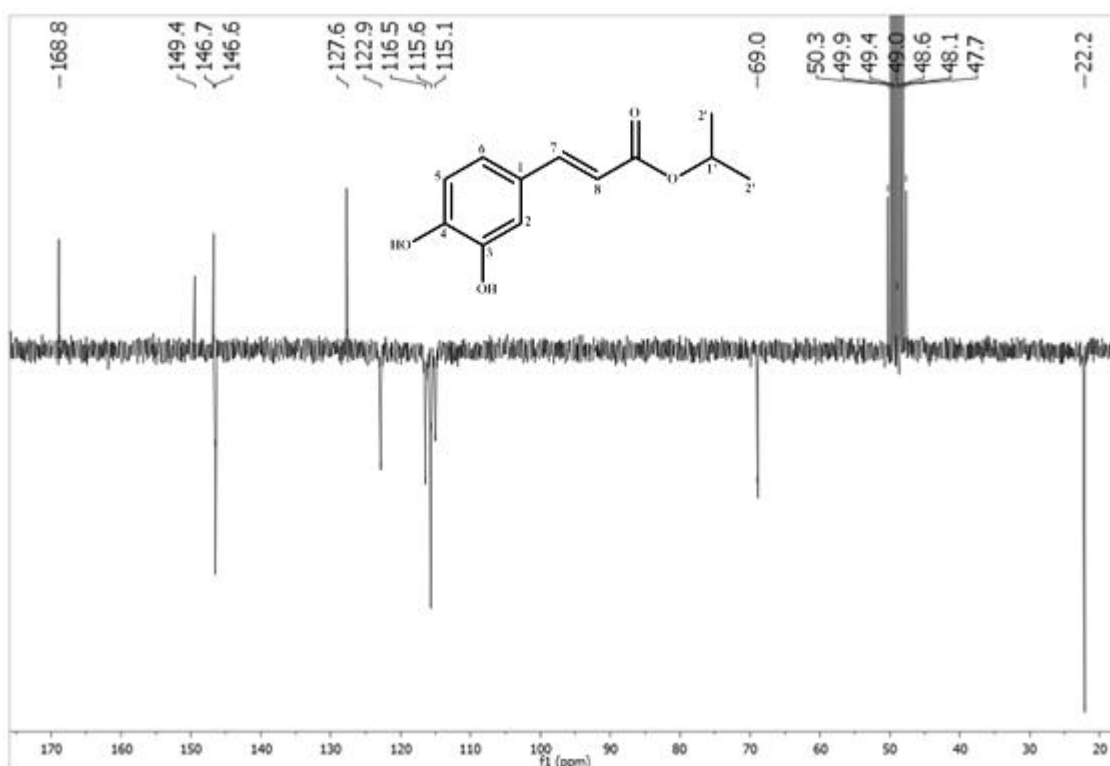
Espectro 16. Espectro de RMN ¹H de (*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME4**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



Espectro 17. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME4**), (DMSO-d₆, 200 MHz).

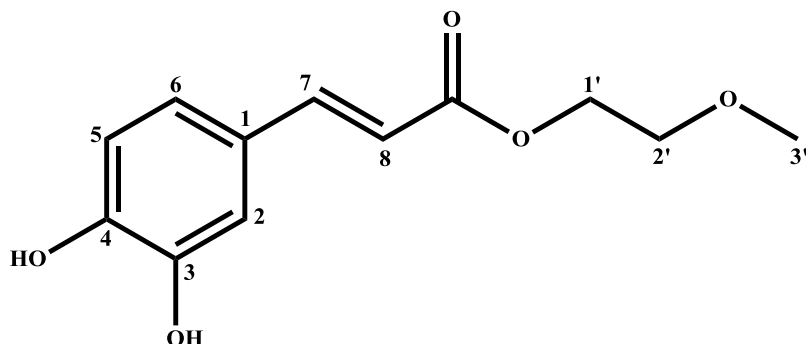


Espectro 18. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME4**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



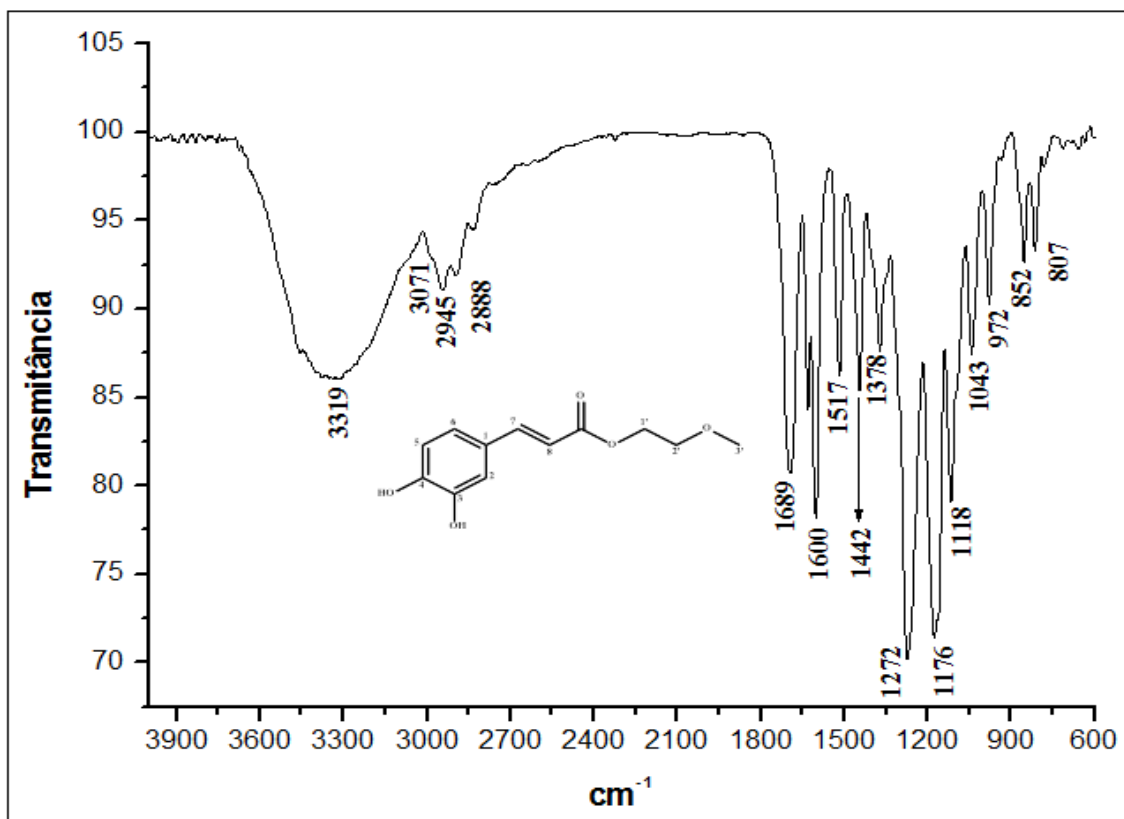
Espectro 19. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-isopropil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME4**) (CH₃D, 50 MHz).

8.1.5. ME5 – Cafeato de métoxi-etila

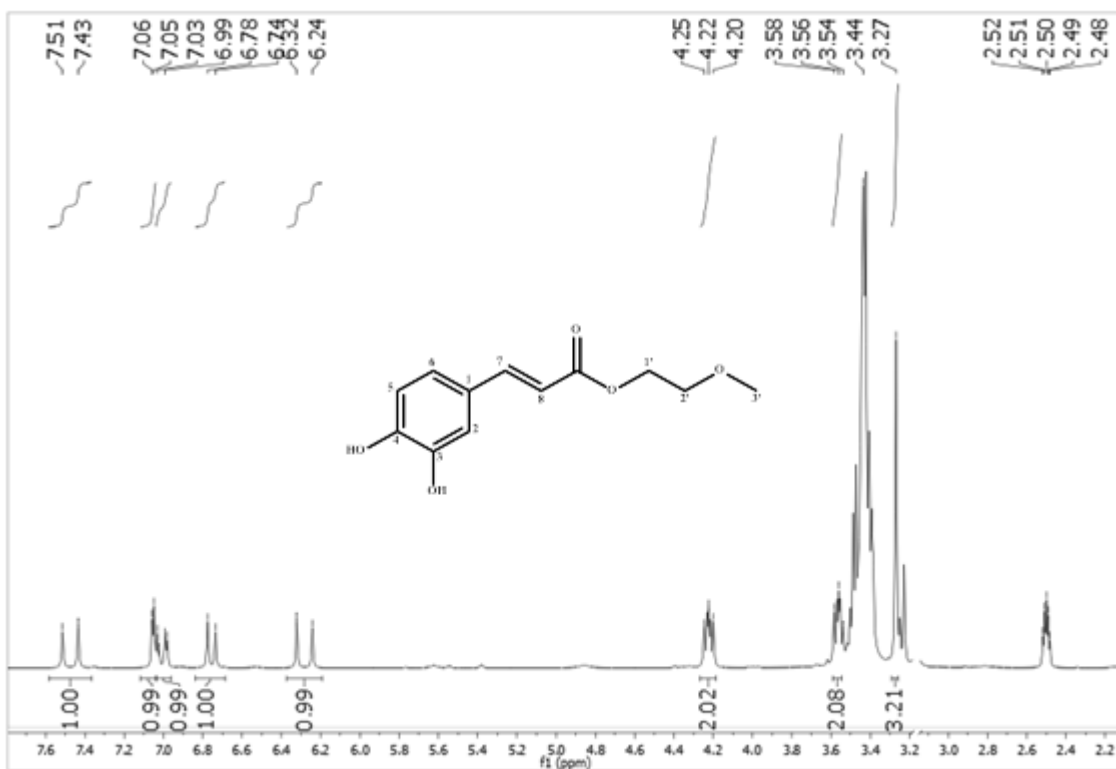


(*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

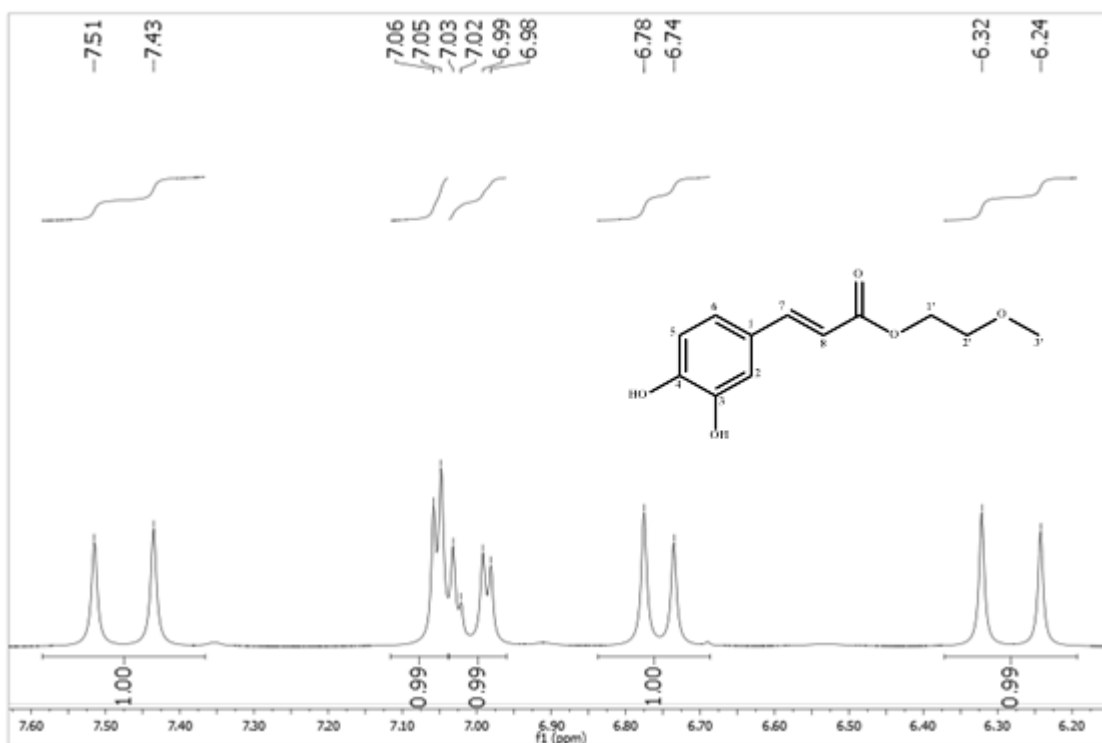
Líquido marron; rendimento 61,64% (203,8 mg); IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3319 (O-H), 3071 (C-H sp^2), 2945 (C-H sp^3), 1689 (C=O), 1600 e 1442 (C=C aromático), 1272 e 1176 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO-d_6): 7,47 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,06 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,01 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,28 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,22 (*t*, $J = 4,8$ Hz, 2H, H-1'); 3,56 (*t*, $J = 4,8$ Hz, 2H, H-2'); 3,27 (*s*, 3H, H-3'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO-d_6): 166,7 (C=O); 148,5 (C-4); 145,6 (C-3); 145,5 (C-7); 125,5 (C-1); 121,6 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 113,8 (C-2); 69,9 (C-1'); 63,0 (C-2'); 58,2 (C-3'), (XIAO et al., 2013); EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{O}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 239,0919; encontrada 239,1599.



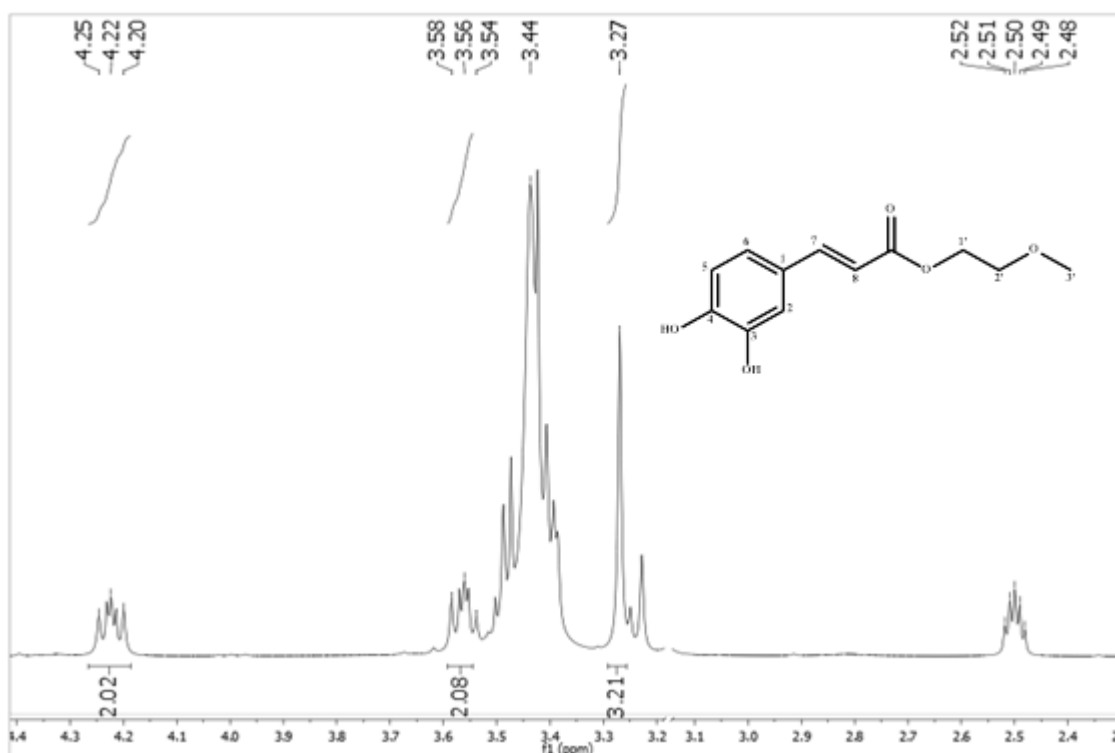
Espectro 20. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**).



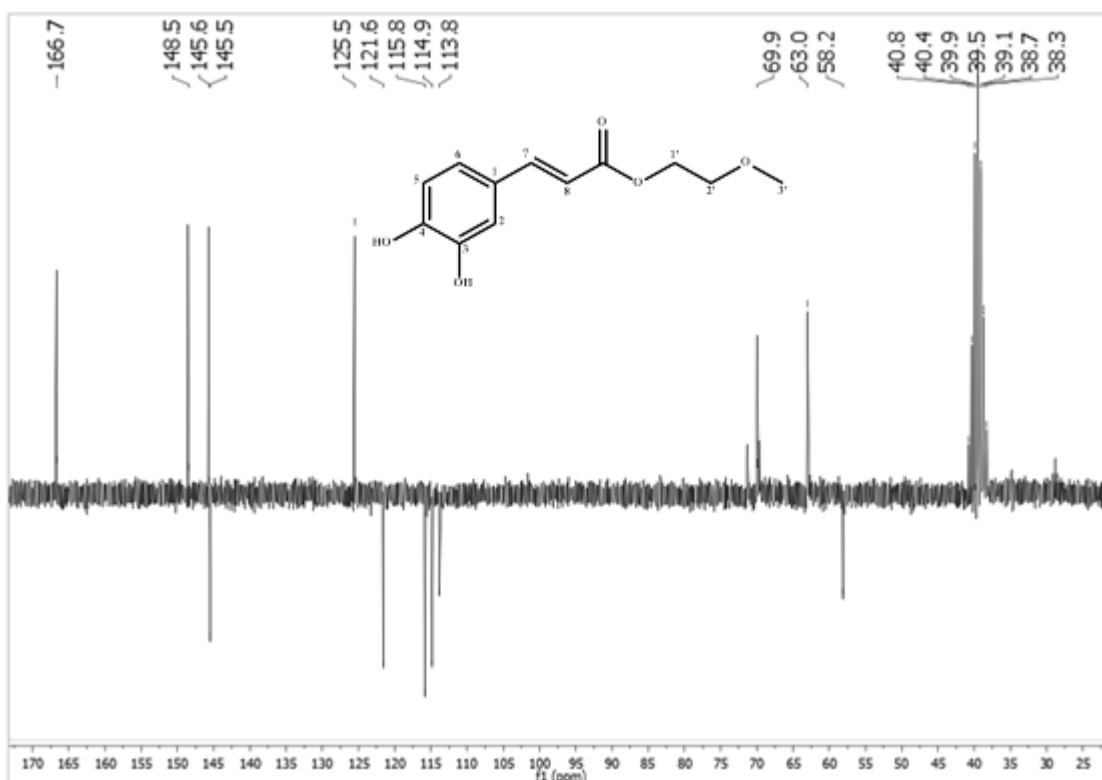
Espectro 21. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**), (DMSO-d_6 , 200 MHz).



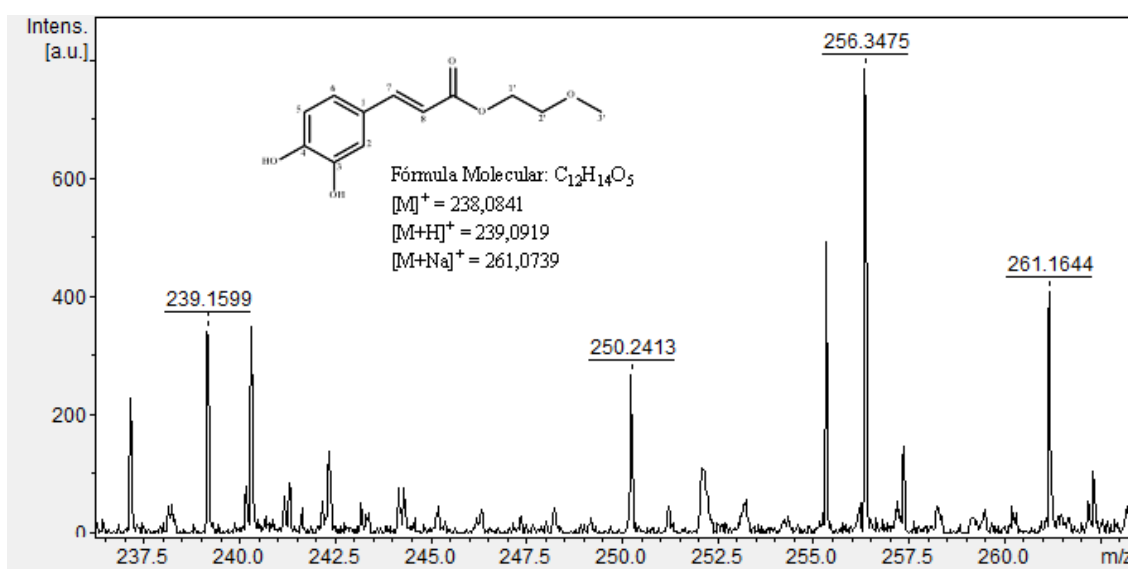
Espectro 22. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



Espectro 23. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**), (DMSO-d₆, 200 MHz).

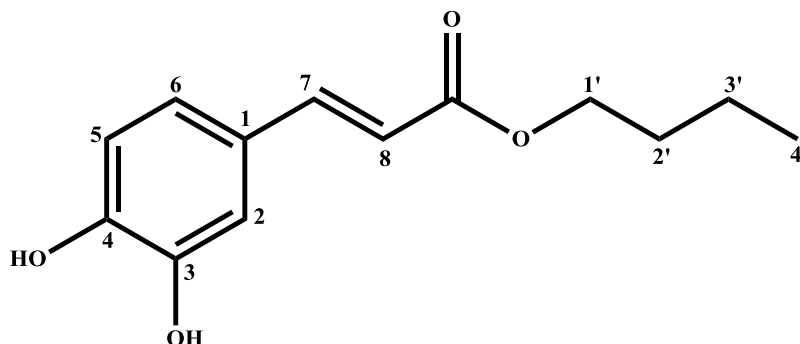


Espectro 24. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



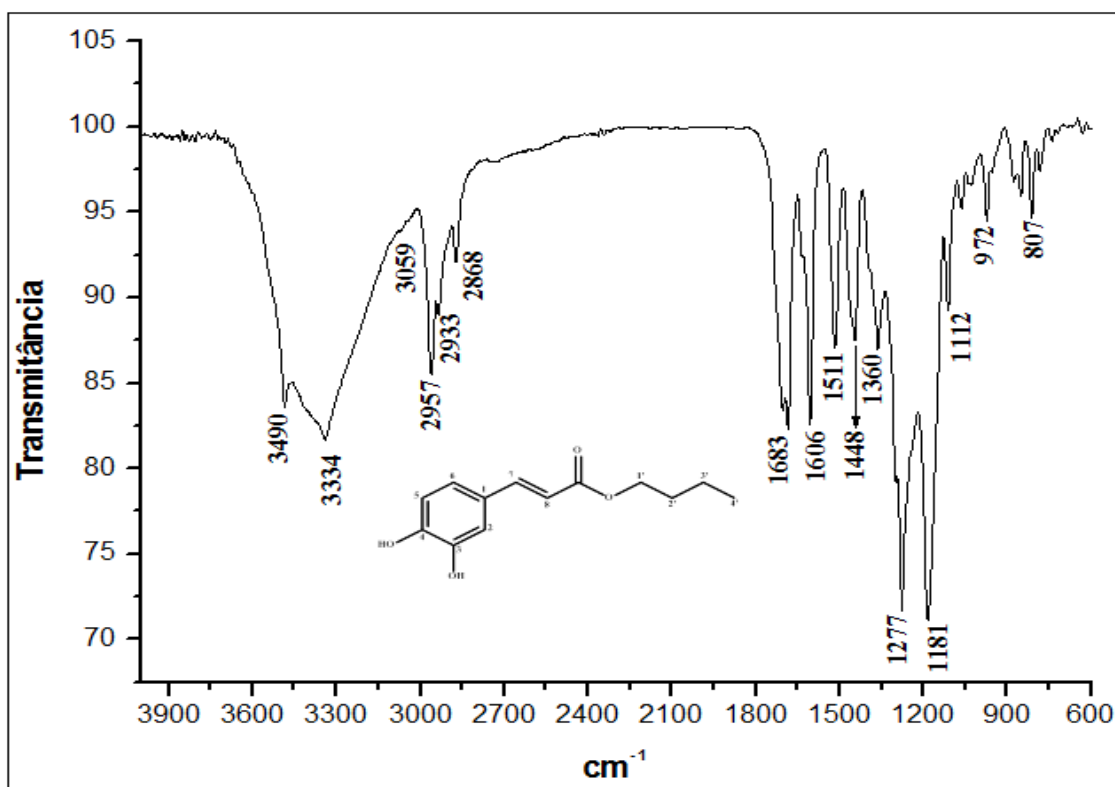
Espectro 25. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (*E*)-2-metoxietil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME5**).

8.1.6. ME6 – Cafeato de butila

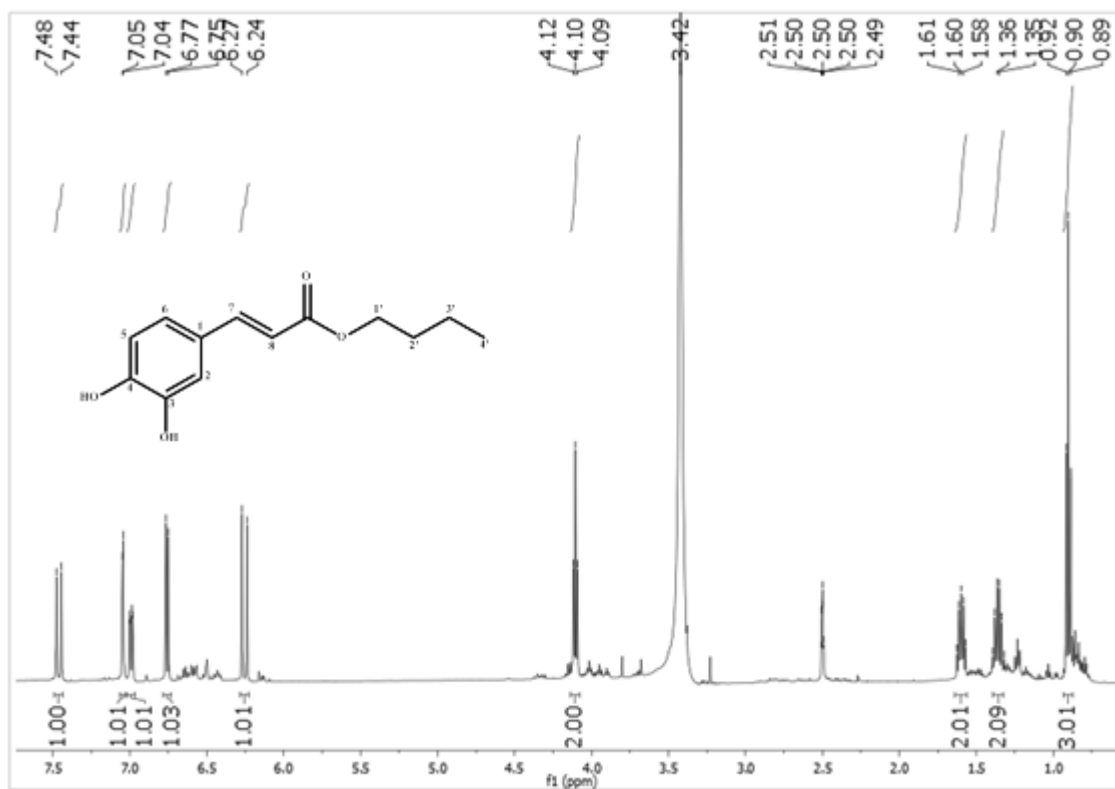


(*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

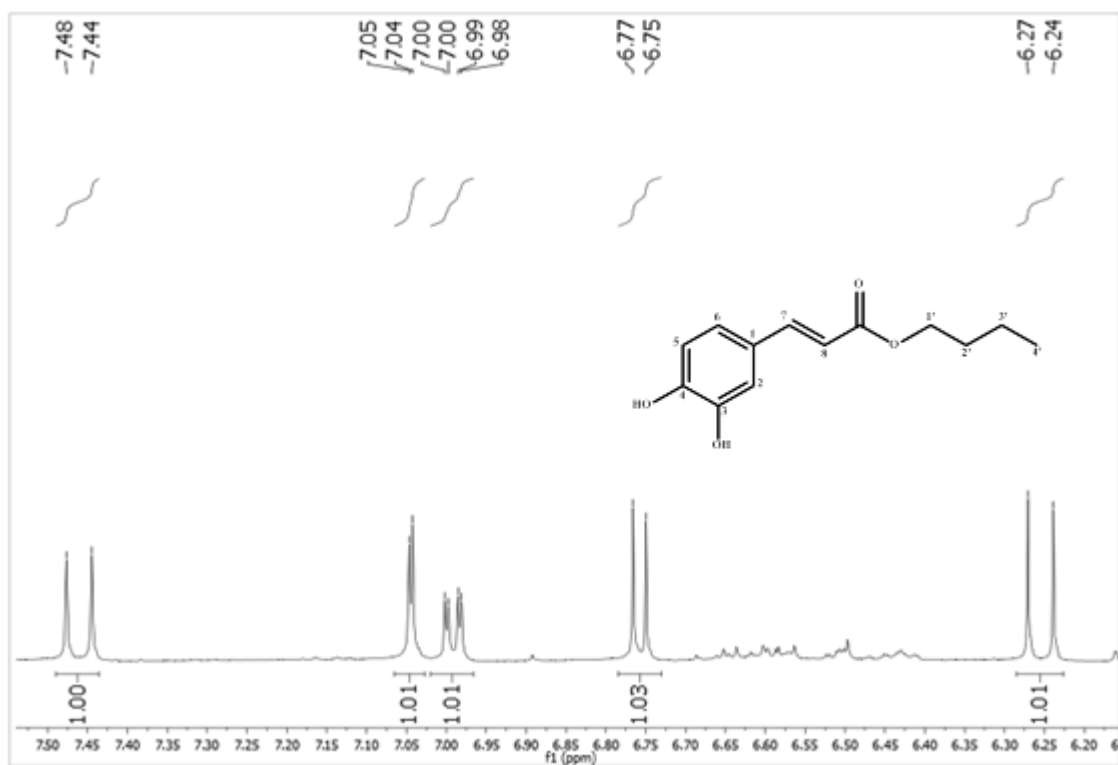
Líquido preto; rendimento 91,53% (300,1 mg); IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3334 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2957 (C-H sp^3), 1683 (C=O), 1606 e 1448 (C=C aromático), 1277 e 1181 (estiramento C-O); RMN de ^1H (500 MHz, DMSO- d_6): 7,46 (*d*, $J = 15,5$ Hz, 1H, H-7); 7,05 (*d*, $J = 2,5$ Hz, 1H, H-2); 6,99 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,5 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,26 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,11 (*t*, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-1'); 1,60 (*quint*, $J = 6,5$ Hz, 2H, H-2'); 1,36 (*sex*, $J = 7,5$ Hz 2H, H-3'); 0,90 (*t*, $J = 7,5$ Hz, 3H, H-4'); RMN de ^{13}C (125 MHz, DMSO- d_6): 166,70 (C=O); 148,42 (C-4); 145,62 (C-3); 145,05 (C-7); 125,57 (C-1); 121,43 (C-6); 115,79 (C-5); 114,80 (C-8); 114,09 (C-2); 63,49 (C-1'); 30,42 (C-2'); 18,75 (C-3'); 13,66 (C-4'), (UWAI et al., 2008).



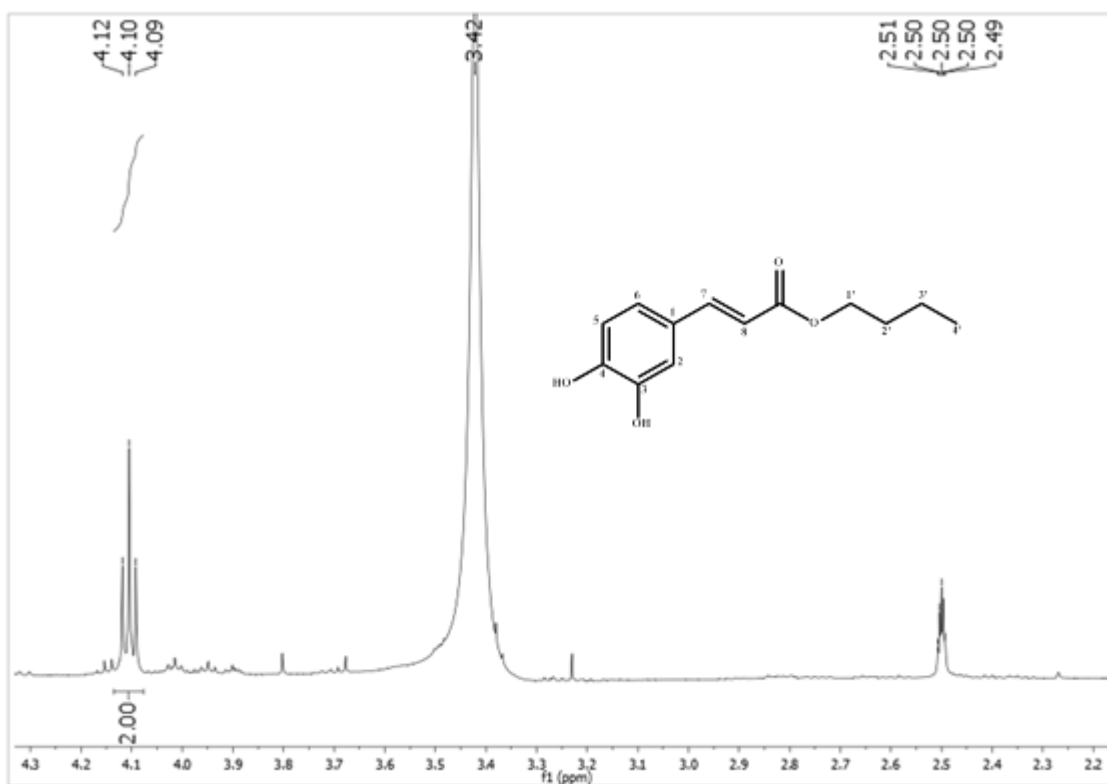
Espectro 26. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**).



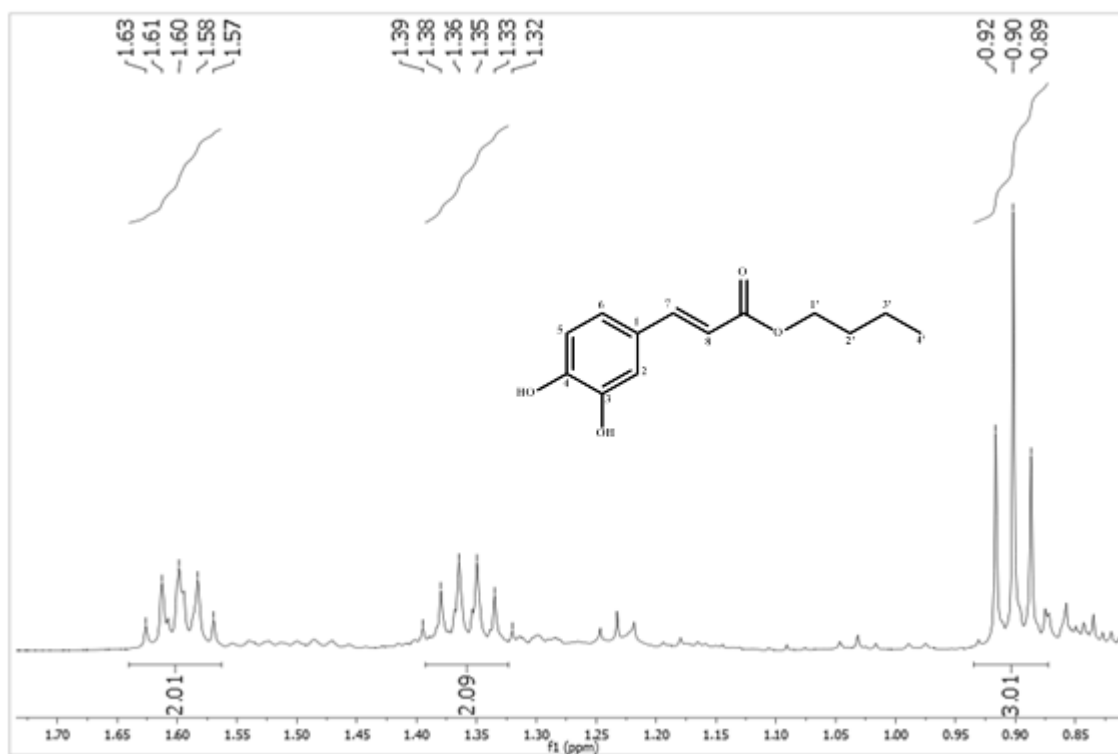
Espectro 27. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**), (DMSO- d_6 , 500 MHz).



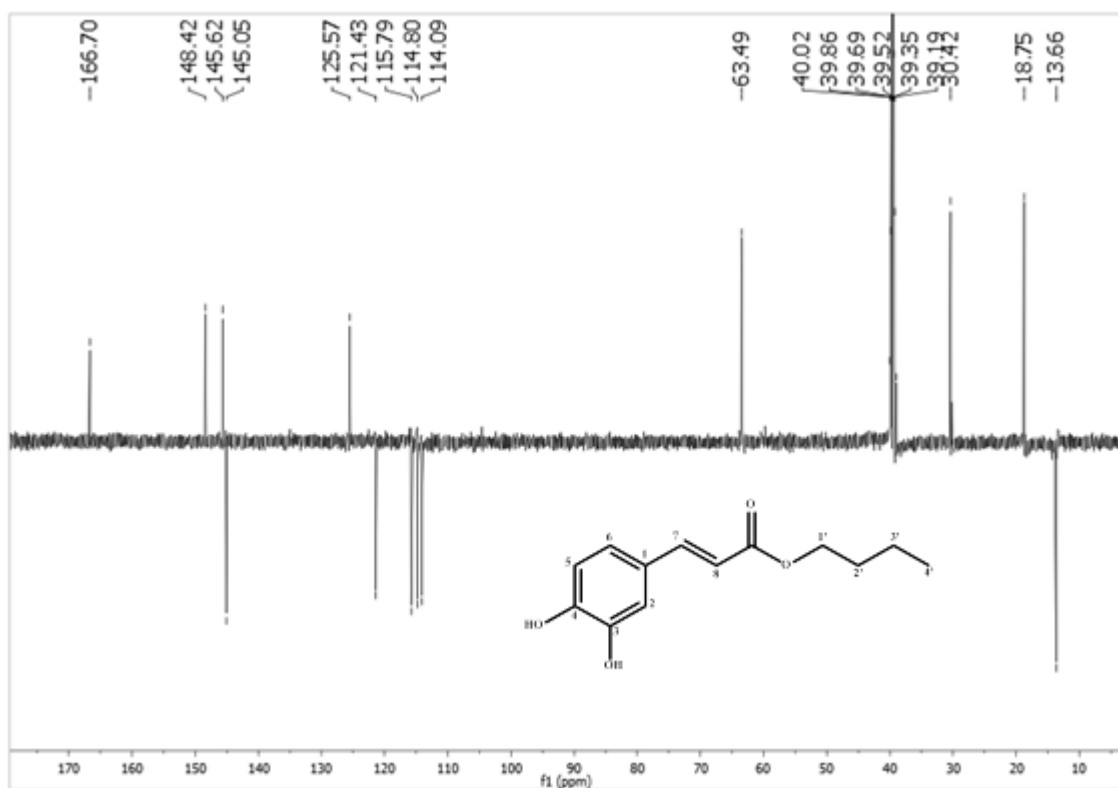
Espectro 28. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**), (DMSO- d_6 , 500 MHz).



Espectro 29. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**), (DMSO- d_6 , 500 MHz).

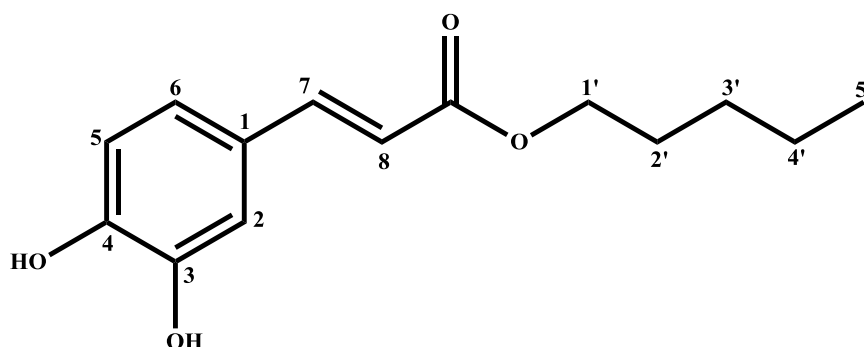


Espectro 30. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**), (DMSO-d₆, 500 MHz).



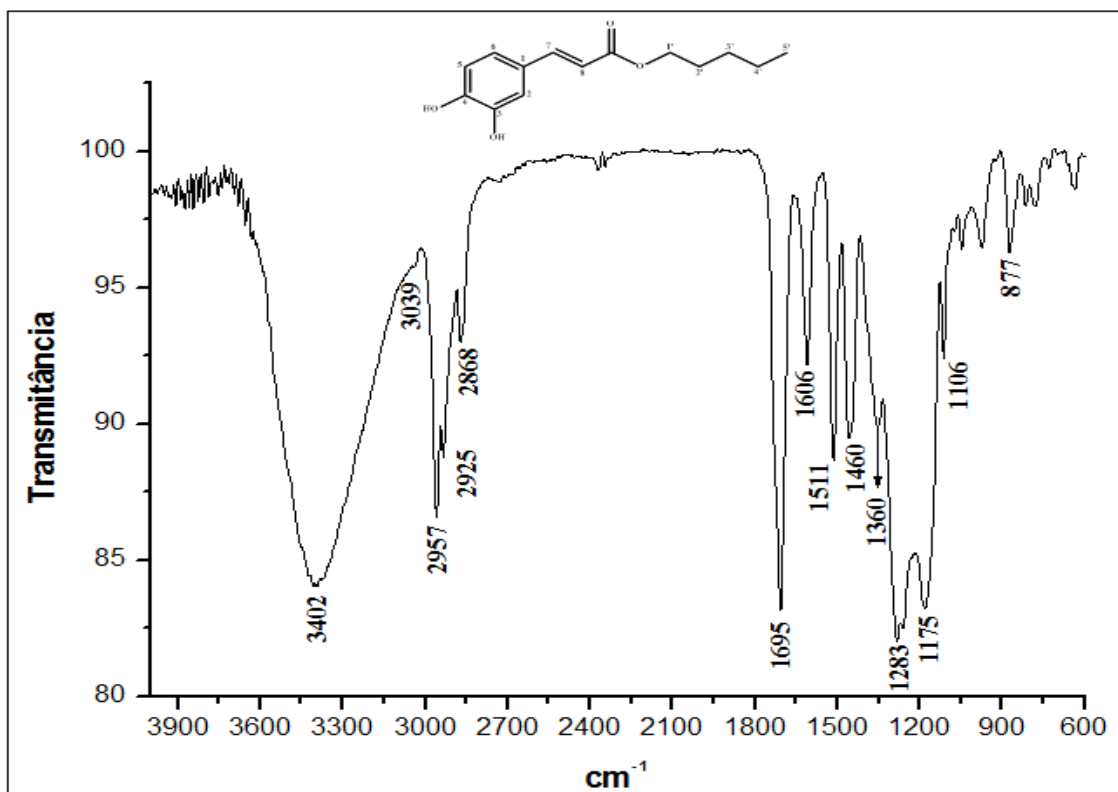
Espectro 31. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-butil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME6**), (DMSO-d₆, 125 MHz).

8.1.7. ME7 – Cafeato de pentila

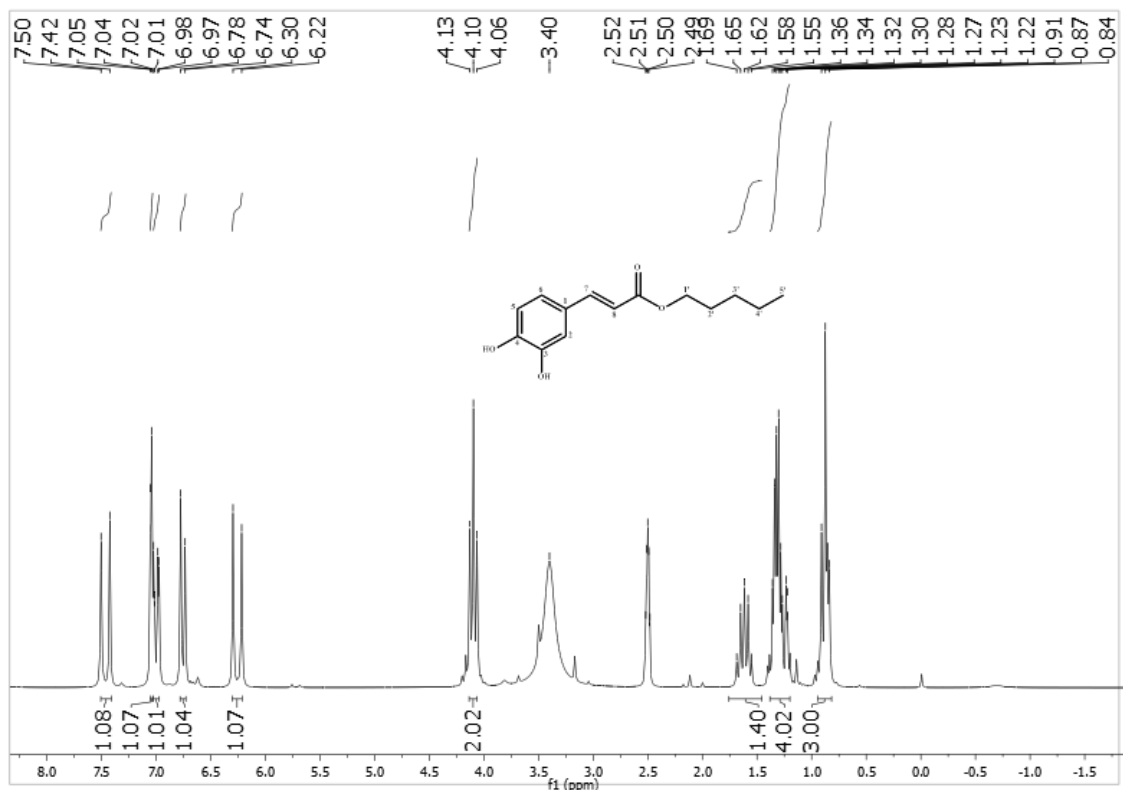


(*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

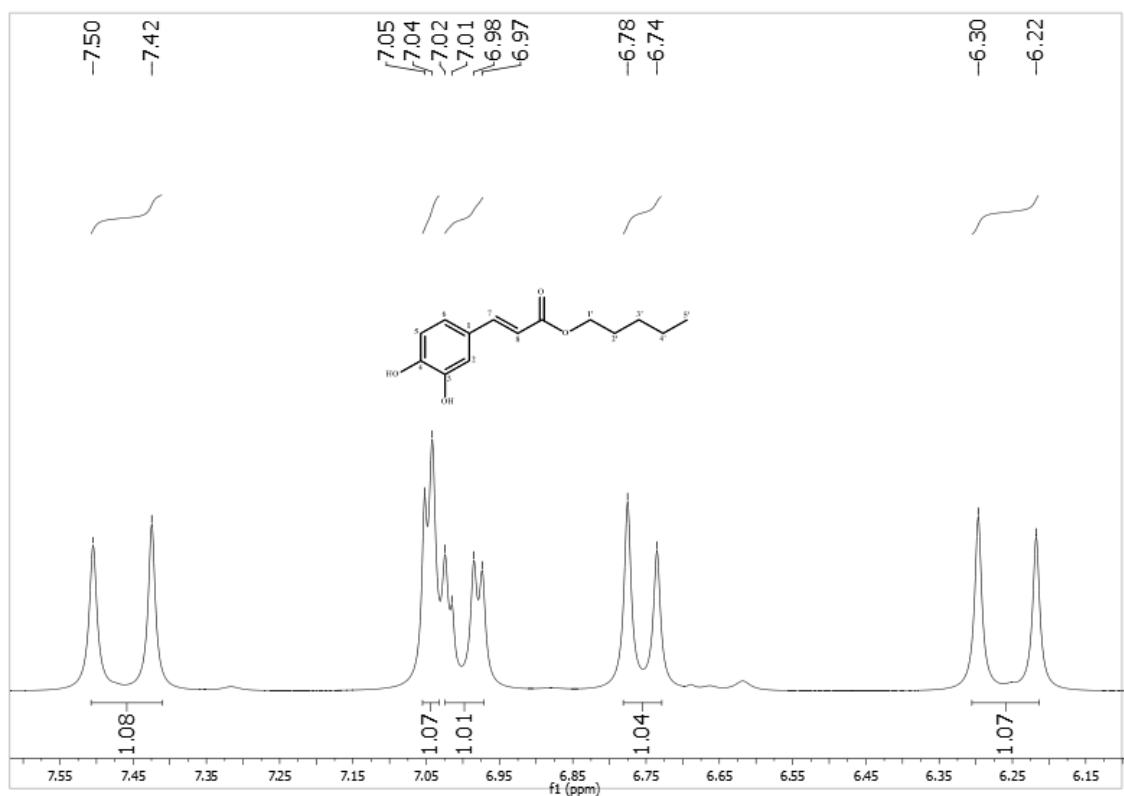
Líquido marron; rendimento 50,50% (175,4 mg); IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3402 (O-H), 3039 (C-H sp^2), 2957 (C-H sp^3), 1695 (C=O), 1606 e 1460 (C=C aromático), 1283 e 1175 (estiramento C-O); RMN de 1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,46 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,05 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,26 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,10 (*t*, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 1,62 (*quint*, $J = 6,8$ Hz, 2H, H-2'); 1,36 – 1,22 (*m*, 4H, H-3', H-4'); 0,87 (*t*, $J = 7,0$ Hz, 3H, H-5'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,7 (C=O); 148,4 (C-4); 145,6 (C-3); 145,1 (C-7); 125,5 (C-1); 121,4 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 114,1 (C-2); 63,8 (C-1'); 28,1 (C-2'); 27,7 (C-3'); 21,9 (C-4'); 14,0 (C-5'), (UWAI et al., 2008).



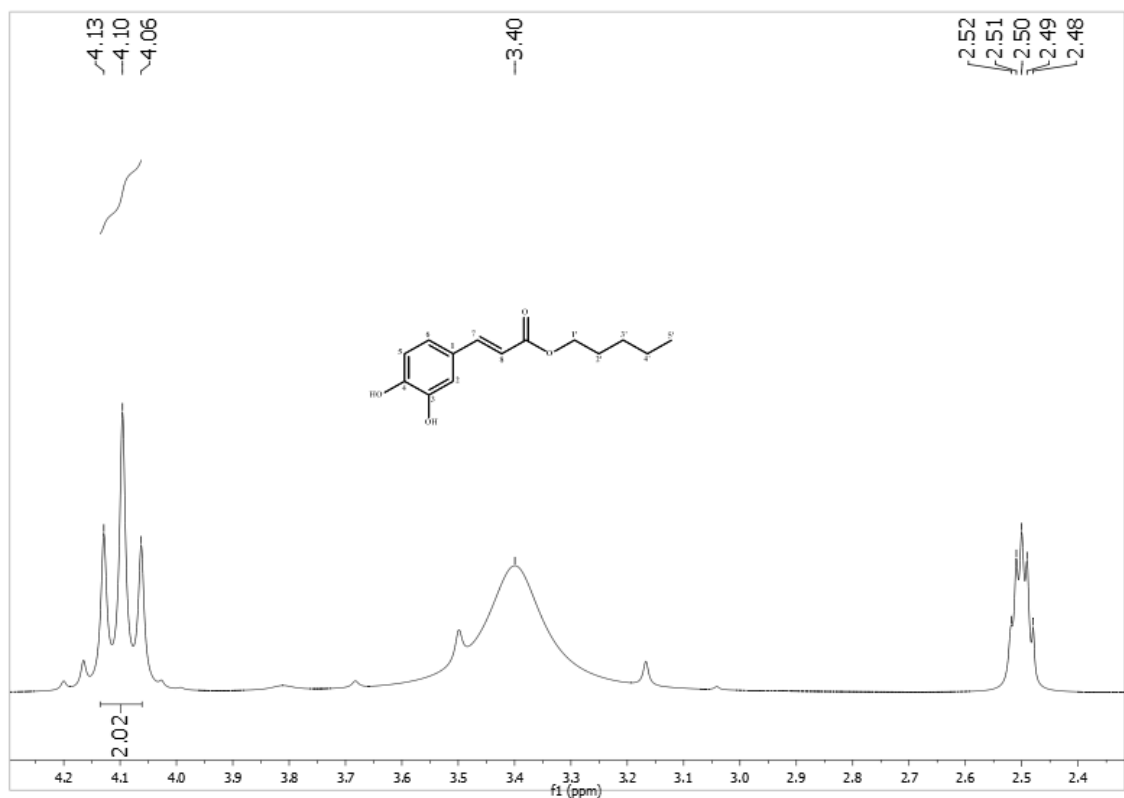
Espectro 32. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**).



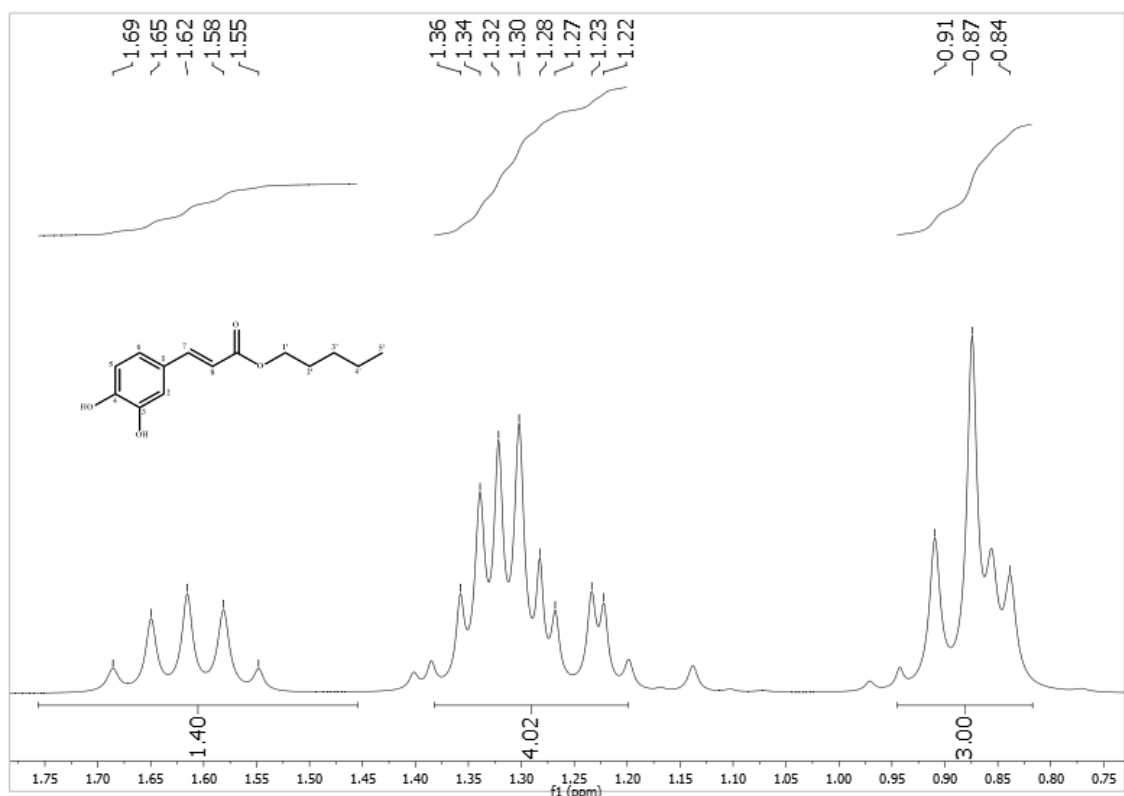
Espectro 33. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



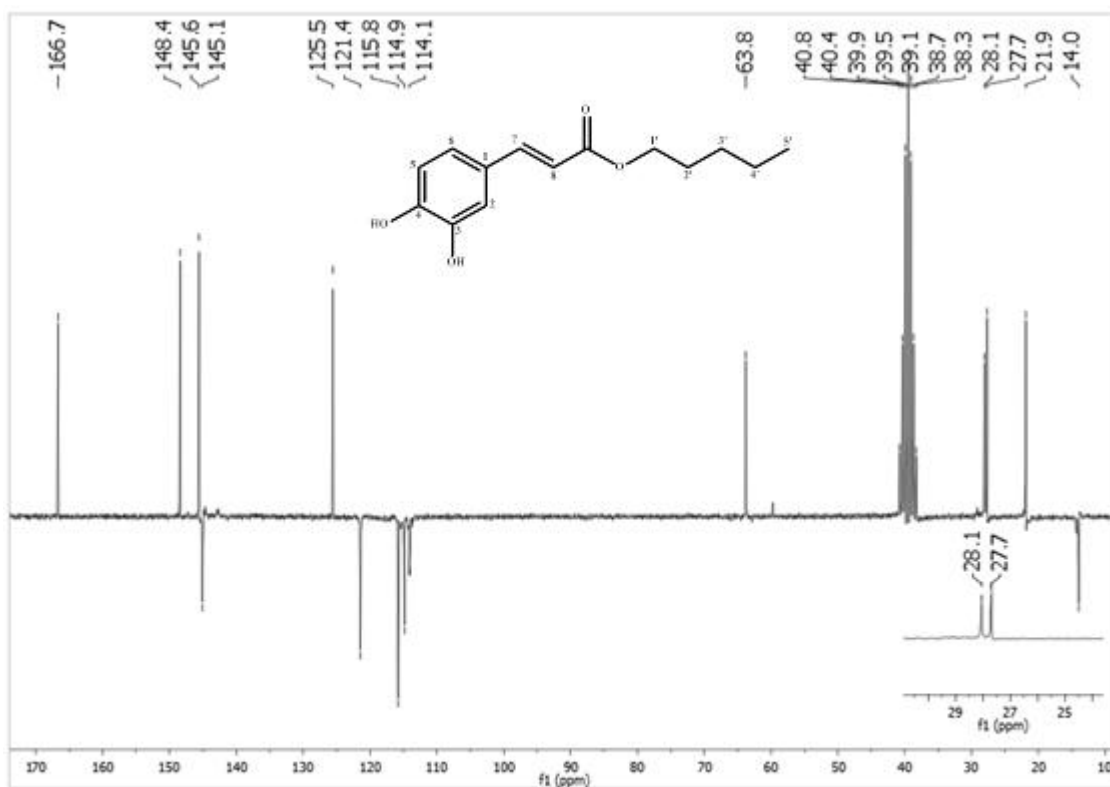
Espectro 34. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



Espectro 35. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**), (DMSO-d₆, 200 MHz).

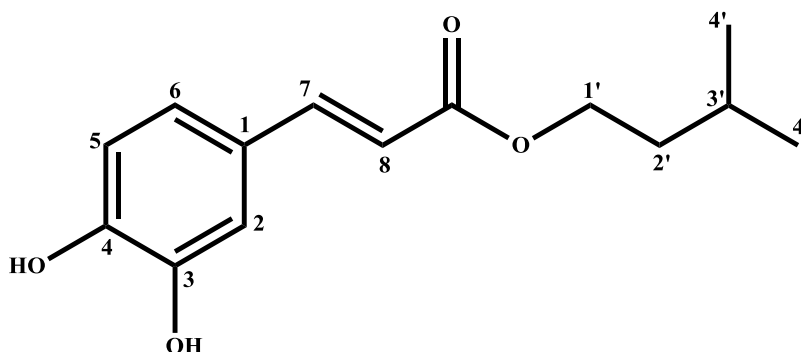


Espectro 36. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



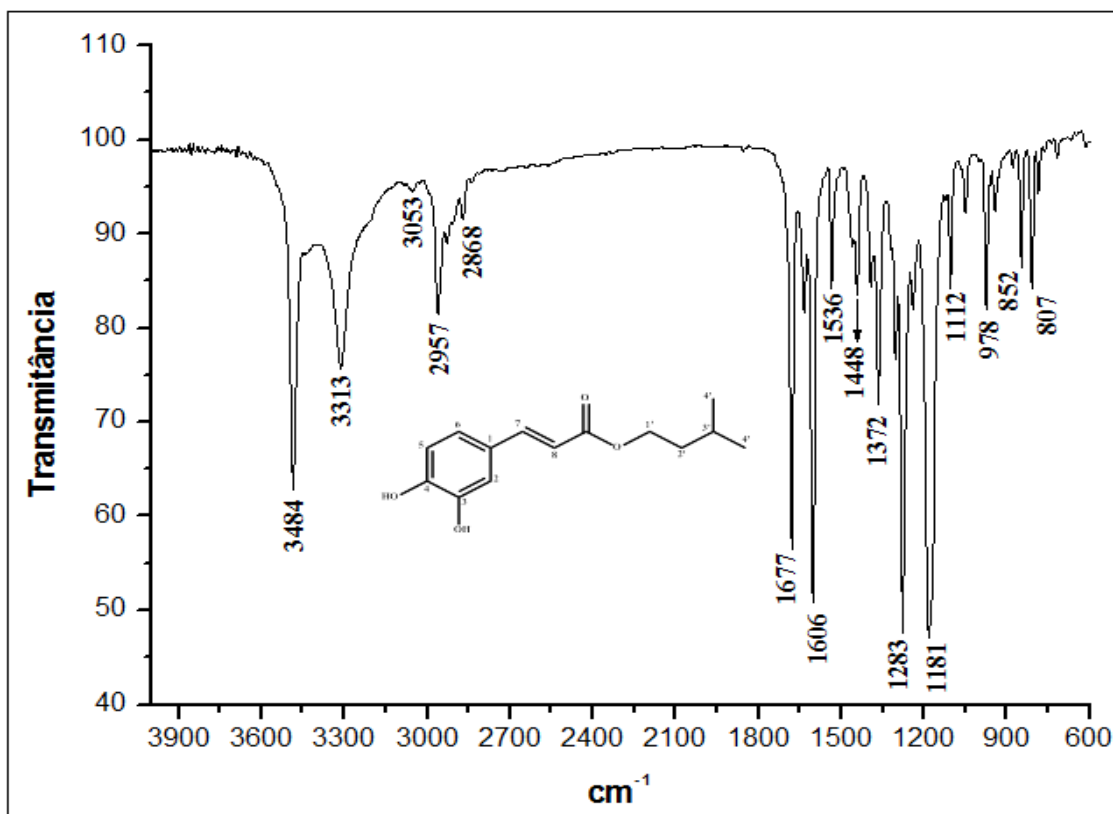
Espectro 37. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-pentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME7**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

8.1.8. ME8 – Cafeato de isopentila

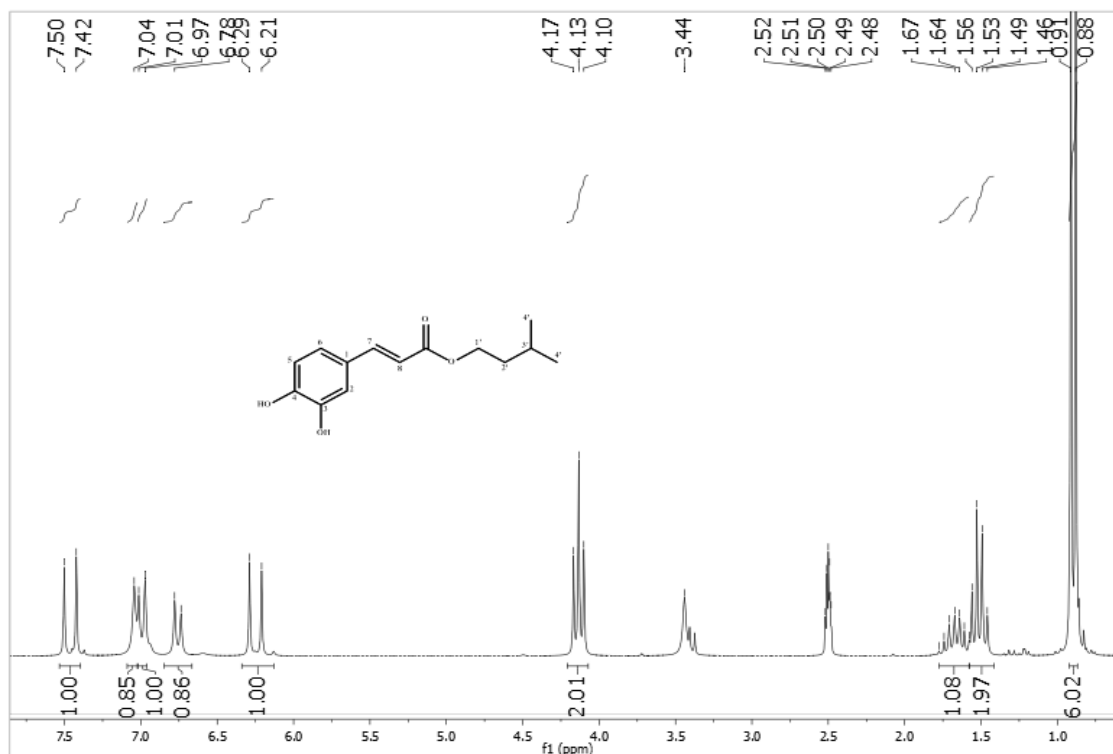


(*E*)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

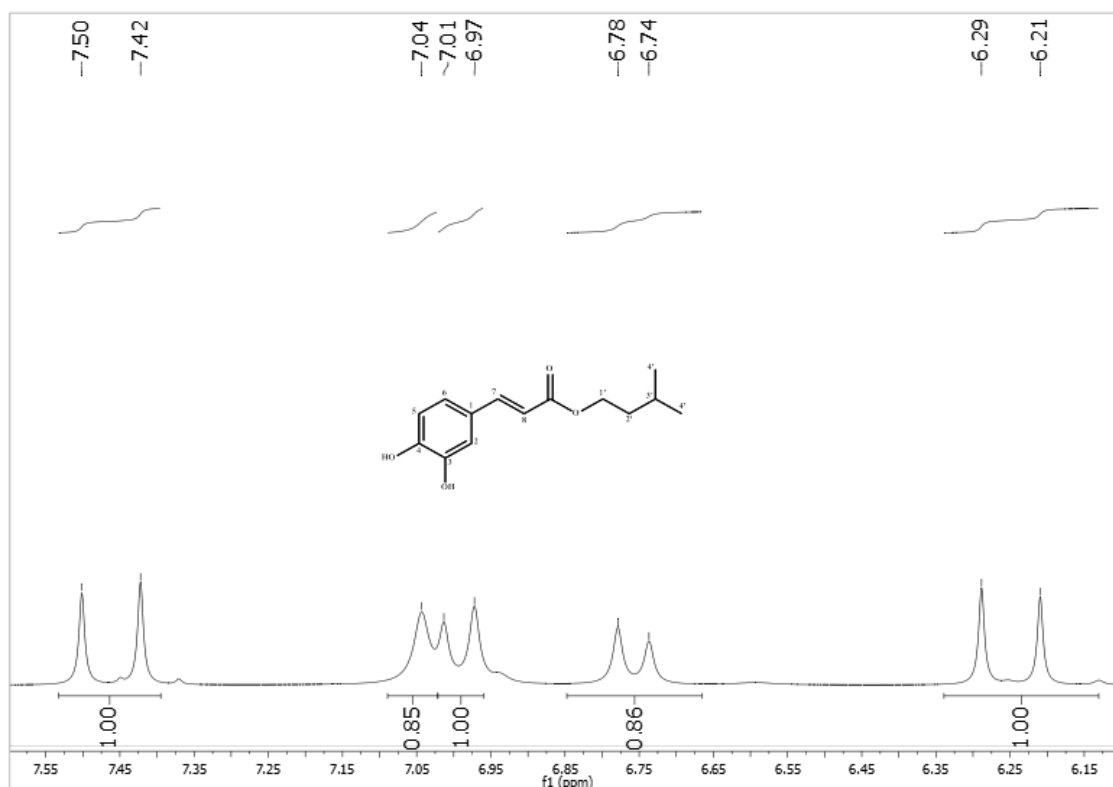
Sólido amorfo de cor cinza; rendimento 49,00% (169,5 mg); IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3313 (O-H), 3053 (C-H sp^2), 2957 (C-H sp^3), 1677 (C=O), 1606 e 1448 (C=C aromático), 1283 e 1181 (estiramento C-O); RMN de 1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,46 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,04 (*s*, 1H, H-2); 6,99 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,25 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,13 (*t*, $J = 6,6$ Hz, 2H, H-1'); 1,78 – 1,58 (*m*, 1H, H-3'); 1,51 (*q*, $J = 6,4$ Hz, 2H, H-2'); 0,90 (*d*, $J = 6,4$ Hz, 6H, H-4'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,7 (C=O); 148,4 (C-4); 145,6 (C-3); 145,1 (C-7); 125,5 (C-1); 121,4 (C-6); 115,8 (C-5); 114,8 (C-8); 114,1 (C-2); 62,2 (C-1'); 37,1 (C-2'); 24,7 (C-3'); 22,4 (C-4'), (UWAI et al., 2008).



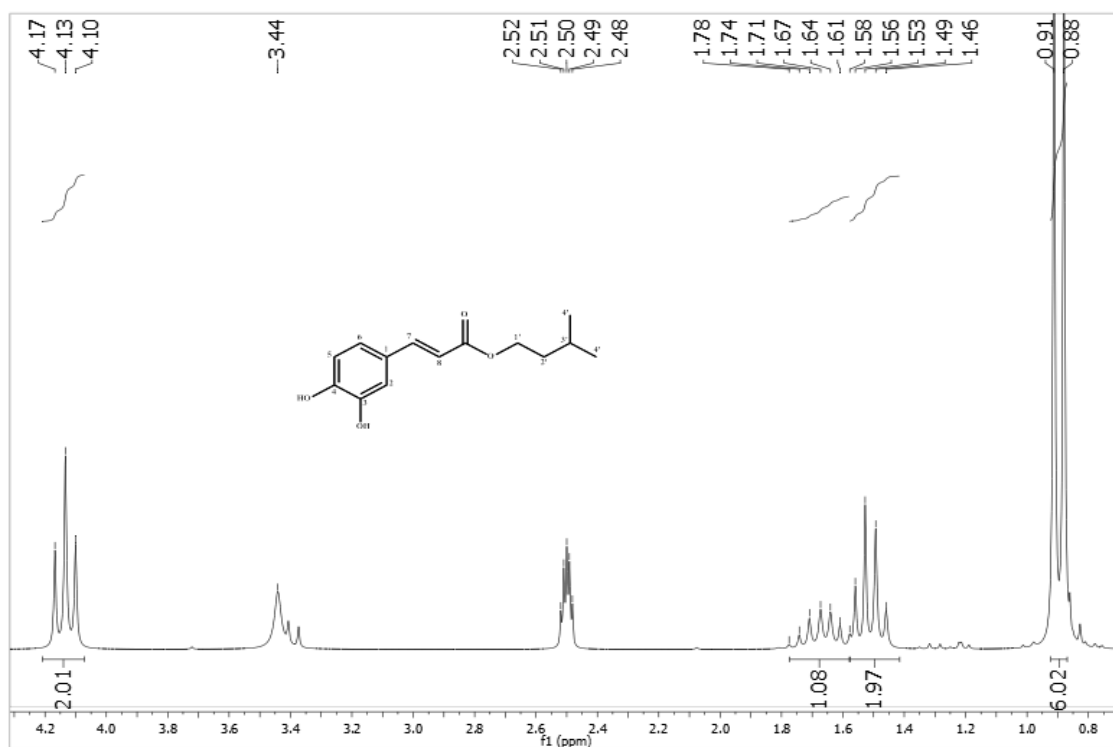
Espectro 38. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME8**).



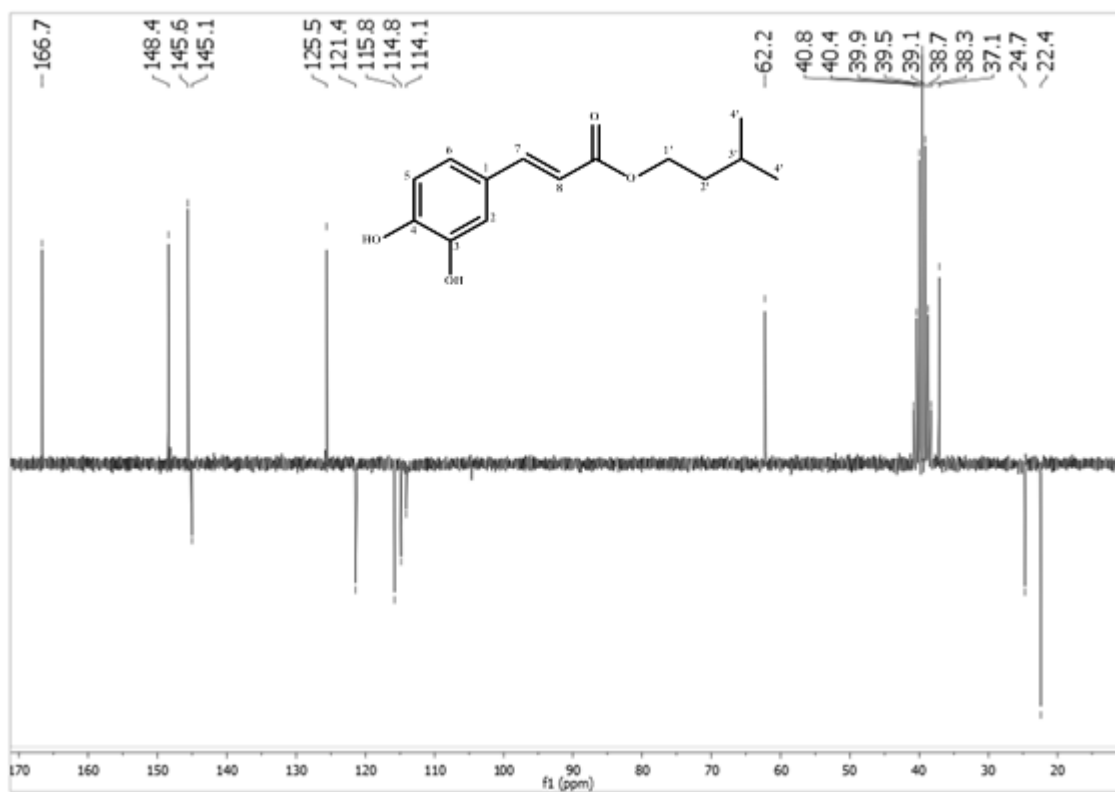
Espectro 39. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME8**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 40. Expansão do espectro de RMN ^1H de *(E)*-isopentil 3-(3,4-dihidroxfenil)acrilato (**ME8**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

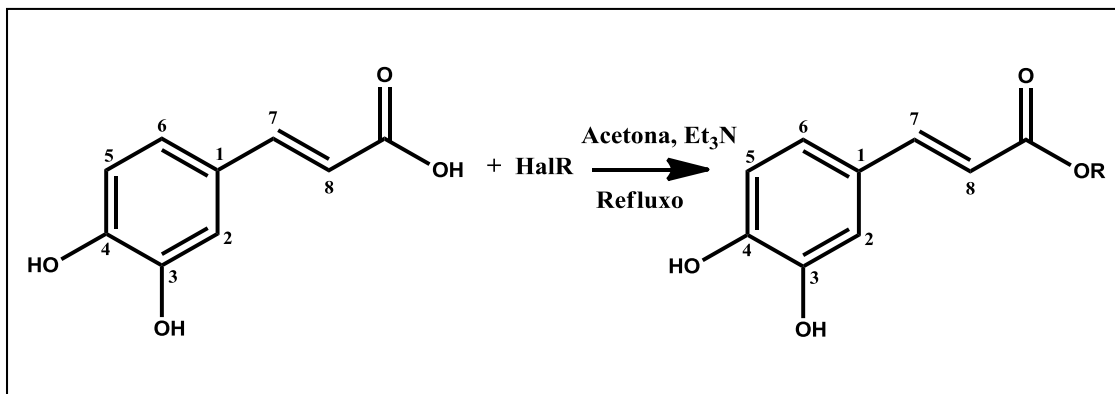


Espectro 41. Expansão do espectro de RMN ^1H de *(E)*-isopentil 3-(3,4-dihidroxfenil)acrilato (**ME8**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



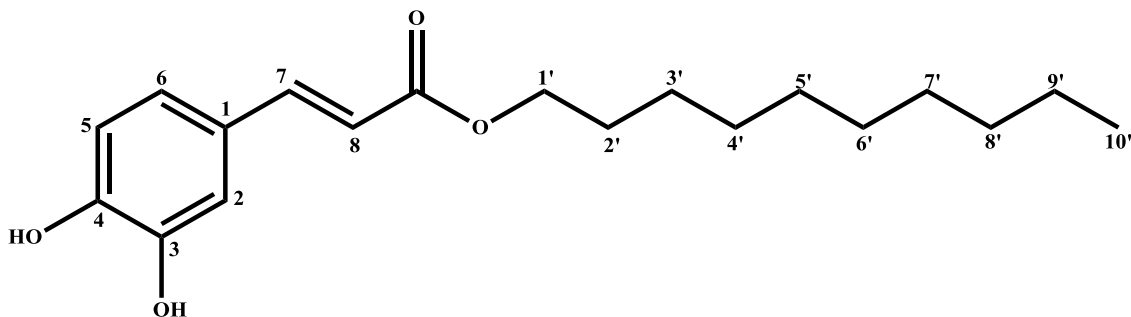
Espectro 42. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-isopentil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME8), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

8.2. Preparação da segunda coleção de ésteres - (ME9, ME12, ME14 e ME16)



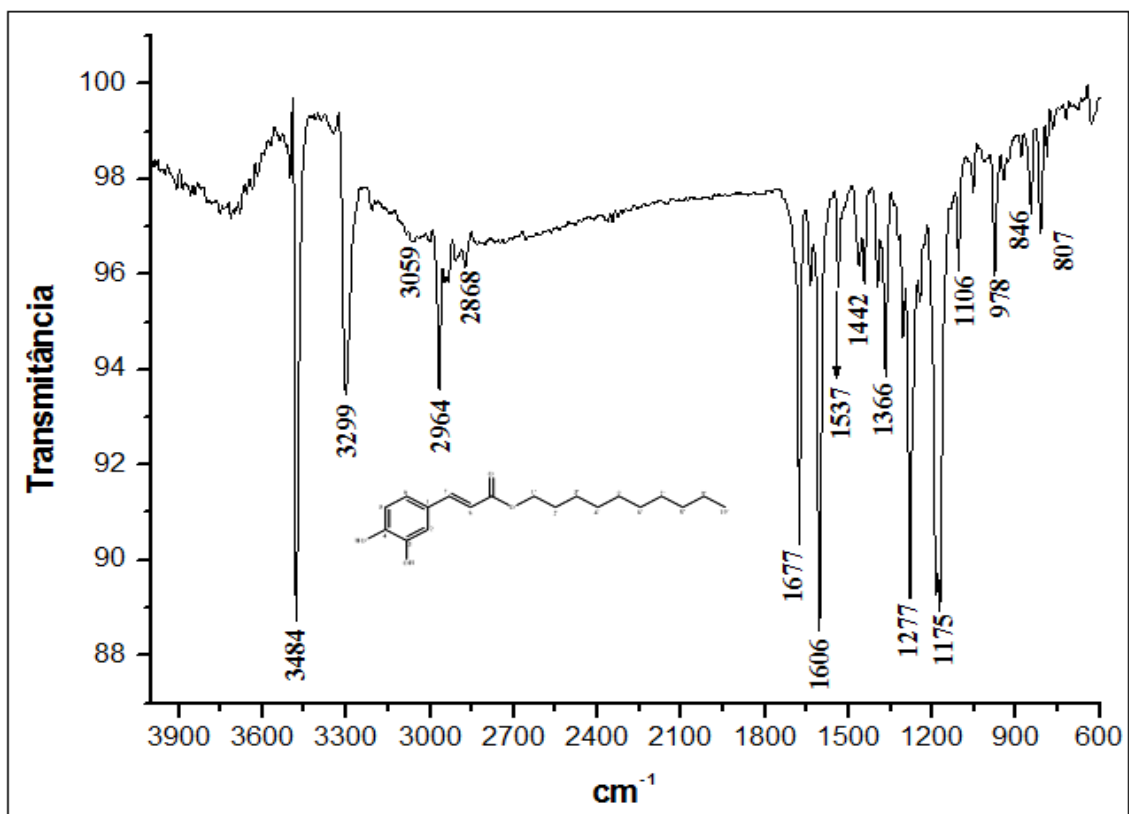
Em um balão de 100 mL, o ácido caféico (0,2 g; 1,11 mmol), foi dissolvido em 13,5 mL de acetona anidra. À solução foi adicionada 0,6 mL de trietilamina (4,4 mmol) e o haleto (1,14 mmol). O balão foi acoplado a um condensador de refluxo e colocado em um banho de óleo. A mistura reacional foi aquecida sob refluxo com agitação magnética, durante cerca de 44-120 horas, até o consumo do material de partida, monitorados por CCDA. Com a formação do produto, o solvente foi parcialmente evaporado sob pressão reduzida, para dá início a extração. A solução obtida foi transferida para um funil de separação. No funil, adicionou-se 20 mL de água destilada e extraída com 3 x 20 mL de acetato de etila. As fases orgânicas resultantes foram reunidas, lavada 3 x 10 mL de água destilada, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, e evaporada todo solvente com auxílio da pressão reduzida. O resíduo foi então purificado por meio coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluentes o hexano e o acetato de etila, em gradiente crescente de polaridade, para separação dos componentes de uma amostra, com o intuito de isolar o produto e calcular os rendimentos (Boeck et al., 2005; Li et al., 2012).

8.2.1. ME9 – Cafeato de Decila

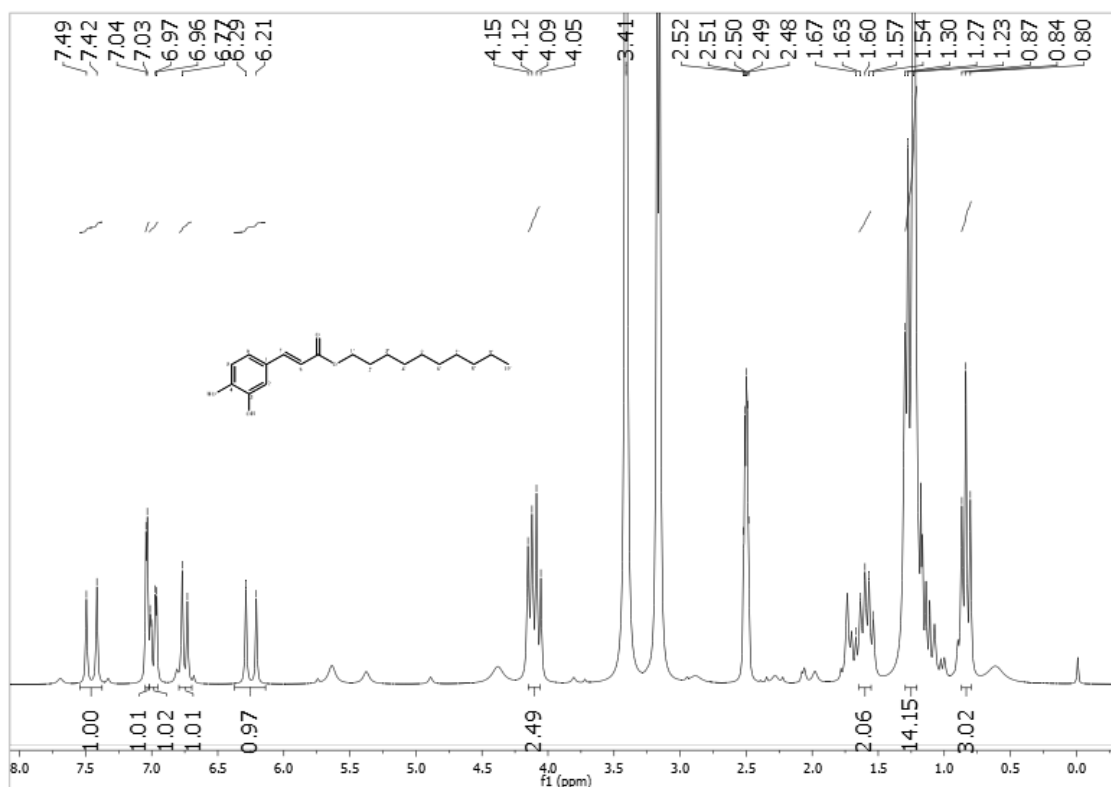


(*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

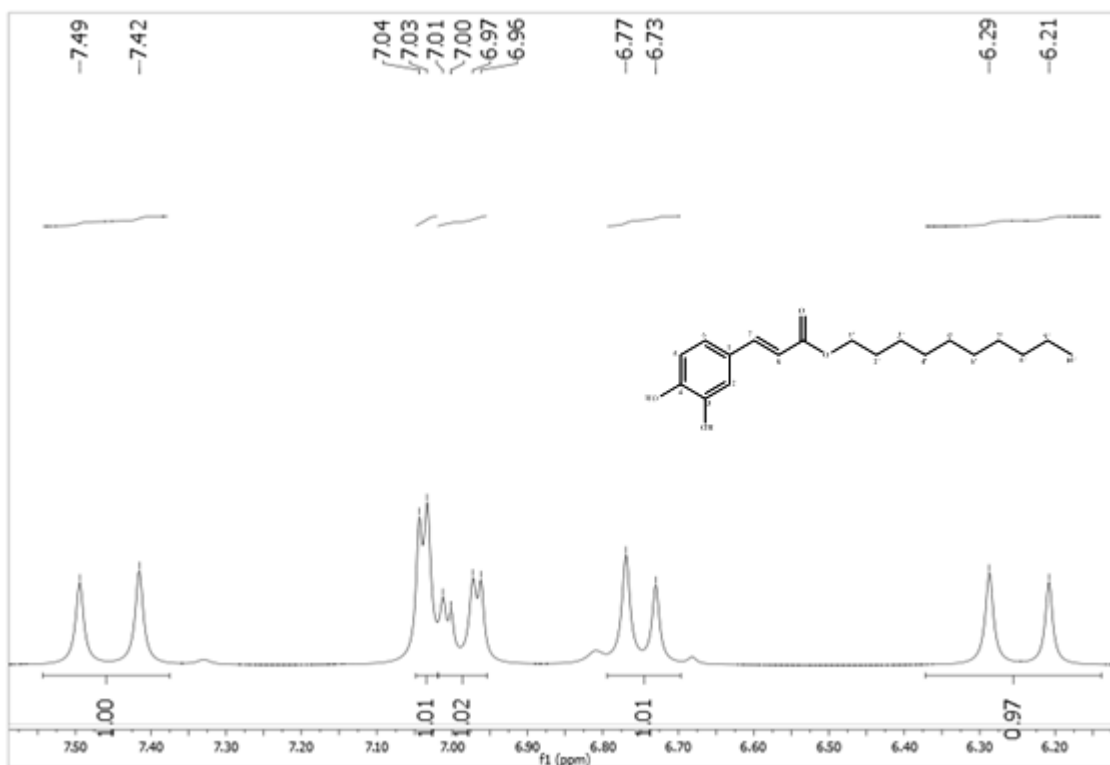
Líquido marron; rendimento 47,53% (174,2 mg); IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3299 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2964 (C-H sp^3), 1677 (C=O), 1606 e 1442 (C=C aromático), 1277 e 1175 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,46 (*d*, $J = 15,8$ Hz, 1H, H-7); 7,04 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 6,99 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,75 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,25 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 4,10 (*dd*, $J = 6,2$ Hz, 2H, H-1'); 1,60 (*quint*, $J = 6,2$ Hz, 2H, H-2'); 1,30 – 1,23 (*m*, 14H, H-3', H-4', H-5', H-6', H-7', H-8', H-9'); 0,84 (*t*, $J = 6,0$ Hz, 3H, H-10'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,7 (C=O); 148,5 (C-4); 145,7 (C-3); 145,2 (C-7); 125,6 (C-1); 121,5 (C-6); 115,9 (C-5); 114,9 (C-8); 114,1 (C-2); 63,7 (C-1'); 31,4 (C-2'); 29,1 (C-3'); 29,1 (C-4'); 28,8 (C-5'); 28,8 (C-6'); 28,4 (C-7'); 25,6 (C-8'); 22,2 (C-9'); 14,1 (C-10'), (UWAI et al., 2008).



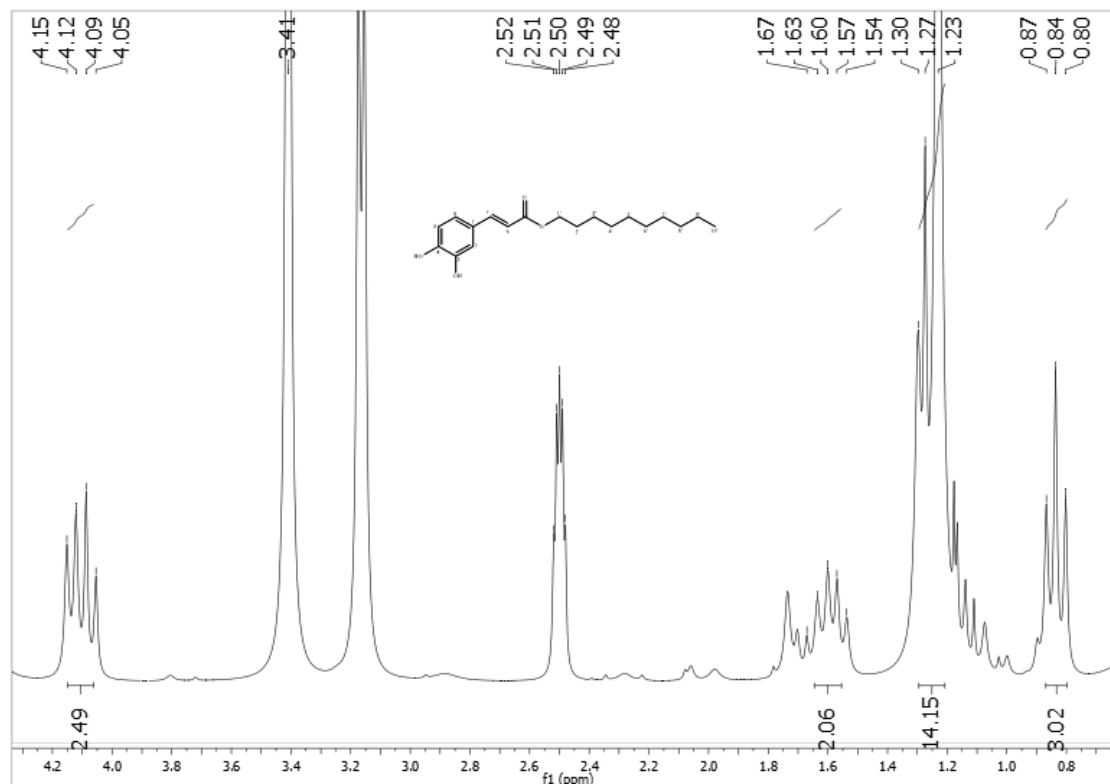
Espectro 43. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME9**).



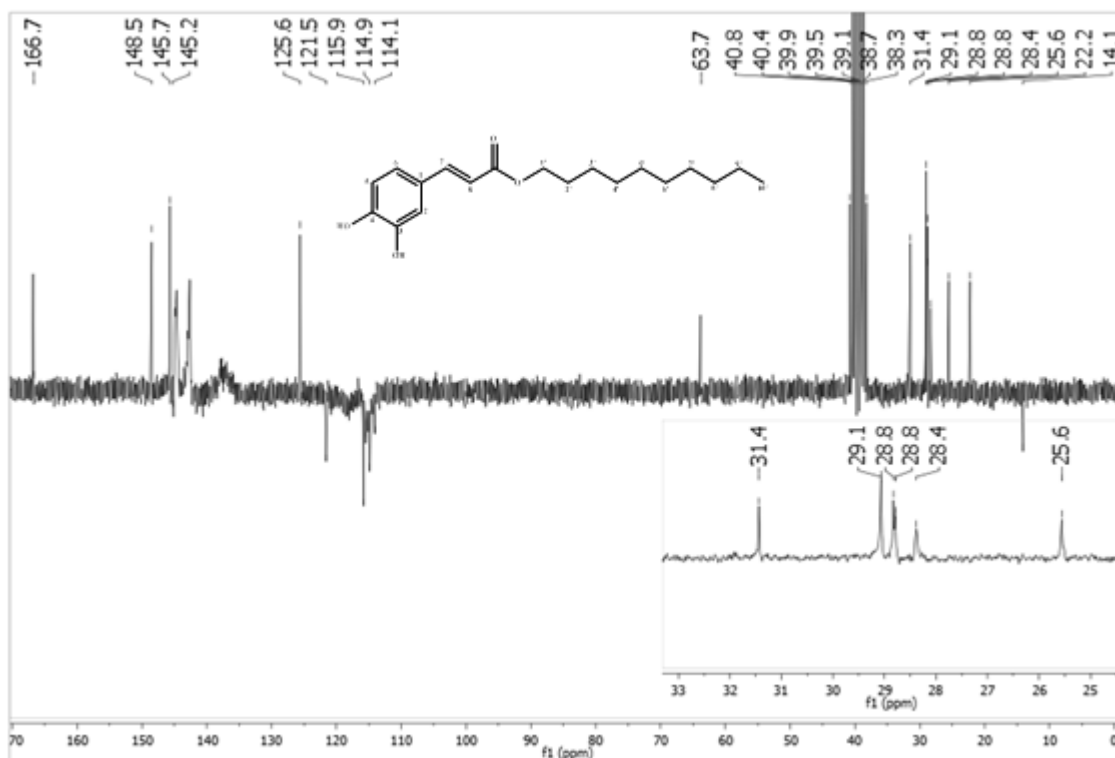
Espectro 44. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME9**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 45. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME9**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

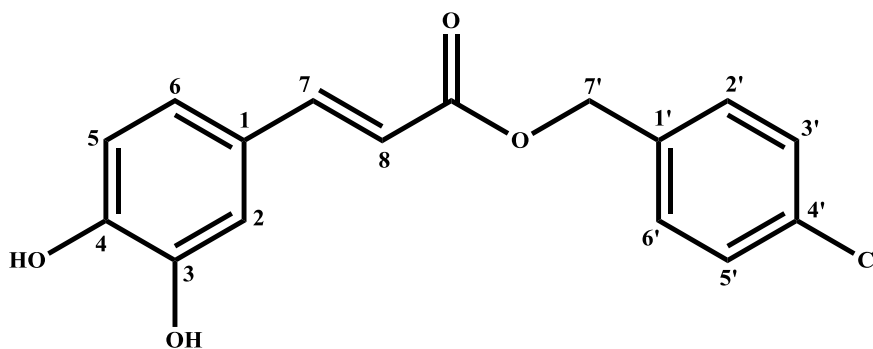


Espectro 46. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME9**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 47. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-decil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME9), (DMSO- d_6 , 50 MHz).

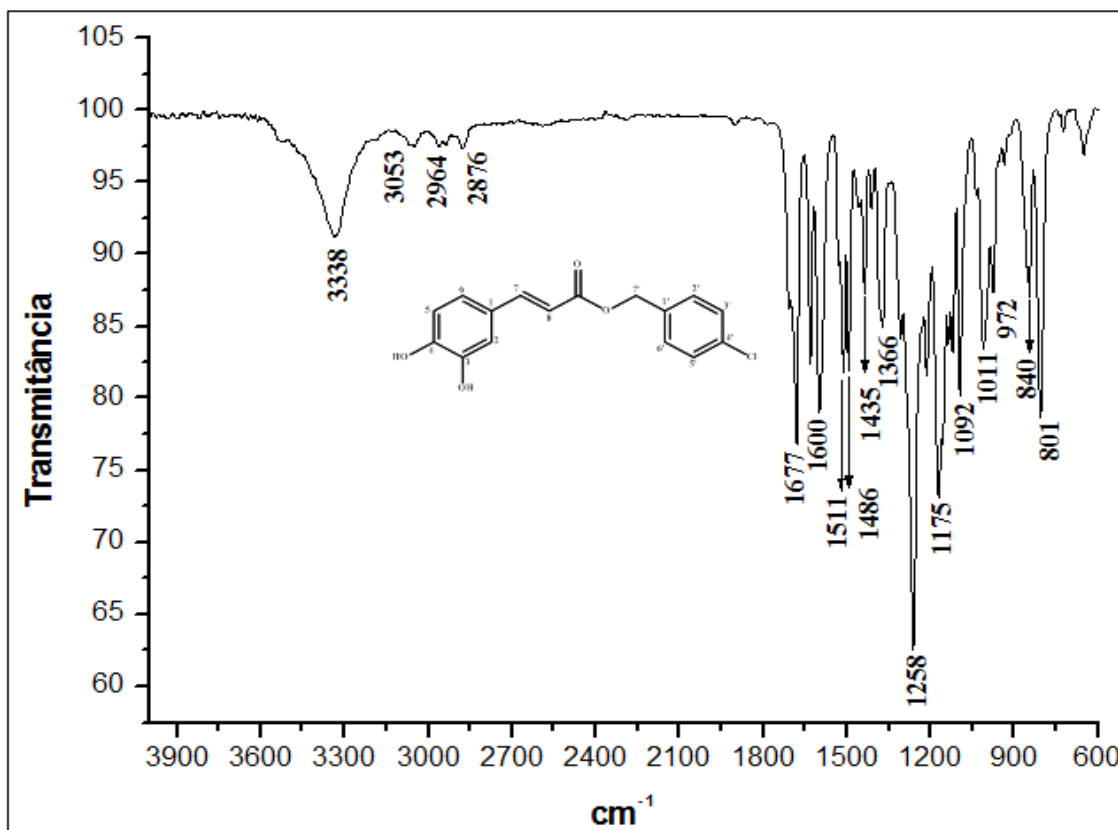
8.2.2. ME12 – Cafeato de 4-cloro-benzila



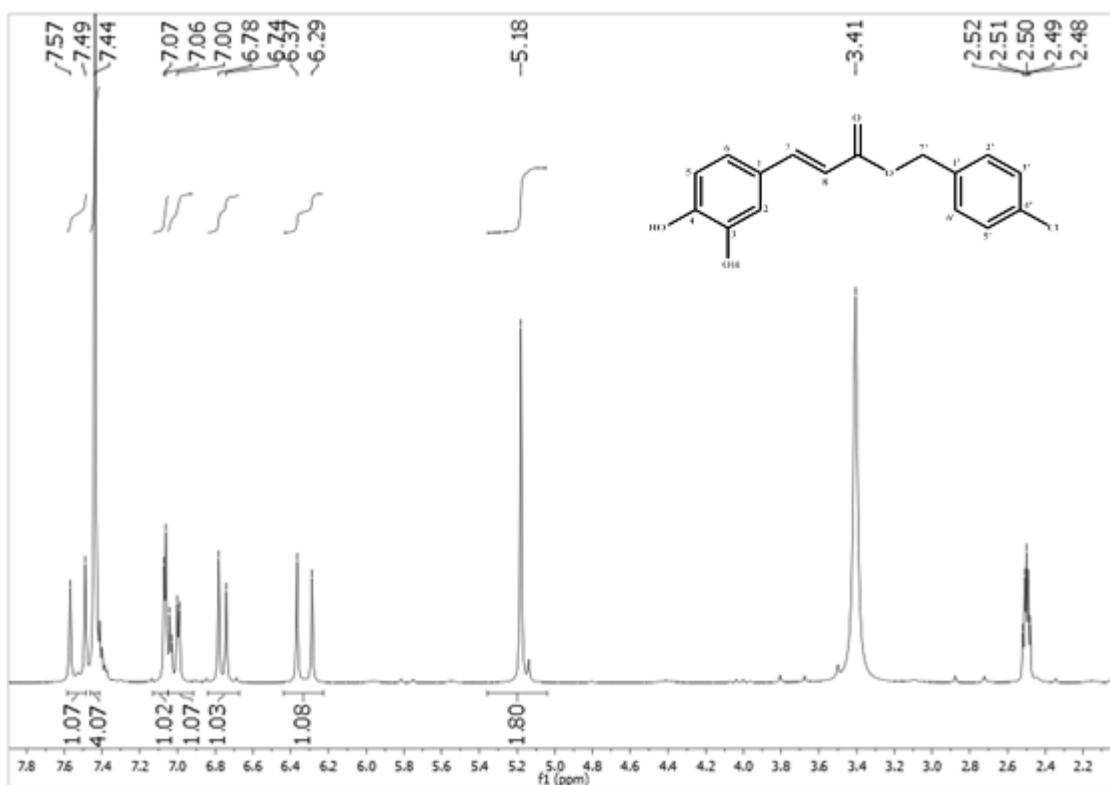
(*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

Sólido amorfo amarelo; rendimento 29,43% (89,4 mg); P.F.: 105-109 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3338 (O-H), 3053 (C-H sp^2), 2964 (C-H sp^3), 1677 (C=O), 1600 e 1435 (C=C aromático), 1258 e 1175 (estiramento C-O), 1011 (estiramento C-Cl); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,53 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,44 (*sl*, 4H, H-2', H-3', H-5', H-6'); 7,07 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,02 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,33 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,18 (*s*, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (50

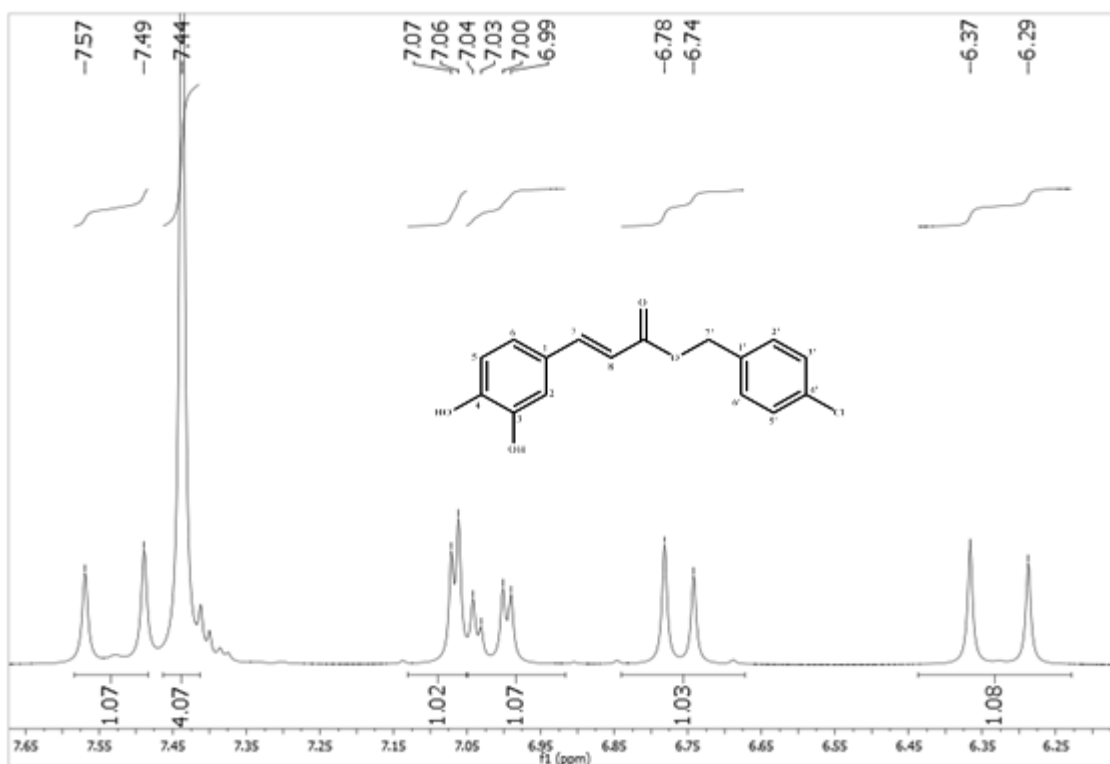
MHz, DMSO-d₆): 166,3 (C=O); 148,5 (C-4); 145,8 (C-7); 145,6 (C-3); 135,5 (C-1'); 132,6 (C-4'); 129,9 (C-3'e C-5 '); 128,5 (C-2' e C-6'); 125,5 (C-1); 121,6 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 113,6 (C-2); 64,5 (C-7'), (ZHANG et al., 2014); EMAR (MALDI) calculado para C₁₆H₁₃ClO₄ [M]⁺: 304,0502; encontrada 304,3855.



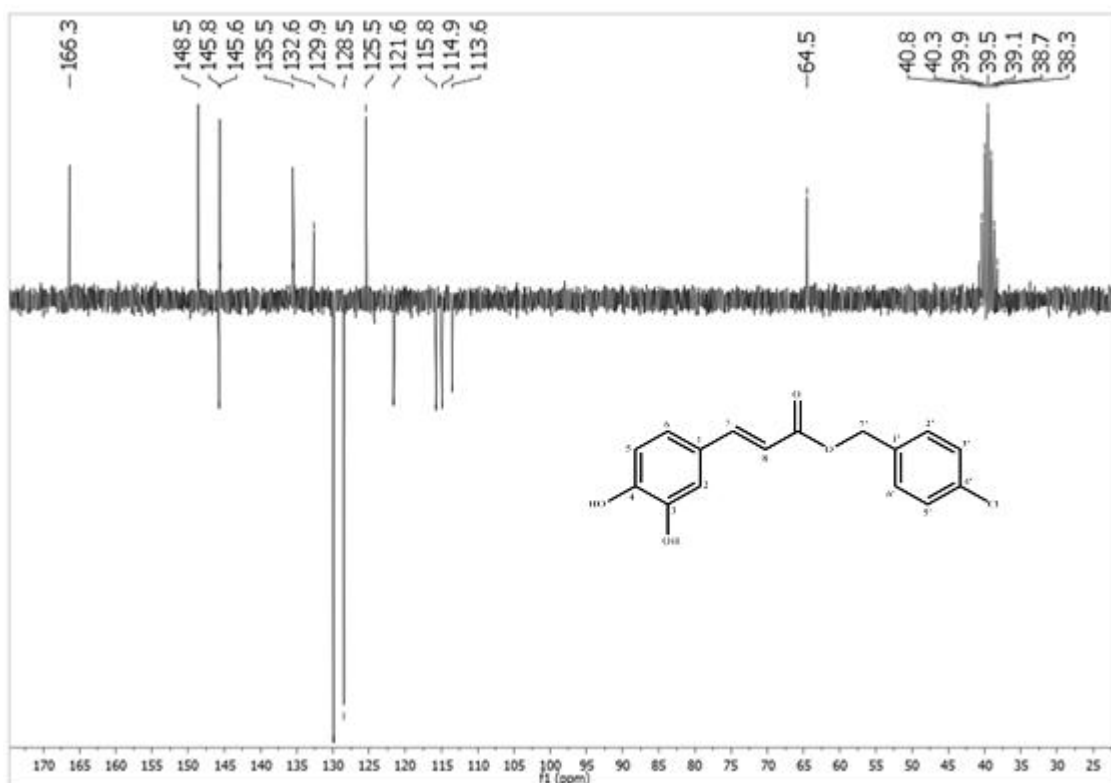
Espectro 48. Espectro de Infravermelho (KBr, cm⁻¹) de (*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME12**).



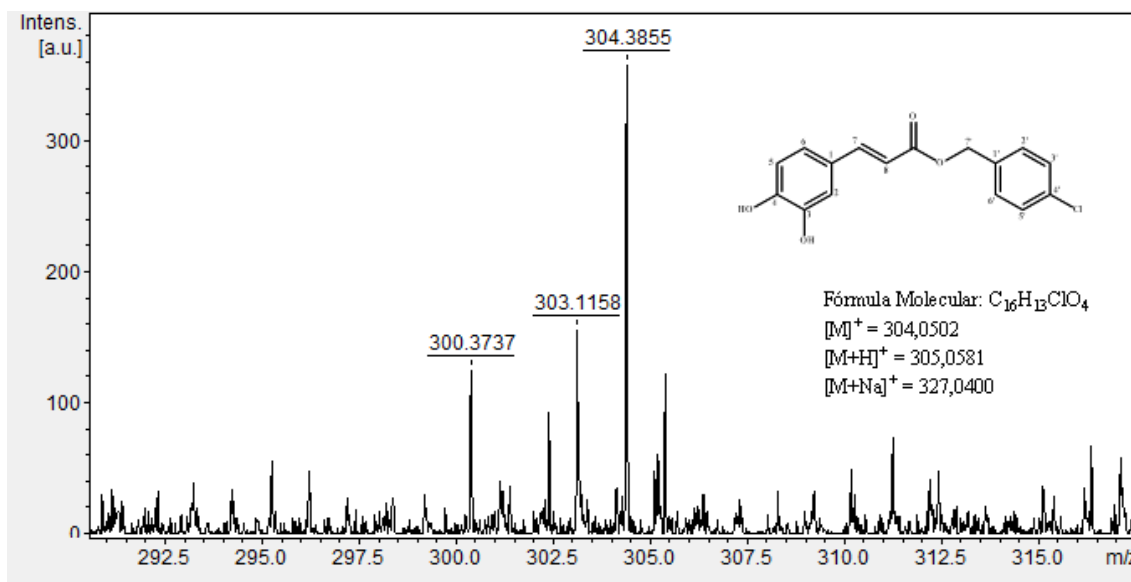
Espectro 49. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 50. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (ME12), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

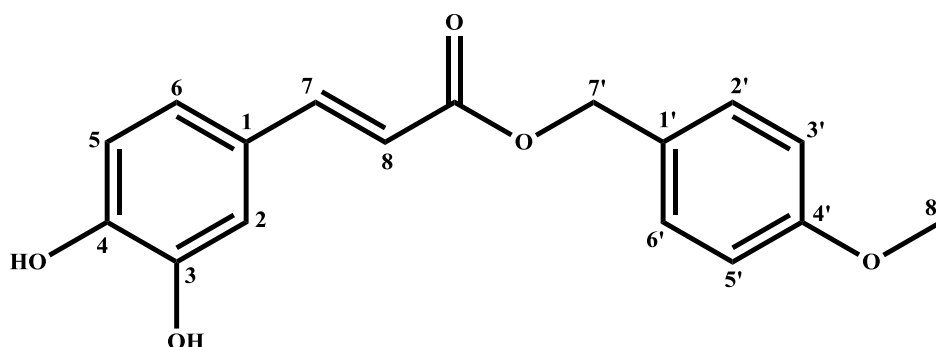


Espectro 51. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME12**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



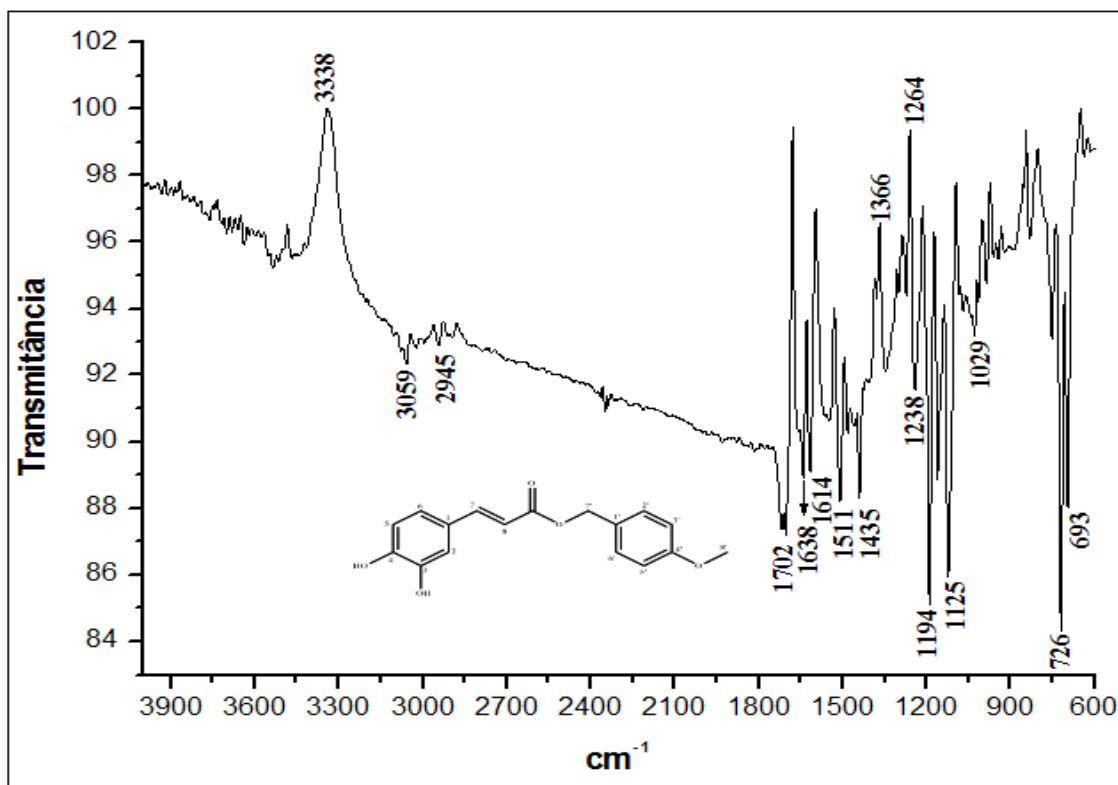
Espectro 52. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (*E*)-4-clorobenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME12**).

8.2.3. ME14 – Cafeato de 4-metoxi-benzila

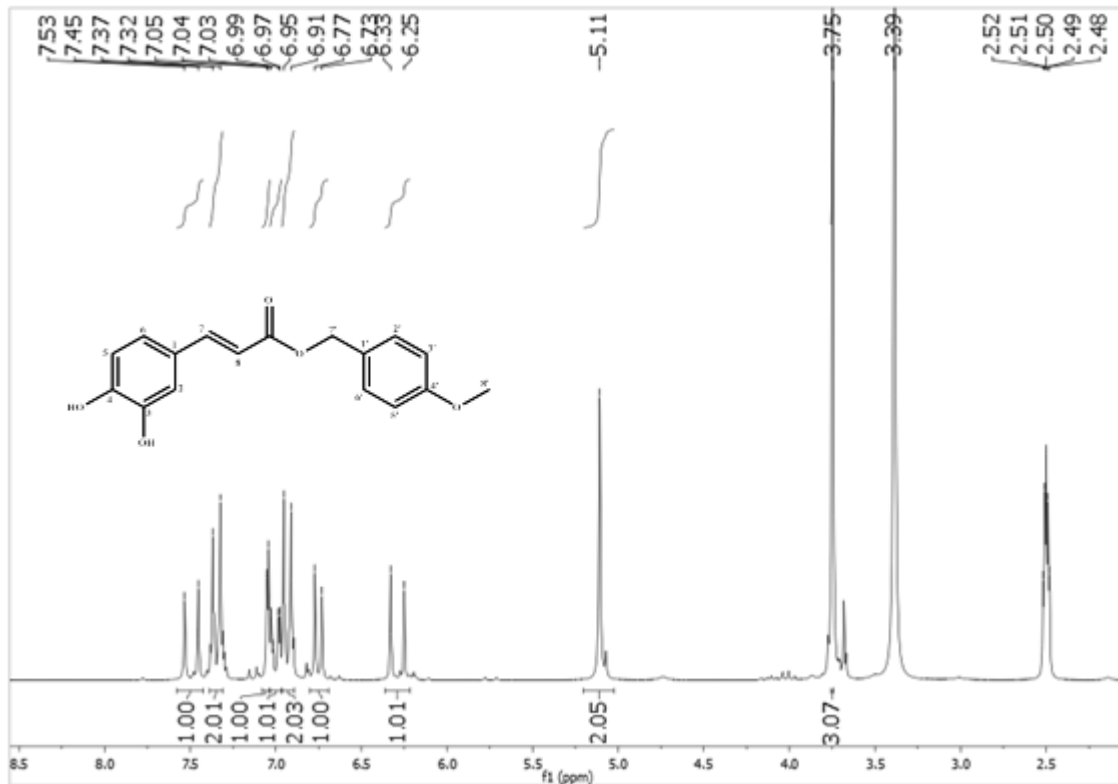


(*E*)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

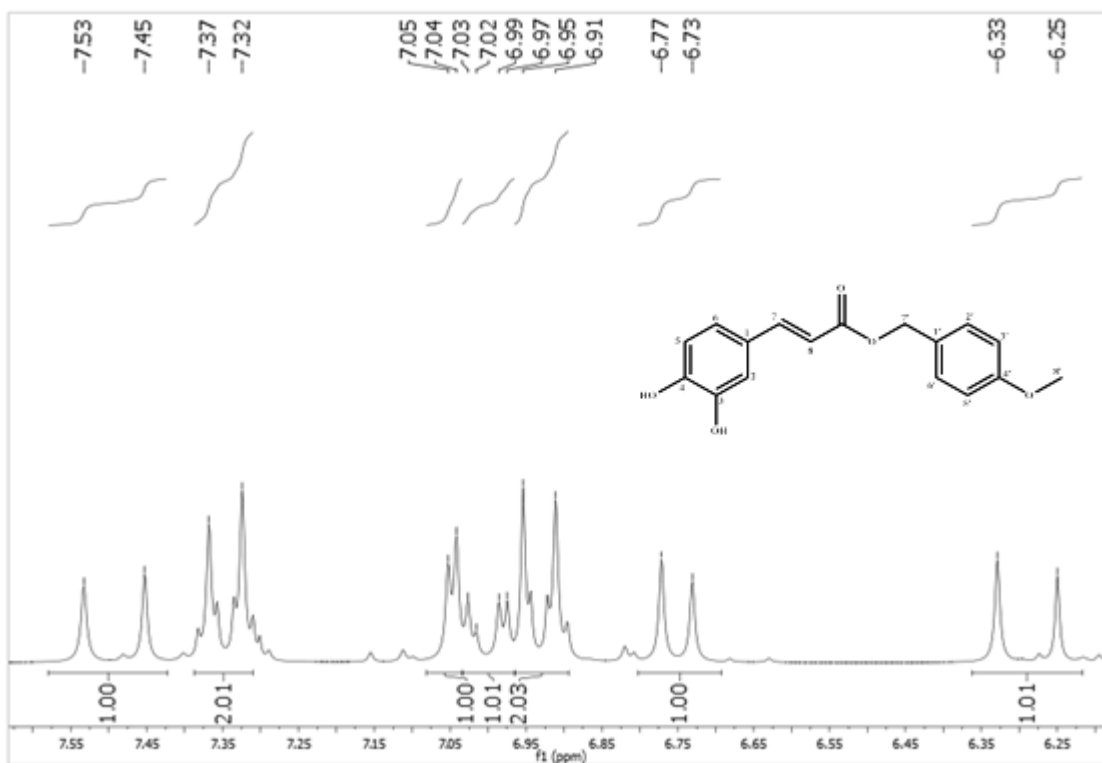
Sólido amorfo âmbar; rendimento 42,70% (146,7 mg); P.F.: 177-182 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3338 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2945 (C-H sp^3), 1702 (C=O), 1614 e 1435 (C=C aromático), 1194 e 1125 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,49 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,35 (*d*, $J = 8,8$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,05 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,93 (*d*, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-3', H-5'); 6,75 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,29 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,11 (*s*, 2H, H-7'); 3,75 (*s*, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,6 (C=O); 159,2 (C-4'); 148,5 (C-4); 145,6 (C-3); 145,4 (C-7); 130,1 (C-2' e C-6'); 128,4 (C-1'); 125,5 (C-1); 121,5 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 113,9 (C-3' e C-5'); 113,6 (C-2); 65,2 (C-7'); 55,2 (C-8'), (KIM et al., 2009).



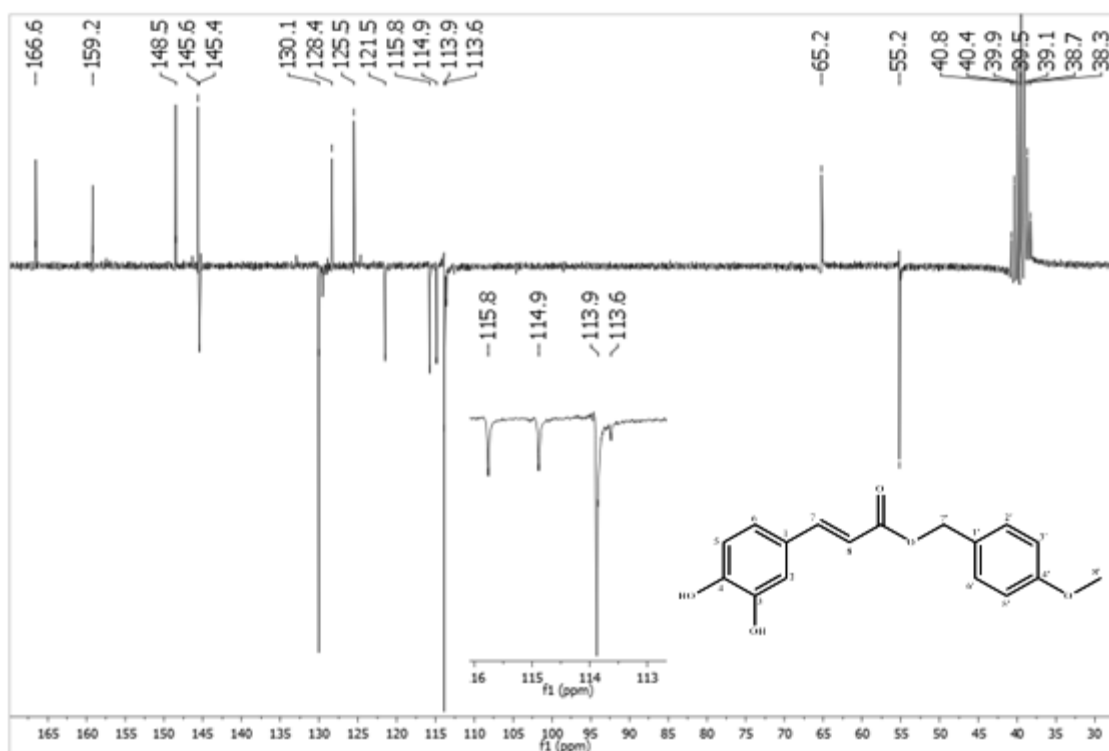
Espectro 53. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxi-fenil)acrilato (**ME14**).



Espectro 54. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxi-fenil)acrilato (**ME14**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

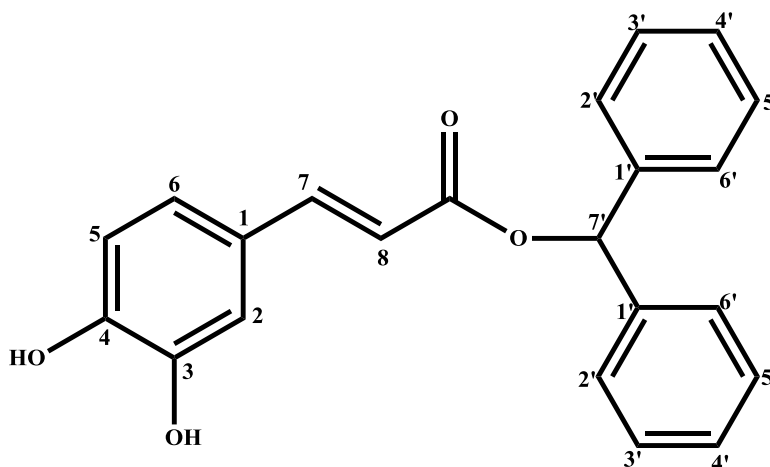


Espectro 55. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME14**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



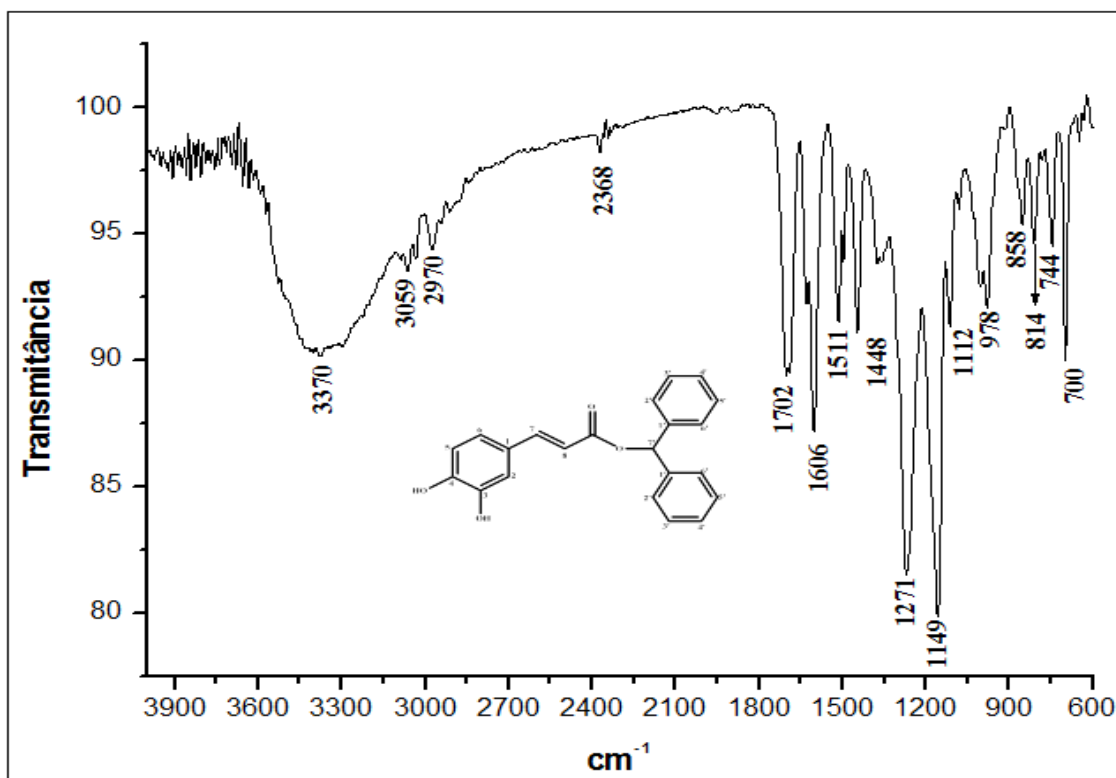
Espectro 56. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-4-metoxibenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME14**), (DMSO-d₆, 50 MHz).

8.2.4. ME16 – Cafeato de difenilmetila

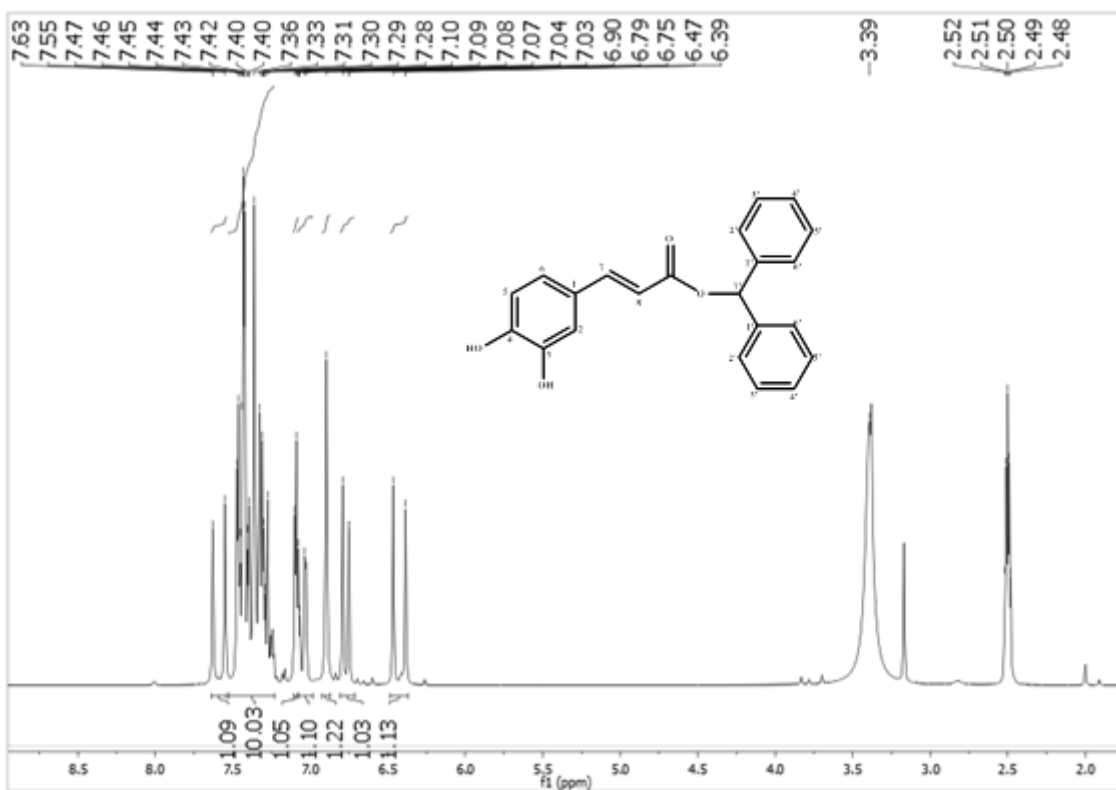


(*E*)-benzhydriil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato

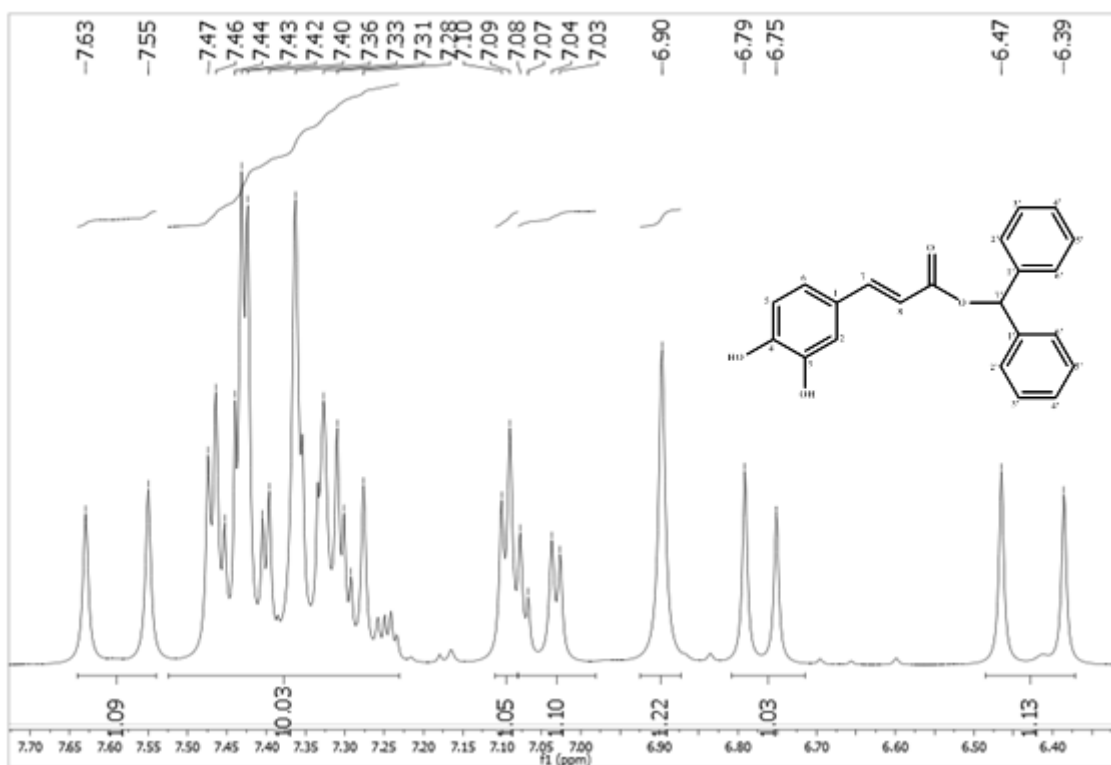
Líquido marron; rendimento 27,29% (162,2 mg); IV ν_{\max} (KBr, cm^{-1}): 3370 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2970 (C-H sp^3), 1702 (C=O), 1606 e 1448 (C=C aromático), 1271 e 1149 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,59 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,47 – 7,28 (*m*, 10H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 7,10 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,06 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,90 (*s*, 1H, H-7'); 6,77 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,43 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8), (SHI et al., 2014); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 165,6 (C=O); 148,6 (C-4); 146,0 (C-7); 145,6 (C-3); 140,8 (C-1'); 128,6 (C-3'e C-5'); 127,8 (C-4'); 126,6 (C-2' e C-6'); 125,5 (C-1); 121,7 (C-6); 115,8 (C-5); 115,0 (C-8); 113,7 (C-2); 76,1 (C-7'), (SANDERSON et al., 2013); EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{O}_4$ $[\text{M}]^+$: 346,1205; encontrada 346,2877.



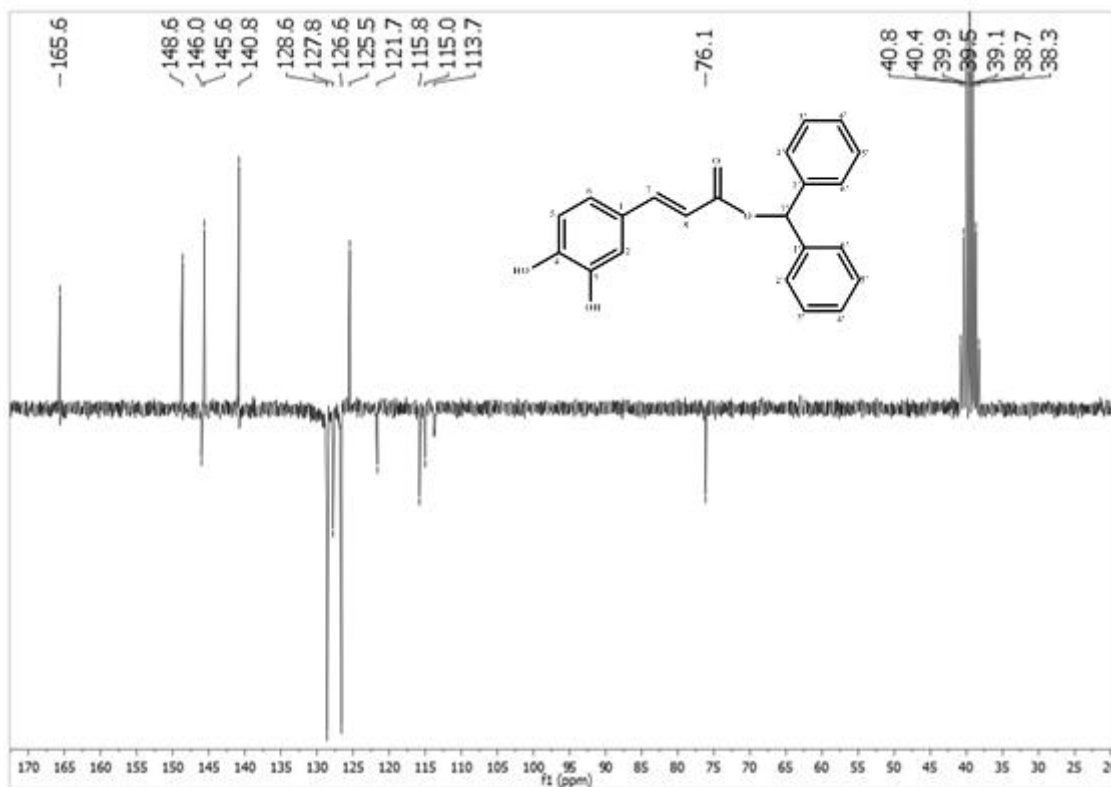
Espectro 57. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-benzhidriil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME16**).



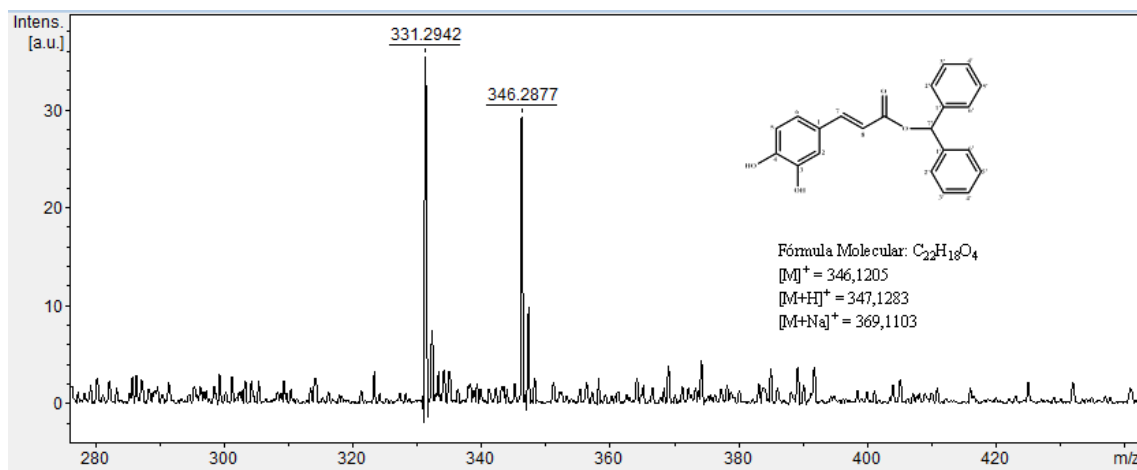
Espectro 58. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-benzhidriil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME16**), (DMSO-d_6 , 200 MHz).



Espectro 59. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-benzhidridil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME16**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

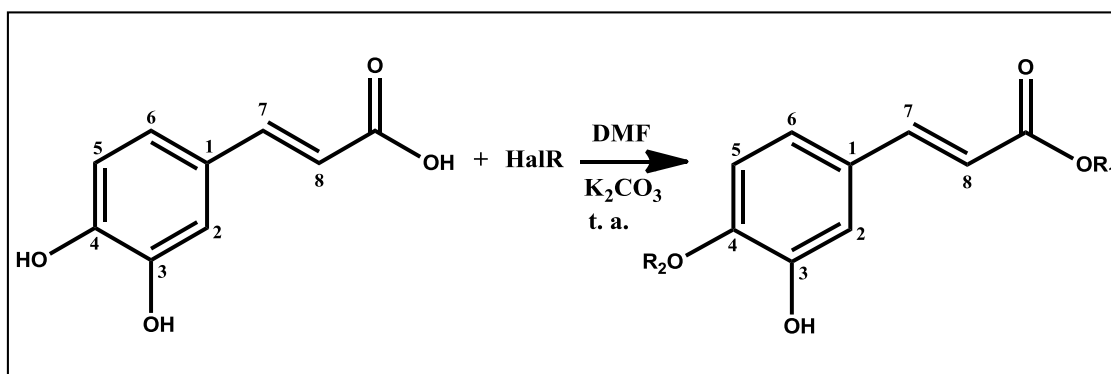


Espectro 60. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-benzhidridil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME16**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



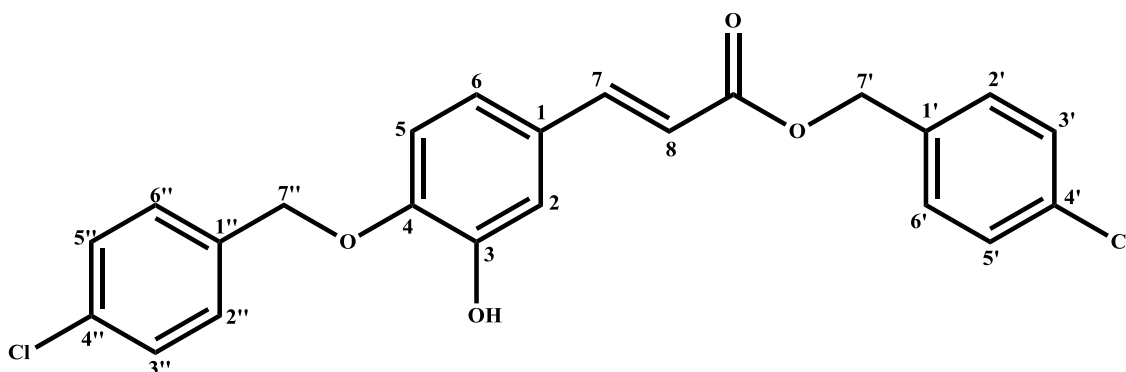
Espectro 61. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (E)-benzidril 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME16**).

8.3. Preparação da terceira coleção de ésteres - (ME9, ME12, ME13, ME14 e ME15)



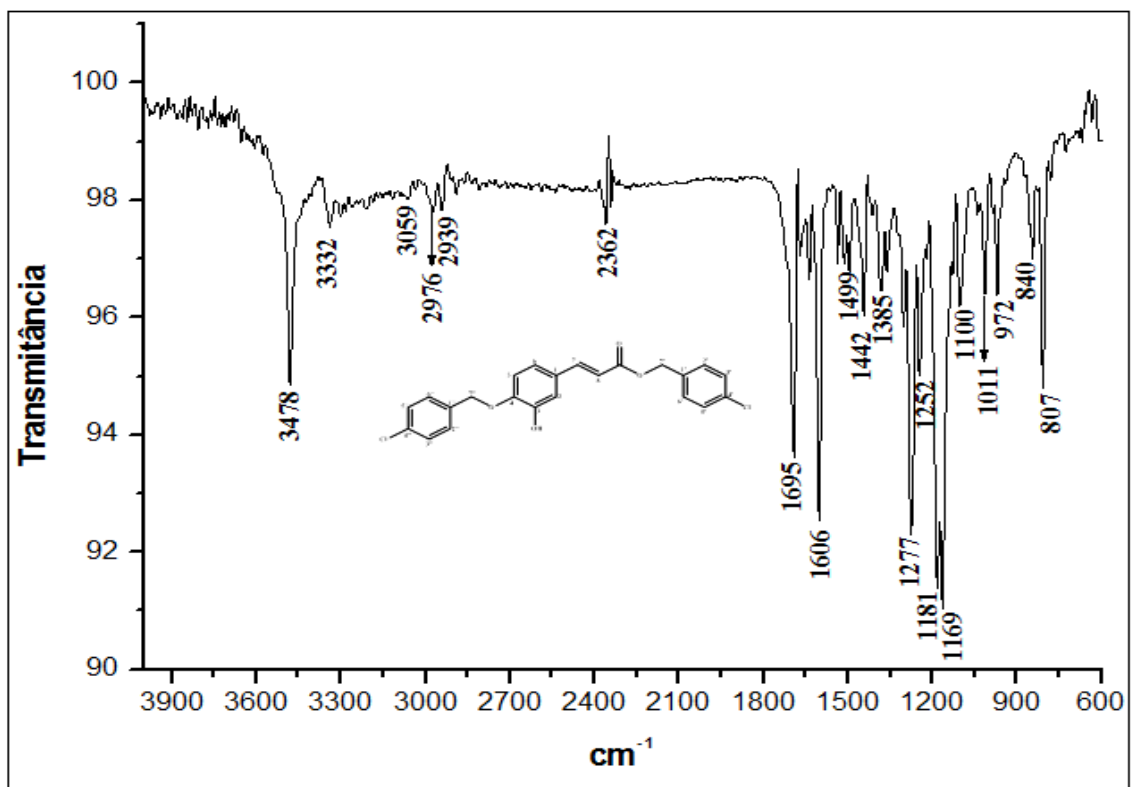
Em um balão de 100 mL, o ácido caféico (0,2 g; 1,11 mmol) e carbonato de potássio (0,17 g; 1,22 mmol), foram dissolvidos em 5,5 mL de dimetil-formamida (DMF) e por último, acrescentou-se o haleto (1,0 mmol). A mistura reacional ficou sob agitação magnética à temperatura ambiente, durante cerca de 27-50 horas, até a formação do éster e consumo do material de partida, monitorados por CCDA. Com a formação do produto, o solvente foi parcialmente evaporado sob pressão reduzida. A solução obtida foi transferida para um funil de separação. As fases orgânicas resultantes foram reunidas, adicionou-se 15 mL de água destilada e o produto foi extraído com 3 x 10 mL de acetato de etila. Em seguida, a fração orgânica foi neutralizada sucessivamente com 3 x 10 mL de bicarbonato de sódio a 5%, 10 mL da solução de cloreto de sódio saturado, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada e concentrada a pressão reduzida. O resíduo foi purificado por uma coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando os eluentes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade (SHI et al., 2014).

8.3.1. ME13 – Cafeato de di-(4-cloro-benzila)

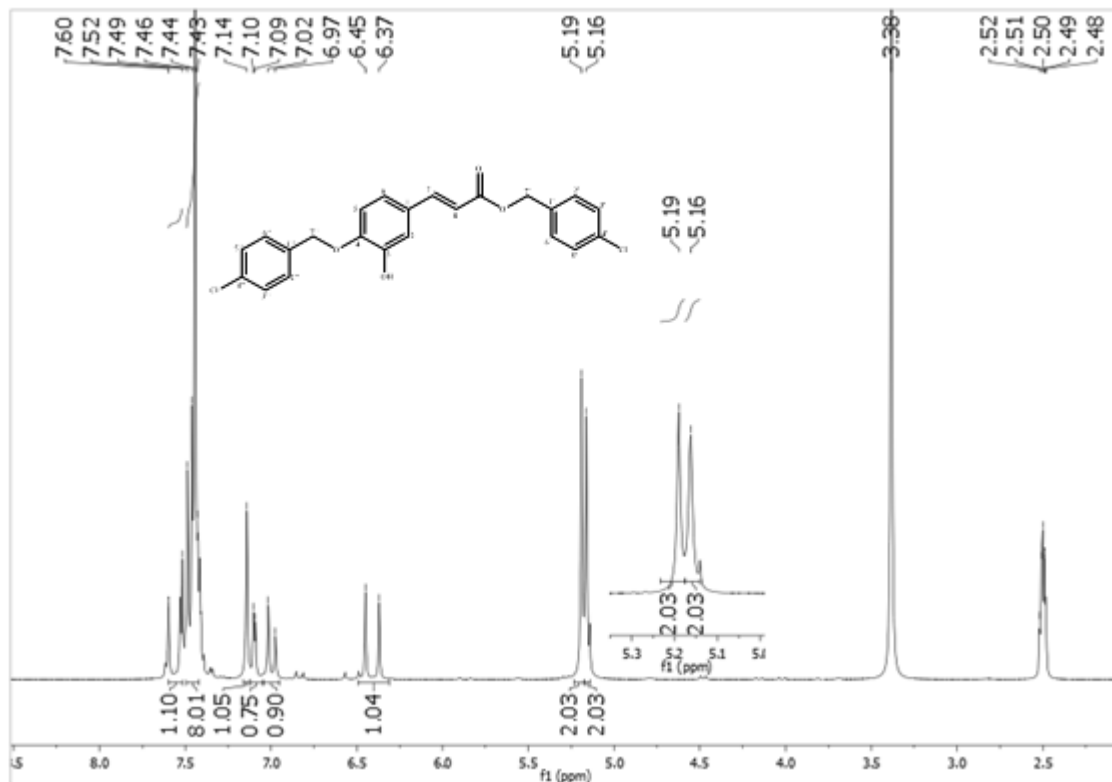


(*E*)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato

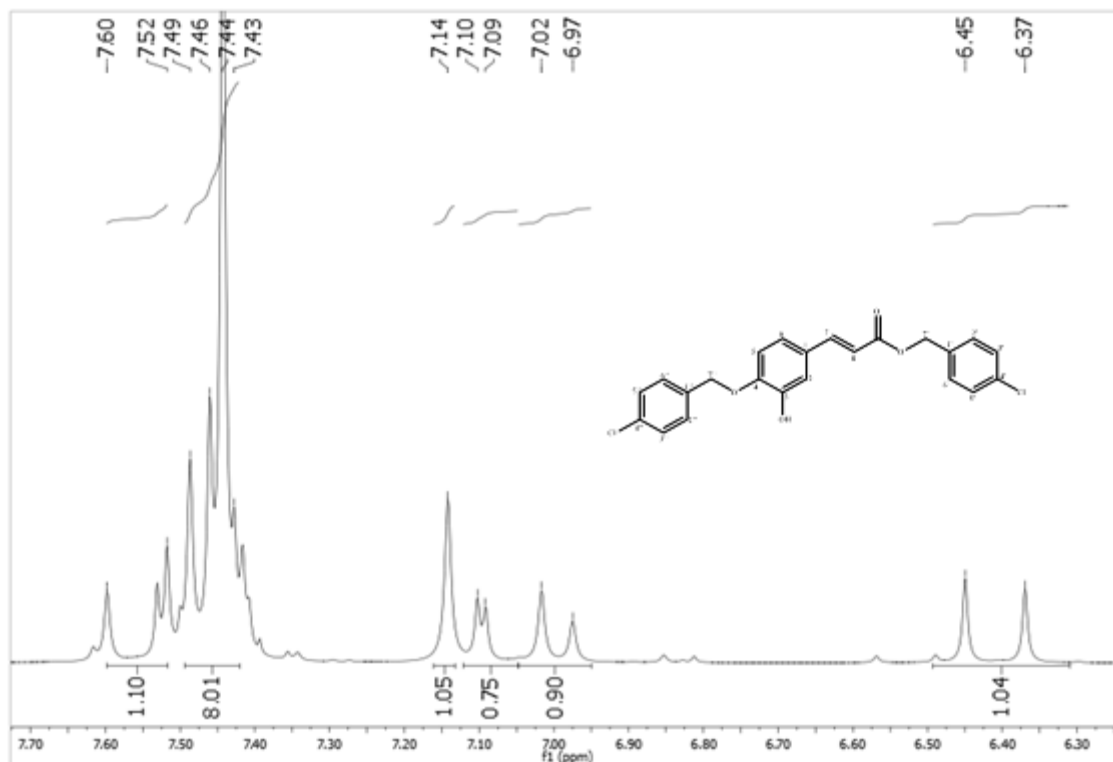
Sólido amorfo branco; rendimento 11,82% (40,0 mg); P.F.: 173-179 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3332 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2976 (C-H sp^3), 1695 (C=O), 1606 e 1442 (C=C aromático), 1277 e 1169 (estiramento C-O), 1011 (estiramento C-Cl); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,56 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,49 – 7,43 (*m*, 8H, H-2', H-3', H-5', H-6', H-2'', H-3'', H-5'', H-6''); 7,14 (*s*, 1H, H-2); 7,10 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-6); 7,00 (*d*, $J = 8,4$ Hz, 1H, H-5); 6,41 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,19 (*s*, 2H, H-7'); 5,16 (*s*, 2H, H-7''); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,3 (C=O); 148,8 (C-4); 147,0 (C-3); 145,2 (C-7); 136,0 (C-1'); 135,4 (C-1''); 132,7 (C-4'); 132,4 (C-4''); 129,9 (C-3'e C-5'); 129,5 (C-3''e C-5''); 128,5 (C-2' e C-6'); 128,4 (C-2'' e C-6''); 127,2 (C-1); 121,2 (C-6); 115,0 (C-5); 114,8 (C-8); 113,7 (C-2); 68,9 (C-7'); 64,6 (C-7''), (LI et al., 2011; ZHANG et al., 2014).



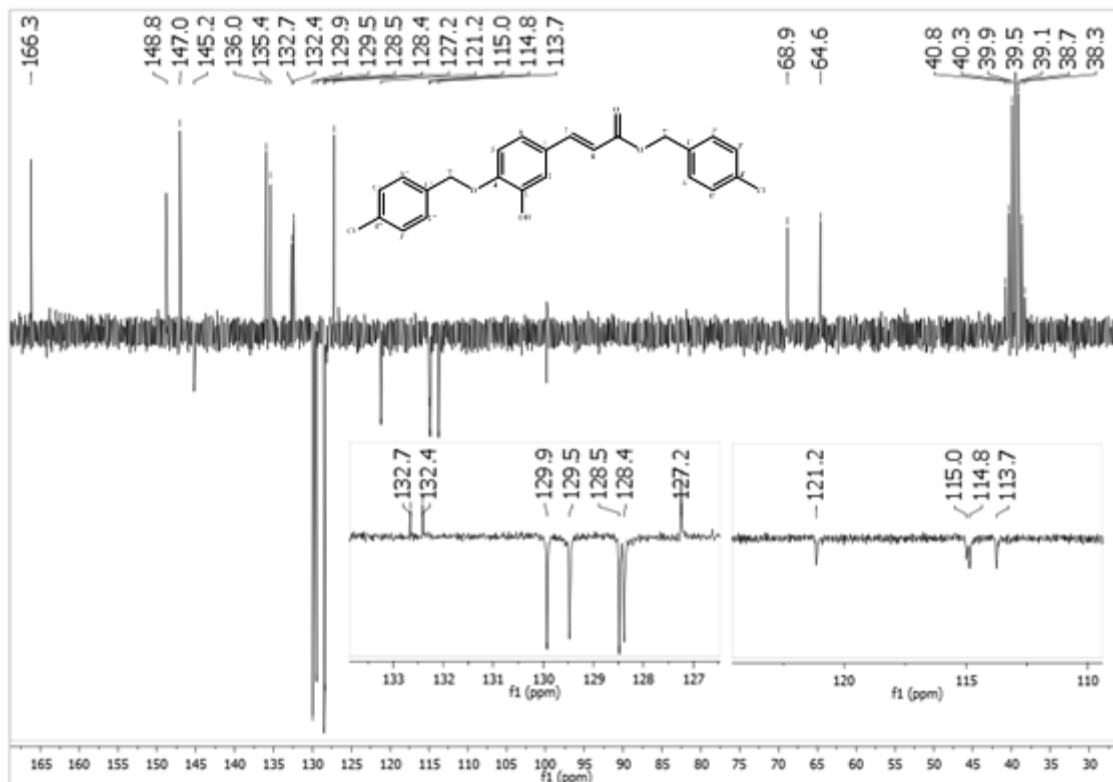
Espectro 62. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (**ME13**).



Espectro 63. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (**ME13**), (DMSO-d_6 , 200 MHz).

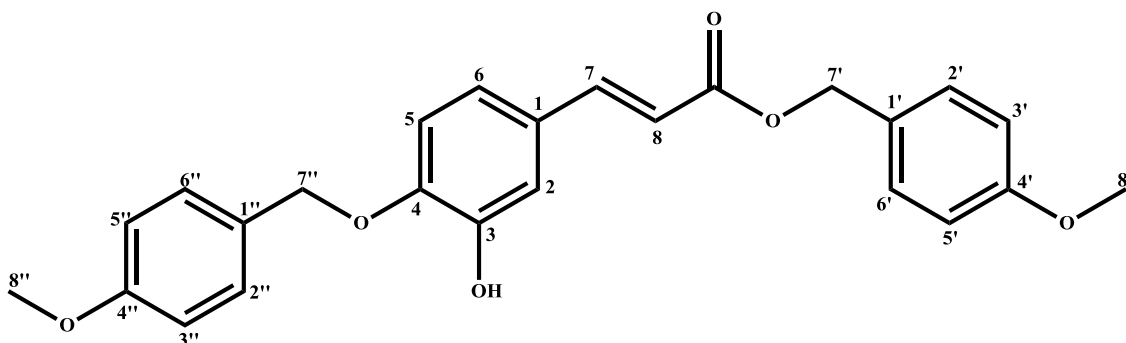


Espectro 64. Expansão do espectro de RMN ¹H de (*E*)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (**ME13**), (DMSO-d₆, 200 MHz).



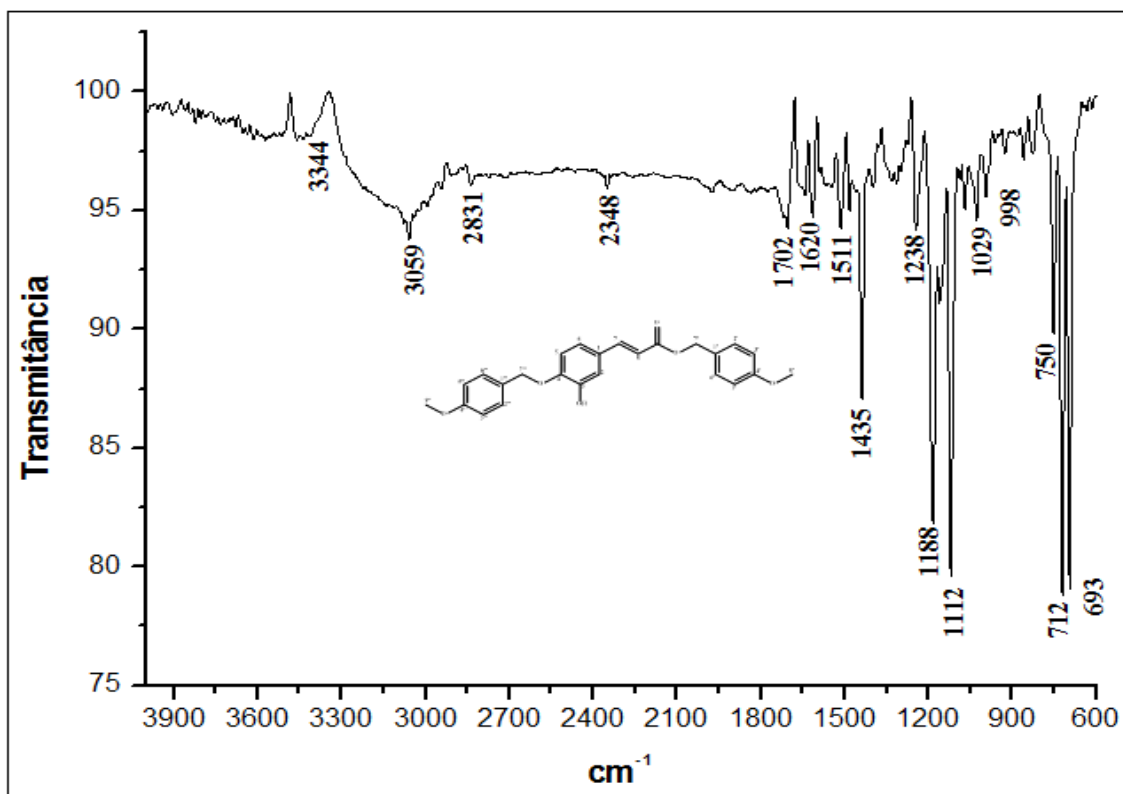
Espectro 65. Espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-4-clorobenzil 3-(4-((4-clorobenzil)oxi)-3-hidroxifenil)acrilato (**ME13**), (DMSO-d₆, 50 MHz).

8.3.2. ME15 – Cafeato de di-(4-metoxi-benzila)

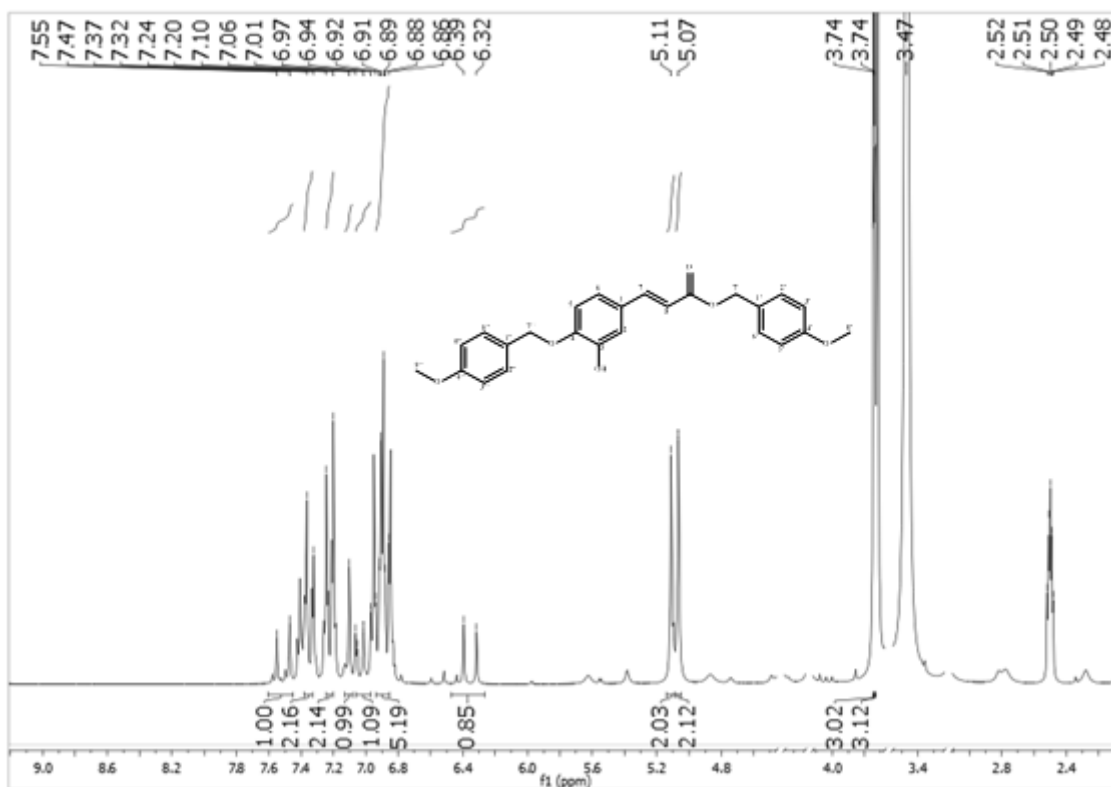


(*E*) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato

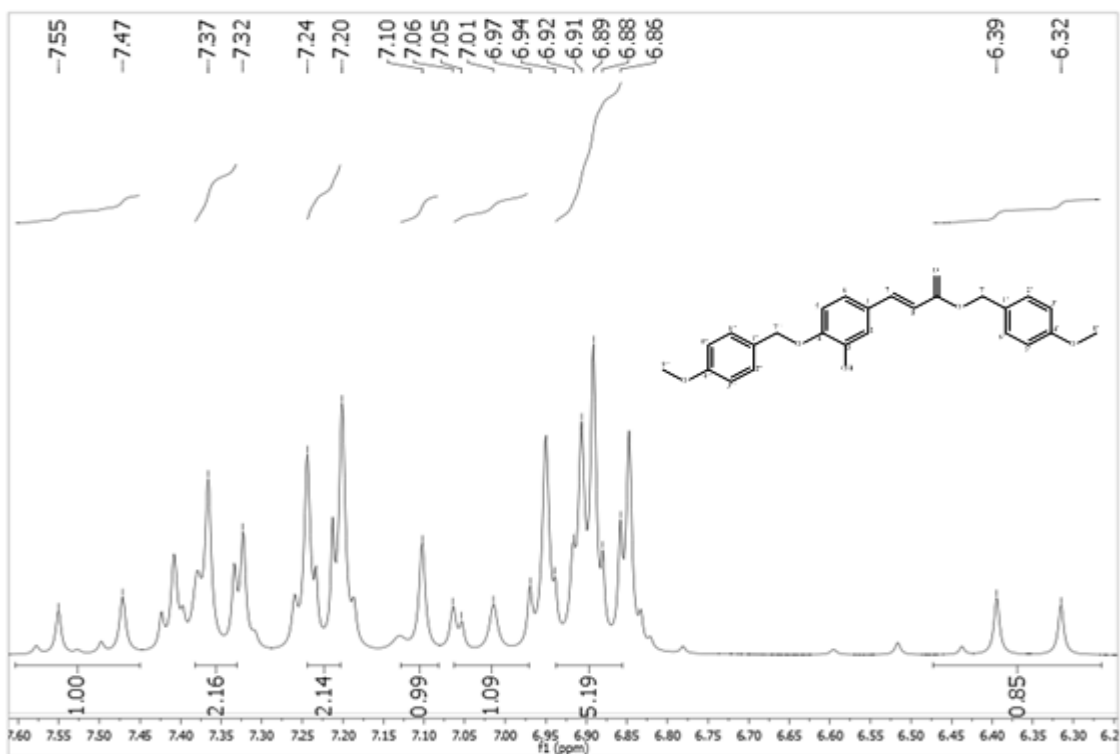
Sólido amorfo laranja; rendimento 36,98% (172,6 mg); P.F.: 245-251 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3344 (O-H), 3059 (C-H sp^2), 2831 (C-H sp^3), 1702 (C=O), 1620 e 1435 (C=C aromático), 1188 e 1112 (estiramento C-O); RMN de ^1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,51 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,35 (*d*, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,22 (*d*, $J = 8,6$ Hz, 2H, H-2'', H-6''); 7,10 (*s*, 1H, H-2); 7,02 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,94 – 6,86 (*m*, 5H, H-5, H-3', H-5', H-3'', H-5''); 6,36 (*d*, $J = 15,8$ Hz, 1H, H-8); 5,11 (*s*, 2H, H-7'); 5,07 (*s*, 2H, H-7''); 3,74 (*s*, 3H, H-8'); 3,74 (*s*, 3H, H-8''); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,5 (C=O); 159,3 (C-4'); 159,1 (C-4''); 149,2 (C-4); 147,2 (C-3); 144,9 (C-7); 130,3 (C-2' e C-6'); 129,8 (C-2'' e C-6''); 128,9 (C-1'); 128,4 (C-1''); 127,1 (C-1); 121,3 (C-6); 115,1 (C-5); 114,6 (C-8); 113,9 (C-3' e C-5'); 113,8 (C-3'' e C-5''); 113,6 (C-2); 69,6 (C-7'); 65,4 (C-7''), 55,2 (C-8'), 55,1 (C-8''), (KIM et al., 2009; LI et al., 2011); EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_6$ $[\text{M}]^+$: 420,1573; encontrada 420,0234.



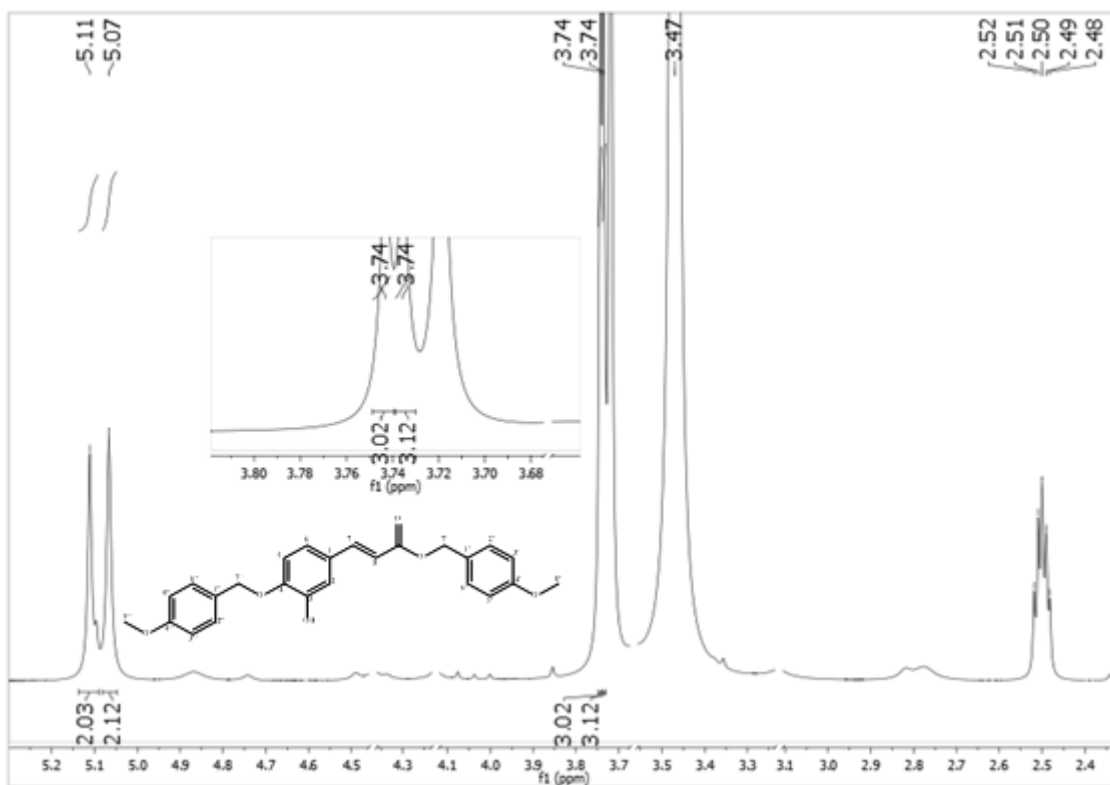
Espectro 66. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*) - 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**).



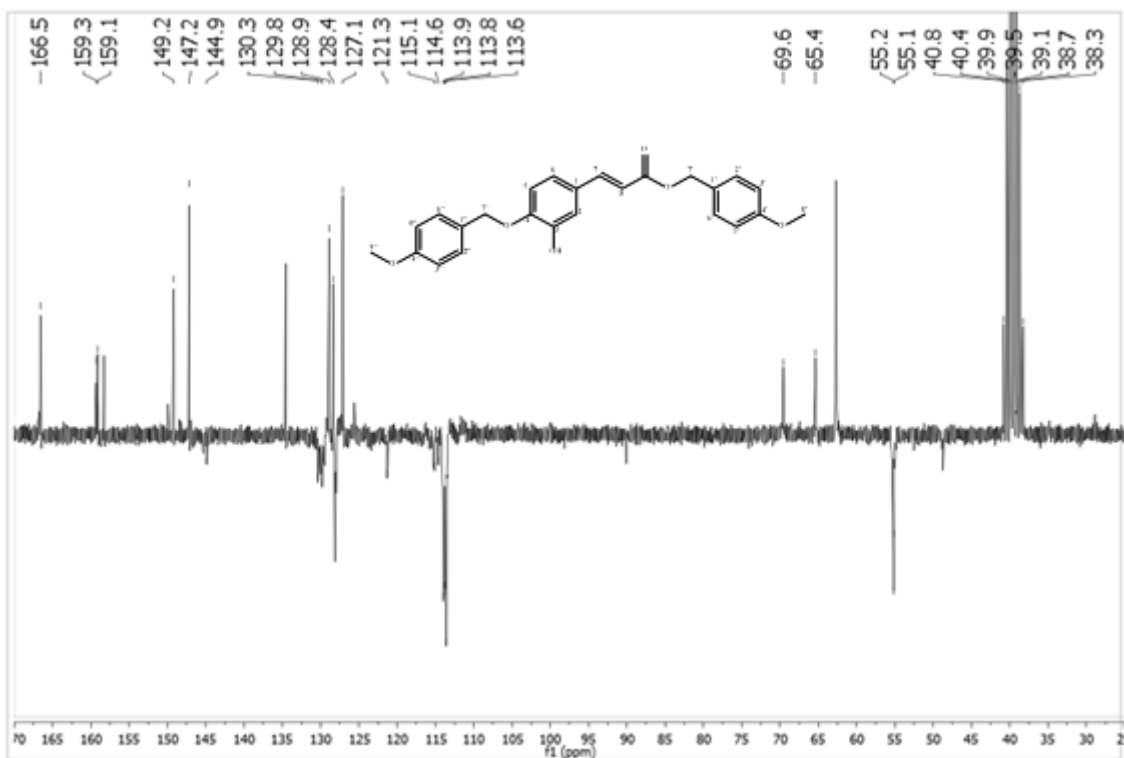
Espectro 67. Espectro de RMN ^1H de (*E*) - 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



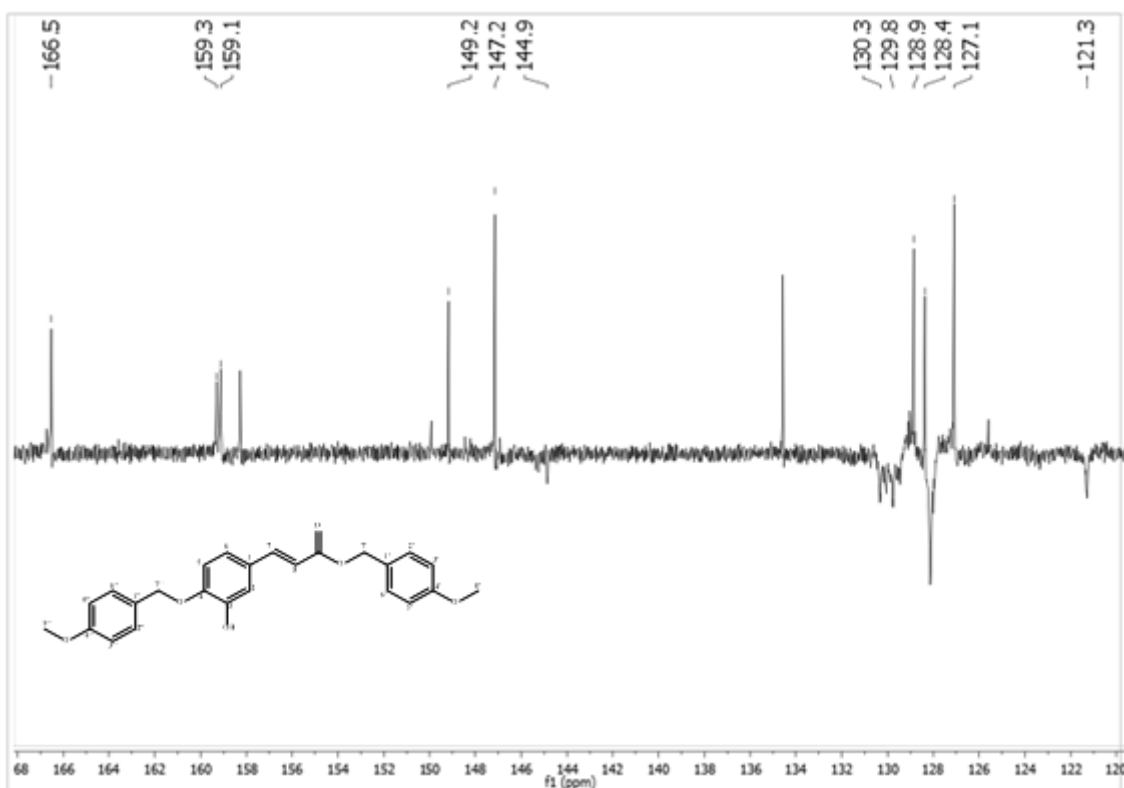
Espectro 68. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



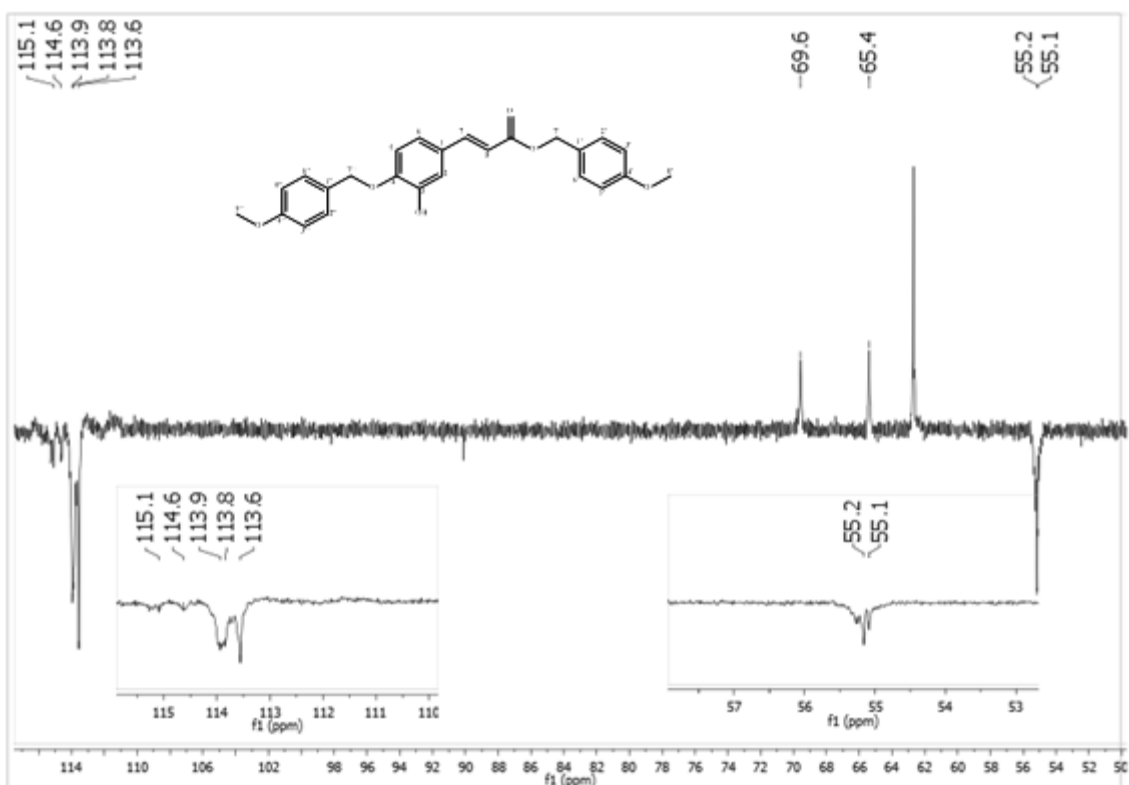
Espectro 69. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



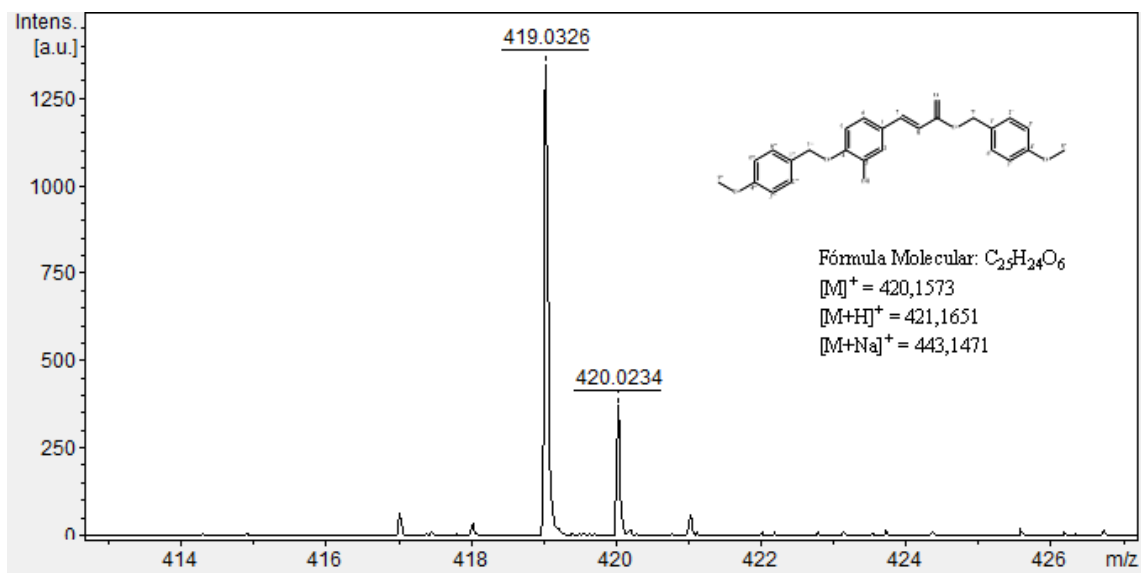
Espectro 70. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (E) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



Espectro 71. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de (E) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**) (DMSO- d_6 , 50 MHz).

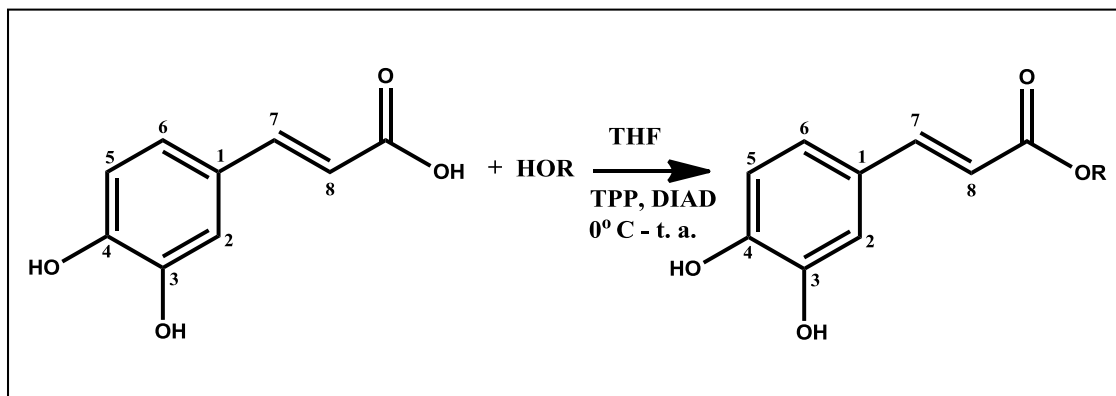


Espectro 72. Expansão do espectro de RMN ^{13}C -APT de (E) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



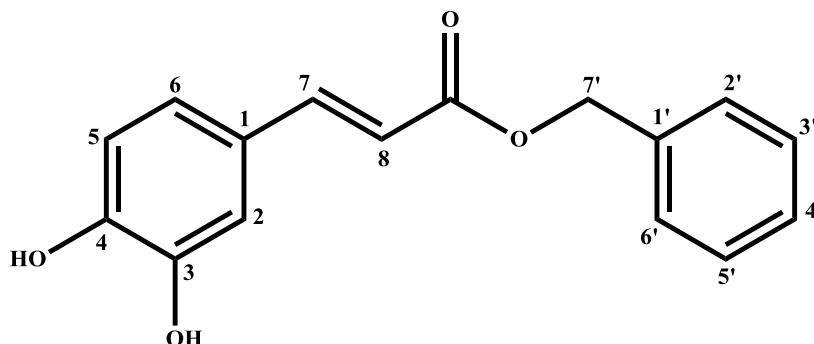
Espectro 73. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (E) – 4 - metoxibenzil 3-(3-hidroxi-4-((4-metoxibenzil)oxi)fenil)acrilato (**ME15**).

8.4. Preparação da quarta coleção de ésteres - (ME10, ME11 e ME14)



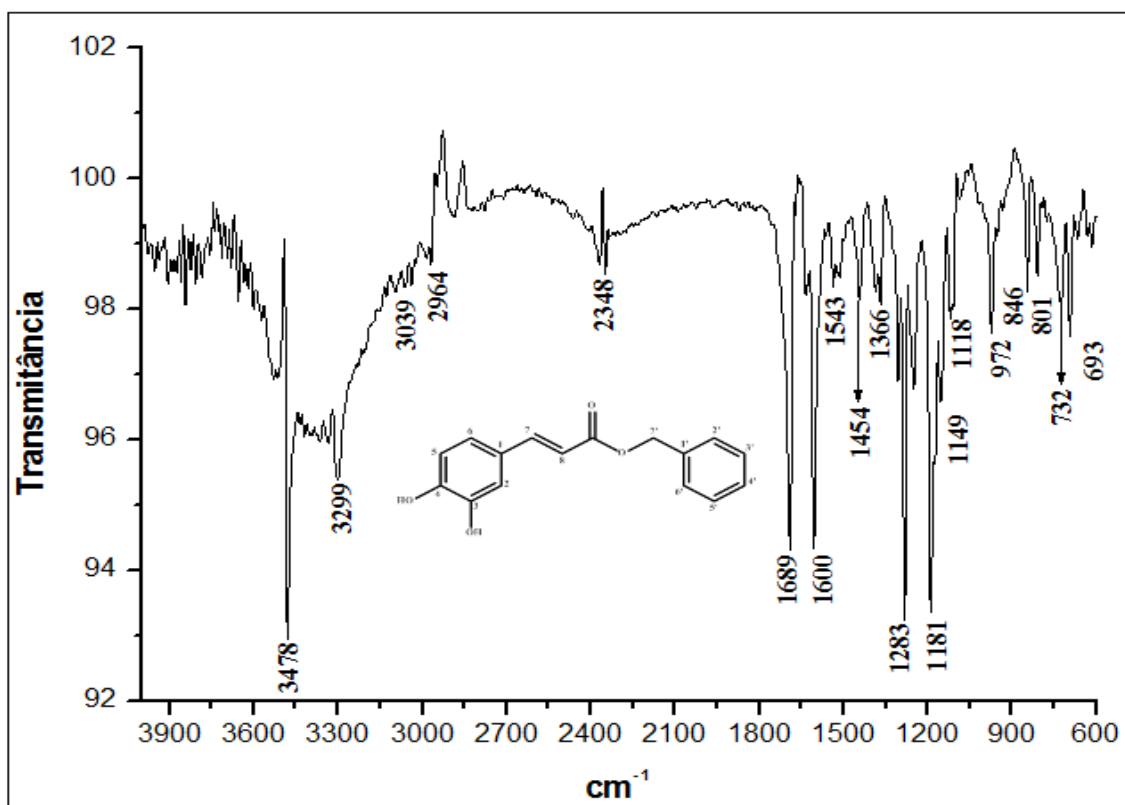
Em um balão de 50 mL, o ácido caféico (0,1 g; 0,55 mmol) e o álcool aromático (0,55 mmol), foram dissolvidos com 1,85 mL tetrahydrofurano (THF). A mistura reacional ficou sob agitação magnética, à temperatura de 0° C, durante cerca de 30 minutos. Após esse período, adicionou os agentes de esterificação azodicarboxilato de diisopropila - DIAD (0,11 mL; 0,55 mmol) e trifenilfosfina - TPP (0,15 g; 0,55 mmol), mantendo a agitação, à temperatura ambiente, durante cerca de 46-50 horas, até a formação do produto e consumo do ácido, monitorados por CCDA. Em seguida, o solvente foi parcialmente evaporado em um rotaevaporador para dá início a extração. A solução obtida foi transferida para um funil de separação. No funil a solução foi adicionada 10 mL de água destilada e extraída 3 x 10 mL de acetato de etila. As fases orgânicas resultantes foram reunidas, neutralizada com 3 x 10 mL da solução de bicarbonato de sódio saturado, lavada com a solução de cloreto de sódio saturado, seca com sulfato de sódio anidro, filtrada, e o solvente foi evaporado. O produto foi isolado em coluna cromatográfica em sílica gel 60, utilizando como eluentes hexano e acetato de etila em gradiente crescente de polaridade. (HANDIQUE et al., 2013).

8.4.1. ME10 – Cafeato de benzila

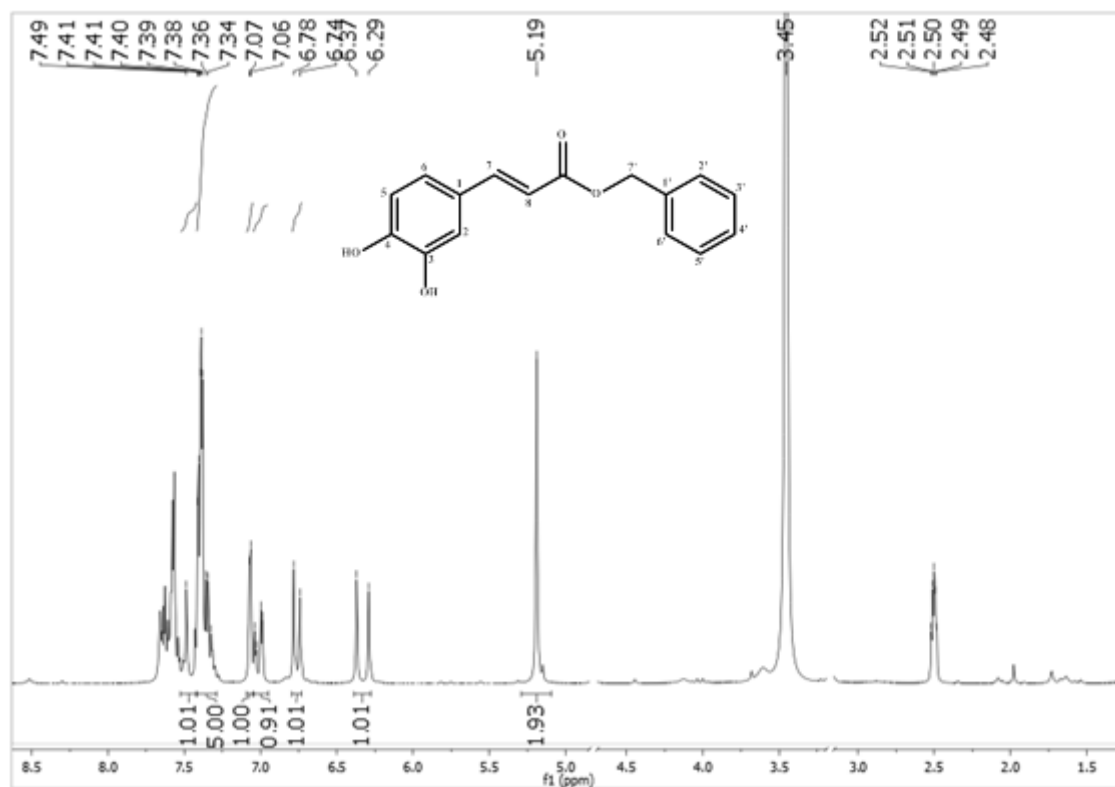


(*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxiifenil)acrilato

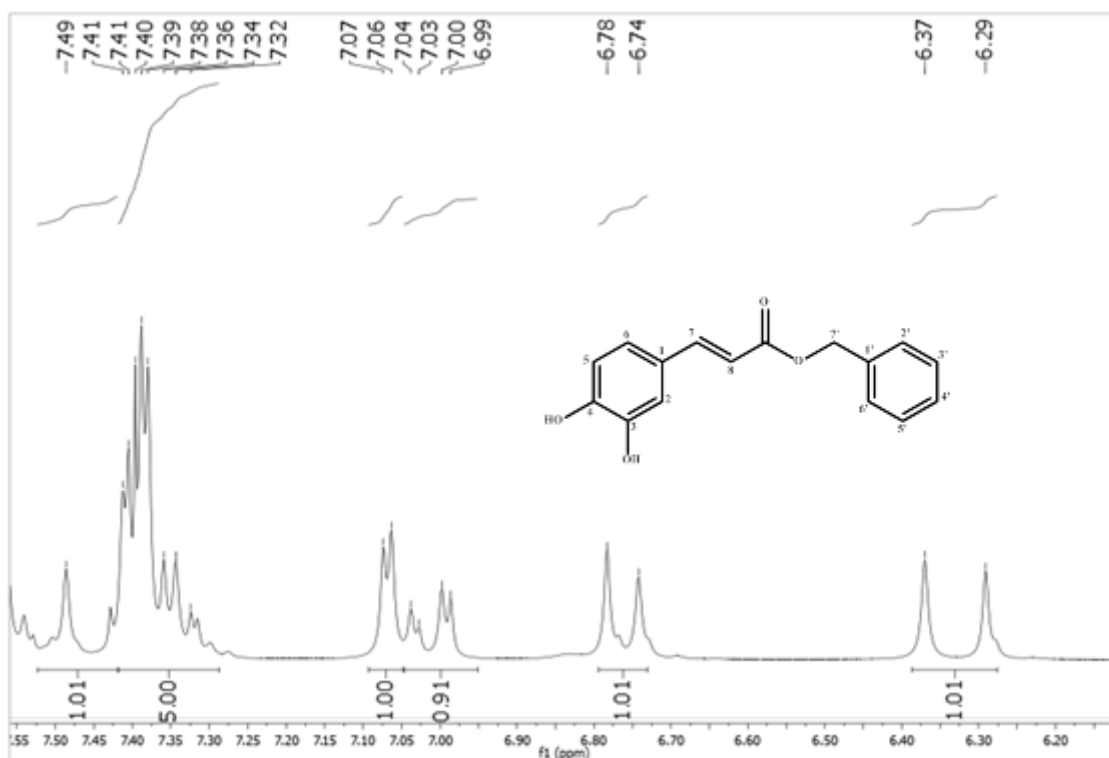
Sólido amorfo amarelo; rendimento 53,10% (159,3 mg); P.F.: 129-135 °C, IV ν_{max} (KBr, cm^{-1}): 3299 (O-H), 3039 (C-H sp^2), 2964 (C-H sp^3), 1689 (C=O), 1600 e 1454 (C=C aromático), 1283 e 1181 (estiramento C-O); RMN de 1H (200 MHz, DMSO- d_6): 7,45 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-7); 7,41 – 7,32 (*m*, 5H, H-2', H-3', H-4', H-5', H-6'); 7,07 (*d*, $J = 2,0$ Hz, 1H, H-2); 7,02 (*dd*, $J = 2,0$ Hz, 8,0 Hz, 1H, H-6); 6,76 (*d*, $J = 8,0$ Hz, 1H, H-5); 6,33 (*d*, $J = 16,0$ Hz, 1H, H-8); 5,19 (*s*, 2H, H-7'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,6 (C=O); 148,6 (C-4); 145,7 (C-3); 145,5 (C-7); 136,5 (C-1'); 128,7 (C-3' e C-5'); 128,3 (C-4'); 128,0 (C-2' e C-6'); 125,6 (C-1); 121,7 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 113,7 (C-2); 65,4 (C-7'), (UWAI et al., 2008).



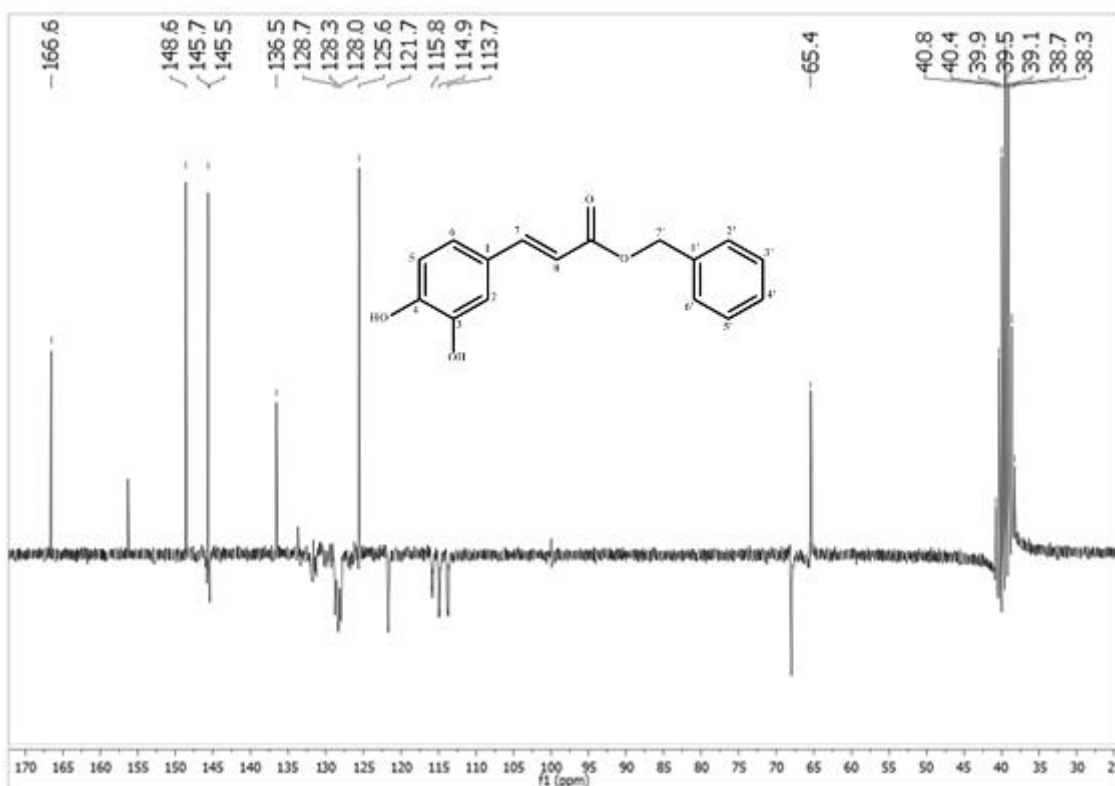
Espectro 74. Espectro de Infravermelho (KBr, cm^{-1}) de (*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxi)fenil)acrilato (**ME10**).



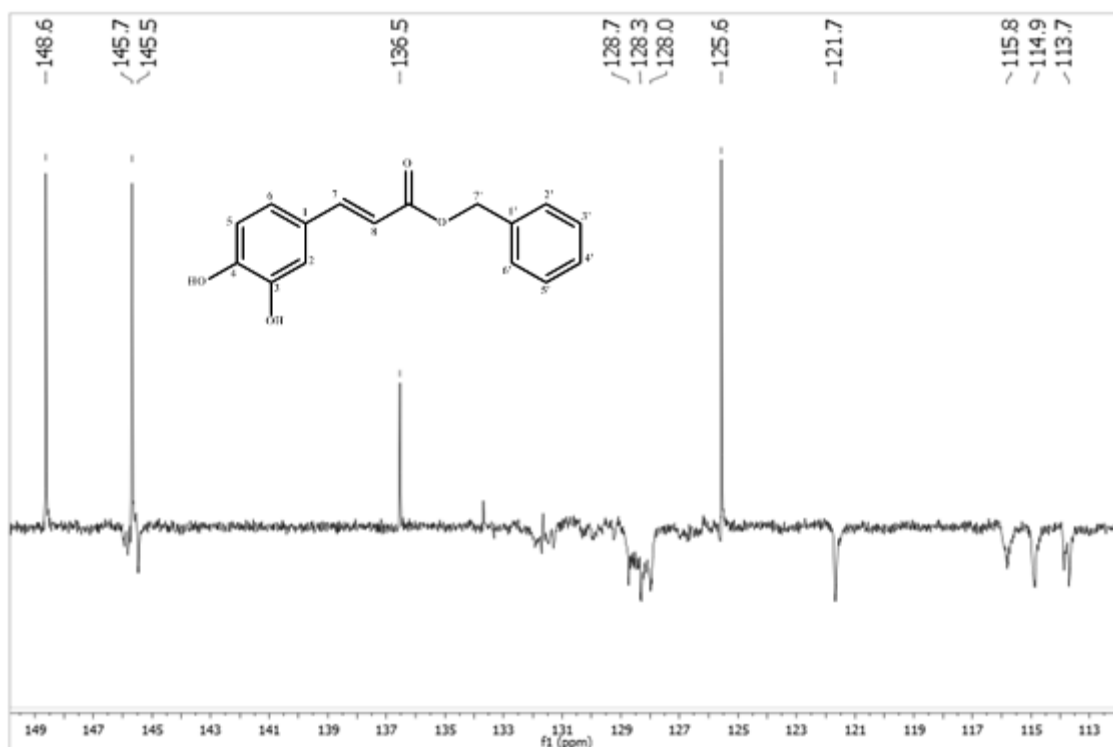
Espectro 75. Espectro de RMN ^1H de (*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxi)fenil)acrilato (**ME10**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 76. Expansão do espectro de RMN ^1H de (*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME10**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).

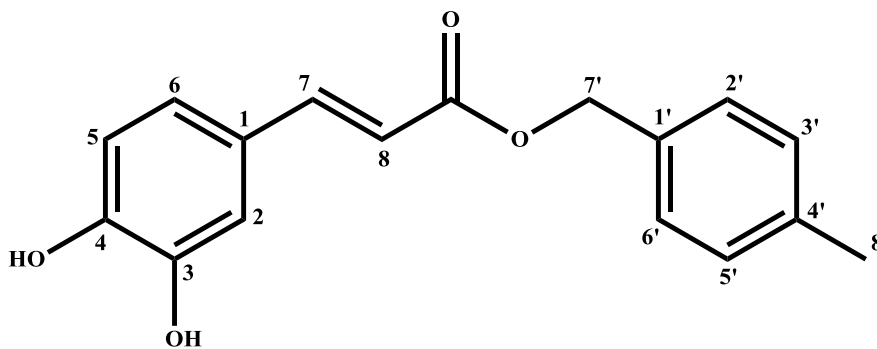


Espectro 77. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME10**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



Espectro 78. Expansão do espectro de RMN ¹³C-APT de (*E*)-benzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME10**), (DMSO-d₆, 50 MHz).

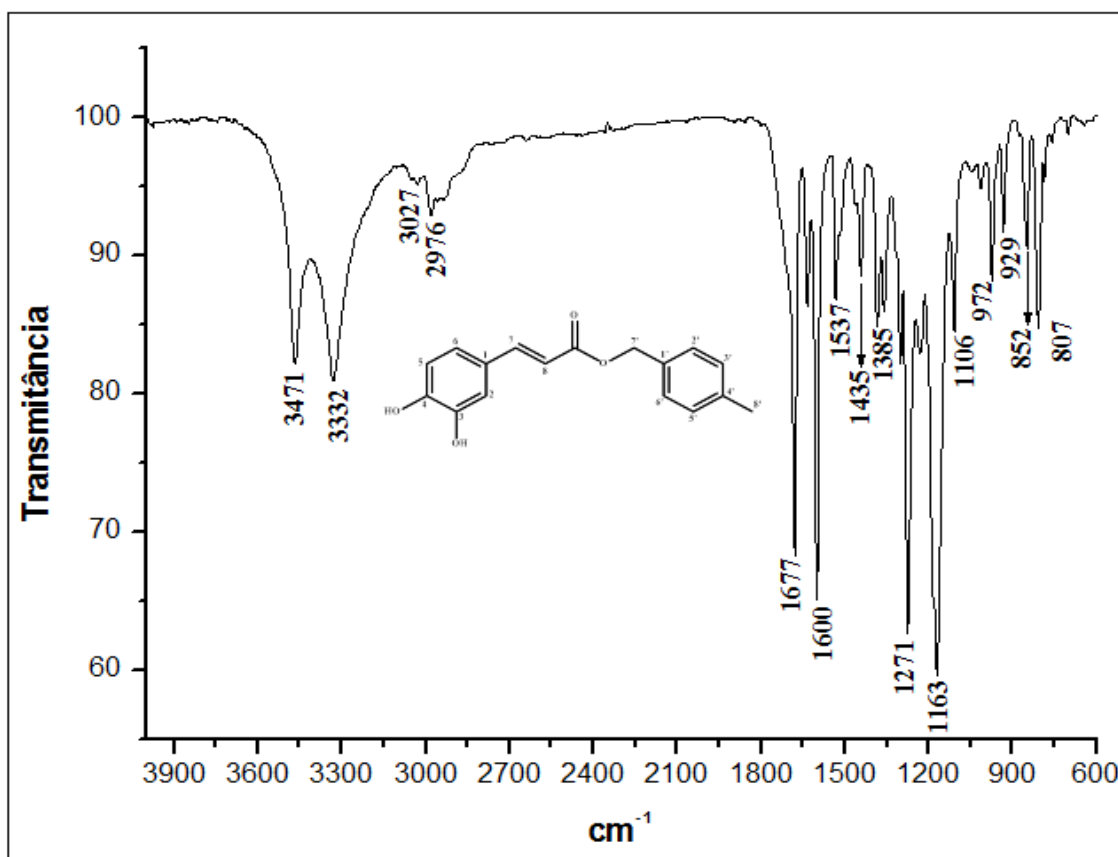
8.4.2. ME11 – Cafeato de 4-metil-benzila



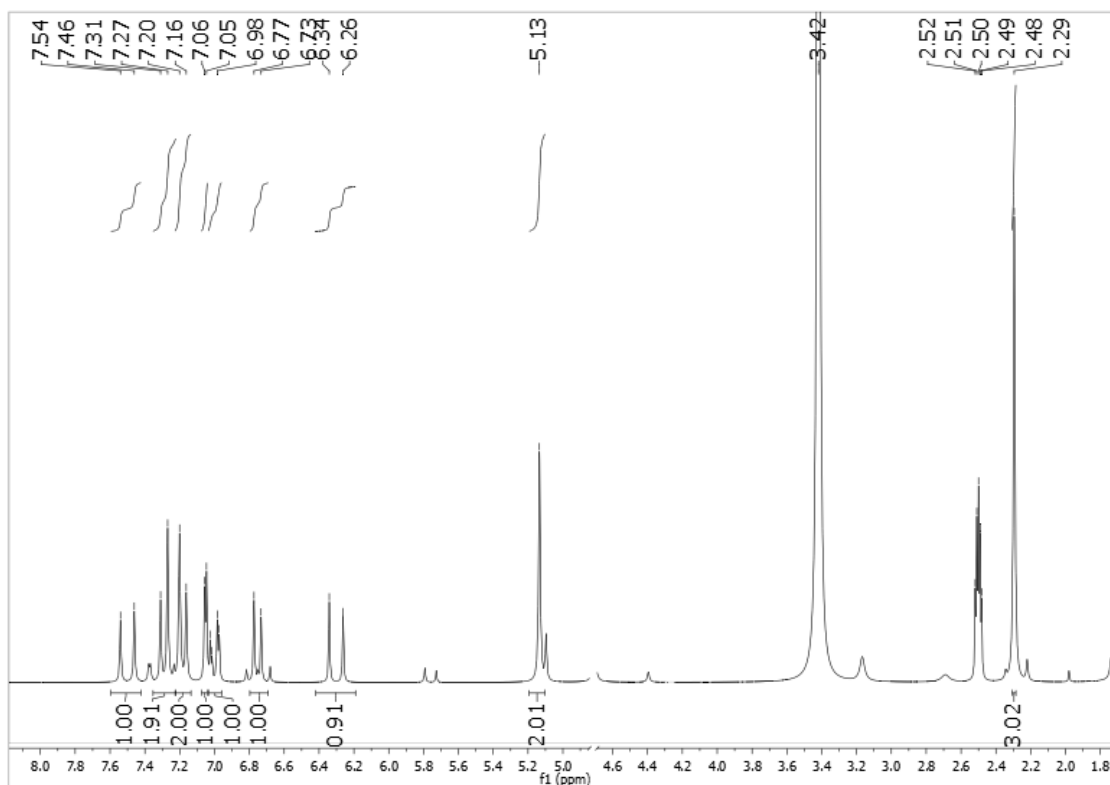
(*E*)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxi-fenil)acrilato

Sólido amorfo amarelo; rendimento 50,95% (80,4 mg); P.F.: 180-186 °C, IV ν_{max} (KBr, cm⁻¹): 3332 (O-H), 3027 (C-H sp²), 2976 (C-H sp³), 1677 (C=O), 1600 e 1435 (C=C aromático), 1271 e 1163 (estiramento C-O); RMN de ¹H (200 MHz, DMSO-d₆): 7,50 (*d*, *J* = 16,0 Hz, 1H, H-7); 7,29 (*d*, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-2', H-6'); 7,18 (*d*, *J* = 8,0 Hz, 2H, H-3', H-5'); 7,06 (*d*, *J* = 2,0 Hz, 1H, H-2); 7,00 (*dd*, *J* = 2,0 Hz, 8,2 Hz, 1H, H-6); 6,75 (*d*, *J* = 8,0 Hz, 1H, H-5); 6,30 (*d*, *J* = 16,0 Hz, 1H, H-8); 5,13 (*s*, 2H, H-7'); 2,29

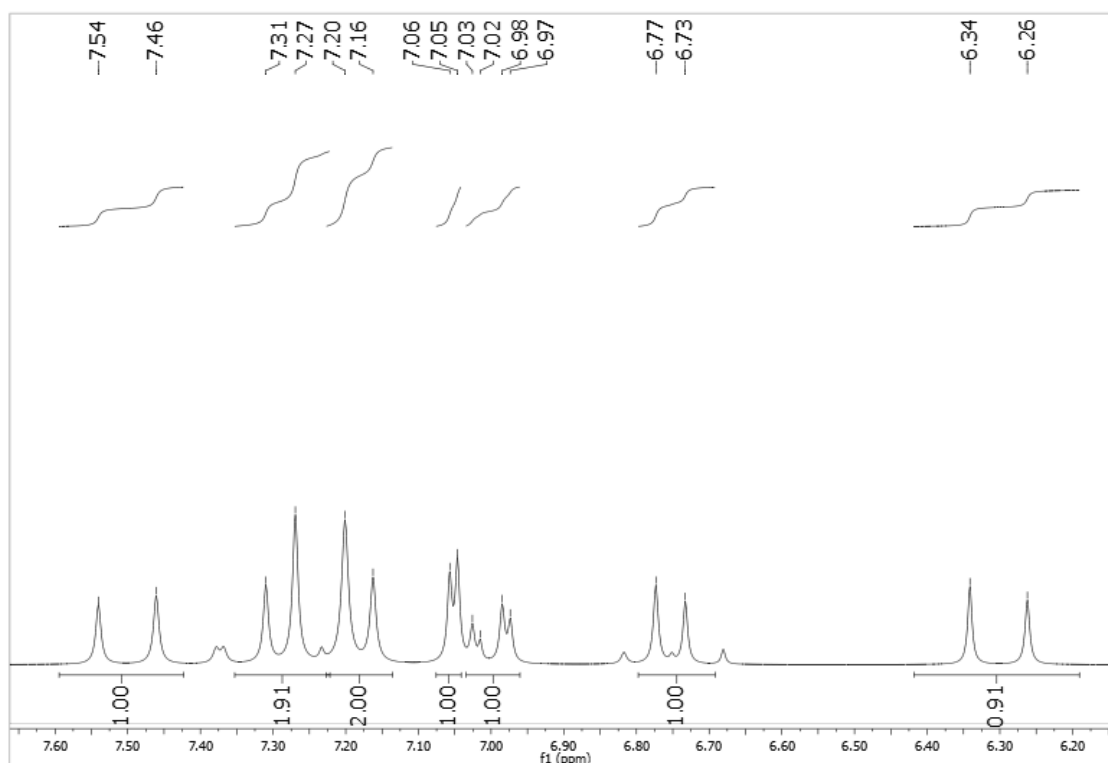
(s, 3H, H-8'); RMN de ^{13}C (50 MHz, DMSO- d_6): 166,5 (C=O); 148,6 (C-4); 145,6 (C-3); 145,5 (C-7); 137,4 (C-4'); 133,5 (C-1'); 129,1 (C-2' e C-6'); 128,3 (C-3' e C-5'); 125,5 (C-1); 121,6 (C-6); 115,8 (C-5); 114,9 (C-8); 113,8 (C-2); 65,3 (C-7'); 21,9 (C-8'), (SANDERSON et al., 2013)); EMAR (MALDI) calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_4$ $[\text{M}]^+$: 284,1049; encontrada 284,4357.



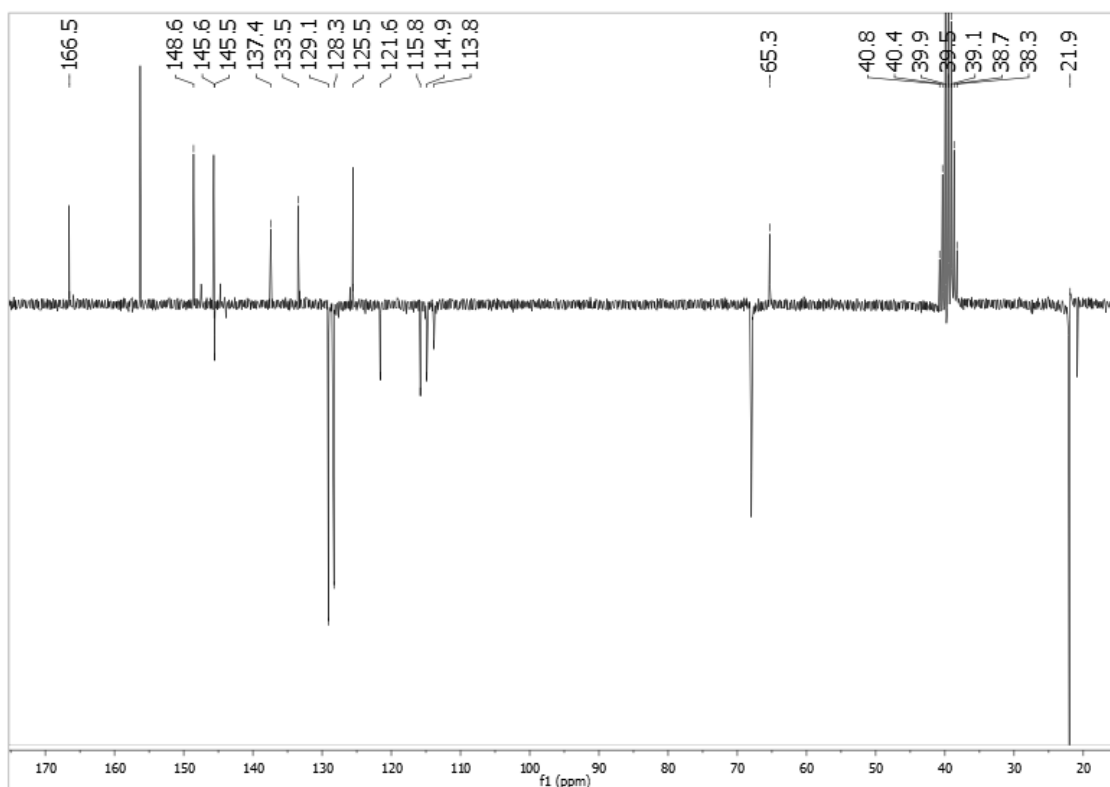
Espectro 79. Espectro de Infravermelho ($\text{KBr}, \text{cm}^{-1}$) de (E)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME11**).



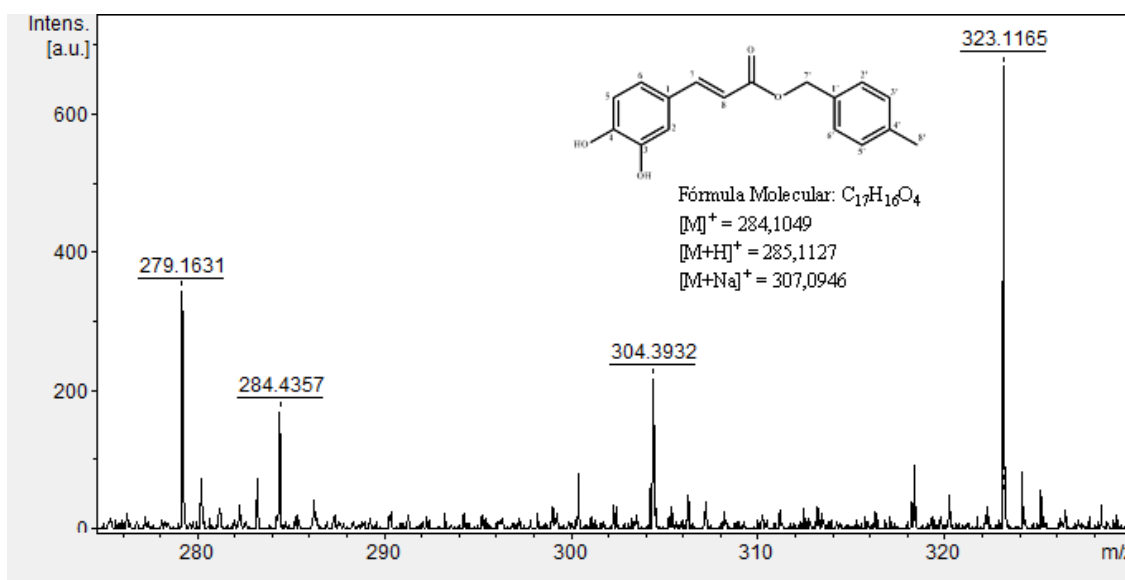
Espectro 80. Espectro de RMN ^1H de (E)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxi-fenil)acrilato (**ME11**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 81. Expansão do espectro de RMN ^1H de (E)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxi-fenil)acrilato (**ME11**), (DMSO- d_6 , 200 MHz).



Espectro 82. Espectro de RMN ^{13}C -APT de (E)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato (**ME11**), (DMSO- d_6 , 50 MHz).



Espectro 83. Espectro de massa de alta resolução tipo MALDI de (E)-4-metilbenzil 3-(3,4-dihidroxifenil)acrilato, (**ME11**).

9. REFERÊNCIAS

ADISAKWATTANA, S.; MOONSAN, P.; YIBCHOK-ANUN, S. Insulin-releasing properties of a series of cinnamic acid derivatives in vitro and in vivo. **Journal of Agricultural and Food Chemistry.**, v. 56, n. 17, p. 7838-7844, 2008.

AHN, C.; CORREIA, R.; DESHONG, P. Mechanistic study of the Mitsunobu reaction. **The Journal of Organic. Chemistry**, v. 67, n. 6, p. 1751-1753, 2002.

AHN, C.; DESHONG, P. An approach to the stereoselective synthesis of syn – and anti-1,3-diol derivatives. Retention of configuration in the Mitsunobu reaction. **The Journal of Organic. Chemistry**, n. 67, v. 6, p. 1754-1759, 2002.

ÁLVARES, C. A.; SVIDZINSKI, T. I. E.; CONSOLARO, M. E. L. Vulvovaginal candidiasis: susceptibility factors of the host and virulence of the yeasts. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial.**, v. 43, n. 5, p. 319-327, 2007.

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. **Journal of Applied Microbiology**, v. 115, n. 2, p. 346–357, 2013.

ARENDRUP, M. C.; PERLIN, D. S. Echinocandin resistance: an emerging clinical problem?. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 27, n. 6, p. 484–492, 2014.

ARIF, T.; BHOSALE, J. D.; KUMAR, N.; MANDAL, T. K.; BENDRE, R. S.; LAVEKAR, G. S.; DABUR, R. Natural products--antifungal agents derived from plants. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 11, n. 7, p. 621-638, 2009.

AUGER, C.; LAURENT, N.; LAURENT, C.; BESANÇON, P.; CAPORICCIO, B.; TEISSÉDRE, P. L.; ROUANET, J. M. Hydroxycinnamic acids do not prevent aortic atherosclerosis in hypercholesteromic golden Syrian hamsters. **Life Sciences**, v. 74, n. 19, p. 2365-2377, 2004.

BAILLY, F.; TOILLON, R. A.; TOMAVO, O.; JOUY, N.; HONDERMARCK, H.; COTELLE, P. Antiproliferative and apoptotic effects of the oxidative dimerization product of methyl caffeate on human breast cancer cells. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v. 23, n. 2, p. 574-578, 2013.

BALACHANDRAN, C.; DURAI PANDIYAN, V.; AL-DHABI, N. A.; BALAKRISHNA, K.; KALIA, N. P.; RAJPUT, V. S.; KHAN, I. A.; IGNACIMUTHU, S. Antimicrobial and Antimycobacterial Activities of Methyl Caffeate Isolated from *Solanum torvum* Swartz. Fruit. **Indian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 676–681, 2012.

BARBEDO, L. S.; SGARBI, D. B. G. Candidíase. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v 22, n. 1, p. 22-38, 2010.

BARBER, M. S.; MCCONNELL, V. S.; DECAUX, B. S. Antimicrobial intermediates of the general phenylpropanoid and lignin specific pathways. **Phytochemistry**, v. 54, n. 1, p. 53–56, 2000.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C .A. M. **Química Medicinal: as Bases Moleculares da Ação de Fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

BERENDS, E. T.; HORSWILL, A. R.; HASTE, N. M.; MONESTIER, M.; NIZET, V.; KOECKRITZ-BLICKWEDE, M V. Nuclease expression by *Staphylococcus aureus* facilitates escape from neutrophil extracellular traps. **Journal of Innate Immunity**, v. 2, n. 6, p. 576–586, 2010.

BHATTACHARYA, S. ESBL-From petri dish to the patient. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 24, n. 1, p. 20–24, 2006.

BHULLAR, K. S.; LASSALLE-CLAUX, G.; TOUAIBIA, M.; RUPASINGHE, H. P. V. Antihypertensive effect of caffeic acid and its analogs through dual renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. **European Journal of Pharmacology**, v.730, p. 125–132, 2014.

BINDER, S., LEVITT, A. M.; SACKS, J. J.; HUGHES, J. M. Emerging infectious diseases: public health issues for the 21st century. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1311–1313, 1999.

BLOM, A. M.; HALLSTRÖM, T.; RIESBECK, K. Complement evasion strategies of pathogens—Acquisition of inhibitors and beyond. **Molecular Immunology**, v. 46, n.14, p. 2808-2817, 2009.

BOECK, P.; SÁ, M. M.; DE SOUZA, B. S.; CERCENÁ, R.; ESCALANTE, A. M.; ZACHINO, S. A.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. A simple synthesis of kaurenoic esters and other derivatives and evaluation of their antifungal activity. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6B, p. 1360-1366, 2005.

BREGER, J.; FUCHS, B. B.; APERIS, G.; MOY, T. I.; AUSUBEL, F. M.; MYLONAKIS, E. Antifungal chemical compounds identified using a *C. elegans* pathogenicity assay. **PLoS Pathogens**, v. 3, n. 2/e18, p. 168-178, 2007.

BRENTON, A. G.; GODFREY, A. R. Accurate mass measurement: terminology and treatment of data. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 21, n. 11, p. 1821-35, 2010.

BREVES, A.; MIRANDA, C. A. C.; FLORES, C.; DE FILIPPIS, I.; CLEMENTINO, M. M. Methicillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in health care workers and medical devices. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 51, n. 3, p. 143-152, 2015.

BURKE, T. R. J.; FESEN, M. R.; MAZUMDER, A.; WANG, J.; CAROTHERS, A. M.; GRUNBERGER, D.; DRISCOLL, J.; KOHN, K.; POMMIER, Y. Hydroxylated aromatic inhibitors of HIV-1 integrase. **Journal of Medical Chemistry**, v. 38, n. 21, p. 4171-4178, 1995.

BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of beta-lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.54, n.3, p.969-976, 2010.

BUT, T. Y.; TOY, P. H. The Mitsunobu reaction: origin, mechanism, improvements, and applications. **Chemistry, an Asian Journal**, v. 2, n. 11, p. 1340-1355, 2007.

BUZZI, F. C.; FRANZOI, C. L.; ANTONINI, G.; FRACASSO, M.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A.; NIERO, R. Antinociceptive properties of caffeic acid derivatives in mice. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 11, p. 4596–4602, 2009.

BYGBJERG, I. C. Double burden of noncommunicable and infectious diseases in developing countries. **Science**, v. 337, n. 6101, p. 1499–1501, 2012.

CALHEIROS, R.; MACHADO, N. F. L.; FIUZA, S. M.; GASPAR, A.; GARRIDO, J.; MILHAZES, N.; BORGES, F.; MARQUES, M. P. M. Antioxidant phenolic esters with potential anticâncer activity: A Raman spectroscopy study. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 39, n. 1, p. 95-107, 2008.

CASTRO, T. L.; COUTINHO, H. D. M.; GEDEON, C. C.; DOS SANTOS, J. M.; DE SANTANA, W. J.; DE SOUZA, L. B. S. Mecanismos de resistência da *Candida sp* wwa antifúngicos. **Infarma**. v. 18, n. 9/10, p. 30-35, 2006.

CHAKRABORTY, D.; MANDAL, S. M.; CHAKRABORTY, J.; BHATTACHARYAA, P. K.; BHATTACHARYAA, A.; MITRA, A.; GUPTA, K. Antimicrobial activity of leaf extract of *Basilicum polystachyon* (L) Moench. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 45, p. 744-748, 2007.

CHANG, S.; SILVERT, D. M.; HAGEMAN, J. C.; BOULTON, M. L.; TENOVER, F. C.; DOWNES, F. P.; SHAH, S.; RUDRIK, J. T.; PUPP, G. R.; BROWN, W. J.; CARDO, D.; FRIDKIN, S. K. Infection with vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* containing the vanA resistance gene. **The New England Journal of Medicine**, v. 348, n. 14, p. 1342-1347, 2003.

CHAO, P. C.; HSU, C. C.; YIN, M. C. Anti-inflammatory and anti-coagulatory activities of caffeic acid and ellagic acid in cardiac tissue of diabetic mice. **Nutrition & Metabolism**, v. 6, n. 33, p. 1-8, 2009.

CHEN, Y. J.; SHIAO, M. S.; HSU, M. L.; TSAI, T. H.; WANG, S. Y. Effect of caffeic acid phenethyl ester, an antioxidant from propolis, on inducing apoptosis in human leukemic HL-60 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 11, p. 5615-5619, 2001.

CHEN, Y. Y.; LEE, M. H.; HSU, C. C.; WEI, C. L.; TSAI, Y. C. Methyl cinnamate inhibits adipocyte differentiation via activation of the CaMKK2-AMPK pathway in 3T3-L1 preadipocytes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 955-963, 2012.

CHENG J. T.; LIU, I. M.; TZENG, T. F.; CHEN, W.C.; HAYAKAWA, S.; YAMAMOTO, T. Release of beta-endorphin by caffeic acid to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 35, n. 4, p. 251-258, 2003.

CHIANG, H. C.; LO, Y. J.; LU, F. J. Xanthine oxidase inhibitors from the leaves of *Alsophila spinulosa* (Hook) Tryon. **Journal of Enzyme Inhibition**, v.8, n. 1, p. 61-71, 1994.

CHRISTIE, W. W. **Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis**. In *Advances in Lipid Methodology*, v. 2. Dundee: Oily Press, 1993. p. 69-111.

CHUANG, P. H.; LEE, C. W.; CHOU, J. Y.; MURUGAN, M.; SHIEH, B. J.; CHEN, H. M. Antifungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* L. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 1, p. 232-236, 2007.

CHUU, C. P.; LIN, H. P.; CIACCIO, M. F.; KOKONTIS, J. M.; HAUSE, R. J. J.; HIIPAKKA, R. A.; LIAO, S.; JONES, R. B. Caffeic acid phenethyl ester suppresses the proliferation of human prostate cancer cells through inhibition of p70S6K and Akt signaling networks. **Cancer Prevention Research**, v. 5, n. 5, p. 788-797, 2012.

CLAYDEN, J.; GREEVES, N.; WARREN, S.; WOTHERS, P. **Organic Chemistry**. 1. ed, New York: Oxford University Press, 2001.

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

CLEMENTS, A.; YOUNG, J. C.; CONSTANTINOU, N.; FRANKEL, G. Infection strategies of enteric pathogenic *Escherichia coli*. **Gut Microbes**, v. 3, n. 2, p. 71-87, 2012.

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute, **Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts**. 3. ed, v. 28, n. 14, CLSI document M27-A3, 2008.

COHEN, M. L. Epidemiology of drug resistance: implications for a post—antimicrobial era. **Science**, v. 257, n. 5073, p. 1050–1055, 1992.

COKER, R. J.; HUNTER, B. M.; RUDGE, J. W.; LIVERANI, M.; HANVORAVONGCHAI, P. Emerging infectious diseases in southeast Asia: regional challenges to control. **Lancet**, v. 377, n. 9765, p. 599–609, 2011.

COLOMBO, A. L; GUIMARÃES, T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 5, p. 599-607, 2003.

DA CUNHA, F. M.; DUMA, D.; ASSREUY, J.; BUZZI, F. C.; NIERO, R.; CAMPOS, M. M.; CALIXTO, J. B. Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti-inflammatory properties. **Free Radical Research**, v. 38, n. 11, p. 1241-1253, 2004.

DALAZEN, D.; ZANROSSO, D.; WANDERLEY, L.; DA SILVA, N. L.; FUENTEFRIA, A. M. Comparison of susceptibility profile among clinical isolates of oral and vulvovaginal *Candida* spp. in southern Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 47, n. 1, p. 33-38, 2011.

DAS, S.; LINDEMANN, C.; YOUNG, B. C.; MULLER, J.; OESTERREICH, B.; TERNETTE, N.; WINKLER, A. C.; PAPROTKA, K.; REINHARDT, R.;

FOERSTNER, K. U.; ALLEN, E.; FLAXMAN, A.; YAMAGUCHI, Y.; ROLLIER, C. S.; VAN DIEMEN, P.; BLAETTNER, S.; REMMELE, C. W.; SELLE, M.; DITTRICH, M.; MÜLLER, 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 *Staphylococcus aureus* virulence regulator attenuate cytotoxicity but permit bacteremia and abscess formation. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 22, p. E3101-E3110, 2016.

DE, P.; BALTAS, M.; BEDOS-BELVAL, F. Cinnamic acid derivatives as anticancer agents-a review. **Current Medical Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 1672-1703, 2011.

DEMITTO, F. O.; DO AMARAL, R. C. R.; BIASI, R. P.; GUILHERMETTI, E.; SVIDZINSKI, T. I. E.; BAEZA, L. C. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. in vitro among patients from Regional University Hospital of Maringá-PR. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 48, n. 5, p. 315-321, 2012.

DENNING, D. W. Echinocandin antifungal drugs. **Lancet**, v. 362, n. 9390, p. 1142–1151, 2003.

DE SENA, M. F.; GONDIM, L. A. M.; SOUZA, G. C. A.; FERREIRA, M. A. F.; LIMA, K. C. Tratamento de candidíase oral em pacientes com câncer de cabeça e pescoço: uma revisão sistemática. **Revista da AMRIGS**. v. 53, n. 3, p. 241-245, 2009.

DE SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n. 5, p. 409-413, 2007.

DE VITA, D.; FRIGGERI, L.; D'AURIA, F. D.; PANDOLFI, F.; PICCOLI, F.; PANELLA, S.; PALAMARA, A. T.; SIMONETTI, G.; SCIPIONE, L.; DI SANTO, R.; COSTI, R.; TORTORELLA, S. Activity of caffeic acid derivatives against *Candida albicans* biofilm. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v. 24, n. 6, p. 1502–1505, 2014.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3rd ed. Reino Unido: John Wiley and Sons, 2009.

DIAS, J. M.; ARAÚJO, J. M.; COSTA, J. F.; ALVIM-FERRAZ, M. C. M.; ALMEIDA, M. F. Biodiesel production from raw castor oil. **Energy**, v. 53, p. 58-66, 2013.

DINGES, M. M.; ORWIN, P. M.; SCHILIEVERT, P. M. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, n. 1, p. 16-34, 2000.

DIXON, R. A. **Isoflavonoids: biochemistry, molecular biology and biological functions**. U. Sankawa ed. Oxford: Elsevier, 1999. v. 1, p. 773–823.

DOS SANTOS, A. L.; SANTOS, D. O.; DE FREITAS, C. C.; FERREIRA, B. L. A.; AFONSO, I. F.; RODRIGUES, C. R.; CASTRO, H. C. *Staphylococcus aureus*: visiting a strain of clinical importance. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 43, n. 6, p. 413-423, 2007.

EADY, E. A.; COVE, J. H. Staphylococcal resistance revisited: community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* - an emerging problem for the management of skin and soft tissue infections. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 16, n. 2, p.103-124, 2003.

ECKERT, H.; BAJORATH, J. Molecular similarity analysis in virtual screening: foundations, limitations and novel approaches. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 5-6, p. 225-233, 2007.

EKMEKCIOGLU, C.; FEYERTAG, J.; MARKTL, W. Cinnamic acid inhibits proliferation and modulates brush border membrane enzyme activities in Caco-2 cells. **Cancer Letters**, v. 128, n. 2, p. 137-144, 1998.

ELLEPOLA, A. N.; KHAN, Z. U.; JOSEPH, B.; CHANDY, R.; PHILIP, L. Prevalence of *Candida dubliniensis* among oral *Candida* isolates in patients attending the Kuwait University Dental Clinic. **Medical Principles and Practice**, n. 20, n. 3, p. 271-276, 2011.

ELOFF, J. N. A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. **Planta Medica**, v. 64, n. 8, p. 711-713, 1998.

FARAH, A.; MONTEIRO, M.; DONANGELO, C. M.; LAFAY, S. Chlorogenic acids from green coffee extract are high bioavailable in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 12, p. 2309-2315, 2008.

FARROKH, C.; JORDAN, K.; AUVRAY, F.; GLASS, K.; OPPEGAARD, H.; RAYNAUD, S.; THEVENOT, D.; CONDRON, R.; DE REU, K.; GOVARIS, A.; HEGGUM, K.; HEYNDRIKX, M.; HUMMERJOHANN, J.; LINDSAY, D.; MISZCZYCHA, S.; MOUSSIEGT, S.; VERSTRAETE, K.; CERF, O. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 162, n. 2, p. 190-212, 2013.

FATTOM, A. I.; HORWITH, G.; FULLER, S.; PROPST, M.; NASO, R. Development of StaphVax, a polysaccharide conjugate vaccine against *S. aureus* infection: from the bench to phase III clinical trials. **Vaccine**, v. 22, n. 7, p. 880-887, 2004.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Novel new drugs 2014 summary**. Center for Drug Evaluation and Research, 2015.

FERNANDEZ-BRANDO, R. J.; BENTANCOR, L. V.; MEJIAS, M. P.; PANEK, A. C.; CABRERA, G. G.; EXENI, R. A.; PALERMO, M. S. Actualización en el tratamiento del síndrome uremico hemolítico endémico patógenesis y tratamiento de la complicación sistémica más grave de las infecciones por *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. **Medicina**, v. 71, n. 4, p. 383-389, 2011.

FESEN, M. R.; KOHN, K. W.; LETEURTRE, F.; POMMIER, Y. Inhibitors of human immunodeficiency virus integrase. **Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 90, n. 6, p. 2399-2403, 1993.

FESSEN, M. R.; POMMIER, Y.; LETEURTRE, F.; HIROGUCHI, S.; YUNG, J.; KOHN, K. W. Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. **Biochemical Pharmacology**, v. 48, n. 3, p. 595-608, 1994.

FOSTER, T. J. Colonization and infection of the human host by staphylococci: adhesion, survival and immune evasion. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n.5-6, p. 456-470, 2009.

FRAVE, H. A.; POWELL, W. H. **Nomenclature of Organic Chemistry: IUPAC Recommendations and Preferred Name 2013**. 4th ed, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2013.

FREITAS, F.; MENKE, C. H.; RIVOIRE, W. A.; PASSOS, E. P. **Rotinas em ginecologia**. 4.ed. São Paulo: Artmed, 2003.

FU, J.; CHENG, K.; ZHANG, Z. M.; FANG, R. Q.; ZHU, H. L. Synthesis, structure and structure-activity relationship analysis of caffeic acid amides as potential antimicrobials. **European Journal of Medical Chemistry**, v. 45, n. 6, p. 2638-2643, 2010.

GANGAN, V. D.; JAZLY, L.; CHAKRABORTY, C. T.; BHATIA, D. S.; DESHMUKH, A. S.; BHALEKAR, S. M.; SANKHE, S. S.; PUJARI, G. Ethyl caffeate ether derivatives as future potential drug. **Journal of Pharmacy Research**, v. 8, n. 6, p. 818-821, 2014.

GEETHA, R. V.; ANITHA, R. In vitro evaluation of antimycotic activity of ethanolic extract of *Glycyrrhiza glabra*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v.6, n. 3, p. 205-206, 2013.

GELATTI, L. C.; BONAMIGO, R. R.; BECKER, A. P.; D'AZEVEDO, P. A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: emerging community dissemination. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 5, p. 501-506, 2009.

GEORGIEV, L.; CHOCHKOVA, M.; IVANOVA, G.; NAJDENSKI, H.; NINOVA, M.; MILKOVA, T. Radical scavenging and antimicrobial activities of cinnamoyl amides of biogenic monoamines. **La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v. 89, p. 91–102, 2012.

GERHARDT, P.; MURRAY, R. G. E.; WOOD, W. A.; KRIEG, N. R. **Methods for General and Molecular Bacteriology**. Washington: American Society for Microbiology, 1994.

GIRI, S.; KINDO A. J. A review of *Candida* species causing blood stream infection. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 270-278, 2012.

GLEHN, E. A. V.; RODRIGUES, G. P. S. Antifungigrama para comprovar o potencial de ação dos extratos vegetais hidroglicólicos sobre *Candida* sp. (Berkhout). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n. 3, p. 435-438, 2012.

GOLD, H. S.; MOELLERING JUNIOR, R. C. Antimicrobial-drug resistance. **The New England Journal of Medicine**, v. 335, n. 19, p. 1445–1453, 1996.

GONZALEZ-PADILLA, M.; TORRE-CISNEROS, J.; RIVERA-ESPINAR, F.; PONTES-MORENO, A.; LÓPEZ-CERERO, L.; PASCUAL, A.; NATERA, C.; RODRÍGUEZ, M.; SALCEDO, I.; RODRÍGUEZ-LÓPEZ, F.; RIVIERO, A.; RODRÍGUEZ-BAÑO, J. Gentamicin therapy for sepsis due to carbapenem-resistant and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 3, p. 905-913, 2015.

GRUNBERGER, D., BANERJEE, R., EISINGER, K.; OLTZ, E. M.; EFROS, L.; CALDWELL, M.; ESTEVEZ, V.; NAKANISHI, K. Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis. **Experientia**, v. 44, n. 3, p. 230-232, 1988.

GUTH, B. E. C.; DE SOUZA, R. L.; VAZ, T. M. I.; IRINO, K. First shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolate from a patient with hemolytic uremic syndrome, Brazil. **Emerging Infectious Disease**, v. 8, n. 5, p. 535-536, 2002.

GUTIÉRREZ, J.; MORALES, P.; GONZÁLES, M. A.; QUINDÓS, G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. **Journal of Basic Microbiology**, v. 42, n. 3, p. 207-227, 2002.

HADACEK, F. GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochemical Analyses**, v. 11, n. 3, p. 137-147, 2000.

HANDIQUE, J. G.; MAHANTA, D.; DEVI, A.; BORUAH, M. P. Synthesis and Electrochemical Behavior of Some Dendritic Polyphenols as Antioxidants. **Letters in Organic Chemistry**, v. 10, n. 1, p. 53-59, 2013.

HERNÁNDEZ-MONTELONGO, R.; GARCÍA-SANDOVAL, J. P.; AGUILAR-GARNICA, E. On the non-ideal behavior of the homogeneous esterification reaction: a kinetic model based on activity coefficients. **Reaction Kinetics, Mechanism and Catalysis**, v. 115, n. 2, p. 401-419, 2015.

HIRAMATSU, K.; CUI, L.; KURODA, M.; ITO, T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Trends in Microbiology**, v. 9, n. 10, p. 486-493, 2001.

HOLETZ, F. B.; PESSINI, G. L.; SANCHES, N. R.; CORTEZ, D. A.; NAKAMURA, C. V.; FILHO, B. P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 2002, v. 97, n. 7, p. 1027-1031, 2002.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of in vitro tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 3, p. 391-400, 2007.

HUDAULT, S.; GUIGNOT, J.; SERVIN, A. L. *Escherichia coli* strains colonising the gastrointestinal tract protect germfree mice against *Salmonella typhimurium* infection. **Gut**, v. 49, n.1, p. 47-55, 2001.

ILHAN, A.; IRAZ, M.; GUREL, A.; ARMUTCU, F.; AKYOL, O. Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylenetetrazol-induced seizures in mice. **Neurochemical Research**, v. 29, n. 12, p. 2287-2292, 2004.

INANAGA, J.; HIRATA, K.; SAEKI, H.; KATSUKI, T.; YAMAGUCHI, M. A rapid esterification by means of mixed anhydride and its application to large-ring lactonization. **Bulletin of the chemical society of Japan**, v. 52, n. 7, p. 1989-1993, 1979.

ISENMANN, A. F. **Princípios da Síntese Orgânica**. 2. ed. Minas Gerais: Edição do autor, 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

JAYAPRAKASAM, B.; VANISREE, M.; ZHANG, Y.; DEWITT, D. L.; NAIR, M. G. Impact of Alkyl Esters of Caffeic and Ferulic Acids on Tumor Cell Proliferation, Cyclooxygenase Enzyme, and Lipid Peroxidation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5375-5381, 2006.

JAZLY, L.; GANGAN, V. D.; CHAKRABORTY, C. T.; TAMHANKAR, A. V.; KADAM, J. J.; BHALEKAR, S.. Synthesis and antibacterial activity of novel Caffeic acid ester derivatives. **Journal of Pharmacy Research: BioMedRx: An International Journal**, v. 1, n. 10, p. 942-946, 2013.

JUMAN, S.; YASUI, N.; IKEDA, K.; UEDA, A.; SAKANAKA, M.; NEGISHI, H.; MIKI, T. Caffeic acid phenethyl ester suppresses the production of pro-inflammatory cytokines in hypertrophic adipocytes through lipopolysaccharide-stimulated macrophages. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 35, n. 11, p. 1941-1946, 2012.

JUNG, E. H.; KIM, S. R.; HWANG, I. K.; HA, T. Y. Hypoglycemic effects of a phenolic acid fraction of rice bran and ferulic acid in C57BL/KsJ-db/db mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 24, p. 9800-9804, 2007.

JUNG, U. J.; LEE, M. K.; PARK, Y. B.; JEON, S. M.; CHOI, M. S. Antihyperglycemic and antioxidant properties of caffeic acid in db/db mice. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v.318, n. 2, p.476- 483, 2006.

KABIR, M. A.; HUSSAIN, M. A.; AHMAD, Z. *Candida albicans*: A model organism for studying fungal pathogens. **International Scholarly Research Network**, v. 2012, p. 1-15, 2012.

KAMPA, M.; ALEXAKI, V. I.; NOTAS, G.; NIFLI, A. P.; NISTIKAKI, A.; HATZOGLU, A.; BAKOGEORGOU, E.; KOUIMTZOGLU, E.; BLEKAS, G.; BOSKOU, D.; GRAVANIS, A.; CASTANAS, E. Antiproliferative and apoptotic effects of selective phenolic acids on T47D human breast cancer cells: potential mechanisms of action. **Breast Cancer Research**, v. 6, n. 2, p. R63–R74, 2004.

KAPER, J. B.; NATARO, J. P.; MOBLEY, H. L. Pathogenic *Escherichia coli*. **Natures Review. Microbiology**. v. 2, n. 2, p. 123–140, 2004.

KARTAL, M.; YILDIZ, S.; KAYA, S.; KURUCU, S.; TOPÇU, G.; Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 86, n. 1, p. 69-73, 2003.

KHAN, M. S.; MALIK, A.; AHMAD, I. Anti-candidal activity of essential oils alone and in combination with amphotericin B or fluconazole against multi-drug resistant isolates of *Candida albicans*. **Medical Mycology**, v. 50, n. 1, p.33–42, 2012.

KIM, K. D.; SONG, M. H.; YUM, E. K. JEON, O. S.; JU, Y. W.; CHANG, M. S. 2,4-Dihydroxycinnamic Esters as Skin Depigmenting Agents. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 30, n. 7, p. 1619-1621, 2009.

KIMURA, T. Analysis of factors governing drug absorption and their improvement. **Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan**, v. 129, n. 8, p. 911-923, 2009.

KIRAZ, N. U.; YASEMIN, O. Z. A distribuição das espécies e susceptibilidade in vitro de isolados clínicos de *Candida* de um hospital universitário na Turquia ao longo de um período de 5 anos. **Medical Mycology**, 49, n. 2, p. 126–131, 2011.

KOROŠEC, B.; SOVA, M.; TURK, S.; KRAŠEVEC, N.; NOVAK, M.; LAH, L.; STOJAN, J.; PODOBNIK, B.; BERNE, S.; ZUPANEC, N.; BUNC, M.; GOBEC, S.; KOMEL, R. Antifungal activity of cinnamic acid derivatives involves inhibition of benzoate 4-hydroxylase (CYP53). **Journal of Applied Microbiology**, v. 116, n. 4, p. 955–966, 2014.

KUJUMGIEV, A.; BANKOVA, V.; IGNATOVA, A.; POPOV, S. Antibacterial activity of propolis, some of its components and their analogs. **Die Pharmazie**, v. 48, n. 10, p. 785-786, 1993.

LAFAY, S.; MORAND, C.; MANACH, C.; BESSON, C.; SCALBERT, A. Absorption and metabolism of caffeic acid and chlorogenic acid in the small intestine of rats. **The British Journal of Nutrition**, v. 96, n. 1, p. 39-46, 2006.

LAMBRIS J. D.; RICKLIN, D; GEISBRECHT B.V. Complement evasion by human pathogens. **Natures Review. Microbiology**. v. 6, n. 2, p.132–142, 2008.

LANCAZ, C. S. **Tratado de Micologia Médica**. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002.

LEE , I. K.; KIM, K. H.; CHOI, S. U.; LEE, J. H.; LEE, K. R. Phytochemical constituents of *Thesium chinense* Turcz and their cytotoxic activities in vitro. **Natural Product Scienses**, v. 15, n. 4, p. 246–249, 2009.

LEE, Y. J.; LIAO, P. H.; CHEN, W. K.; YANG, C. Y.; Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. **Cancer Letters**, v. 153, n. 1-2, p. 51-56, 2000.

LI, N. G.; WANG, R.; TANG, Y. P; SHI, Z. H.; LI, B. Q.; LI, W.; YANG, J. P.; WANG, Z. J.; SONG, S. L.; QIAN, L. H.; YAO, L. J.; XIA, J. Z.; XU, J.; FENG, F.; QIAN, D. W.; DUAN, J. A. Design, synthesis and biological study of novel NO-donor-

caffeic acid hybrids as potential anti-atherosclerotic drug candidates. **Letters in Drug Design & Discovery**, v. 8, n. 6, p. 550-557, 2011.

LI, P. G.; XU, J. W.; IKEDA, K.; KOBAYAKAWA, A.; KAYANO, Y.; MITANI, T.; IKAMI, T.; YAMORI, Y. Caffeic acid inhibits vascular smooth muscle cell proliferation induced by angiotensin II in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. **Hypertension Research**, v. 28, n. 4, p. 369–377, 2005.

LI, W.; LI, N.; TANG, Y.; LI, B.; LIU, L.; ZHANG, X.; FU, H.; DUAN, J-A. Biological activity evaluation and structure–activity relationships analysis of ferulic acid and caffeic acid derivatives for anticancer. **Bioorganic & Medical Chemistry Letters**, v. 22, n. 19, p. 6085–6088, 2012.

LIMA, L. M. Química medicinal moderna: desafios e contribuição brasileira. **Química Nova**, v. 30, n. 6, p.1456-1468, 2007.

LIN, H. P.; JIANG, S. S.; CHUU, C. P. Caffeic acid phenethyl ester causes p21(Cip1) induction, akt signaling reduction, and growth inhibition in PC-3 human prostate cancer cells. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. 1-12, 2012.

LINDSAY, J. A.; HOLDEN, M. T. *Staphylococcus aureus*: super bug, super genome? **Trends in Microbiology**, v. 12, n. 8, p. 378-385, 2004.

LIVERMORE, D. M. Defining an extended-spectrum beta-lactamase. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 1, p. 3-10, 2008.

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

LUQUE, A. G.; BIASOLI, M. S.; TOSELLO, M. E.; BINOLFI, A.; LUPO, S.; MAGARÓ, H. M. Oral yeast carriage in HIV-infected and non-infected populations in Rosario, Argentina. **Mycoses**, v. 52, n. 1, p. 53-59, 2009.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P.; ROLIM NETO, P. J. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 447-454, 2008.

MA, Y.; WANG, Q.; GAO, Z.; SUN, X.; WANG, N.; NIU, R.; MA, H. Transesterification of waste cooking oil using FeCl₃-modified resin catalyst and the research of catalytic mechanism. **Renewable Energy**, v. 86, p. 643-650, 2016.

MARKLE, W. H.; FISCHER, M. A.; SMEGO JÚNIOR, R. A. **Compreendendo a Saúde Global**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed: 2015. 586p.

MATSUBARA, T.; ITO, T. Quantum mechanical and molecular dynamics studies of the reaction mechanism of the nucleophilic substitution at the si atom. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 120, n. 7, p. 2636-2646, 2016.

MAUBON, D.; GARNAUD, C.; CALANDRA, T.; SANGLARD, D.; CORNET, M. Resistance of *Candida* spp. to antifungal drugs in the ICU: Where are we now? **Intensive Care Medicine**, v. 40, n. 9, p. 1241–1255, 2014.

MCKEE, T.; MCKEE, J. R. **Biochemistry: The Molecular Basis of Life**. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2009. 777p.

MCLENNAN, D. J. A case for the concerted SN₂ mechanism of nucleophilic aliphatic substitution. **Accounts of Chemical Research**, v. 9, n. 8, p. 281-287, 1976.

MENEZES, C.; DA SILVA, C. I.; SINGER, R. B.; KERR, W. E. Competição entre abelhas durante forrageamento em *schefflera arboricola* (HAYATA) MERR. **Bioscience Journal**, v. 23, n. 1, p. 63-69, 2007.

MENEZES, R. P.; BORGES, A. S.; ARAUJO, L. B.; PEDROSO, R. S.; RÖDER, D. V. Related factors for colonization by *Candida* species in the oral cavity of hiv-infected individuals. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n. 5, p. 413-419, 2015.

MERKL, R.; HRÁDKOVÁ, I.; FILIP, V.; ŠMIDRKAL, J. Antimicrobial and antioxidant properties of phenolic acids alkyl esters. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 28, n. 4, p. 275–279, 2010.

MICROBIOLOGY SOCIETY. Society publishes new briefing on human fungal diseases; disponível em: <<http://www.microbiologysociety.org/news/societynews.cfm/briefing-human-fungal-diseases>> Acesso: 01 de jan. de 2017.

MITSCHER, L. A.; LEU, R. P.; BATHALA, M. S.; WU, W. N.; BEAL, J. L. Antibacterial agents from higher plants. I. Introduction, rationale and methodology. **Llodya**, v.35, n.2, p. 157-166, 1972.

MOAYEDNIA, R.; SHOKRI, D.; MOBASHERIZADEH, S.; BARADARAN, A.; FATEMI, S. M.; MERRIKHI, A. Frequency assessment of b-lactamase enzymes in *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates in patients with urinary tract infection. **Journal of Research in Medical Sciences**, v. 1, n. 19, p. S41-S45, 2014.

NAGAOKA, T.; BANSKOTA, A. H.; TEZUKA, Y.; SAIKI, I.; KADOTA, S. Selective antiproliferative activity of caffeic acid phenethyl ester analogues on highly liver-metastatic murine colon 26-L5 carcinoma cell line. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 10, n. 10, p. 3351-3359, 2002.

NARDINI, M.; PISU, P.; GENTILI, V.; NATELLA, F.; DI FELICE, M.; PICCOLELLA, E.; SCACCINI, C. Effect of caffeic acid on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative stress in U937. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 25, n. 9, p. 1098–1105, 1998.

NATARAJAN, K.; SINGH, S.; BURKE JUNIOR, T. R.; GRUNBERGER, D.; AGGARWAL, B. B. Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF-kappa B. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 93, n. 17, p. 9090-9095, 1996.

NATHISUWAN, S.; BURGESS, D. S.; LEWIS, J. S. Extended-spectrum beta-lactamases: epidemiology, detection and treatment. **Pharmacotherapy**, v. 21, n. 8, p. 920-928, 2001.

NEWMAN, D. J; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 3, p. 311-335, 2012.

ORBAN, Z.; MITSIADES, N.; BURKE JUNIOR, T. R.; TSOKOS, M.; CHROUSOS, G. P. Caffeic acid phenethyl ester induces leukocyte apoptosis, modulates nuclear factor-kappa B and suppresses acute inflammation. **Neuroimmunomodulation**, v. 7, n. 2, p. 99–105, 2000.

OLANIRAN, A. O.; NAICKER, K.; PILLAY, P. Toxigenic *Eschericia coli* and *Vibrio cholerae*: Classification, pathogenesis and virulence determinants. **Biotechnology and Molecular Biology Review**, v. 6, n. 4, p. 94-100, 2011.

OLIVEIRA, G. A.; DELL`AQUILA, A. M.; MASIERO, R. L.; LEVY, C. E.; GOMES, M. S.; CU, L.; HIRAMATSU, K.; MAMIZUKA, E. M. Isolation in Brazil of nosocomial *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v. 22, n. 7, p. 443-448, 2001.

PALOMBO, E. A.; SEMPLE, S. J. Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE). **Journal of Basic Microbiology**, v. 42, n. 6, p. 444-448, 2002.

PARK, J. H.; LEE, J. K.; KIM, H. S.; CHUNG, S. T.; EOM, J. H.; KIM, K. A.; CHUNG, S. J.; PAIK, S. Y.; OH, H. Y. Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. **International Immunopharmacology**, v. 4, n. 3, p. 429–436, 2004.

PARKAR, S. G.; STEVENSON, D. E.; SKINNER, M. A. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. **International Journal of Food Microbiology**, v. 124, n. 3, p. 295–298, 2008.

PATERSON, D. L. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 6, n. 9, p. 460–463, 2000.

PATERSON, D. L.; KO, W. C.; GOTTBORG, A. V.; MOHAPATRA, S.; CASELLAS, J. M.; GOOSSENS, H.; MULAZIMOGLU, L.; TRENHOLME, G.; KLUGMAN, K. P.; BONOMO, R. A.; RICE, L. B.; WAGENER, M. M.; MCCORMACK, J. G.; YU, V. L. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: Implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. **Clinical Infectious Diseases**, v. 39, n. 1, p. 31–37, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. **Introdução à espectroscopia**. Tradução da 4. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2010.

POWERS, J. H. Antimicrobial drug development—The past, the present, and the future. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 10, n. 4, p. 23–31, 2004.

POWERS, M. E.; WARDENBURG, J. B. Igniting the fire: *Staphylococcus aureus* virulence factors in the pathogenesis of sepsis. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 2, p. 1-4, 2014.

PRAKASH, B.; SINGH, P.; MISHRA, P. K.; DUBEY, N. K. Safety assessment of *Zanthoxylum alatum* Roxb. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation of *Piper nigrum* L. fruits. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1-2, p. 183-191, 2012.

PRASAD, N. R.; KARTHIKEYAN, A.; KARTHIKEYAN, S.; REDDY, B. V. Inhibitory effect of caffeic acid on cancer cell proliferation by oxidative mechanism in human HT-1080 fibrosarcoma cell line. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 349, n. 1, p. 11-19, 2011.

RAJILIC-STOJANOVIC, M.; SMIDT, H.; DE VOS, W. M. Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. **Environmental Microbiology**, v. 9, n. 9, p. 2125–2136, 2007.

RASTOGI, N.; DOMADIA, P.; SHETTY, S.; DASGUPTA, D. Screening of natural phenolic compounds for potential to inhibit bacterial cell division protein FtsZ. **Indian Journal of Experimental Biology**, v. 46, n. 11, p. 783–787, 2008.

RAWAT, D.; NAIR, D. Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 2, n. 3, p. 263–274, 2010.

ROOIJAKKERS, S. H. M.; VAN KESSEL, K. P. M.; VAN STRIJP, J. A. G. Staphylococcal innate immune evasion. **Trends in Microbiology**, v. 13, n. 12, p. 596-601, 2005.

ROSSI, R. A.; PIERINI, A. B.; PEÑÉÑORY, A. B. Nucleophilic substitution reactions by electron transfer. **American Chemical Society**, v. 103, n. 1, p. 71-167, 2003.

RUSSO, A.; LONGO, R.; VANELLA, A. Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. **Fitoterapia**, v. 73, n. 1, p. S21-S29, 2002.

SABRÁ, A. ECEP, ECET, ECEA, ECEH, ECEI, ECAD: a *E. coli* revisitada no contexto da diarreia aguda. **Jornal de Pediatria**, v. 77, n. 1, p. 5-7, 2002.

SÁEZ-LLORENS, X.; DE WONG, M. M. C.; CASTAÑO, E.; DE SUMAN, O.; DE MORÖS, D.; DE ATENCIO, I. Impact of an antibiotic restriction policy on hospital expenditures and bacterial susceptibilities: a lesson from a pediatric institution in a developing country. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 19, n. 3, p. 200-206, 2000.

SAHINLER, N.; KAFTANOGLU, O. Natural product propolis: chemical composition. **Natural Product Research**, v. 19, n.2, p. 183-188, 2005.

SANDERSON, J. T.; CLABAULT, H.; PATTON, C.; LASSALLE-CLAUX, G.; JEAN-FRANÇOIS, J.; PARÉ, A. F.; HÉBERT, M. J.; SURETTE, M. E.; TOUAIBIA, M. Antiproliferative, antiandrogenic and cytotoxic effects of novel caffeic acid derivatives in LNCaP human androgen-dependent prostate cancer cells. **Bioorganic & Medical Chemistry**, v. 21, n. 22, p. 7182–7193, 2013.

SARDI, J. C. O.; GULLO, F. P.; FREIRES, I. A.; PITANGUI, N. S.; SEGALLA, M. P.; FUSCO-ALMEIDA, A. M.; ROSALEN, P. L.; REGASINI, L. O.; MENDES-GIANNINI, M. J. S. Synthesis, antifungal activity of caffeic acid derivative esters, and their synergism with fluconazole and nystatin against *Candida* spp. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**, v. 86, n. 4, p. 387–391, 2016.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 35, n. 4, p. 275-280, 2004.

SCHENK, S.; WESTON, J.; ANDERS, E. Density functional investigation of the Mitsunobu reaction. **Journal of the American Chemical Society**, v. 127, n. 36, p. 12566-12576, 2005.

SCHLOTTFELDT, F. S.; FERNANDES, S. M.; MARTINS, D. M.; CORDEIRO, P.; DA FONSECA, C. D.; WATANABE, M.; VATTIMO, M. F. F. Prevention of amphotericin B nephrotoxicity through use of phytotherapeutic medication. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 49, p. 73-78, 2015.

SCHWYZER, R. In search of the ‘bio-active conformation’—Is it induced by the target cell membrane?. **Journal of Molecular Recognition**, v. 8, n. 1-2, p. 3-8, 1995.

SERRUTO, D.; RAPPUOLI, R.; SCARSELLI, M.; GROS, P.; VAN STRIJP, J. A. G. Molecular mechanisms of complement evasion: Learning from staphylococci and meningococci. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 6, p.393–399, 2010.

SHAIKH, S.; FATIMA, J.; SHAKIL, S.; RIZVI, S. M.; KAMAL, M. A. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 90–101, 2015.

SHARMA, P. Cinnamic acid derivatives: A new chapter of various pharmacological activities. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 2, p. 403-423,

2011.

SHI, H.; WANG, Y.; HUA, R. Acid-catalyzed carboxylic acid esterification and ester hydrolysis mechanism: acylium ion as a sharing active intermediate via a spontaneous trimolecular reaction based on density functional theory calculation and supported by electrospray ionization-massespectrometry. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 17, n. 45, p. 30279-30291, 2015.

SHI, H.; XIE, D.; YANG, R.; CHENG, Y. Synthesis of caffeic acid phenethyl ester derivatives, and their cytoprotective and neuritogenic activities in PC12 cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 22, p. 5046–5053, 2014.

SHIN, K. M.; KIM, I. T.; PARK, Y. M.; HA, J.; CHOI, J. W.; PARK, H. J.; LEE, Y. S.; LEE, K. T. Anti-inflammatory effect of caffeic acid methyl ester and its mode of action through the inhibition of prostaglandin E2, nitric oxide and tumor necrosis factor- α production. **Biochemical Pharmacology**, v. 68, n. 12, p. 2327–2336, 2004.

SILIPO, C.; VITORIA, A. **Three-dimensional structure of drugs**. In Quantitative Drug Design. Ramsden, C. A. ed. Oxford: Pergamon Press, 1990. v. 4, p. 153-204.

SILVA, S.; HENRIQUES, M.; OLIVEIRA, R.; WILLIAMS, D.; AZEREDO, J. In vitro biofilm activity of non-*Candida albicans* *Candida* species. **Current Microbiology**, v. 61, n. 6, p. 534-540, 2010.

SILVERMAN, R. B. **The Organic chemistry of drug design and drug action**. California: Academic Press, 1992. 422p..

SILVERSTEIN, R. M., WEBSTER, F. X. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7. ed. São Paulo: LTC Livros Técnicos e Científicos, 2007.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. Volume 1. Tradução da 10th ed. Rio de Janeiro: LTC Livros Técnicos e Científicos, 2012.

SON, S.; LEWIS, B. A. Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 3, p. 468-472, 2002.

SON, S.; LOBKOWSKY, E. B.; LEWIS, B. A. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE): synthesis and X-ray crystallographic analysis. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 49, n. 2, p. 236-238, 2001.

SORRELL, T. N. **Organic Chemistry**, 2nd ed. California: University Science Books, 2006.

SOVA, M. Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 8, p.749-767, 2012.

SWAMY, K. C. K.; KUMAR, N. N. B.; BALAMARAN, E.; KUMAR, K. V. P. P. Mitsunobu and related reactions: advances and applications. **Chemical Reviews**, v. 109, n. 6, p. 2551-2651, 2009.

TAU, K. D.; ELANGO, V.; MCDONOUGH, J. A. **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1994. v. 9. p. 781-812.

TAVARES, L. C. QSAR: A abordagem de Hansch. **Química Nova**, v. 27, n. 4, p. 631-639, 2004.

TEICHERT, M. C; JONES, J. W.; USACHEVA, M. N.; BIEL, M. A. Treatment of oral candidiasis with methylene blue- mediated photodynamic therapy in an immunodeficient murine model. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 93, n. 2, p. 155-160, 2002.

TEKELI, A.; DOLAPCI, I.; EMRAL, R.; CESUR, S. *Candida carriage* and *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples of type-1 diabetes mellitus patients. **Mycoses**, v. 47, n. 7, p. 315-318, 2004.

TENAILLON, O.; SKURNIK, D.; PICARD, B.; DENAMUR, E. The population genetics of commensal *Escherichia coli*. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 207-217, 2010.

THAMMAVONGSA, V.; KIM, H. K.; MISSIAKAS, D.; SCHNEEWIND, O. Staphylococcal manipulation of host immune responses. **Nature Reviews Microbiology**, v.13, n. 9, p. 529–543, 2015.

THAMMAVONGSA V.; MISSIAKAS D. M. SCHNEEWIND, O. *Staphylococcus aureus* degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death. **Science**, v. 342, n. 6160, p. 863–866, 2013.

THOMAS, G. **Química medicinal: Uma introdução**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 413p.

TOYODA, T.; TSUKAMOTO, T.; TAKASU, S.; SHI, L.; HIRANO, N.; BAN, H.; KUMAGAI, T.; TATEMATSU, M. Antiinflammatory effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE), a nuclear factor kappaB inhibitor, on *Helicobacter pylori*-induced gastritis in *Mongolian gerbils*. **International Journal of Cancer**, v. 125, n. 8, p. 1786–1795, 2009.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. v. 1, 780p.

TUNÇEL, G.; NERGIZ, C. Antimicrobial effect of some olive phenols in a laboratory medium. **Letters in Applied Microbiology**, v. 17, n. 6, p. 300–302, 1993.

UWAI, K.; OSANAI, Y.; IMAIZUMI, T.; KANNO, S.; TAKESHITA, M.; ISHIKAWA, M. Inhibitory effect of the alkyl side chain of caffeic acid analogues on lipopolysaccharide-induced nitric oxide production in RAW264.7 macrophages. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 16, p. 7795–7803, 2008.

UZEL, A.; SORKUN, K.; ONÇAG, O.; ÇOGULU, D.; GENÇAY, O.; SALIH, B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, v. 160, n. 2, p. 189-195, 2005.

VALEUR, E.; BRADLEY, M. Amide bond formation: beyond the myth of coupling reagentes. **Chemical Society Reviews**, v.38, n. 2, p. 606-631, 2009.

VANDENBOSCH, D.; BRAECKMANS, K.; NELIS, H. J.; COENYE, T. Fungicidal activity of miconazole against *Candida* spp. biofilms. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 4, p. 694-700, 2010.

VELAZQUEZ, C.; NAVARRO, M.; ACOSTA, A.; ANGULO, A.; DOMINGUEZ, Z.; ROBLES, R.; ROBLES-ZEPEDA, R.; LUGO, E.; GOYCOOLEA, F. M.; VELAZQUEZ, E. F.; ASTIAZARAN, H.; HERNANDEZ, J. Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. **Journal of Applied Microbiology**, v. 103, n. 5, p. 1747–1756, 2007.

VIDAL, J. E.; CANIZÁLEZ-ROMÁN, A.; GUTIÉRREZ-JIMÉNEZ, J.; NAVARRO-GARCÍA, F. Molecular pathogenesis, epidemiology and diagnosis of enteropathogenic *Escherichia coli*. **Salud Pública de México**, v. 49, n. 5, p. 376-386, 2007.

VIEGAS JÚNIOR, C.; BOLZANI, V. S.; BARREIRO, E. J. The natural products and the modern medicinal. **Química Nova**, v. 9, n. 2, p. 326-337, 2006.

VOLLHARDT, K. P. C.; SCHORE, N. E. **Organic Chemistry: Structure and Function**. 6th ed. New York: W. H. Freeman, 2010. 1203p.

WANNMACHER, L. Uso indiscriminado de antibióticos e resistência microbiana: uma guerra perdida?. **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**, v. 1, n. 4, 2004.

XIA, C. N.; LI, H. B.; LIU, F.; HU, W. X. Synthesis of trans-caffeate analogues and their bioactivities against HIV-1 integrase and cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 18, n. 24, p. 6553–6557, 2008.

XIAO, P.; ZHANG, S.; MA, H.; ZHANG, A.; LV, X.; ZHENG, L. Stereoselective synthesis of caffeic acid amides via enzyme-catalyzed asymmetric aminolysis reaction. **Journal of Biotechnology**, v. 168, n. 4, p. 552-559, 2013.

YANG, H.; DONG, Y.; DU, H.; SHI, H.; PENG, Y.; LI, X. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. **Molecules**, v. 16, n. 4, p. 3444–3455, 2011.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

ZHANG, J.; XU, L. X.; XU, X. S.; LI, B. W.; WANG, R.; FU, J. J. Synthesis and effects of new caffeic acid derivatives on nitric oxide production in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 7, n. 4, p. 1022-1027, 2014.