

Ana Luiza Moreira Silva

**Síntese e avaliação antibacteriana de análogos simplificados da 4-  
hidroxiderricina**

São José do Rio Preto  
2022

Ana Luiza Moreira Silva

**Síntese e avaliação antibacteriana de análogos simplificados da 4-hidroxiclorotricina**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química Ambiental do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq – Proc. 139513/2021-3

Orientador: Prof. Dr. Luis Octávio Regasini  
Coorientadora: Ms. Letícia Ribeiro de Assis

São José do Rio Preto

2022

S586s Silva, Ana Luiza Moreira  
Síntese e avaliação antibacteriana de análogos simplificados da  
4-hidroxiclindamicina / Ana Luiza Moreira Silva. -- São José do Rio  
Preto, 2022  
65 p. : il., tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Química) -  
Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências  
Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto  
Orientador: Luis Octávio Regasini  
Coorientadora: Leticia Ribeiro de Assis

1. Química. 2. Síntese. 3. Chalconas. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de  
Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Ana Luiza Moreira Silva

**Síntese e avaliação antibacteriana de análogos simplificados da 4-hidroxiclorotetraciclina**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química Ambiental do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CNPq – Proc. 139513/2021-3

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luis Octávio Regasini  
UNESP – Campus de São José do Rio Preto  
Orientador

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Aparecida de Oliveira Tiera  
UNESP – Campus de São José do Rio Preto

Dr. Gustavo Metzker  
UNESP – Campus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto  
01 de fevereiro de 2022

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, aos meus pais, pelo empenho e esforço que dedicaram durante todos esses anos para que eu pudesse chegar até aqui. Esses dois sempre acreditaram em mim e me deram força em forma de amor toda vez que as coisas pareciam difíceis demais para serem suportadas.

À minha irmã, Mariana, pelo companheirismo, amizade e conselhos.

À toda a minha família pelo apoio e carinho.

Ao meu orientador, Luis Octávio Regasini, por ter aberto as portas do seu laboratório para mim em 2019, quando eu ainda nem tinha cursado as disciplinas de Química Orgânica, e por ter contribuído tanto para a minha formação, permitindo que este trabalho pudesse ser elaborado e desenvolvido.

Ao meu coorientador, Reinaldo dos Santos Theodoro, que foi paciente para ensinar todos os procedimentos empregados na rotina do laboratório e sempre esteve presente para tirar dúvidas, discutir resultados, sofrer pelos perrengues – que não foram poucos – e comemorar as pequenas vitórias.

À minha coorientadora oficial, Letícia Ribeiro de Assis, que, com toda sua experiência, foi fundamental para desvendar grandes mistérios que vinham no formato de placas de CCD. Além disso, pela imensa contribuição para o desenvolvimento deste trabalho, e pela disposição, inúmeras vezes, de parar o que estava fazendo para tirar alguma dúvida e me dar sugestões de como proceder.

Aos professores que tive a oportunidade de conhecer durante essa jornada, por me fazerem enxergar a Química de diversas formas que eu tinha sequer imaginado conseguir, e por terem contribuído com o conhecimento adquirido durante os anos de graduação.

Às minhas amigas Andreza, Débora, Maria Eduarda, Nathália e Patrícia, por todo o suporte, risadas, choros, estudos, trabalhos, desabafos... Enfim, por deixarem esta etapa muito mais leve e por todos os momentos que tive o privilégio de estar com vocês.

A todas as pessoas que estiveram presentes de alguma forma, me ajudando e me fazendo crescer, em especial à Andressa.

Ao Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas por me permitir fazer do campus uma segunda casa.

Aos colegas de laboratório e integrantes da família do LAQ.

Ao Laboratório de Ensaio Antimicrobianos pela realização dos ensaios biológicos.

Ao Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular pela realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de pesquisa, sob o processo nº 139513/2021-3, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

## RESUMO

A descoberta de novos agentes antibacterianos se faz necessária devido ao elevado índice de mortalidade em decorrência de doenças bacterianas e ao aumento da incidência de microrganismos resistentes. O presente trabalho teve como objetivo a síntese, caracterização e avaliação da atividade antibacteriana de análogos simplificados da 4-hidroxiclindamicina (4-HD) contra espécies gram-positivas e gram-negativas, sendo determinados os valores de concentração inibitória mínima (CIM). Os compostos da série I foram sintetizados por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt sob catálise básica com rendimentos que variaram de 58 a 90%. Os 7 compostos dessa série foram testados, sendo 4 deles provenientes da quimioteca do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ). A estratégia sintética para a obtenção dos compostos da série II incluiu reações de iodação, condensações aldólicas e acoplamento de Suzuki-Miyaura, sendo que os dois análogos obtidos tiveram rendimento entre 10% e 70%. Os compostos foram caracterizados pela técnica de espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ . Os resultados biológicos indicaram perda de atividade com a retirada da prenila (série I) e com a substituição da 4-OH pela 4-OCH<sub>3</sub> (série II), reafirmando a importância desses grupos na atividade antibacteriana. O ANA 9 se destacou por apresentar valores de CIM próximos aos valores determinados para a 4-HD, sendo duas vezes mais potente contra *S. aureus* e *E. faecalis*. Os análogos foram submetidos a ensaios antimicobacterianos e, em linhas gerais, os compostos da série I foram ativos, com ênfase no ANA 4\* que foi tão potente quanto a 4-HD contra *Mycobacterium tuberculosis*, representando uma alternativa sinteticamente mais simples. Os compostos da série II não foram ativos, sugerindo que a metoxila originalmente presente na estrutura do protótipo seja relevante para a atividade.

**Palavras-chave:** Chalcona. Síntese. Atividade antibacteriana.

## ABSTRACT

The discovery of new antibacterial agents is necessary due to the high mortality rate caused by bacterial diseases and the incidence increase of resistant microorganisms. The aim of the present work was the synthesis, characterization and evaluation of the antibacterial activity of simplified 4-hydroxyderricin (4-HD) compounds against gram-positive and gram-negative species by the minimal inhibitory concentration (MIC). The series I compounds were synthesized through the Claisen-Schmidt aldol condensation reaction under basic catalysis with yields ranging from 58 to 90%. The 7 compounds of this series were tested, among which 4 of them came from the LAQ Chemical library. The synthetic strategy to obtain series II compounds included iodination reactions, aldol condensations and Suzuki-Miyaura coupling, with the two analogues obtained having yields between 10 and 70%. Structural confirmation was given by  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. The biological results indicated loss of activity with the removal of prenyl in series I and also with the replacement of 4-OH by 4-OCH<sub>3</sub> in series II, reaffirming the importance of these groups in antibacterial activity. ANA 9 was the highlight compound for presenting MIC values close to the ones determined for 4HD, being two times more potent against *S. aureus* e *E. faecalis*. These compounds were also submitted to antimycobacterial assays and, in general, the series I compounds were active, with emphasis on the ANA 4\*, which was as potent as 4-HD against *Mycobacterium tuberculosis*, representing a synthetically simpler alternative. The series II compounds were not active, suggesting that the methoxyl group originally present in the prototype structure is relevant to the activity.

**Keywords:** Chalcone. Synthesis. Antibacterial activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 – Parede Celular de Bactérias Gram-positivas                                                       | 15 |
| Figura 2 – Parede Celular de Bactérias Gram-negativas                                                       | 15 |
| Figura 3 – Estrutura Geral do Núcleo Chalcônico                                                             | 19 |
| Figura 4 – Estrutura da 4-hidroxiderricina                                                                  | 20 |
| Figura 5 – Placa de CCD Revelada Sob Lâmpada de Ultravioleta Usando Fase Móvel 9:1 Hexano/Acetato           | 41 |
| Figura 6 – Placa de CCD Revelada Pela Solução de Anisaldeído Sulfúrico Usando Fase Móvel 8:2 Hexano/Acetato | 41 |
| Figura 7 – Purificação Por Coluna Cromatográfica de Gel de Sílica Com Fase Móvel 8:2 Hexano/Acetato         | 42 |
| Figura 8 – Purificação Por Coluna Cromatográfica Sephadex HL-20 Usando Etanol Como Fase Móvel               | 43 |
| Figura 9 – ANA 1 (série I).                                                                                 | 45 |
| Figura 10 - Atribuições dos Sinais do Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do Composto ANA 1                     | 45 |
| Figura 11 - Atribuições dos Sinais do Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ do Composto ANA 1                  | 46 |
| Figura 12 – ANA 2 (série I).                                                                                | 46 |
| Figura 13 – ANA 3 (série I).                                                                                | 47 |
| Figura 14 – ANA 4* (série I).                                                                               | 47 |
| Figura 15 – ANA 5* (série I).                                                                               | 48 |
| Figura 16 – ANA 6* (série I).                                                                               | 48 |
| Figura 17 – ANA 7* (série I).                                                                               | 49 |
| Figura 18 – ANA 8 (série II).                                                                               | 50 |
| Figura 19 – ANA 9 (série II).                                                                               | 50 |

## LISTA DE ESQUEMAS

|                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Esquema 1 – Planejamento das Duas Séries de Análogos Chalcônicos Simplificados da 4-HD                                                                                                              | 23 |
| Esquema 2 – Planejamento dos Análogos da Série I (ANA 1–ANA 3). Os Demais Compostos (ANA 4* - ANA 7*) São Provenientes da Quimioteca do LAQ e Foram Sintetizados Pela Ms. Leticia Ribeiro de Assis. | 24 |
| Esquema 3 – Planejamento dos Análogos da Série II (ANA 8 – ANA 12)                                                                                                                                  | 25 |
| Esquema 4 – Rota Sintética Para Obtenção dos Compostos da Série I                                                                                                                                   | 25 |
| Esquema 5 – Reação de Proteção do 4-hidroxibenzaldeído                                                                                                                                              | 26 |
| Esquema 6 – Proposta de Mecanismo da Reação de Proteção                                                                                                                                             | 26 |
| Esquema 7 – Reação de Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt Para Obtenção dos Compostos ANA 1 – ANA 3                                                                                             | 27 |
| Esquema 8 – Mecanismo de Reação da Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt Sob Catálise Básica                                                                                                      | 27 |
| Esquema 9 – Reação de Desproteção dos Compostos ANA 1 – ANA 3                                                                                                                                       | 29 |
| Esquema 10 – Proposta de Mecanismo da Reação de Desproteção Para Remoção do Grupo MOM dos Intermediários de Síntese e Formação dos Compostos ANA 1 – ANA 3.                                         | 29 |
| Esquema 11 – Rota Sintética Para Obtenção dos Compostos da Série II                                                                                                                                 | 31 |
| Esquema 12 – Reação de Iodação da 2'-hidroxiacetofenona                                                                                                                                             | 31 |
| Esquema 13 – Reação de Proteção da 2'-hidroxi-3'-iodo-acetofenona                                                                                                                                   | 32 |
| Esquema 14 – Reação de Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt sob Catálise Básica                                                                                                                  | 32 |
| Esquema 15 – Reação de Acoplamento de Suzuki-Miyaura                                                                                                                                                | 33 |
| Esquema 16 – Mecanismo de Reação do Acoplamento de Suzuki-Miyaura (THEODORO, 2020)                                                                                                                  | 33 |
| Esquema 17 – Reação de Desproteção                                                                                                                                                                  | 35 |
| Esquema 18 – Metodologia Geral Para a Obtenção dos Compostos                                                                                                                                        | 44 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 – Rendimentos Globais da Síntese das Chalconas da Série I (ANA 1 – ANA 7*)                  | 30 |
| Tabela 2 – Rendimentos Globais da Síntese dos Compostos da Série II (ANA 8 – ANA 9)                  | 35 |
| Tabela 3 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série I contra cepas bacterianas gram-negativas  | 36 |
| Tabela 4 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série I contra cepas bacterianas gram-positivas  | 36 |
| Tabela 5 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série II contra cepas bacterianas gram-negativas | 37 |
| Tabela 6 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série II contra cepas bacterianas gram-positivas | 37 |
| Tabela 7 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série I contra cepas de micobactérias            | 38 |
| Tabela 8 – CIM em $\mu\text{g/mL}$ das chalconas da série II contra cepas de micobactérias           | 39 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

|               |                                               |
|---------------|-----------------------------------------------|
| <b>d</b>      | Duplete                                       |
| <b>Dd</b>     | Duplo duplete                                 |
| <b>Ddd</b>    | Duplo duplo duplete                           |
| <b>DNA</b>    | Ácido Desoxirribonucleico                     |
| <b>DTA</b>    | Doenças Transmitidas por Alimentos            |
| <b>HIV</b>    | Vírus da Imunodeficiência Humana              |
| <b>IRAs</b>   | Infecções Respiratórias Agudas                |
| <b>IST</b>    | Infecções Sexualmente Transmissíveis          |
| <b>IVRI</b>   | Infecções das Vias Respiratórias Inferiores   |
| <b>IVRS</b>   | Infecções das Vias Respiratórias Superiores   |
| <b>J</b>      | Constante de acoplamento                      |
| <b>M</b>      | Multiplete                                    |
| <b>MDR-TB</b> | Tuberculose Multifármaco Resistente           |
| <b>CIM</b>    | Concentração Inibitória Mínima                |
| <b>MRSA</b>   | Staphylococcus Aureus Resistente à Meticilina |
| <b>OMS</b>    | Organização Mundial da Saúde                  |
| <b>pH</b>     | Potencial Hidrogeniônico                      |
| <b>Q</b>      | Quadruplete                                   |
| <b>RMN</b>    | Ressonância Magnética Nuclear                 |
| <b>S</b>      | Singleto                                      |
| <b>Sl</b>     | Singleto largo                                |
| <b>T</b>      | Triplete                                      |
| <b>Ta</b>     | Temperatura ambiente                          |
| <b>XDR-TB</b> | Tuberculose Extensivamente-Fármaco Resistente |
| $\Delta$      | Deslocamento químico                          |
| $\delta_H$    | Deslocamento químico de $^1H$                 |
| $\delta_C$    | Deslocamento químico de $^{13}C$              |

## SUMÁRIO

|            |                                                                                                                    |           |
|------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>INTRODUÇÃO</b>                                                                                                  | <b>14</b> |
| <b>1.1</b> | <b>Bactérias</b>                                                                                                   | <b>14</b> |
| 1.1.1      | Doenças bacterianas                                                                                                | 16        |
| <b>1.2</b> | <b>Fármacos antibacterianos</b>                                                                                    | <b>18</b> |
| <b>1.3</b> | <b>Chalconas e 4-hidroxicloroquina</b>                                                                             | <b>19</b> |
| 1.3.1      | A 4-hidroxicloroquina                                                                                              | 19        |
| 1.3.2      | Simplificação molecular                                                                                            | 20        |
| <b>2</b>   | <b>OBJETIVOS</b>                                                                                                   | <b>22</b> |
| <b>2.1</b> | <b>Objetivos gerais</b>                                                                                            | <b>22</b> |
| <b>2.2</b> | <b>Objetivos específicos</b>                                                                                       | <b>22</b> |
| <b>3</b>   | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>                                                                                      | <b>23</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Planejamento dos análogos chalconicos</b>                                                                       | <b>23</b> |
| 3.1.1      | Série I: simplificação molecular da 4-HD                                                                           | 24        |
| 3.1.2      | Série II: modificações no anel B de 4-HD não metoxilada (ANA 8 – ANA 12)                                           | 24        |
| <b>3.2</b> | <b>Síntese das chalconas</b>                                                                                       | <b>25</b> |
| 3.2.1      | Série I                                                                                                            | 25        |
| 3.2.1.1    | Rendimentos globais                                                                                                | 30        |
| 3.2.2      | Série II                                                                                                           | 30        |
| 3.2.2.2    | Rendimentos globais                                                                                                | 35        |
| <b>3.3</b> | <b>Avaliação da atividade biológica</b>                                                                            | <b>35</b> |
| <b>4</b>   | <b>MATERIAIS E MÉTODOS</b>                                                                                         | <b>41</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Reagentes e solventes</b>                                                                                       | <b>41</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Métodos cromatográficos</b>                                                                                     | <b>41</b> |
| 4.2.1      | Cromatografia em camada delgada (CCD)                                                                              | 41        |
| 4.2.2      | Cromatografia em coluna de fase normal                                                                             | 42        |
| 4.2.3      | Cromatografia por exclusão de tamanho                                                                              | 42        |
| <b>4.3</b> | <b>Ressonância magnética nuclear</b>                                                                               | <b>43</b> |
| <b>4.4</b> | <b>Preparação das chalconas</b>                                                                                    | <b>43</b> |
| 4.4.1      | Caracterização das Chalconas por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$ | 45        |

|            |                                                                                           |           |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4.5</b> | <b>Avaliação da atividade antibacteriana</b>                                              | <b>51</b> |
| 4.5.1      | Ensaio de Susceptibilidade Bacteriana                                                     | 51        |
| 4.5.1.1    | Concentração Inibitória Mínima (CIM)                                                      | 51        |
| <b>5</b>   | <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>                                                               | <b>52</b> |
|            | <b>REFERÊNCIAS</b>                                                                        | <b>53</b> |
|            | <b>ANEXO A – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 1 (Acetona-d<sub>6</sub>; 600 MHz)</b>  | <b>57</b> |
|            | <b>ANEXO B – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 1 (Acetona-d<sub>6</sub>; 150 MHz)</b> | <b>57</b> |
|            | <b>ANEXO C – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 2 (Acetona-d<sub>6</sub>; 600 MHz)</b>  | <b>58</b> |
|            | <b>ANEXO D – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 2 (Acetona-d<sub>6</sub>; 150 MHz)</b> | <b>58</b> |
|            | <b>ANEXO E – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 3 (Acetona-d<sub>6</sub>; 600 MHz)</b>  | <b>59</b> |
|            | <b>ANEXO F – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 3 (Acetona-d<sub>6</sub>; 150 MHz)</b> | <b>59</b> |
|            | <b>ANEXO G – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 4* (DMSO-d<sub>6</sub>; 600 MHz)</b>    | <b>60</b> |
|            | <b>ANEXO H – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 4* (DMSO-d<sub>6</sub>; 150 MHz)</b>   | <b>60</b> |
|            | <b>ANEXO I – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 5* (CDCl<sub>3</sub>; 600 MHz)</b>      | <b>61</b> |
|            | <b>ANEXO J – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 5* (CDCl<sub>3</sub>; 150 MHz)</b>     | <b>61</b> |
|            | <b>ANEXO K – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 6* (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz)</b>      | <b>62</b> |
|            | <b>ANEXO L – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 6* (CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz)</b>     | <b>62</b> |
|            | <b>ANEXO M – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 7* (CDCl<sub>3</sub>; 400 MHz)</b>      | <b>63</b> |
|            | <b>ANEXO N – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 7* (CDCl<sub>3</sub>; 100 MHz)</b>     | <b>63</b> |
|            | <b>ANEXO O – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 8 (CDCl<sub>3</sub>, 600 MHz)</b>       | <b>64</b> |
|            | <b>ANEXO P – Espectro de RMN de <sup>1</sup>H ANA 9 (Acetona-d<sub>6</sub>, 600 MHz)</b>  | <b>64</b> |
|            | <b>ANEXO Q – Espectro de RMN de <sup>13</sup>C ANA 9 (Acetona-d<sub>6</sub>, 150 MHz)</b> | <b>65</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Bactérias

As bactérias são seres procariotos, unicelulares e estruturalmente bastante simples, com DNA disperso aproximadamente na região central, sem qualquer separação do conteúdo citoplasmático. Além de se apresentarem como estruturas microscópicas, o tamanho das células bacterianas varia de acordo com a espécie; as bactérias de interesse médico, por exemplo, normalmente têm entre 0,5 a 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro ou largura. Morfologicamente, as bactérias podem ser classificadas em três formas básicas: cocos, bacilos e espirilos (MADIGAN et al., 2016).

Há uma diversidade de estruturas que funcionam simultaneamente em uma célula bacteriana, e a parede celular e a membrana citoplasmática são comuns a todas. A parede celular é rígida e, além de conferir forma à bactéria, também serve como barreira, provando-se essencial para seu crescimento e divisão. A membrana citoplasmática, por sua vez, está localizada abaixo da parede celular, possibilitando a atividade enzimática e o transporte de moléculas para dentro e fora da célula (TRABULSI; ALTERTHUM, 2008).

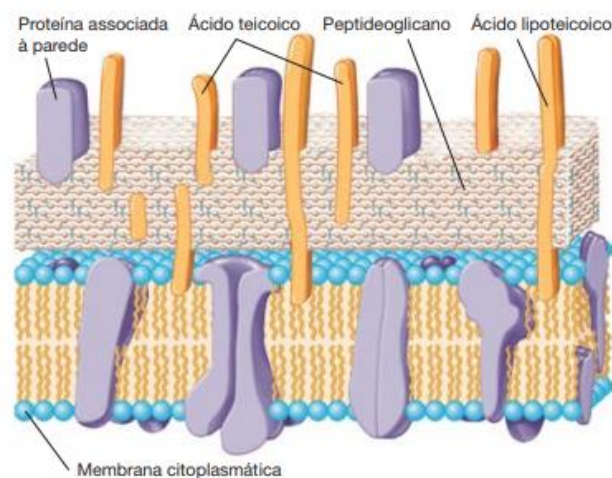
No que diz respeito às estruturas externas à parede celular, as bactérias apresentam glicocálice, flagelos, cílios, filamentos axiais, fímbrias e pili, enquanto a área nuclear é composta por uma única molécula circular de DNA de dupla fita, denominada cromossomo bacteriano. Além disso, por funcionarem como locais de síntese proteica, os ribossomos são estruturas importantes para o funcionamento celular. Os endósporos, por sua vez, formados como mecanismo de defesa, são células desidratadas altamente duráveis que possuem paredes espessas e camadas adicionais; na forma de esporos, as bactérias podem resistir a condições desfavoráveis. É possível encontrar, ainda, moléculas de DNA circular extracromossomial, os plasmídeos, que têm capacidade de se replicar de maneira independente e, normalmente, estão associados com alguma função adaptativa, como resistência a antibióticos e tolerância a metais tóxicos (REIS; SANTOS, 2016).

Quando os organismos se encontram em meio adequado e condições apropriadas para o crescimento, a reprodução é propiciada, promovendo um aumento abundante do número de células em um período de tempo relativamente curto. O processo ocorre principalmente de forma assexuada por fissão binária, em que uma célula-mãe se divide em duas células-filhas idênticas; entretanto, anteriormente à divisão celular, os conteúdos celulares se duplicam e são replicados. Apesar de a fissão binária ser a forma mais comum, certos procariotos se

reproduzem através de outros modelos de divisão celular, como brotamento, fragmentação e formação de esporos (REIS; SANTOS, 2016).

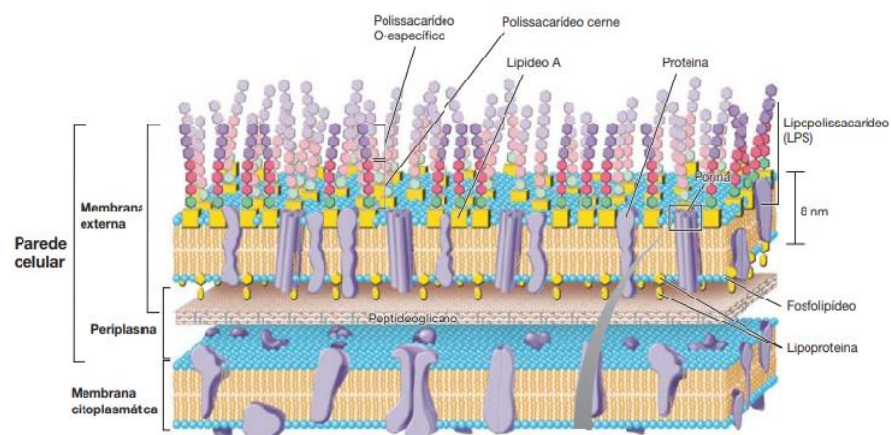
Em relação à espécie, as bactérias se dividem em dois grupos principais, denominados gram-positivos e gram-negativos, que são identificados e diferenciados através da reação de coloração de Gram, que tem como princípio a determinação de distinções na estrutura da parede celular (MADIGAN et al., 2016). De acordo com Trabulsi e Alterthum (2008), as bactérias gram-positivas são formadas por uma espessa parede celular de peptidoglicano, apresentando proteínas associadas com funções específicas e ácidos teicóicos (Figura 1), enquanto as bactérias gram-negativas possuem, além de uma camada mais fina de peptidoglicano, uma membrana externa lipopolissacarídica (Figura 2).

Figura 1 – Parede celular de bactérias gram-positivas.



Fonte: MADIGAN et al., 2016.

Figura 2 – Parede celular de bactérias gram-negativas.



Fonte: MADIGAN et al., 2016.

De acordo com Martins et al. (1997), o conceito mais aceito para validar o funcionamento da coloração de Gram é a existência de diferentes graus de permeabilidade na parede dos microrganismos gram-positivos e gram-negativos. As estruturas celulares são cobertas pelo corante roxo e pela adição de mordente, substância que intensifica a cor por aumentar a afinidade do corante com o microrganismo, induzindo a formação do complexo iodo-pararosanilina, que é retirado nas bactérias gram-negativas pelo tratamento com álcool etílico. A parede celular das bactérias gram-positivas, por sua vez, é desidratada através da aplicação do álcool, o que resulta na redução da porosidade e da permeabilidade e, consequentemente, impossibilita a extração do complexo. Na última etapa, realiza-se a coloração com safranina e, como resultado, as células gram-positivas são coradas em roxo e as gram-negativas, em rosa.

#### 1.1.1 Doenças bacterianas

Apesar de a ocorrência de bactérias na microbiota humana ser natural e benéfica, a multiplicação de bactérias patogênicas é capaz de causar doenças que podem ser transmitidas, por exemplo, através da ingestão de água e alimentos contaminados, da inalação de gotículas suspensas no ar, de ferimentos na pele e de contato sexual. Dessa forma, são as bactérias patogênicas que causam a maioria dos surtos e casos de doenças transmitidas por alimentos, não só em número como também em frequência. Em função de sua estrutura muito simples, esses organismos se replicam rapidamente em condições adequadas de nutrientes, temperatura, pH, umidade e concentração de oxigênio (ALVES, 2012).

As doenças transmitidas por alimentos (doravante DTA) representam, ainda nos dias atuais, um dos maiores problemas de saúde pública, e podem se manifestar como infecções, intoxicações ou toxinfecções alimentares. As infecções são provenientes da ingestão de alimentos que contêm microrganismos patogênicos vivos, enquanto as intoxicações ocorrem pela presença de toxinas das bactérias ou fungos no alimento ingerido. Por fim, as toxinfecções alimentares são resultado da ingestão de alimentos com determinada quantidade de microrganismos causadores de doenças que, depois de ingeridos, são capazes de produzir ou liberar toxinas (MALACRIDA; DIAS; LIMA, 2017).

É possível dividir as bactérias causadoras das DTA em três grupos distintos, tomando como base a manifestação clínica. Sendo assim, dentre as mais relevantes, destaca-se: (i) *Salmonella*, *Campylobacter* e *Escherichia coli* como infecciosas; (ii) *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Clostridium botulinum* no grupo das intoxicantes, e; (iii) os clássicos

exemplos de toxigênicas, *E. coli* enterotoxigênica, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Clostridium perfringens* e *Bacillus cereus*. Nos últimos 17 anos, os principais agentes envolvidos em surtos de DTA no Brasil foram *Salmonella* spp., *E. coli* e *Staphylococcus aureus* (MELO et al., 2018).

Da mesma forma que as doenças causadas pela ingestão de alimentos contaminados, o contato sexual pode, eventualmente, levar à ocorrência de infecções sexualmente transmissíveis (IST) causadas por bactérias, tais como sífilis, gonorreia e clamídia. Além de gerarem significativo impacto na saúde, algumas IST aumentam o risco de se contrair HIV, e podem ser transmitidas da mãe para o filho durante a gestação, o parto ou a amamentação (BELDA JUNIOR; SHIRATSU; PINTO, 2009).

Outra forma de propagação bacteriana é por meio da inalação de gotículas contaminadas, que podem causar doenças respiratórias, definidas pela Organização Mundial da Saúde (2015 apud SILVA FILHO et al., 2017, p. 7) como “as doenças ou infecções que ocorrem no trato respiratório, tanto superior como inferior, nas quais há a obstrução da passagem do ar, tanto a nível nasal quanto a nível bronquiolar e pulmonar”. Dessa forma, a gravidade dessas doenças varia desde infecções agudas, tais como a pneumonia, até outras mais graves, como a tuberculose. Embora a frequência das infecções das vias respiratórias superiores seja maior, o risco de vida diante do acometimento é menor; por outro lado, as infecções das vias respiratórias inferiores, uma vez que são responsáveis por doenças mais graves, contribuem expressivamente para a mortalidade por infecções respiratórias agudas (SILVA FILHO et al., 2017).

A tuberculose, por exemplo, doença bacteriana transmitida por gotículas respiratórias no ar, ocupa a 13ª posição no ranking de causas de morte em todo o mundo, provando-se um grave problema de saúde. O relatório mais recente da World Health Organization (2021) aponta que, em 2020, aproximadamente 10 milhões de pessoas desenvolveram a doença, resultando em cerca de 1,3 milhão de óbitos entre pessoas não portadoras de HIV, além de 214 mil entre pessoas portadoras do vírus (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021).

Sabe-se que a tuberculose é causada por um dos diversos patógenos de importância humana, o *Mycobacterium tuberculosis*, compreendido pelo gênero *Mycobacterium*. Em decorrência da presença de ácidos micólicos na superfície da célula, as espécies desse grupo apresentam uma propriedade denominada acidorresistência, que representa um obstáculo para o desenvolvimento de fármacos. Por isso, as micobactérias não se coram adequadamente pela técnica de Gram, mostrando-se necessária a utilização do método de Ziehl-Neelsen (MADIGAN et al., 2016).

De acordo com Groisman et al. (1997 apud OLIVEIRA, 2013, p. 3), “a parede celular deste microrganismo assemelha-se a uma parede celular gram-positiva modificada, contendo a típica camada polipeptídica, a camada de peptidoglicano e lipídios livres; o alto teor lipídico destas bactérias faz delas ácido-álcool resistentes”.

## 1.2 Fármacos antibacterianos

A atividade terapêutica de substâncias para combater microrganismos causadores de doenças infecciosas é estudada por pesquisadores desde meados do século XX. A partir da contaminação das culturas de *Staphylococcus aureus* pelo fungo *Penicillium chrysogenum*, Alexandre Fleming marcou um momento importante na criação de antimicrobianos com a descoberta da penicilina, que passou a ser utilizada no tratamento de infecções bacterianas severas (TAVAREZ, 2014).

Os antibióticos são substâncias de origem natural, semissintética ou sintética, capazes de combater bactérias. Ao inibirem o metabolismo, são classificados como bacteriostáticos; no entanto, ao agirem com efeito letal, denominam-se bactericidas (FISCHBACH; WALSH, 2009; HANCOCK, 2005). Além disso, possuem diversos mecanismos de ação, dentre os quais pode-se destacar inibição da biossíntese da parede celular, inibição da biossíntese proteica, alteração da permeabilidade da membrana plasmática e bloqueio direto ou indireto da biossíntese de ácidos nucleicos (GARCIA, 2017; HANCOCK, 2005).

De acordo com Santos (2004), as bactérias têm um curto tempo de geração – minutos ou horas – e, por isso, são capazes de responder rapidamente a mudanças do ambiente. Dessa forma, quando entram em contato com os antibióticos introduzidos no organismo, as bactérias produzem uma resposta que as torna resistentes àquelas drogas, o que limita as alternativas de tratamento para os pacientes. Ainda segundo a autora, a resistência aos antibióticos, que é inevitável e irreversível, desenvolve-se como uma consequência natural “da habilidade da população bacteriana de se adaptar” (SANTOS, 2004, p. 65), e é justamente a utilização de antibióticos sem moderação que acaba por aumentar a pressão seletiva, colaborando com a aquisição de mecanismos de resistência pelas bactérias.

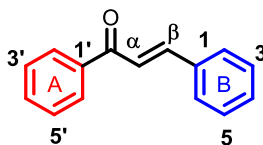
O surgimento de três classes de bactérias resistentes tem causado preocupação e se mostrado uma ameaça à saúde pública. A primeira refere-se ao *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), uma bactéria gram-positiva tratada com vancomicina em casos mais graves; em contrapartida, o predomínio de bactérias MRSA aumenta a probabilidade de surgimento de bactérias *S. aureus* resistentes à vancomicina. A segunda classe compreende as

bactérias gram-negativas *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, resistentes à maioria dos antibióticos. A terceira classe inclui cepas de *Mycobacterium tuberculosis* multifármaco resistentes (MDR e XDR), que são responsáveis por um significativo número de óbitos no mundo e possuem tratamento lento que, muitas vezes, acaba sendo ineficaz (FISCHBACH; WALSH, 2009; VENTOLA, 2015).

### 1.3 Chalconas e 4-hidroxiderricina

As chalconas são classificadas como flavonoides de cadeia aberta e têm sido amplamente isoladas de plantas. Quimicamente, sua estrutura consiste em dois anéis aromáticos (A e B) separados por uma ponte trans-enônica  $\alpha,\beta$ -insaturada, conforme pode ser observado na Figura 3 (DEWICK, 2009; MACAEV et al., 2014; SINGH; ANAND; KUMAR, 2014).

Figura 3 – Estrutura geral do núcleo chalcônico.



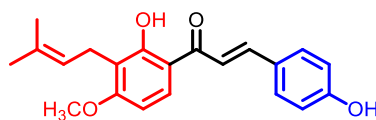
Fonte: Autoria própria.

As chalconas despertam interesse químico-medicinal não apenas do ponto de vista sintético, mas também devido ao amplo espectro de atividades biológicas, já que suas aplicações terapêuticas remontam milhares de anos através do uso de ervas e plantas no tratamento de doenças médicas (ZHUANG et al., 2017).

#### 1.3.1 A 4-hidroxiderricina

A 4-hidroxiderricina (Figura 4), doravante 4-HD, é uma chalcona isoprenilada na posição 3', dihidroxilada nas posições 2' e 4', e monometoxilada na posição 4'. É de origem natural e foi isolada do *Lonchocarpus neuroscapha* e da *Angelica keiskei* (SUGAMOTO et al., 2008), além da própolis produzida pelas abelhas da Ilha de Jeju, na Coreia do Sul (SHIMOMURA et al., 2013).

Figura 4 – Estrutura da 4-hidroxderricina.



Fonte: Autoria própria.

De acordo com Theodoro (2020), na literatura há diversas ocorrências que descrevem a bioatividade desse composto, que inclui, além de ação antibacteriana, ação antidiabética, anti-inflamatória, antiviral, anti-hipertensiva, antidepressiva e antitumoral. Inamori et al. (1991) publicaram um dos primeiros estudos envolvendo a atividade biológica da 4-HD, em que se investigou os efeitos dessa chalcona contra espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas. Apesar de ter apresentado menor atividade do que os fármacos de referência, a 4-HD foi ativa contra bactérias gram-positivas.

Sugamoto et al. (2011) sintetizaram uma série de chalconas preniladas e geraniladas que tiveram a atividade antibacteriana avaliada contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e, dentre elas, a 4-HD apresentou a melhor atividade antibacteriana contra as gram-positivas (*B. subtilis*, *S. epidermidis* e *M. luteus*), com concentração inibitória mínima, doravante CIM, de 2 µg/mL, que foi a mesma concentração do fármaco de referência usado no estudo. Pela comparação dos resultados, não apenas o grupamento hidroxila no anel B se mostrou importante para o aumento da atividade antibacteriana, como também a prenila na posição 3', uma vez que as chalconas que não possuíam esse grupo exibiram atividade muito fraca.

Em outro estudo, Ávila et al. (2008) testaram a atividade antibacteriana de 31 chalconas contra quatro cepas (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus* e *S. aureus*). Apesar de não apresentar atividade contra as cepas de bactérias gram-negativas, a 4-HD foi o composto mais potente contra *B. cereus* e *S. aureus*, com valores de CIM de 3.9 µg/mL e 7.8 µg/mL, respectivamente. Assim como no trabalho anterior, os autores destacam padrões de substituição responsáveis por aumentar a atividade, como a hidroxila na posição 4 do anel B e a prenila do anel A (ÁVILA et al., 2008).

### 1.3.2 Simplificação molecular

Simplificação molecular consiste na modificação da estrutura da substância original, de interesse terapêutico, fármaco, protótipo, sintético ou de origem natural, preservando os pontos

e grupos farmacofóricos e buscando manter ou otimizar as propriedades farmacológicas e reduzir seu padrão de complexidade molecular. (BARREIRO; FRAGA, 2015)

Tendo em vista a potência bioativa da 4-HD, sua simplificação molecular se configura como uma estratégia para estudar a importância biológica antibacteriana desse composto sem as funcionalidades orgânicas presentes no núcleo chalcônico: prenila, hidroxilas e metoxila.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Este trabalho tem como objetivo principal a realização da síntese e purificação de duas séries de análogos simplificados da 4-hidroxiclericina, com posterior avaliação da atividade biológica.

### 2.2 Objetivos específicos

Destaca-se os seguintes objetivos específicos:

- Síntese e purificação de uma série de análogos não-prenilados da 4-HD, com modificações nos anéis A e B (Série I);
- Síntese e purificação de uma série de análogos inéditos não-metoxilados da 4-HD (Série II);
- Confirmação estrutural em espectroscopia por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de Carbono-13 (RMN de  $^{13}\text{C}$ );
- Avaliação da atividade antibacteriana contra espécies gram-positivas e gram-negativas;
- Avaliação da atividade antimicobacteriana.

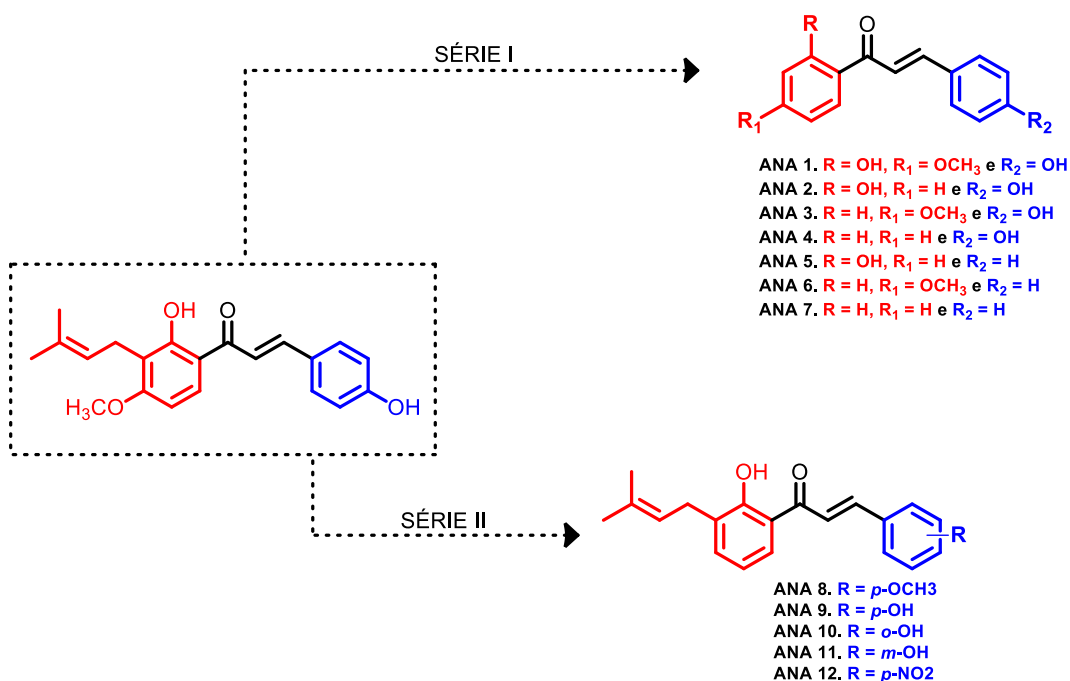
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Planejamento dos análogos chalcônicos

Com o intuito de se estudar como as modificações nos anéis A e B afetam a atividade biológica, planejou-se duas séries de análogos chalcônicos simplificados da 4-HD (Esquema 1). Essas alterações permitem a elucidação de determinados fatores, como padrões de substituição que interferem na atividade, ou seja, o efeito e a relevância dos diferentes substituintes.

Além disso, os análogos propostos podem funcionar como alternativas sinteticamente mais simples, mas igualmente ou mais potentes, por meio da comparação com os resultados da 4-HD.

Esquema 1 – Planejamento das duas séries de análogos chalcônicos simplificados da 4-HD.



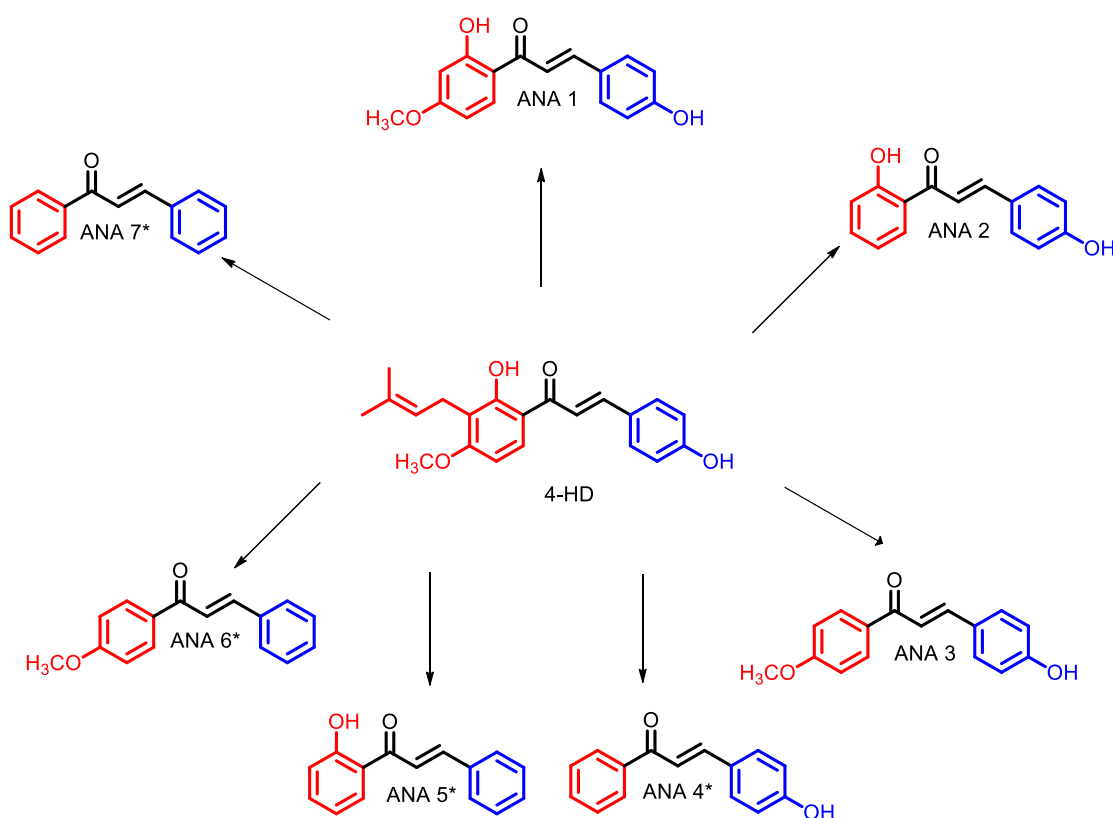
Fonte: Autoria própria.

##### 3.1.1 Série I: simplificação molecular da 4-HD

A série I estuda a importância da prenila e dos grupamentos oxigenados (hidroxila e metoxila) na atividade biológica e consiste no desmembramento da 4-hidroxicinnolona

(Esquema 2) em sete análogos chalcônicos (ANA 1 – ANA 7\*) com modificações no anel A e no anel B, sendo este sujeito a duas possibilidades: não ser substituído ou ser 4-hidroxilado.

Esquema 2 – Planejamento dos análogos da série I (ANA 1–ANA 3). Os demais compostos (ANA 4\* - ANA 7\*) são provenientes da Quimioteca do LAQ e foram sintetizados pela Ms. Leticia Ribeiro de Assis.

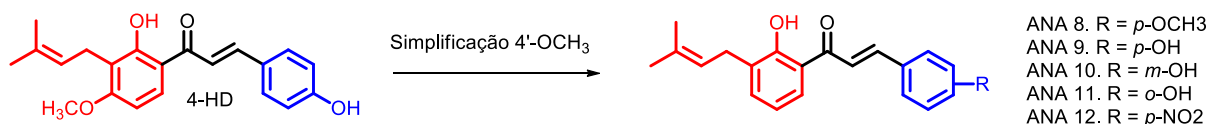


Fonte: Autoria própria.

### 3.1.2 Série II: modificações no anel B da 4-HD não metoxilada (ANA 8 – ANA 12)

A série II consiste em análogos chalcônicos de 4-HD com anel A 2'-hidroxilado e 3'-isoprenilado, sem o substituinte metoxila originalmente presente na posição 4' (Esquema 3). Sendo assim, a série em questão conta com compostos não metoxilados inéditos e modificados no anel B, e seus substituintes foram definidos com base em estudos anteriores realizados no LAQ.

Esquema 3 – Planejamento dos análogos da série II (ANA 8 – ANA 12).



Fonte: Autoria própria.

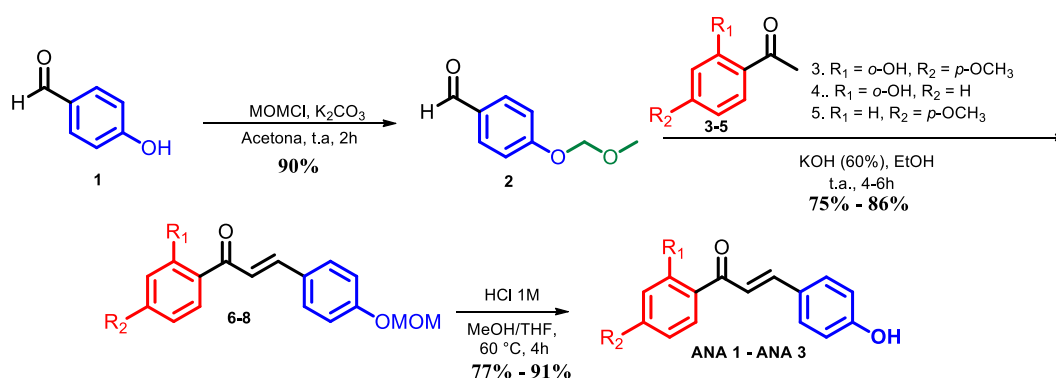
## 3.2 Síntese das chalconas

### 3.2.1 Série I

Nessa série, sintetizou-se somente os compostos ANA 1, ANA 2 e ANA 3, já que os demais (de ANA 4\* a ANA 7\*) haviam sido previamente sintetizados pela Ms. Letícia Ribeiro de Assis e ainda possuíam massa o suficiente para enviar aos ensaios biológicos. Dessa forma, focou-se principalmente na série II, devido à complexidade e ao tempo de trabalho reduzido em decorrência das restrições impostas pela pandemia do coronavírus durante o período de pesquisa.

A rota sintética adotada para a obtenção dos compostos consistiu em reações de proteção, condensação aldólica de Claisen-Schmidt e desproteção (esquema 4).

Esquema 4 – Rota sintética para obtenção dos compostos da série I (ANA 1 – ANA 3)

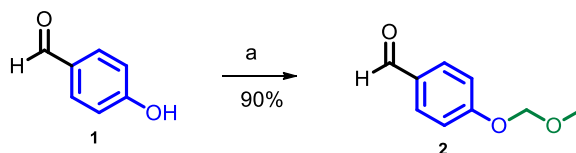


Fonte: Autoria própria.

Como os análogos sintetizados contêm hidroxila na posição 4 do anel B, a primeira etapa da síntese consiste em submeter o 4-hidroxibenzaldeído à reação com clorometil metil éter (MOMCl) e carbonato de potássio, formando um produto protegido com 90% de rendimento e tempo de duração de cerca de 2 horas (Esquema 5). Como a condensação aldólica de Claisen-Schmidt ocorre em meio básico, a hidroxila livre pode ionizar e formar o íon fenolato, que sofre ressonância e, consequentemente, deixa o carbono aldoxila menos

eletrofílico. Portanto, destaca-se a importância da utilização de grupos protetores, não apenas para evitar situações como a descrita acima, mas também para aumentar o rendimento da reação. Neste trabalho, para determinados análogos, submeteu-se a hidroxila da posição 2'-OH à etapa de proteção.

Esquema 5 – Reação de proteção do 4-hidroxibenzaldeído.

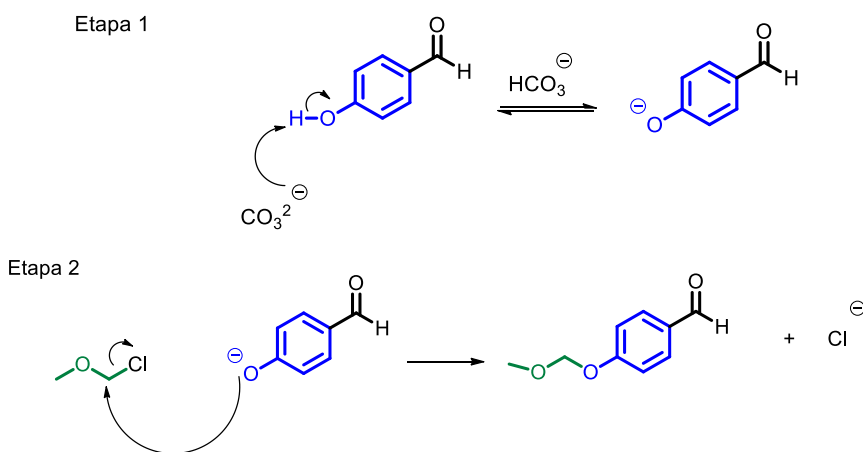


Fonte: Autoria própria.

Dados para 1 mmol de 4-hidroxibenzaldeído (Esquema 5): a -  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,2 mmol), acetona (5 mL), MOMCl (1,2 mmol), t.a.

Na primeira etapa do mecanismo proposto para a reação de proteção (Esquema 6), a 4-OH sofre ionização devido à retirada do próton pelo carbonato, obtendo-se os íons fenolato e bicarbonato; o íon fenolato, então, é estabilizado por efeito mesomérico, exibindo contribuintes de ressonância. Na etapa 2, o íon fenolato reage com o MOMCl por substituição nucleofílica bimolecular ( $\text{S}_{\text{N}}2$ ), em que o fenolato atua como nucleófilo e ataca o carbono oxi-metilênico do grupo protetor, formando o produto protegido e cloreto.

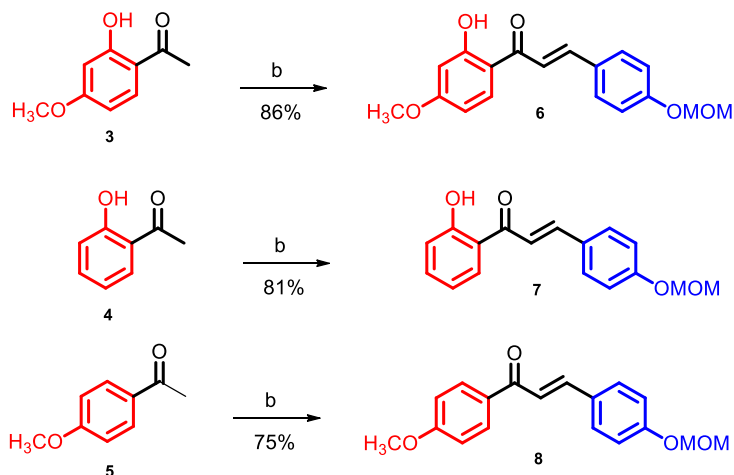
Esquema 6 – Proposta de mecanismo da reação de proteção.



Fonte: Autoria própria.

A segunda etapa, comum a todos os análogos, foi a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt (Esquema 7) sob catálise básica, usando hidróxido de potássio e etanol. Essa etapa teve rendimentos variando de 75% a 86%, com duração de 4 a 6 horas. O mecanismo para a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt (Esquema 8), por sua vez, foi descrito com base nos estudos de Perrin e Chang (2016).

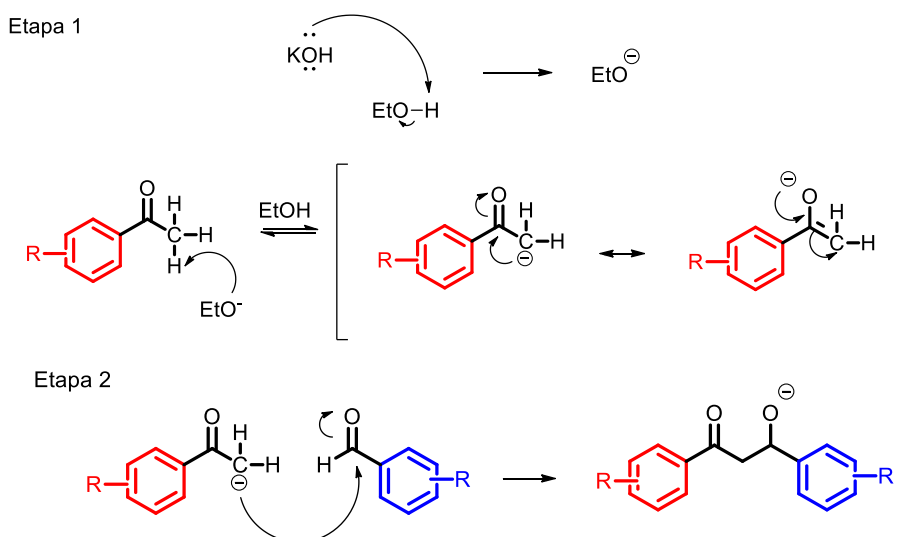
Esquema 7 – Reação de Condensação aldólica de Claisen-Schmidt para obtenção dos compostos ANA 1–ANA 3

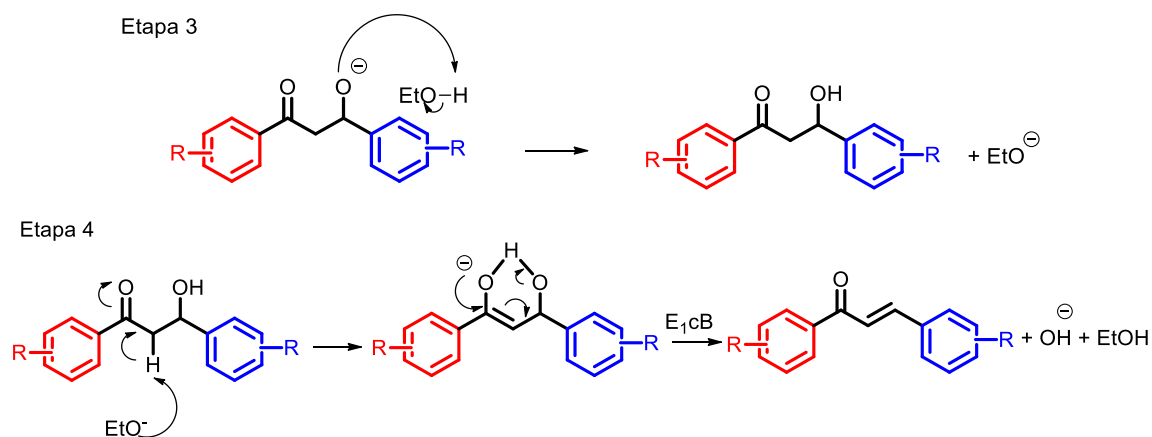


Fonte: Autoria própria.

Dados para 1 mmol de acetofenona (Esquema 7): b - EtOH (5 mL), benzaldeído-MOM (1,05 mmol), KOH/H<sub>2</sub>O (1,2 g / 2 mL) t.a.

Esquema 8 – Mecanismo da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt sob catálise básica.



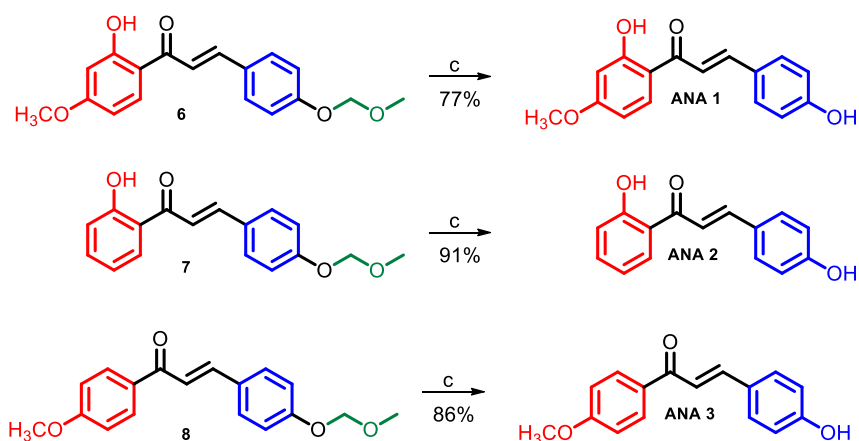


Fonte: Autoria própria.

O mecanismo da reação de condensação aldólica para formação das chalconas, em meio básico, tem início quando o catalisador (KOH) retira o próton da hidroxila do etanol, formando uma base forte, o íon etóxido ( $\text{EtO}^-$ ). Em seguida, o íon etóxido remove um hidrogênio ácido  $\alpha$ -metílico da acetofenona formando o íon enolato, que é estabilizado por ressonância. Na segunda etapa, o íon nucleofílico enolato ataca o carbono carbonílico do aldeído, dando origem à ponte *trans*-enônica, caracterizada pela formação do ânion alcóxido, que captura um próton do solvente da reação (etanol), produzindo aldol e reestabelecendo a estrutura do etóxido. Por fim, o íon etóxido retira um hidrogênio  $\alpha$ -cetônico, dando origem a um segundo enolato que pode ser estabilizado por uma ligação de hidrogênio intramolecular, formando um pseudoanel de seis membros. A cetona  $\alpha,\beta$ -insaturada, produto da reação, é formada pela eliminação da hidroxila por desidratação através do mecanismo  $\text{E1cB}$ , uma eliminação unimolecular via base conjugada.

Para alcançar os produtos finais, a última etapa foi a reação de desproteção (Esquema 9). Os intermediários reagiram com uma solução de HCl ( $1 \text{ mol L}^{-1}$ ) e uma mistura de metanol/THF, com rendimentos de 77% a 91% e duração de aproximadamente 4 horas.

Esquema 9 – Reação de desproteção dos compostos ANA 1 – ANA 3.

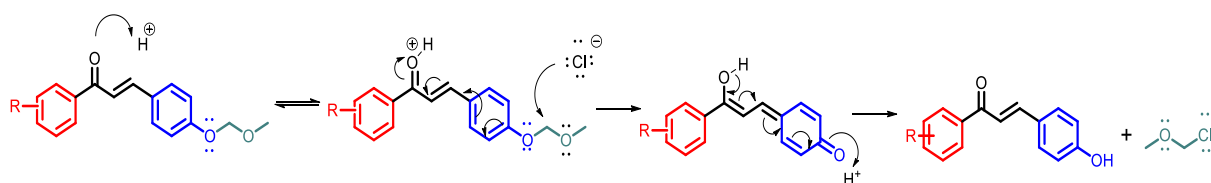


Fonte: Autoria própria.

Dados para 100 mg de material de partida (Esquema 9): c - MeOH (1 mL), THF (1 mL), banho de gelo, HCl (1 mL), refluxo, 60° C.

O mecanismo proposto para a reação de desproteção (Esquema 10) mostra que o MOM é removido dos intermediários pela protonação do oxigênio carbonílico, o que facilita o ataque do nucleófilo no oxigênio metilênico, uma vez que o sistema está todo conjugado. Em seguida, ocorre a quebra da ligação C-O, a formação da ligação dupla e ressonância no anel e na enona. Assim, são formados os produtos finais desprotegidos e a estrutura do clorometil metil éter (MOMCl) é restabelecida.

Esquema 10 – Proposta de mecanismo da reação de desproteção para remoção do grupo MOM dos intermediários de síntese e formação dos compostos ANA 1 – ANA 3.



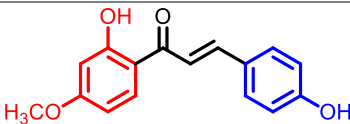
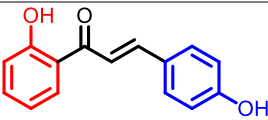
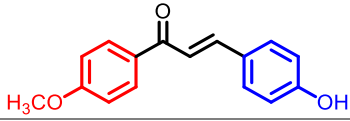
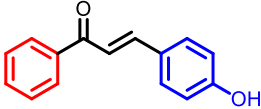
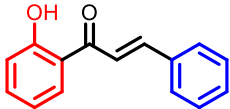
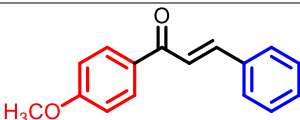
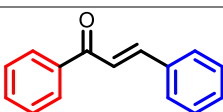
Fonte: Autoria própria.

Os produtos finais foram purificados por cromatografia em coluna de fase normal (gel de sílica) e/ou por cromatografia em coluna por exclusão de partícula (sephadex HL-20), e caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e Carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) (Anexos A – Q).

### 3.2.1.1 Rendimentos globais

Verifica-se a variação dos rendimentos globais dos compostos da série I (Tabela 1) entre 58% e 90%.

Tabela 1 – Rendimentos globais da síntese das chalconas da série I (ANA 1 – ANA 7\*).

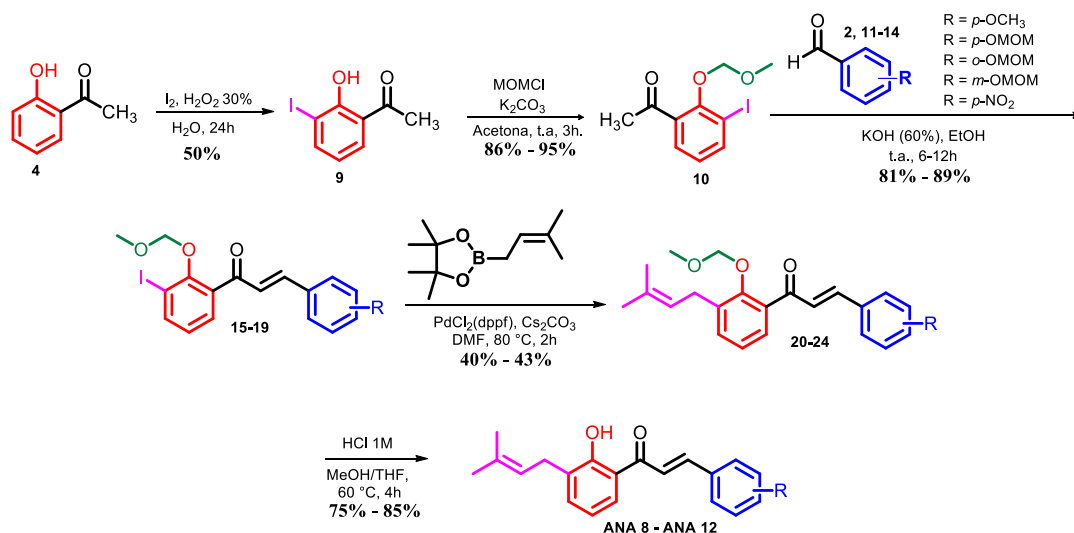
| Composto | Estrutura                                                                           | Rendimento (%) |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| ANA 1    |   | 60             |
| ANA 2    |    | 66             |
| ANA 3    |   | 58             |
| ANA 4*   |   | 75             |
| ANA 5*   |  | 63             |
| ANA 6*   |  | 90             |
| ANA 7*   |  | 78             |

Fonte: Autoria própria.

### 3.2.2 Série II

Para a obtenção dos compostos da série II, a rota sintética envolveu reações de iodação, proteção, condensação aldólica de Claisen-Schmidt, acoplamento de Suzuki-Miyaura e desproteção (esquema 11).

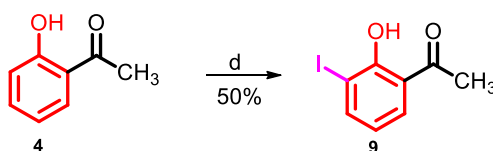
Esquema 11 – Rota sintética para obtenção dos compostos da série II (ANA 8 – ANA 12).



Fonte: Autoria própria.

A primeira etapa da síntese envolveu a reação de iodação da 2'-hidroxiacetofenona (Esquema 12) com a utilização de peróxido de hidrogênio e iodo em água durante 24 horas em temperatura ambiente (GALLO et al., 2010), e obteve-se 50% de rendimento.

Esquema 12 – Reação de iodação da 2'-hidroxiacetofenona.



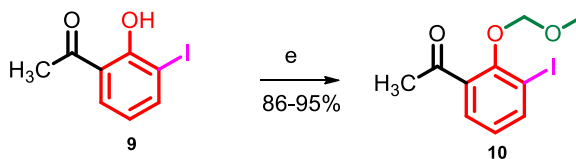
Fonte: Autoria própria.

Dados para 2 mmol de 2'-hidroxiacetofenona (Esquema 12): d - água destilada (10 mL), banho de gelo,  $I_2$  (3 mmol),  $H_2O_2$  30% (0,68 mL).

Em seguida, realizou-se a reação de proteção da hidroxila da posição 2' (Esquema 13) pelo uso do grupo protetor clorometil metil éter (MOMCl) e carbonato de potássio, com duração aproximada de 3 horas e rendimento entre 86% e 95%. Essa reação é fundamental para que se avance para as próximas etapas, uma vez que a 2'-OH é capaz de atacar o carbono  $\beta$  da ponte insaturada, fornecendo a flavanona como subproduto. Além disso, durante a etapa de acoplamento de Suzuki-Miyaura, a 2'-OH livre e o oxigênio carbonílico podem formar um sítio quelatogênico capaz de complexar o paládio, reduzindo a taxa de reação. Uma última razão que

evidencia a importância da realização da proteção é bloquear O-prenilações. O mecanismo dessa reação está descrito no Esquema 6, apresentado na seção 3.2.1 deste trabalho.

Esquema 13 – Reação de proteção da 2'-hidroxi-3'-iodo-acetofenona.

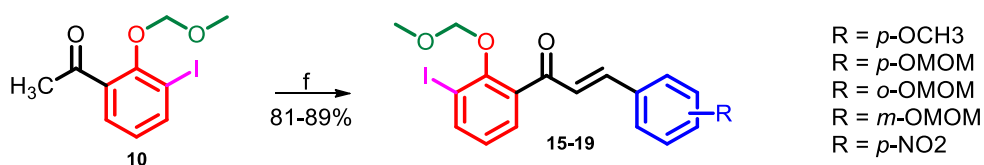


Fonte: Autoria própria.

Dados para 1 mmol de 2'-hidroxiacetofenona (Esquema 13): e -  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (1,2 mmol), acetona (5 mL), banho de gelo, MOMCl (1,2 mmol).

A terceira etapa foi a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt sob catálise básica (Esquema 14) com hidróxido de potássio e etanol, formando os intermediários iodados em reações com rendimento variando de 81% a 89% e duração entre 6 e 12 horas. O mecanismo dessa reação está descrito no Esquema 8, apresentado na seção 3.2.1 deste trabalho.

Esquema 14 – Reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt sob catálise básica.

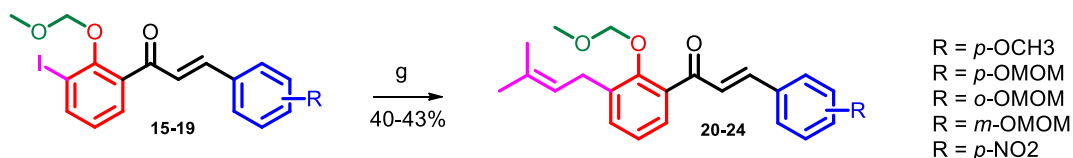


Fonte: Autoria própria.

Dados para 1 mmol de acetofenona (Esquema 14): f - EtOH (5 mL), derivados benzaldeídicos (1,05 mmol),  $\text{KOH}/\text{H}_2\text{O}$  (1,2 g / 2 mL) t.a.

A reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura (Esquema 15), quarta etapa da síntese, se deu entre as chalconas iodadas e o éster bórico em DMF,  $\text{PdCl}_2$  (dppf) e  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , resultando nos intermediários prenilados, com rendimento de cerca de 40% e duração de 2 horas. Por ser um bom grupo de saída, o iodo é substituído pelo grupamento isoprenila na reação em questão.

Esquema 15 – Reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura.

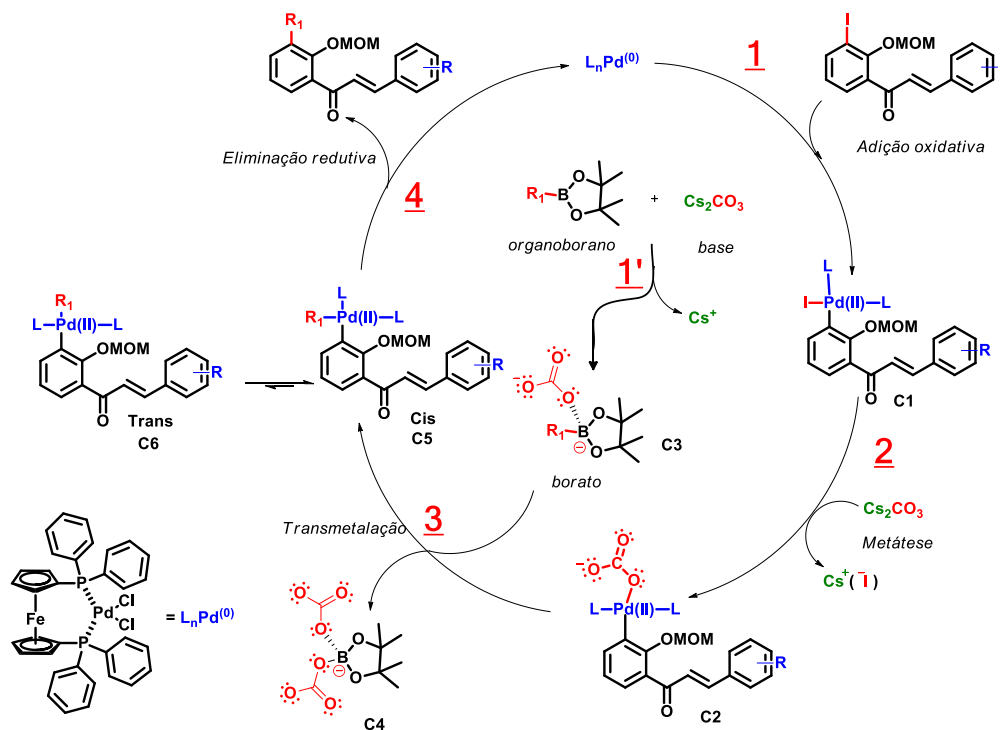


Fonte: Autoria própria.

Dados para 1 mmol de material de partida (Esquema 15): g - 3 mL de DMF,  $\text{N}_2$ ,  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (2 mmol),  $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$  (0,1 mmol), éster do ácido pinacol de prenila (2 mmol),  $70^\circ\text{C}$  –  $80^\circ\text{C}$ .

O acoplamento de Suzuki, catalisado pelo paládio, é amplamente utilizado para formar ligações carbono-carbono a partir do uso de organoboranos e haletos orgânicos sob condições básicas (MIYAURA; SUZUKI, 1995).

Esquema 16 – Mecanismo de reação do acoplamento de Suzuki-Miyaura.



Fonte: THEODORO, 2020.

O mecanismo do acoplamento de Suzuki-Miyaura (Esquema 16) ocorre em quatro etapas: adição oxidativa de um haleto orgânico à espécie  $\text{Pd}(0)$  para formar  $\text{Pd}(\text{II})$ ; metátese, que corresponde ao processo de troca do ânion fixado ao paládio pelo ânion da base;

transmetalização entre o Pd(II) e o complexo alquilborato, e, por fim, eliminação redutiva para formar a ligação sigma C-C e a regeneração do Pd(0).

É importante salientar que, para que a primeira etapa aconteça, faz-se necessário que as espécies catalíticas estejam no estado de oxidação zero. Sendo assim, forma-se o complexo Ar-Pd(II)-I (C1) a partir da adição oxidativa que, em seguida, gera outro complexo por meio de um processo denominado metátese. O complexo Ar-Pd(II)-CO<sub>3</sub><sup>-</sup> (C2) é formado quando Ar-Pd(II)-I (C1) reage com a base (carbonato de cério), deslocando o haleto (I<sup>-</sup>) e produzindo iodeto de cério (CsI). Paralelamente, o intermediário borato (C3) é formado a partir da reação do éster do ácido pinacol de prenila com o carbonato de cério, que reagirá com o complexo Ar-Pd-CO<sub>3</sub><sup>-</sup> (C2) no processo de transmetalização.

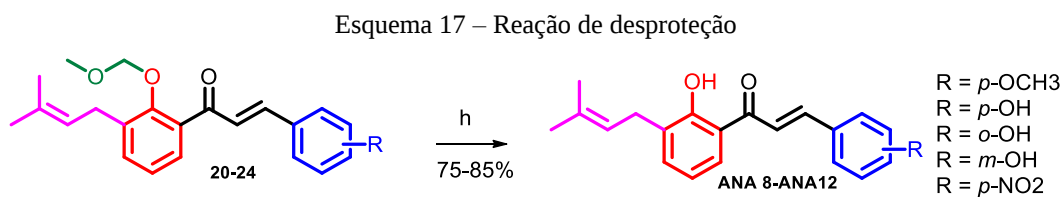
Na etapa de transmetalização, o complexo de borato (C3) – formado pelo éster bórico e pelo carbonato de cério – atribui uma característica nucleofílica ao grupo alquil (-R<sub>1</sub>), de forma que este ataca o complexo de paládio (C2), deslocando o íon carbonato, que reage com o resíduo do complexo de borato e produz espécies C4 e o complexo Ar-Pd(II)-R<sub>1</sub> nas formas cis e trans (C5 e C6). Tanto C5 quanto C6 participam do estágio de terminação do ciclo catalítico do paládio, conhecido como eliminação redutiva, e, na ocasião, o complexo cis (C5) é mais reativo que o isômero trans (C6).

Como mencionado, a última etapa do ciclo é a eliminação redutiva, em que os grupos de saída coordenados ao paládio devem estar na configuração cis para a formação de uma nova ligação C-C e para a regeneração da espécie zerovalente, iniciando, então, um novo ciclo catalítico. Com o fim do ciclo, são produzidos os intermediários prenitados protegidos, que passarão pela reação de desproteção.

Os baixos rendimentos obtidos no acoplamento de Suzuki-Miyaura podem estar relacionados com o processo de aquecimento utilizado, pois, na literatura, verifica-se a utilização de um reator de micro-ondas e, na prática, empregou-se o aquecimento térmico. Como a reação leva mais tempo para acontecer com o aquecimento térmico, outras reações paralelas de oxidação podem ser oportunizadas. Além disso, na eliminação redutiva, o equilíbrio químico entre as formas Cis- [Ar-Pd (II) -R<sub>1</sub>] (C5) e Trans- [Ar-Pd (II) -R<sub>1</sub>] (C6) pode ser deslocado para a forma trans, que é mais estável, e, dessa forma, não ocorre formação de ligação sigma carbono-carbono.

Por fim, a última etapa da síntese é a reação de desproteção (esquema 17), em que os intermediários reagem com uma solução de HCl (1 mol L<sup>-1</sup>) e uma mistura de metanol/THF, na qual obteve-se rendimentos de 75% a 85%, com duração de aproximadamente 4 horas. O

mecanismo dessa reação está descrito no Esquema 10, apresentado na seção 3.2.1 deste trabalho.



Fonte: Autoria própria.

Dados para 100 mg de material de partida (Esquema 17): h - MeOH (1 mL), THF (1 mL), banho de gelo, HCl (1 mL), refluxo, 60° C.

Finalmente, os produtos foram purificados por cromatografia em coluna de fase normal (gel de sílica) e/ou por cromatografia em coluna por exclusão de partícula (sephadex HL-20), e caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H).

### 3.2.2.2 Rendimentos globais

Verifica-se a variação dos rendimentos globais dos compostos da série II (Tabela 2) entre 10% e 70%.

Tabela 2 – Rendimentos globais da síntese dos compostos da série II (ANA 8 – ANA 9).

| Código | Estrutura | Rendimento (%) |
|--------|-----------|----------------|
| ANA 8  |           | 70             |
| ANA 9  |           | 10             |

Fonte: Autoria própria.

## 3.3 Avaliação da atividade biológica

As chalconas sintetizadas foram ensaiadas contra diferentes cepas bacterianas de bactérias gram-positivas e gram-negativas, e a concentração inibitória mínima, ou seja, a menor concentração capaz de inibir o crescimento bacteriano, foi determinada para as diferentes cepas e está indicada em µg/mL a seguir (Tabelas 3 – 6).

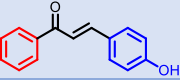
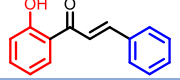
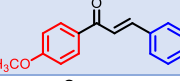
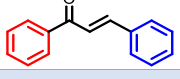
Tabela 3 – CIM em µg/mL das chalconas da série I contra cepas bacterianas gram-negativas.

| Compostos    | Estrutura | <i>H. pylori</i><br>ATCC<br>(43526) | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC<br>(27853) | <i>K. pneumoniae</i><br>ATCC<br>(13883) | <i>E. coli</i><br>ATCC<br>(35218) |
|--------------|-----------|-------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------|
| 4-HD         |           | 62,5                                | 400                                     | >400                                    | >400                              |
| ANA 1        |           | 250                                 | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 2        |           | 31,25                               | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 3        |           | 250                                 | 400                                     | >400                                    | >400                              |
| ANA 4*       |           | 31,25                               | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 5*       |           | 1000                                | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 6*       |           | 1000                                | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 7*       |           | 31,25                               | >400                                    | >400                                    | 200                               |
| Tetraciclina |           | 1,475                               | 5,9                                     | 1,47                                    | 0,73                              |

Fonte: Autoria própria.

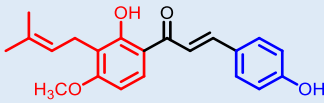
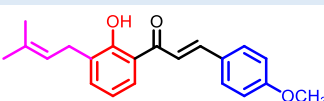
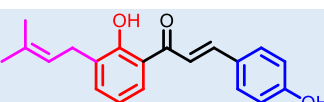
Tabela 4 – CIM em µg/Ml das chalconas da série I contra cepas bacterianas gram-positivas.

| Composto | Estrutura | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>(6538) | <i>S. Epidermidis</i><br>ATCC<br>(14990) | <i>E. faecalis</i><br>ATCC<br>(1299) | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>BAA44<br>(MRSA) | <i>S. pneumoniae</i><br>ATCC<br>(6305) | <i>S. sanguinis</i><br>ATCC<br>(10556) | <i>S. sobrinus</i><br>ATCC<br>(33478) | <i>S. mutans</i><br>ATCC<br>(25175) |
|----------|-----------|------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 4-HD     |           | 6,25                               | 1,56                                     | 6,25                                 | 3,12                                        | 25                                     | 3,12                                   | 3,12                                  | 3,12                                |
| ANA 1    |           | >400                               | >400                                     | >400                                 | NT                                          | NT                                     | NT                                     | NT                                    | NT                                  |
| ANA 2    |           | >400                               | 200                                      | 400                                  | NT                                          | NT                                     | NT                                     | NT                                    | NT                                  |
| ANA 3    |           | >400                               | >400                                     | >400                                 | >400                                        | 400                                    | >400                                   | >400                                  | >400                                |

|              |                                                                                   |      |      |      |      |      |       |       |       |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------------|------|------|------|------|------|-------|-------|-------|
| ANA 4*       |  | >400 | >400 | >400 | NT   | NT   | NT    | NT    | NT    |
| ANA 5*       |  | >400 | 50   | >400 | >400 | 200  | 400   | >400  | >400  |
| ANA 6*       |  | >400 | >400 | 400  | NT   | NT   | NT    | NT    | NT    |
| ANA 7*       |  | 200  | 200  | 400  | NT   | NT   | NT    | NT    | NT    |
| Tetraciclina |                                                                                   | 0,09 | >5,9 | 1,47 | >5,9 | 0,18 | -     | -     | -     |
| Clorexidina  |                                                                                   | -    | -    | -    | -    | -    | 0,922 | 1,840 | 0,461 |

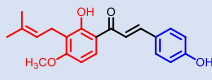
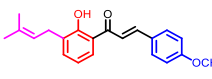
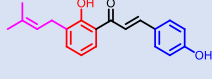
Fonte: Autoria própria.

Tabela 5 – CIM em µg/mL das chalconas da série II contra cepas bacterianas gram-negativas.

| Compostos    | Estrutura                                                                           | <i>H. pylori</i><br>ATCC<br>(43526) | <i>P. aeruginosa</i><br>ATCC<br>(27853) | <i>K. pneumoniae</i><br>ATCC<br>(13883) | <i>E. coli</i><br>ATCC<br>(35218) |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------|
| 4-HD         |    | 62,5                                | 400                                     | >400                                    | >400                              |
| ANA 8        |   | >1000                               | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| ANA 9        |  | 250                                 | >400                                    | >400                                    | >400                              |
| Tetraciclina |                                                                                     | 1,475                               | 5,9                                     | 1,47                                    | 0,73                              |

Fonte: Autoria própria.

Tabela 6 – CIM em µg/mL das chalconas da série II contra cepas bacterianas gram-positivas.

| Composto     | Estrutura                                                                           | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>(6538) | <i>S. Epidermidis</i><br>ATCC<br>(14990) | <i>E. faecalis</i><br>ATCC<br>(1299) | <i>S. aureus</i><br>ATCC<br>BAA44<br>(MRSA) | <i>S. pneumoniae</i><br>ATCC<br>(6305) | <i>S. sanguinis</i><br>ATCC<br>(10556) | <i>S. sobrinus</i><br>ATCC<br>(33478) | <i>S. mutans</i><br>ATCC<br>(25175) |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| 4-HD         |  | 6,25                               | 1,56                                     | 6,25                                 | 3,12                                        | 25                                     | 3,12                                   | 3,12                                  | 3,12                                |
| ANA 8        |  | >400                               | >400                                     | >400                                 | NT                                          | >400                                   | >400                                   | >400                                  | >400                                |
| ANA 9        |  | 3,12                               | 1,56                                     | 3,12                                 | 12,50                                       | 50                                     | 3,12                                   | 25                                    | 6,25                                |
| Tetraciclina |                                                                                     | 0,09                               | >5,9                                     | 1,47                                 | >5,9                                        | 0,18                                   | -                                      | -                                     | -                                   |
| Clorexidina  |                                                                                     | -                                  | -                                        | -                                    | -                                           | -                                      | 0,922                                  | 1,840                                 | 0,461                               |

Fonte: Autoria própria.

Os resultados mostram que, para várias cepas, há uma perda expressiva de atividade quando a prenila é retirada, reafirmando a importância da presença do grupo terpenoílico. Para *H. pylori*, ANA 1 tem a atividade diminuída em quatro vezes quando comparado com a 4-HD.

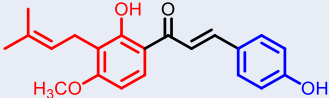
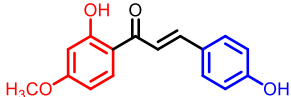
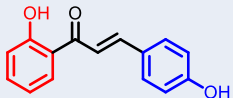
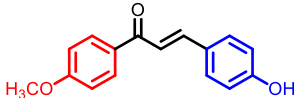
Os compostos ANA 2, ANA 4\* e ANA 7\* foram mais ativos para *H. pylori* do que a própria 4-HD, apresentando valores de CIM de 31,25 µg/mL contra 62,5 µg/mL. Sendo assim, a potência desses compostos se revela bastante interessante, uma vez que são sinteticamente mais simples. Para as outras cepas, entretanto, alguns compostos até foram ativos, mas nenhum deles apresentou CIM melhor que o da 4-HD.

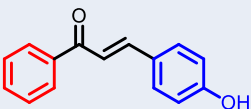
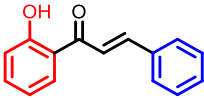
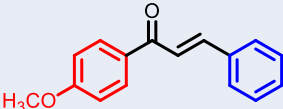
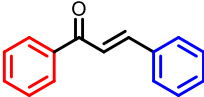
Os resultados da série II, por sua vez, apontam a importância da hidroxila na posição 4 do anel B (ANA 9) para a atividade biológica, como já foi previamente discutido na literatura. Em linhas gerais, esse análogo apresentou valores de CIM próximos aos valores determinados para a 4-HD, com destaque para os resultados obtidos contra *S. aureus* e *E. faecalis*, que indicaram que o ANA 9 é duas vezes mais potente em relação ao protótipo.

Mesmo para os compostos que foram ativos, a CIM não atingiu os valores que os fármacos de referência (tetraciclina e clorexidina) usados apresentaram.

Os compostos sintetizados passaram, ainda, por ensaios antimicobacterianos e os resultados estão sumarizados a seguir (Tabelas 7 e 8).

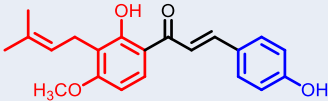
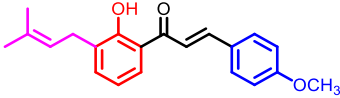
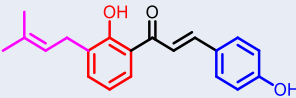
Tabela 7 – CIM em µg/mL das chalconas da série I contra cepas de micobactérias.

| Compostos | Estrutura                                                                           | <i>M. avium</i><br>ATCC<br>(25291) | <i>M. kansasii</i><br>ATCC<br>(12478) | <i>M. tuberculosis</i><br>ATCC<br>(27294) |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|
| 4-HD      |  | 31,25                              | 31,25                                 | 15,62                                     |
| ANA 1     |  | 500                                | >1000                                 | 62,50                                     |
| ANA 2     |  | 62,50                              | 125                                   | 31,25                                     |
| ANA 3     |  | 1000                               | >1000                                 | 62,50                                     |

|            |                                                                                   |       |       |       |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|
| ANA 4*     |  | 125   | >1000 | 15,62 |
| ANA 5*     |  | 62,50 | 1000  | 62,50 |
| ANA 6*     |  | >1000 | 1000  | 31,25 |
| ANA 7*     |  | 31,25 | 125   | 31,25 |
| Isoniazida |                                                                                   | >1,0  | 1,0   | 0,5   |

Fonte: Autoria própria.

Tabela 8 – CIM em µg/mL das chalconas da série II contra cepas de micobactérias.

| Compostos  | Estrutura                                                                           | <i>M. avium</i><br>ATCC<br>(25291) | <i>M. kansasii</i><br>ATCC<br>(12478) | <i>M. tuberculosis</i><br>ATCC<br>(27294) |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------|
| 4-HD       |  | 31,25                              | 31,25                                 | 15,62                                     |
| ANA 8      |  | 1000                               | >1000                                 | 1000                                      |
| ANA 9      |  | 1000                               | 1000                                  | 1000                                      |
| Isoniazida |                                                                                     | >1,0                               | 1,0                                   | 0,5                                       |

Fonte: Autoria própria.

Conforme indicam os valores de CIM do ANA 1, a retirada da prenila acarretou mais uma vez em perda de atividade. Quando a prenila e a metoxila da posição 4' são retiradas, a atividade antimicobacteriana aumenta consideravelmente; por outro lado, ao se retirar a prenila e a hidroxila da posição 2', há perda de atividade.

O ANA 4\* se mostrou tão potente quanto a 4-HD para *Mycobacterium tuberculosis*, o que representa significativa vantagem, uma vez que a síntese do composto demanda menos etapas. Além disso, a chalcona mais simples, sem nenhum substituinte, também apresentou atividade relativamente boa em comparação à 4-HD, inclusive com a mesma CIM para *Mycobacterium avium*.

Os compostos da série II não foram ativos, sugerindo que a metoxila do anel A, originalmente presente na estrutura da 4-HD, seja importante de alguma forma na atividade antimicobacteriana. Novamente, nenhum dos compostos atingiu os valores de CIM expressos pela isoniazida.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Reagentes e solventes

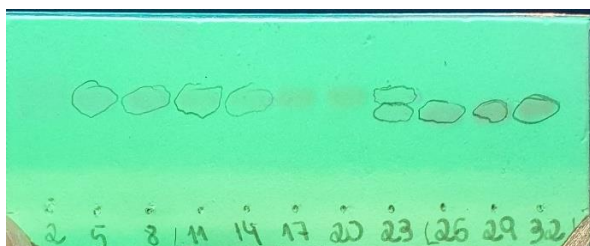
Todos os reagentes foram obtidos comercialmente da empresa Sigma-Aldrich®, e todos os solventes utilizados são da marca Synth®.

### 4.2 Métodos cromatográficos

#### 4.2.1 Cromatografia em camada delgada (CCD)

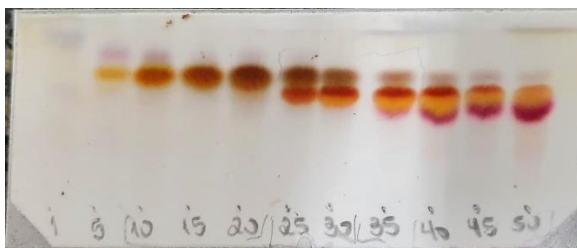
Para o acompanhamento das reações e análise de pureza dos produtos utilizou-se a Cromatografia em Camada Delgada (Figura 5), que consiste em cromatoplasmas de gel de sílica sob base de alumínio da marca Supelco®. Além disso, utilizou-se gradientes do sistema de solventes hexano/acetato de etila, 9:1; 8:2 e 7:3, de acordo com a polaridade dos analitos. As cromatoplasmas foram reveladas sob lâmpada de ultravioleta, no comprimento de onda de 254 nm. Por fim, a solução de anisaldeído sulfúrico foi utilizada como revelador químico das chalconas (Figura 6).

Figura 5 – Placa de CCD revelada sob lâmpada de ultravioleta usando fase móvel 9:1 hexano/acetato.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 6 – Placa de CCD revelada pela solução de anisaldeído sulfúrico usando fase móvel 8:2 hexano/acetato.



Fonte: Arquivo pessoal.

#### 4.2.2 Cromatografia em coluna de fase normal

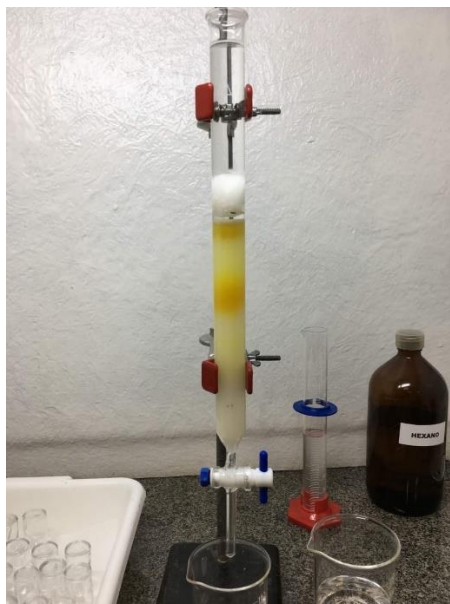
As purificações por cromatografia em coluna de fase normal foram realizadas empregando gel de sílica como fase estacionária e fases móveis de misturas dos solventes hexano e acetato de etila nas proporções 9:1; 8:2 e 7:3, de acordo com a polaridade dos analitos (Figura 7).

A técnica cromatográfica em questão consiste na separação por adsorção, levando em consideração as interações intermoleculares estabelecidas entre fase móvel, analito e fase estacionária. Dessa forma, as substâncias de maior polaridade possuem maior interação com a fase estacionária, sendo adsorvidas no gel de sílica e ficando retidas por mais tempo, enquanto que as substâncias menos polares vão sendo eluídas.

#### 4.2.3 Cromatografia por exclusão de tamanho

Como o próprio nome indica, essa técnica cromatográfica separa as moléculas pelo tamanho. A fase móvel – etanol – passa pelo gel poroso, que tem poros suficientemente pequenos para excluir as moléculas grandes do soluto com maior velocidade, já que elas não entram nos poros. As moléculas pequenas, por sua vez, levam mais tempo para passar pela coluna porque entram no gel e, dessa forma, devem passar por um volume maior antes de saírem (Figura 8).

Figura 7 – Purificação por coluna cromatográfica de gel de sílica com fase móvel 8:2 hexano/acetato.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 8 – Purificação por coluna cromatográfica Sephadex HL-20 usando etanol como fase móvel.



Fonte: Arquivo pessoal.

#### 4.3 Ressonância magnética nuclear

As estruturas dos compostos foram identificadas por experimentos de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de  $^1\text{H}$ ) e de Carbono Treze (RMN de  $^{13}\text{C}$ ), realizados no Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. Os deslocamentos químicos ( $\delta$ ) foram expressos em valores de ppm, utilizando o tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Acetona deuterada (acetona- $d_6$ ) e clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ), ambos da Sigma Aldrich®, foram usados como solvente. Para os deslocamentos químicos de hidrogênio ( $\delta_{\text{H}}$ ) indicou-se a multiplicidade do sinal (s – singleto; d – duplete; dd – duplo duplete; ddd – duplo duplo duplete; t – tripleto; q – quadruplete; m – multiplete), e a constante de acoplamento (J) em Hz.

#### 4.4 Preparação das chalconas

As chalconas de **1** a **7** foram obtidas por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, utilizando 1 mol de acetofenona para 1,2 mol do aldeído em 5 mL de etanol e em meio básico. A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética, em temperatura ambiente, de 2 a 6 horas, e, após o término da reação, foi vertida em gelo triturado e mantida a

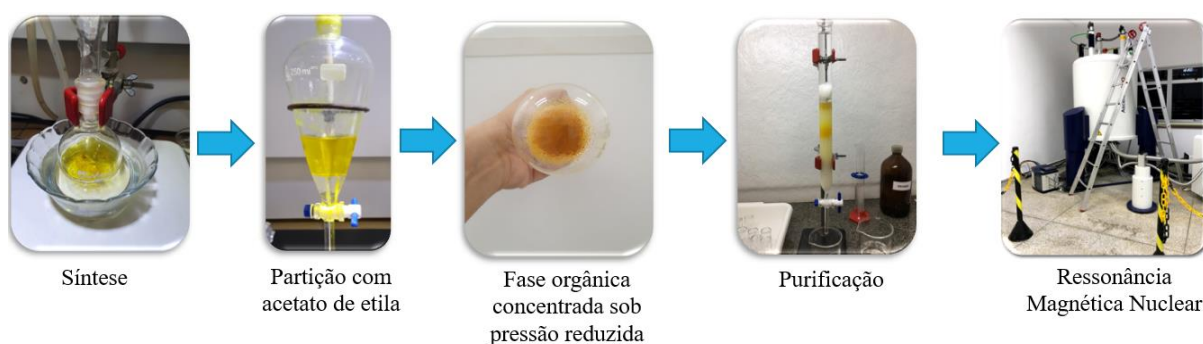
5° C por 24 horas. Por fim, a extração foi realizada por partição, usando as fases mais polares que estavam disponíveis no laboratório (Esquema 18).

Em contrapartida, as chalconas **8** e **9** foram obtidas em mais etapas, que serão desenvolvidas a seguir. Inicialmente, foi feita a reação de iodação de 2 mol da 2'-hidroxiacetofenona usando 10 mL de água destilada, 3 mol de I<sub>2</sub> e 0,68 mL da solução de peróxido de hidrogênio 30%. A mistura reacional permaneceu sob agitação magnética em temperatura ambiente durante 24 horas. Em seguida, realizou-se a reação de proteção do grupo hidroxila, utilizando a proporção de 1,5 mol de MOMCl e 3 mol de carbonato de potássio para 1 mol do material de partida em 5 mL de acetona; a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética em banho de gelo por um período de 4 horas.

A terceira etapa, da reação de condensação aldólica, procedeu de forma bastante semelhante com o que foi descrito anteriormente. A reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura foi realizada a partir da utilização de 1 mol do material de partida, 2 mol do éster do ácido pinacol de prenila, 2 mol de carbonato de cromo, 0,1 mol de cloreto de paládio e 3 mL de DMF, permanecendo sob agitação magnética e refluxo durante 2 horas.

Por fim, fez-se a reação de desproteção usando 1 mL de HCl, 1 mL de metanol e 1 mL de THF para 100 mg do material de partida, e a mistura reacional permaneceu sob agitação magnética em banho de gelo e refluxo de 4 a 6 horas. Após cada uma das etapas, os produtos foram submetidos à extração líquido-líquido com fases polares.

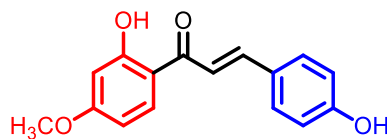
Esquema 18 – Metodologia geral para a obtenção dos compostos.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.4.1 Caracterização das Chalconas por Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de $^1\text{H}$ e $^{13}\text{C}$

Figura 9 – ANA 1 (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 1

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_4$

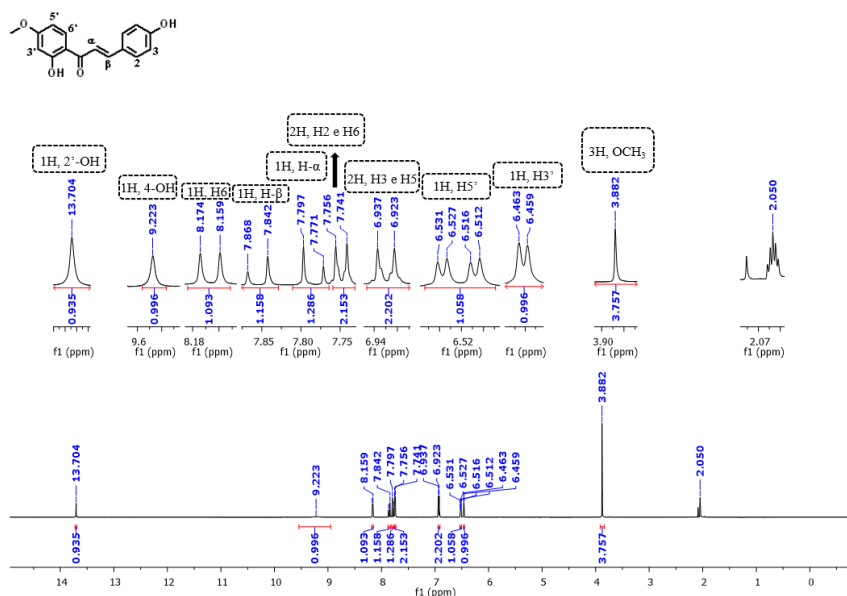
**Massa molar:** 270,28 g/mol

**Rendimento:** 84%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta$  = 3.88 (s, 3H, 4'- $\text{OCH}_3$ ) 6.46 (d, 1H,  $J$  = 2.5 Hz, H-3'), 6.52 (dd, 1H,  $J_1$  = 2.5 Hz e  $J_2$  = 9.0 Hz, H-5'), 6.93 (d, 2H,  $J$  = 8.6 Hz, H-3 e H-5), 7,75 (d, 2H,  $J$  = 8.6 Hz, H-2 e H-6) 7.78 (d, 1H,  $J$  = 15.3 Hz, H-  $\alpha$ ), 7.86 (d, 1H,  $J$  = 15.3 Hz, H-  $\beta$ ), 8.17 (d, 1H,  $J$  = 9.0 Hz, H-6'), 9.22 (brs, 1H, 4-OH), 13.7 (s, 1H. 2'-OH).

Os hidrogênios correspondentes aos sinais do espectro foram atribuídos da direita para esquerda, ou seja, do mais blindado para o mais desblindado (Figura 10) e foram determinadas as constantes de acoplamento, que medem a intensidade de interação entre os núcleos.

Figura 10 – Atribuições dos sinais do espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto ANA 1.

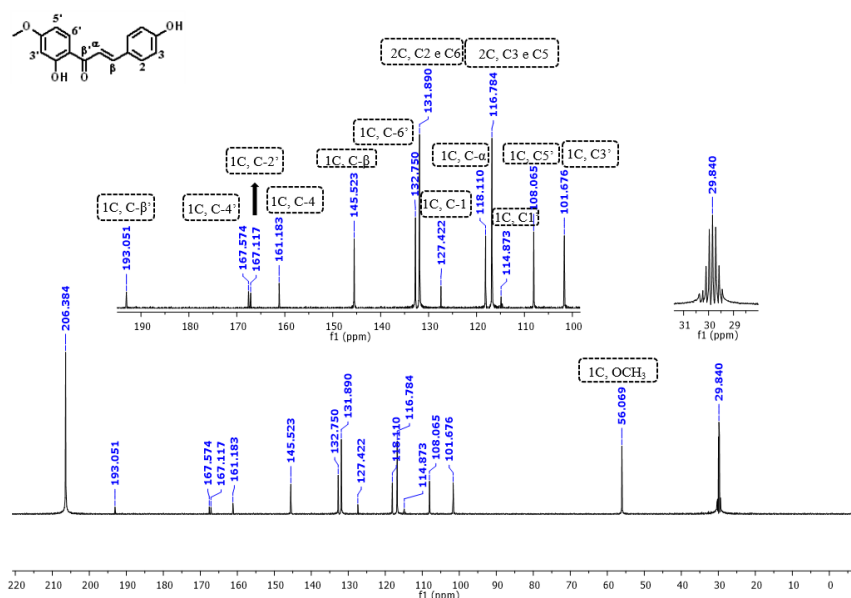


Fonte: Autoria própria.

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta$  = 56.07 (1C, 4'-OCH<sub>3</sub>), 101.68 (1C, C-3'), 108.07 (1C, C-5'), 114.87 (1C, C-1'), 116.78 (2C, C-3 e C-5), 118.11 (1C, C- $\alpha$ ), 127.42 (1C, C-1), 131.89 (2C, C-2 e C-6), 132.75 (1C, C-6'), 145.52 (1C, C- $\beta$ ), 161.18 (1C, C-4), 167.18 (1C, C-2'), 167.57 (1C, C-4'), 193.05 (1C, C- $\beta'$ ).

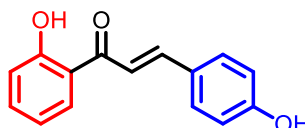
Assim como os sinais de hidrogênio, os de carbono também foram atribuídos do sinal mais blindado para o mais desblindado (Figura 11).

Figura 11 – Atribuições dos sinais do espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  do composto ANA 1.



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 – ANA 2 (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 2

**Fórmula molecular:** C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>

**Massa molar:** 240,25 g/mol

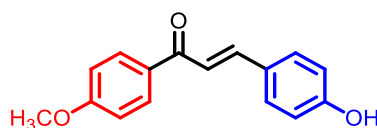
**Rendimento:** 87%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta$  = 6.95 (d, 2H,  $J$  = 8.6 Hz, H-3 e H-5), 6.97 (m, 2H, H-3' e H-5'), 7.55 (ddd, 1H,  $J_1$  = 1.6 Hz,  $J_2$  = 7.3 Hz e  $J_3$  = 8.2 Hz, H-4'), 7.78 (d, 2H,  $J$  = 8.6 Hz,

H-2 e H-6), 7.87 (d, 1H,  $J = 15.3$  Hz, H- $\alpha$ ), 7.92 (d, 1H,  $J = 15.3$  Hz, H- $\beta$ ), 8.25 (dd, 1H,  $J_1 = 1.6$  Hz e  $J_2 = 7.9$  Hz, H-6'), 13.04 (bs, 1H, 2'-OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta = 116.86$  (2C, C-3 e C-5), 117.94 (1C, C-3'), 118.84 (1C, C-5'), 119.71 (1C, C- $\alpha$ ), 120.99 (1C, C-1'), 127.30 (1C, C-1), 131.15 (1C, C-6'), 132.15 (2C, C-2 e C-6), 137.05 (1C, C-4'), 146.67 (1C, C- $\beta$ ), 161.48 (1C, C-4), 164.32 (1C, C-2'), 194.86 (1C, C- $\beta'$ ).

Figura 13 – ANA 3 (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 3

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_3$

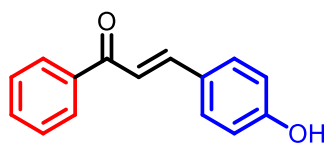
**Massa molar:** 254,25 g/mol

**Rendimento:** 84%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta = 3.89$  (s, 3H, 4'-OCH<sub>3</sub>), 6.92 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz, H-3 e H-5), 7.05 (d, 2H,  $J = 8.9$  Hz, H-3' e H-5'), 7.69 (d, 1H,  $J = 15.4$  Hz, H- $\alpha$ ), 7.69 (d, 2H,  $J = 8.6$  Hz, H-2 e H-6), 7.73 (d, 1H,  $J = 15.4$  Hz, H- $\beta$ ), 8.13 (d, 2H,  $J = 8.9$  Hz, H-2' e H-6'), 9.01 (bs, 1H, 4-OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, Acetona- $d_6$ ):**  $\delta = 55.92$  (1C, 4'-OCH<sub>3</sub>), 114.64 (2C, C-3' e C-5'), 116.71 (2C, C-3 e C-5), 119.63 (1C, C- $\alpha$ ), 127.82 (1C, C-1), 131.39 (2C, C-2' e C-6'), 131.43 (2C, C-2 e C-6), 132.31 (1C, C-1'), 144.26 (1C, C- $\beta$ ), 160.65 (1C, C-4), 164.28 (1C, C-4'), 188.12 (1C, C- $\beta'$ ).

Figura 14 – ANA 4\* (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 4\*

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2$

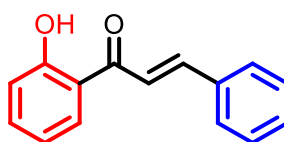
**Massa molar:** 224,25 g/mol

**Rendimento:** 75%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (multiplicidade, J em Hz):** 6,85 (d, J = 8,7, H-3 e H-5), 7,56 (dd, J = 7,7 e 8,3, H-3' e H-5'), 7,65 (dd, J = 1,3 e 7,7, H-4'), 7,72 (d, J = 15,5, H- $\alpha$ ), 7,73 (d, J = 15,5, H- $\beta$ ), 7,74 (d, J = 8,7, H-2 e H-6), 8,12 (dd, J = 1,3 e 8,3, H-2' e H-6').

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (posição):** 116,3 (C-3 e C-5), 118,9 (C- $\alpha$ ), 126,2 (C-2 e C-6), 129,5 (C-3' e C-5'), 131,5 (C-2' e C-6'), 138,4 (C-1'), 133,3 (C-4'), 145,0 (C- $\beta$ ), 160,6 (C-4), 189,4 (C- $\beta'$ ).

Figura 15 – ANA 5\* (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 5\*

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}_2$

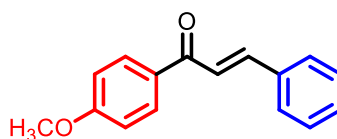
**Massa molar:** 224,25 g/mol

**Rendimento:** 63%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (multiplicidade, J em Hz):** 6,98 (ddd, J = 1,6, 7,2 e 8,4, H-4'), 7,06 (dd, J = 1,0 e 8,4, H-3'), 7,70 (d, J = 15,3, H- $\alpha$ ), 7,45–7,49 (m, H-2, H-4 e H-6), 7,53 (ddd, J = 1,0, 7,2 e 8,0, H-5'), 7,69–7,71 (m, H-3 e H-5), 7,96 (dd, J = 1,6 e 8,4, H-6'), 7,96 (d, J = 15,3, H- $\beta$ ), 12,8 (sl, OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (posição):** 118,7 (C-3'), 118,9 (C- $\alpha$ ), 120,0 (C-1'), 120,1 (C-4'), 128,7 (C-3 e C-5), 129,1 (C-2 e C-6), 129,7 (C-5'), 130,9 (C-4), 134,6 (C-1), 136,4 (C-6'), 145,5 (C- $\beta$ ), 163,6 (C-2'), 193,8 (C- $\beta'$ ).

Figura 16 – ANA 6\* (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 6\*

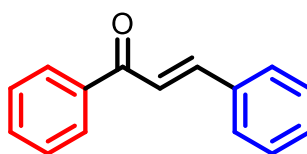
**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_2$

**Massa molar:** 238,28 g/mol

**Rendimento:** 90%

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (multiplicidade, J em Hz):** 7,02 (d, J = 8,8, H-3' e H-5'), 7,43–7,45 (m, H-2, H-4 e H-6), 7,57 (d, J = 15,7, H- $\alpha$ ), 7,66–7,69 (m, H-3 e H-5), 7,83 (d, J = 15,7, H- $\beta$ ), 8,07 (d, J = 8,8, H-2' e H-6'). **RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (posição):** 55,52 (4-OCH<sub>3</sub>), 113,9 (C-3' e C-5'), 121,9 (C- $\alpha$ ), 128,4 (C-3 e C-5), 128,9 (C-2 e C-6), 130,3 (C-4), 130,8 (C-2' e C-6'), 131,1 (C-1), 135,9 (C-1'), 144,0 (C- $\beta$ ), 163,5 (C-4'), 188,8 (C- $\beta'$ ).

Figura 17 – ANA 7\* (série I).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 7\*

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{O}$

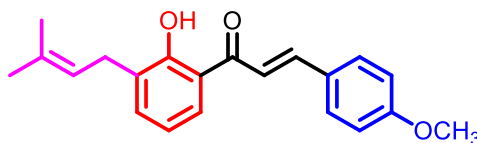
**Massa molar:** 208,26 g/mol

**Rendimento:** 78%

**RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (multiplicidade, J em Hz):** 7,43–7,46 (m, H-3–H-5), 7,52–7,56 (m, H-2 e H-6), 7,56 (d, J = 15,7, H- $\alpha$ ), 7,59–7,64 (m, H-4') 7,67–7,69 (m, H-3' e H-5'), 7,84 (d, J = 15,7, H- $\beta$ ), 8,05 (d, J = 7,0, H-2' e H-6').

**RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (posição):** 122,1 (C- $\alpha$ ), 128,5 (C-2 e C-6), 128,5 (C-3 e C-5), 128,7 (C-3' e C-5'), 130,0 (C-2' e C-6'), 130,6 (C-4), 132,8 (C-4'), 134,9 (C-1), 138,2 (C-1'), 144,9 (C- $\beta$ ), 190,6 (C- $\beta'$ ).

Figura 18 – ANA 8 (série II).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 8

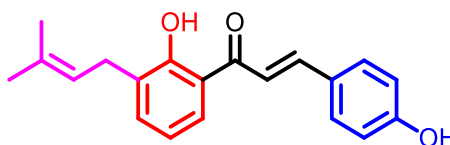
**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_3$

**Massa molar:** 322,40 g/mol

**Rendimento:** 70%

**RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz):**  $\delta$  = 1.73 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , H-4''), 1.77 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ , H-5''), 3.40 (d, 2H,  $J$  = 7.3 Hz,  $\text{CH}_2$ , H-1''), 3.87 (s, 3H, 4-O $\text{CH}_3$ ), 5.36 (t, 1H,  $J$  = 7.3 Hz, CH, H-2''), 6.87 (dd, 1H,  $J_1$  = 7.3 Hz e  $J_2$  = 8.1 Hz, H-5'), 6.95 (d, 2H,  $J$  = 8.8 Hz, H-3 e H-5), 7.36 (dd, 1H,  $J_1$  = 1.1 Hz e  $J_2$  = 7.3 Hz, H-4'), 7.55 (d, 1H,  $J$  = 15.4 Hz, H- $\alpha$ ), 7.63 (d, 2H,  $J$  = 8.8 Hz, H-2 e H-6), 7.78 (dd, 1H,  $J_1$  = 1.1 Hz e  $J_2$  = 8.1 Hz, H-6'), 7.89 (d, 1H,  $J$  = 15.4 Hz, H- $\beta$ ), 13.29 (s, 1H, 2'-OH).

Figura 19 – ANA 9 (série II).



Fonte: Autoria própria.

**Substância:** ANA 9

**Fórmula molecular:**  $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_3$

**Massa molar:** 308,37 g/mol

**Rendimento:** 10%

**RMN  $^1\text{H}$  (600 MHz, Acetone- $d_6$ ):**  $\delta$  = 1.72 (s, 6H,  $\text{CH}_3$ , H-4'' e H-5''), 3.37 (d, 2H,  $J$  = 7.1 Hz, H-1''), 5.35 (t, 1H,  $J$  = 7.1 Hz, H-2''), 6.90 (dd, 1H,  $J_1$  =  $J_2$  = 7.6 Hz, H-5'), 6.95 (d, 2H,  $J$  = 8.1 Hz, H-3 e H-5), 7.41 (dd, 1H,  $J_1$  = 2.3 Hz e  $J_2$  = 7.6 Hz, H-4'), 7.78 (d, 2H,  $J$  = 8.1 Hz, H-2 e H-6), 7.87 (d, 1H,  $J$  = 15.3 Hz, H- $\alpha$ ), 7.91 (d, 1H,  $J$  = 15.3 Hz, H- $\beta$ ), 8.09 (dd, 1H,  $J_1$  = 2.3 Hz e  $J_2$  = 7.6 Hz, H-6'), 13.54 (s, 1H, 2'-OH).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (150 MHz, Acetone- $d_6$ ):**  $\delta$  = 17.81 (1C,  $\text{CH}_3$ , C-4''), 25.87 (1C,  $\text{CH}_3$ , 5''), 28.31 (1C,  $\text{CH}_2$ , C-1''), 116.86 (2C, C-3 e C-5), 118.13 (1C, C-5'), 119.19 (1C, C- $\alpha$ ), 120.38 (1C, C-1'), 122.87 (1C, CH, C-2''), 127.34 (1C, C-1), 128.77 (1C, C-6'), 131.28 (1C, C-3'), 132.10 (2C, C-2 e C-6), 133.29 (1C, C-3''), 136.55 (1C, C-4'), 146.54 (1C, C- $\beta$ ), 161.43 (1C, C-2'), 162.48 (1C, C-4), 195.13 (1C, C- $\beta'$ ).

## 4.5 Avaliação da atividade antibacteriana

### 4.5.1 Ensaios de Susceptibilidade Bacteriana

Os ensaios de atividade antibacteriana foram realizados em colaboração com o Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA), localizado na Universidade Federal de Uberlândia, sob orientação do Prof. Dr. Carlos Henrique Martins. Utilizou-se cepas bacterianas padrão provenientes da American Type Culture Collection (ATCC), as quais foram mantidas a -20° C por criopreservação. Os testes foram realizados com *S. aureus* ATCC (6538), *S. aureus* ATCC (BAA44), *S. epidermidis* ATCC (14990), *E. faecalis* ATCC (1299), *S. pneumoniae* ATCC (6305), *S. sanguinis* ATCC (10556), *S. sobrinus* ATCC (33478), *S. mutans* ATCC (25175), *H. pylori* ATCC (43526), *P. aeruginosa* ATCC (27853), *K. pneumoniae* ATCC (13883) e *E. coli* ATCC (35218), além das cepas micobacterianas de *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294), *M. kansasii* (ATCC 12478) e *M. avium* (ATCC 25291).

#### 4.5.1.1 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) contra espécies de bactérias gram-positivas e gram-negativas foi feita em triplicata através da utilização do método de microdiluição em caldo a partir de microplacas de 96 poços, e a resazurina foi empregada como indicador colorimétrico de viabilidade celular (LEANDRO et al., 2014). Além disso, os compostos foram solubilizados com DMSO e diluídos, até atingirem concentrações finais variando entre 400,0 e 0,195 µg/mL; o inóculo, por sua vez, foi ajustado para cada microrganismo atingir a concentração celular de  $5 \times 10^5$  unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL), conforme preconizado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute, com modificações no meio de cultura (CLSI, 2012).

Tetraciclina e clorexidina foram empregadas como controle positivo, com concentrações variando de 0,0115 µg/mL a 5,9 µg/mL e 0,115 a 59 µg/mL, respectivamente, enquanto as microplacas de 96 poços foram seladas com plástico filme e incubadas a 37° C durante 24 horas. Em seguida, adicionou-se 30 µL de uma solução aquosa de resazurina (0,02%) às microplacas, que foram incubadas por mais 15 minutos a 37° C. A CIM foi definida como a menor concentração capaz de inibir mais de 90% do crescimento do microrganismo, sendo indicada pela mudança de cor da resazurina.

Os ensaios antimicobacterianos foram conduzidos de forma bastante semelhante, mas, nesses casos, a isoniazida foi utilizada como controle positivo, com concentrações variando de 0,015 a 1,0 µg/mL, e os compostos foram diluídos até concentrações entre 7,8 e 1000 µg/mL. As microplacas de 96 poços foram incubadas a 37°C durante 7 dias. Depois, adicionou-se 30 µL de uma solução aquosa de resazurina (0,02%) às microplacas, que foram incubadas por mais 18 horas. Finalmente, a solução de resazurina adquire coloração azul se não houver crescimento bacteriano, enquanto a cor rosa indica a presença de células metabolicamente ativas.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Obteve-se 9 produtos finais, sendo 7 pertencentes à série I e 2 à série II. Os compostos da série I foram sintetizados majoritariamente a partir da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, mas, em certos casos, também foram utilizadas reações de proteção e desproteção, e os rendimentos globais dos análogos não prenilados variaram de 58% a 90%. A síntese dos compostos da série II, por sua vez, envolveu reações de iodação, proteção, condensação aldólica de Claisen-Schmidt, acoplamento de Suzuki e desproteção, apresentando rendimentos globais entre 10% e 70%.

Os dados de atividade antibacteriana indicaram perda de atividade pela retirada do grupo terpenoílico (série I) e pela substituição do grupo 4-OH por 4-OCH<sub>3</sub> (série II), reiterando a importância dessas subunidades na potencialização da atividade. Dentre os compostos ensaiados, o ANA 9 se destacou por apresentar valores de CIM próximos aos da 4-HD, sendo duas vezes mais potente contra *S. aureus* e *E. faecalis*.

Os resultados antimicobacterianos demonstraram que os compostos da série I foram moderadamente ativos, com destaque para o ANA 4\* que expressou a mesma CIM da 4-HD contra *Mycobacterium tuberculosis*, representando uma alternativa sinteticamente mais simples. Por fim, os compostos da série II não foram ativos, sugerindo que a metoxila originalmente presente na estrutura do protótipo seja relevante para a atividade.

## REFERÊNCIAS

ALVES, A. R. F. **Doenças alimentares de origem bacteriana**. 2012. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012. Disponível em: <[https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3756/3/PPG\\_AnaAlves.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3756/3/PPG_AnaAlves.pdf)>. Acesso em: 16 abr. 2021.

ÁVILA, H. P. et al. Structure–activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorg Med Chem**, v. 16, n. 22, p. 9790-9794, 2008. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089608009164?via%3Dihub>>. Acesso em: 11 abr. 2021.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015.

BELDA JUNIOR, W.; SHIRATSU, R.; PINTO, V. Abordagem nas doenças sexualmente transmissíveis. **An Bras Dermatol**, São Paulo, v. 84, n. 2, p. 151-159, 2009. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/abd/a/ypyDRm4hXy474D4XvWjmtvs/?lang=pt>>. Acesso em: 19 abr. 2021.

CHEMLER, S. R.; TRAUNER, D.; DANISHEFSKY, S. J. The B-Alkyl Suzuki  $\pm$  Miyaura Cross-Coupling Reaction: Development, Mechanistic Study, and Applications in Natural Product Synthesis. **Angew. Chem. Int. Ed**, v. 40, n. 24, p. 4544-4568, 2001.  
CLSI. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard. 9th. ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012.

DEWICK, P. M. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 3. ed. John Wiley & Sons LTD, 2009. Disponível em: <[https://www.academia.edu/11128389/Dewick\\_Medicinal\\_natural\\_products](https://www.academia.edu/11128389/Dewick_Medicinal_natural_products)>. Acesso em: 07 abr. 2021.

FISCHBACH, M. A.; WALSH, C. T. Antibiotics for emerging pathogens. **Science**, v. 325, n. 5944, p. 1089-1093, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2802854/>>. Acesso em: 20 maio 2021.

GALLO, R. D. C. et al. Efficient and selective iodination of phenols promoted by iodine and hydrogen peroxide in water. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 21, n. 4, p. 770-774, 2010. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbchs/a/y9CcGHGmtxF8M9PFsPNVW9d/?lang=en>>. Acesso em: 24 abr. 2021.

GARCIA, M. A. R. **Aminochalconas e Híbridos Sulfonamida-Chalcona: Planejamento, Síntese e Atividade Antibacteriana**. 2017. Tese (Mestrado em Química) – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto,

2017. Disponível em: <<https://repositorio.unesp.br/handle/11449/149804?show=full>>. Acesso em: 27 maio 2021.

HANCOCK, R. E. W. Mechanisms of action of newer antibiotics for Gram-positive Pathogens. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 4, p. 209-218, 2005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1473309905700517?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 maio 2021.

INAMORI, Y. et al. Antibacterial activity of two chalcones, xanthoangelol e 4-hydroxyderricin, isolated from the root of *Angelica keiskei* Koidzumi. **Chem Pharm Bull**, v. 39, n. 6, p. 1604-1605, 1991. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1934181/>>. Acesso em: 27 junho 2021.

LEANDRO, L. F. et al. Antibacterial activity of *Pinus elliottii* and its major compound, dehydroabietic acid, against multidrug-resistant strains, **J. Med. Microbiol.**, v. 63, n. 12, p. 1649-1653, 2014. Disponível em: <<https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.081711-0>>. Acesso em: 5 dez. 2021.

MACAEV, F. et al. Chalcone scaffold based antimycobacterial agents. **Med. Chem.**, v. 4, n. 6, p. 487-493, 2014. Disponível em: <<https://www.hilarispublisher.com/open-access/chalcone-scaffold-based-antimycobacterial-agents-2161-0444.1000487.pdf>>. Acesso em: 07 abr. 2021.

MADIGAN, M. T. et al. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016.

MALACRIDA, A. M.; DIAS, V. H. C.; LIMA, C. L.; Perfil epidemiológico das doenças bacterianas transmitidas por alimentos no Brasil. In: II Simpósio em Produção Sustentável e Saúde Animal, 2017, Maringá. **Anais [...]**. Maringá: UEM, 2017. p. 158-162. Disponível em: <<https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevCiVet/article/view/37119/pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2021.

MARTINS, C. R. F. et al. **Técnica de Coloração de Gram**. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, 1997.

MELO, E. S. et al. Doenças transmitidas por alimentos e principais agentes bacterianos envolvidos em surtos no Brasil: revisão. **PUBVET**, Maringá, v. 12, n. 10, p. 1-9, 2018. Disponível em: <<https://www.pubvet.com.br/uploads/8f4bab59148df2d67fa3e447190e2835.pdf>>. Acesso em: 16 abr. 2021.

MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. **Chem. Rev.**, n. 95, v. 7, p. 2457-2483, 1995. Disponível em: <<https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr00039a007>>. Acesso em: 17 maio 2021.

OLIVEIRA, D. M. **Mycobacterium Tuberculosis e a resistência do bacilo de Koch**. 2013. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2013. Disponível em:  
<[https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5525/1/PPG\\_19627.pdf](https://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/5525/1/PPG_19627.pdf)>. Acesso em: 17 maio 2021.

PERRIN, C. L.; CHANG, K. L. The Complete Mechanism of an Aldol Condensation. **J. Org. Chem.**, v. 81, n. 13, p. 5631-5635, 2016. Disponível em:  
<<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.joc.6b00959>>. Acesso em: 22 abr. 2021.

REIS, A. A. S.; SANTOS, R. S. **Microbiologia básica**. Aparecida de Goiânia: Faculdade Alfredo Nasser, 2016.

SANTOS, N. Q. A resistência bacteriana no contexto da infecção hospitalar. **Texto Contexto Enferm**, Santa Catarina, v. 13, p. 64-70, 2004. Disponível em:  
<<https://www.scielo.br/j/tce/a/KrkXBPPt83ZyvMBmxHL8yCf/?lang=pt>>. Acesso em: 03 abr. 2021.

SHIMOMURA, K. et al. Component analysis of propolis collected on Jeju Island, Korea. **Phytochemistry**, v. 93, p. 222-229, 2013. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942212000970?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 abril 2021.

SILVA FILHO, E. B. et al. Infecções respiratórias de importância clínica: uma revisão sistemática. **RevFIMCA**, v. 4, n. 1, p. 7-16, 2017. Disponível em:  
<<https://ojs.fimca.com.br/index.php/fimca/article/view/5/3>>. Acesso em: 20 abr. 2021.

SINGH, P.; ANAND, A.; KUMAR, V. Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. **Eur. J. Med. Chem.**, v. 85, p.758-777, 2014. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523414007685?via%3Dihub>>. Acesso em: 07 abr. 2021.

SUGAMOTO, K. et al. Synthesis of 4-hydroxyderricin and related derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 49, n. 47, p. 6639-6641, 2008. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S004040390801664X?via%3Dihub>>. Acesso em: 18 abril 2021.

SUGAMOTO, K. et al. Synthesis and antibacterial activity of chalcones bearing prenyl or geranyl groups from *Angelica keiskei*. **Tetrahedron**, v. 67, n. 29, p. 5346-5359, 2011. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0040402011006417?via%3Dihub>>. Acesso em: 10 março 2021.

TAVAREZ, W. **Antibióticos e quimioterápicos para o clínico**. 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2014. Disponível em:  
<<https://cardiologiamedicinaumsa.files.wordpress.com/2017/07/antibioticos-y-quimioterapicos-para-el-clinico.pdf>>. Acesso em: 20 maio 2021.

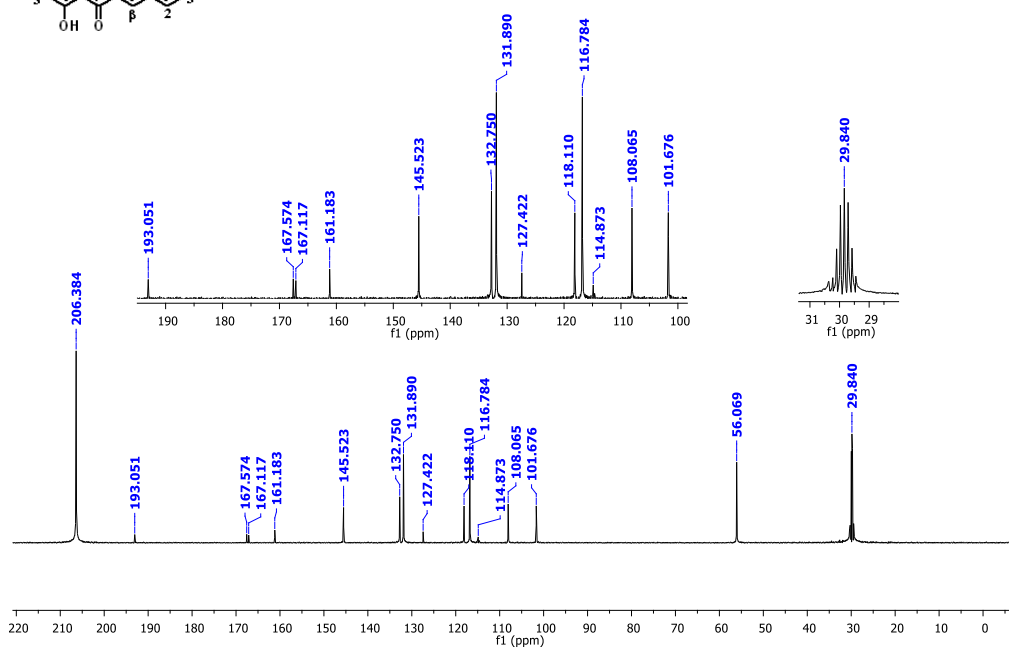
THEODORO, R. S. **Síntese e avaliação de 4-Hidroxiderricina (4HD) e seus análogos como potenciais agentes contra a tuberculose**. Relatório Parcial Fapesp – Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2020.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

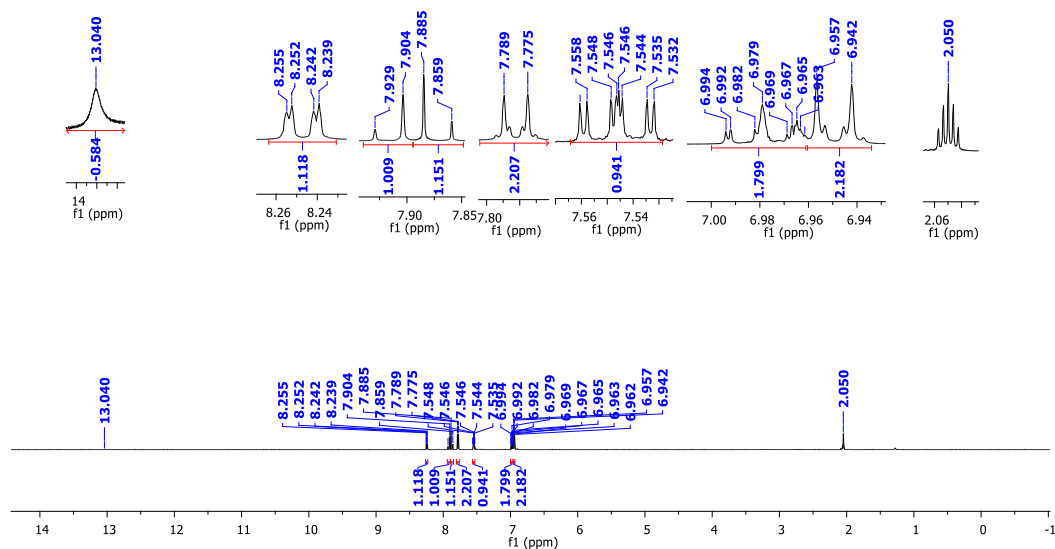
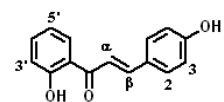
VENTOLA, C. L. The Antibiotic Resistance Crisis. **Pharmacy and Therapeutics**, v. 40, n. 4, p.277-283, 2015. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>>. Acesso em: 31 maio 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global tuberculosis report**: 2021. Disponível em:  
<<https://www.who.int/publications/i/item/9789240037021>>. Acesso em: 22 out. 2021.

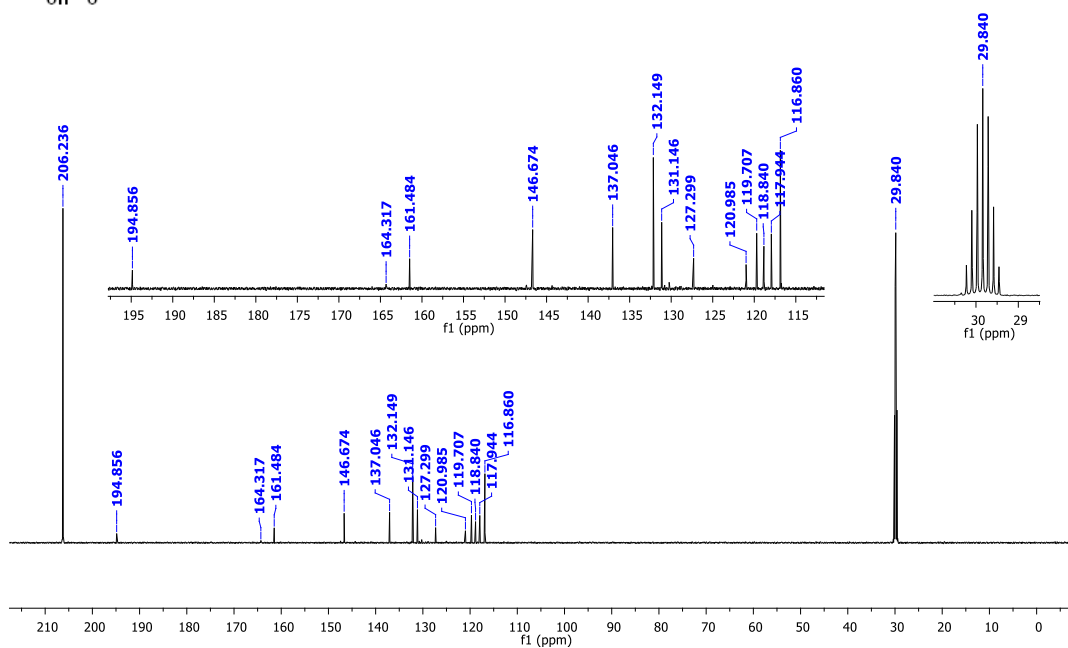
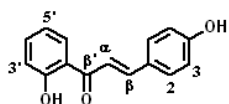
ZHUANG, C. et al. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. **Chem. Rev.**, v. 117, n. 12, p. 7762-7810, 2017. Disponível em:  
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6131713/>>. Acesso em: 07 abr. 2021.



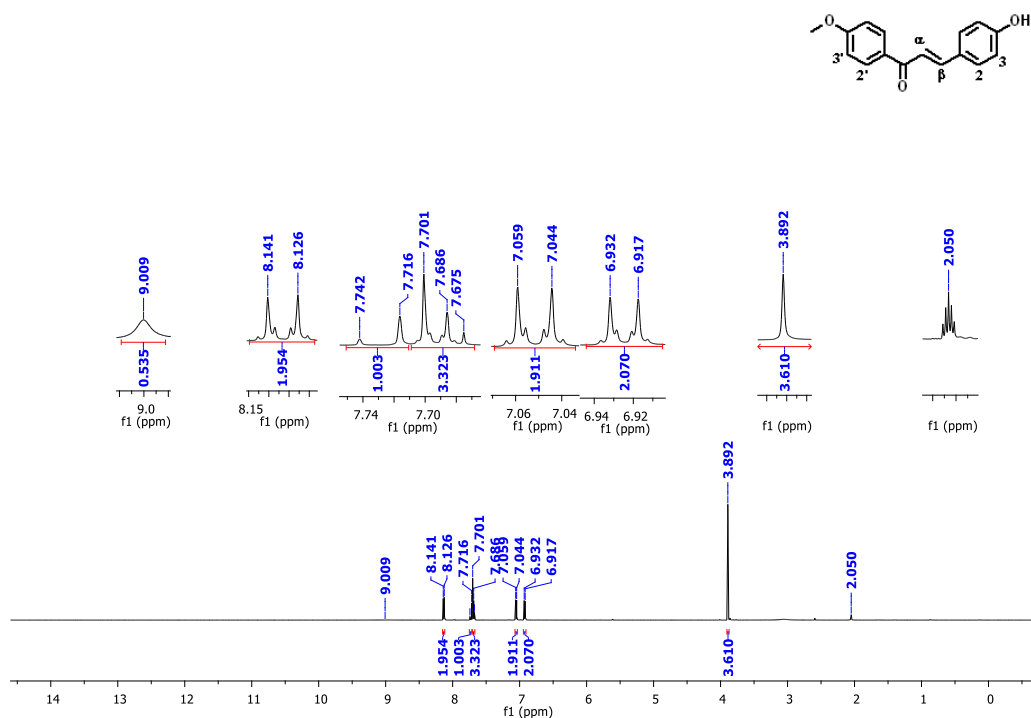
### ANEXO C – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 2 (Acetona- $\text{d}_6$ ; 600 MHz)



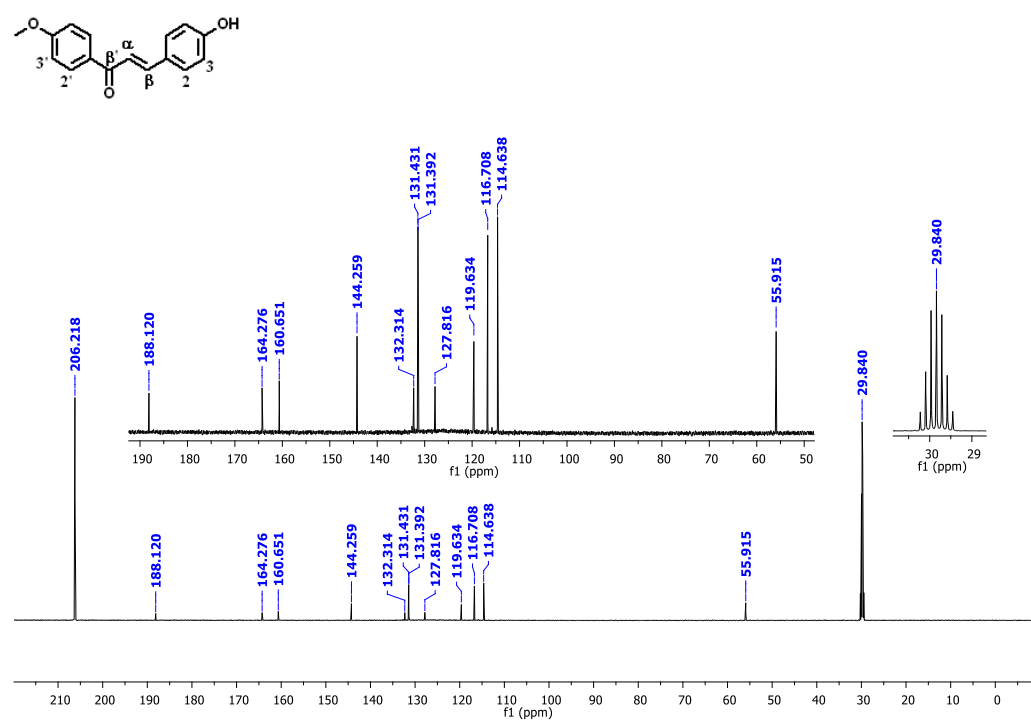
### ANEXO D – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ANA 2 (Acetona- $\text{d}_6$ ; 150 MHz)



### ANEXO E – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 3 (Acetona- $\text{d}_6$ ; 600 MHz)

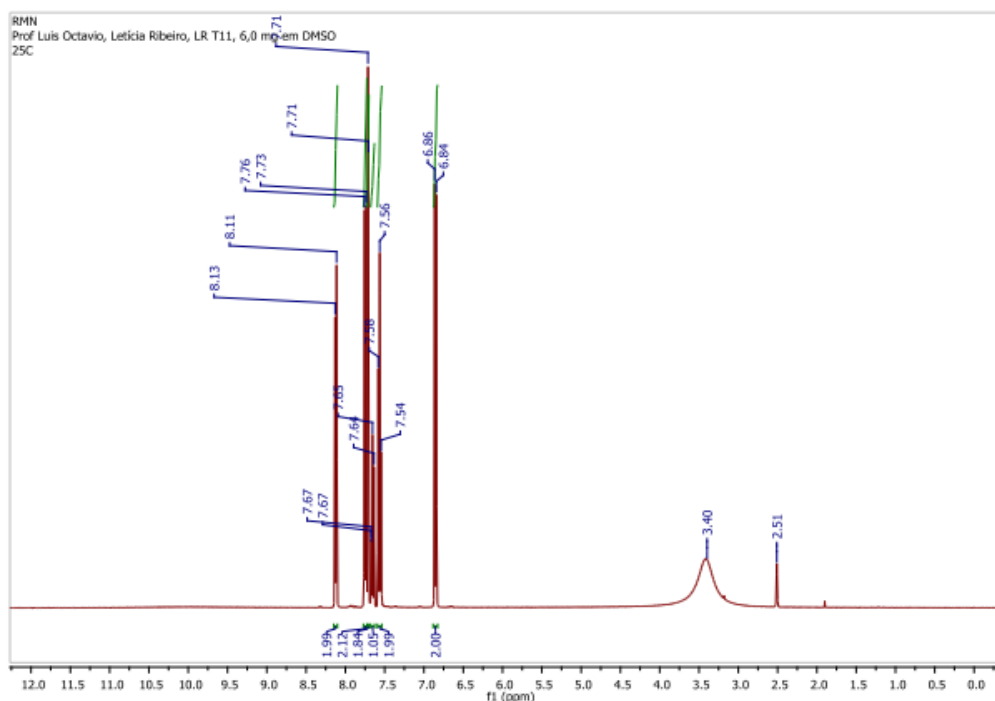


### ANEXO F – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ANA 3 (Acetona- $\text{d}_6$ ; 150 MHz)

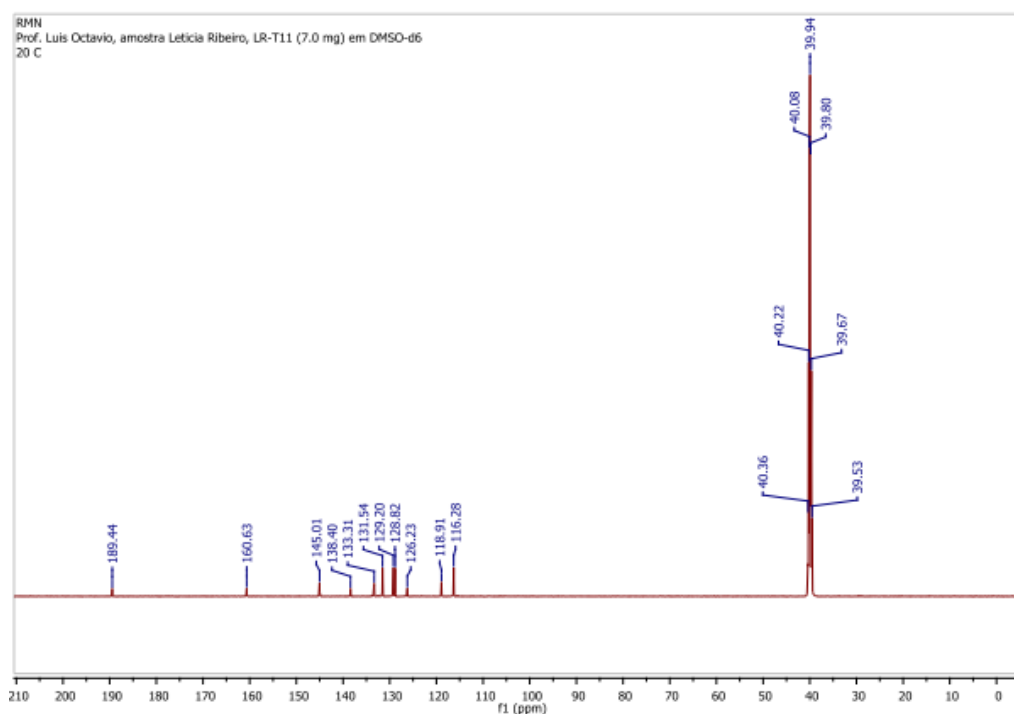


Os anexos G – N foram cedidos pela Ms. Leticia Ribeiro de Assis e encontram-se disponíveis a seguir.

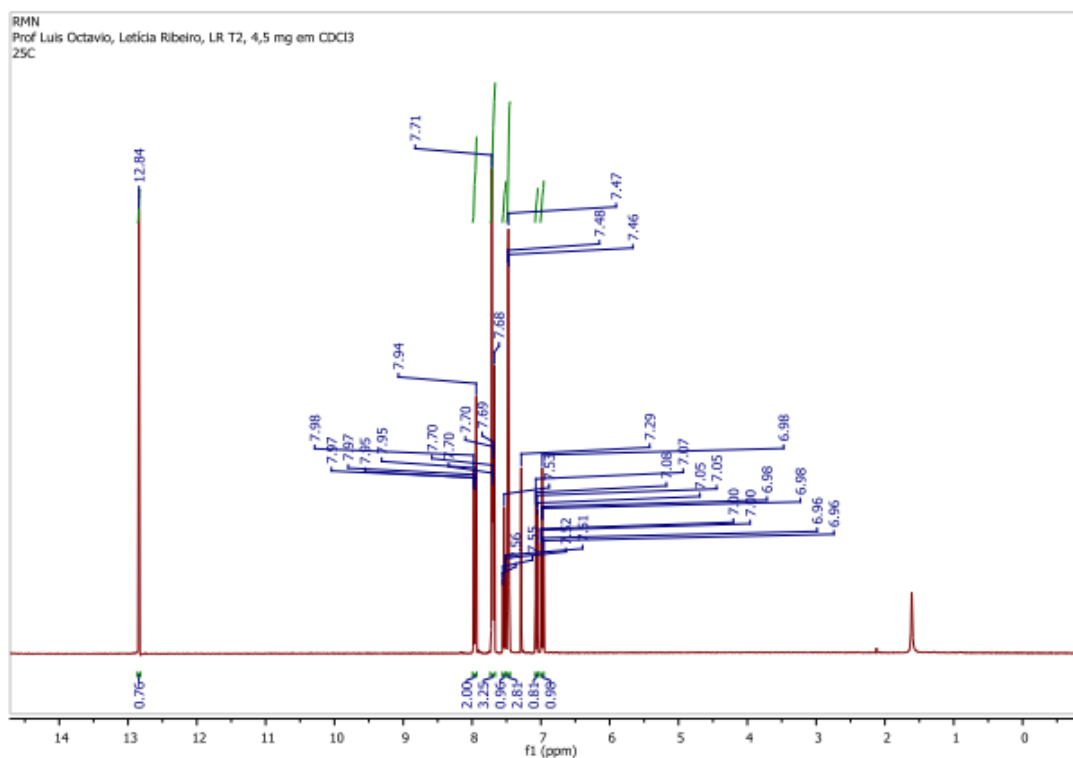
#### ANEXO G – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 4\* (DMSO- $d_6$ ; 600 MHz)



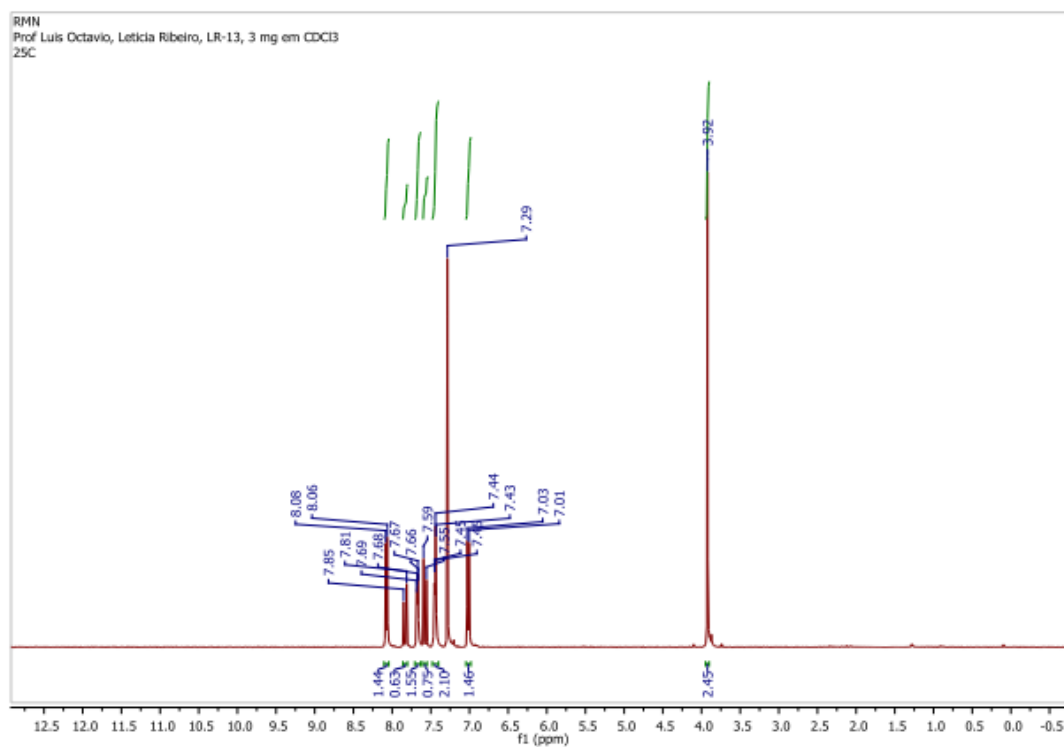
#### ANEXO H – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ANA 4\* (DMSO- $d_6$ ; 150 MHz)



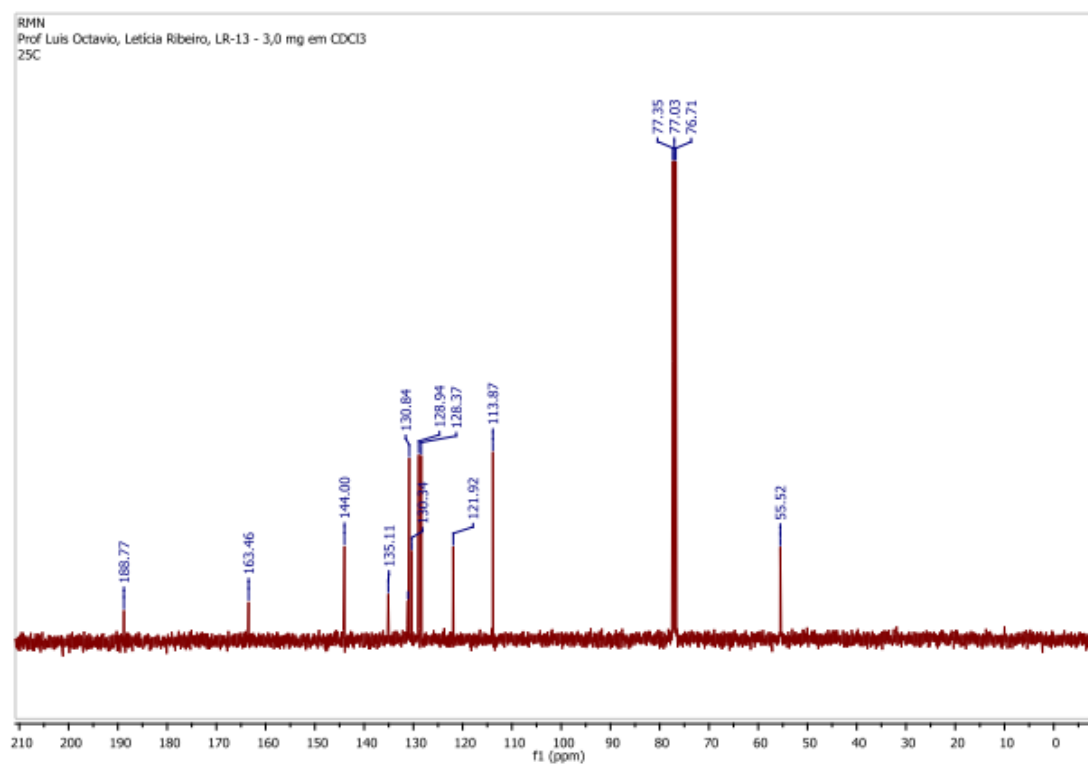
### ANEXO I – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 5\* ( $\text{CDCl}_3$ ; 600 MHz)

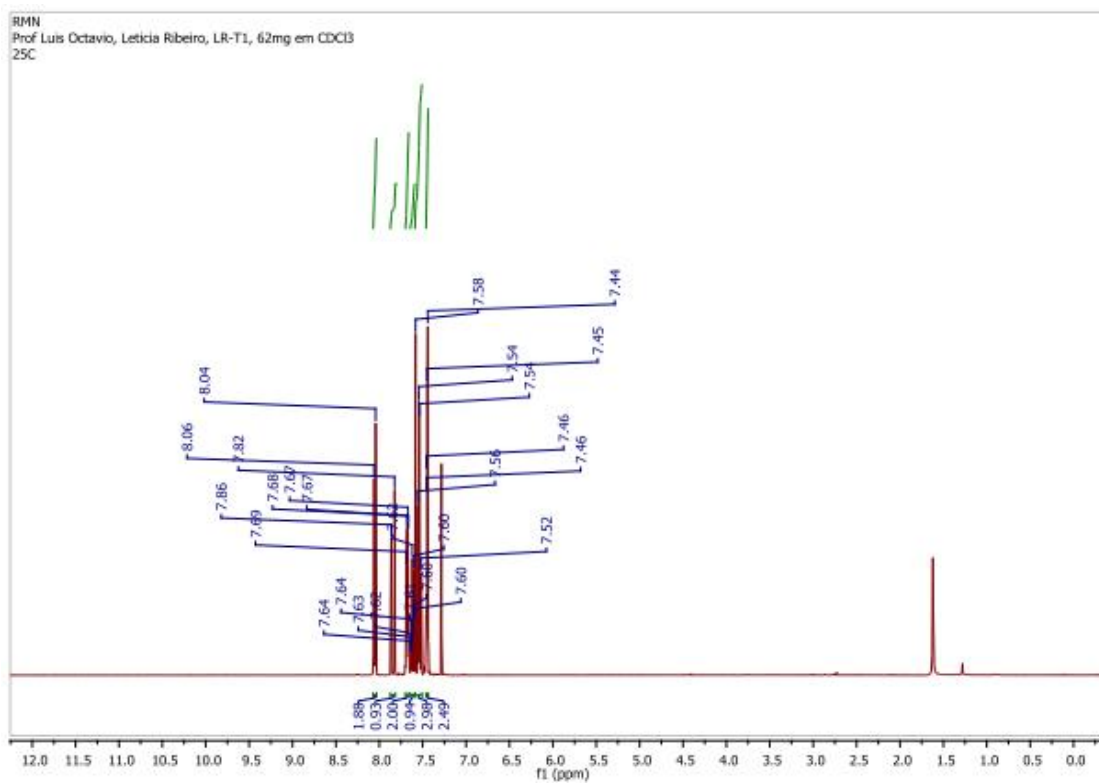
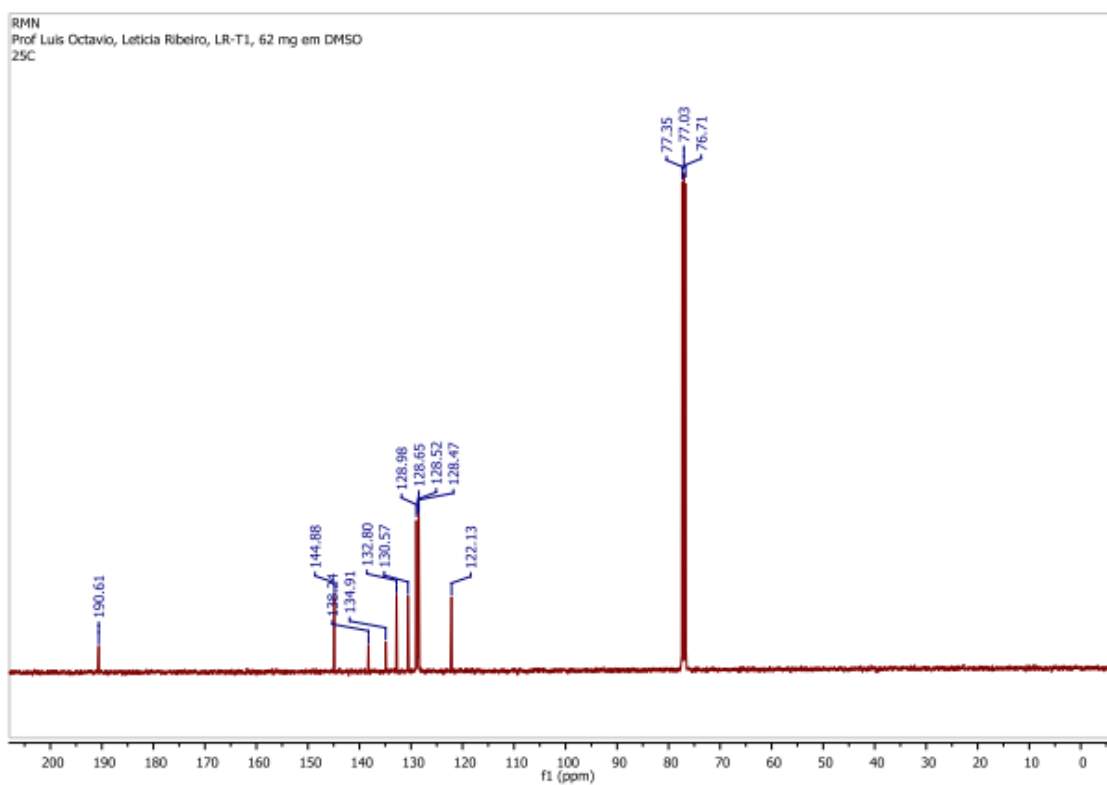


### ANEXO K – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 6\* ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz)



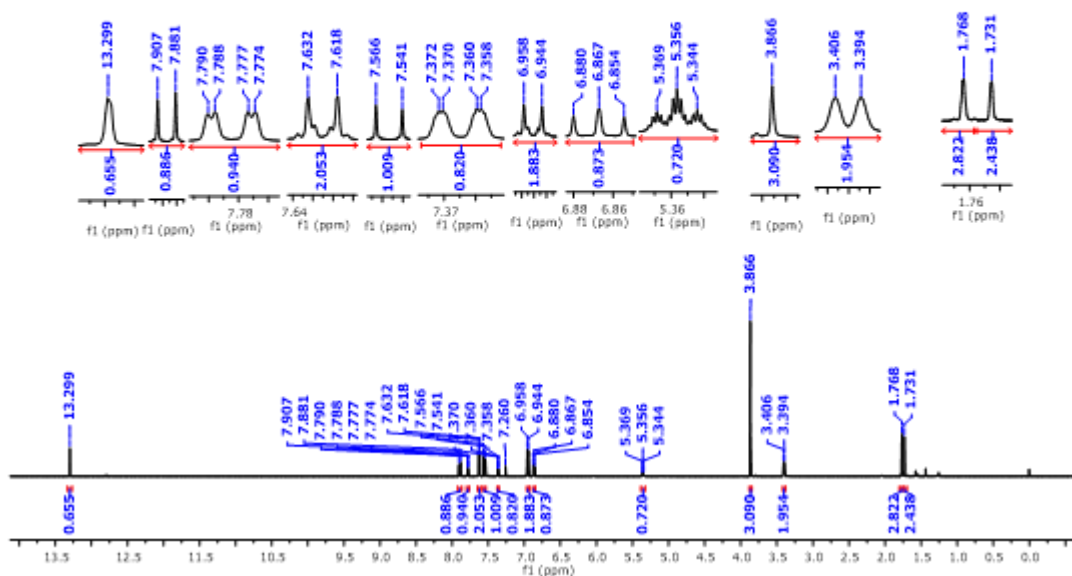
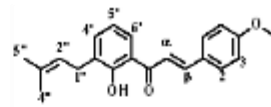
### ANEXO L – Espectro de RMN de $^{13}\text{C}$ ANA 6\* ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz)



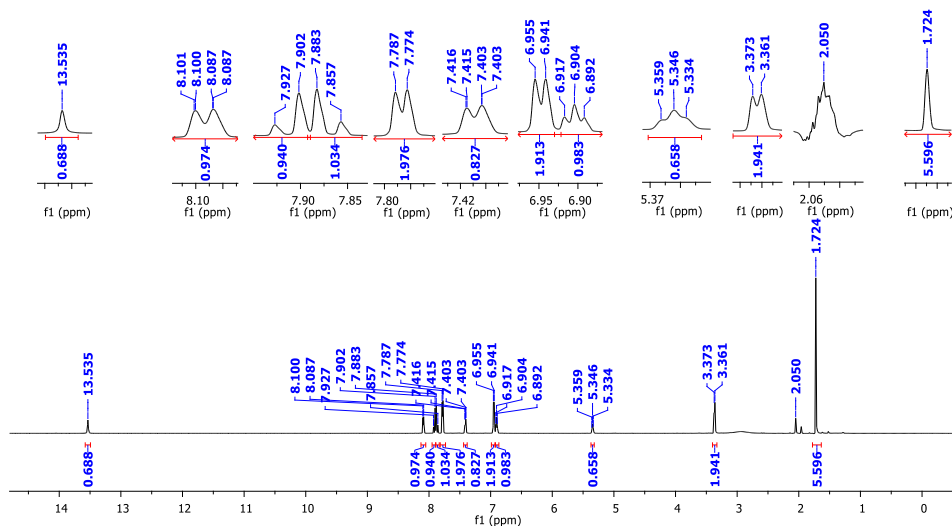
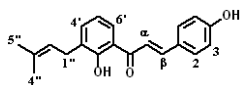
**ANEXO M – Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  ANA 7\* ( $\text{CDCl}_3$ ; 400 MHz)****ANEXO N – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ANA 7\* ( $\text{CDCl}_3$ ; 100 MHz)**

## ANEXO O – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 8 ( $\text{CDCl}_3$ , 600 MHz)

RarSDRa20112.44889

Prof. Luís Octávio, amostra AnaLuzia, ANA-6(F1) (5 mg) em  $\text{CDCl}_3$   
25.0 C

## ANEXO P – Espectro de RMN de $^1\text{H}$ ANA 9 (Acetona- $d_6$ , 600 MHz)



ANEXO Q – Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  ANA 9 (Acetona- $\text{d}_6$ , 150 MHz)