

BEATRIZ GONÇALVES OLIVEIRA CRESPO

Síntese e Avaliação da Atividade Antibacteriana de Chalconas Preniladas

São José do Rio Preto

2023

BEATRIZ GONÇALVES OLIVEIRA CRESPO

Síntese e Avaliação da Atividade Antibacteriana de Chalconas Preniladas

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

São José do Rio Preto

2023

C921s

Crespo, Beatriz Gonçalves Oliveira

Síntese e avaliação da atividade antibacteriana de chalconas preniladas / Beatriz Gonçalves Oliveira Crespo. -- São José do Rio Preto, 2023

52 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientador: Luis Octávio Regasini

1. Chalcona. 2. Análise cromatográfica. 3. Antibacterianos. 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.

BEATRIZ GONÇALVES OLIVEIRA CRESPO

Síntese e Avaliação da Atividade Antibacteriana de Chalconas Preniladas

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química, junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Luis Octávio Regasini

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini
UNESP – Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas

Prof. Dr. André Gustavo Tempone Cardoso
Instituto Adolfo Lutz

Prof. Dr. Fernando Cotinguiba da Silva
UFRJ – Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais

São José Do Rio Preto

06 de abril de 2023

Dedico este trabalho aos meus pais, Andréa e Paulo.

*Nadie puede pisotear tu libertad
Grita fuerte por si te quieren callar
Nadie puede detenerte
Si tú tienes fé*

(Dulce Maria)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Andréa e Paulo, por toda a contribuição para minha formação como pessoa e Química, sempre motivaram, me apoiaram e não mediram esforços para que eu chegasse até aqui,

A minha irmã e ao meu sobrinho, Rafaela, minha melhor amiga e companheira de todas as horas, que sempre me apoiou e me deu meu maior presente, Davi.

Aos meus avós, Manoela e Sebastião, Geusa e Paulo, que sempre acreditaram em mim e me apoiaram em todas as decisões,

Ao meu melhor amigo e companheiro de vida, Luiz Gustavo, que sempre esteve ao meu lado, me dando apoio, amor, carinho e conselhos nos momentos mais difíceis,

Aos meus tios Elaine e Adriano, e primos Giovanna e Lucas, me acolherem com todo amor e carinho durante 6 meses para a realização do meu sonho,

Aos meus sogros Lucia e Paulo, e a minha cunhada Ana Paula, por me apoiarem e acolherem tão bem na família,

Aos meus amigos do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ), especialmente ao Wilson Junior, Otávio Henrique, Paulo e Maria Isabel,

Ao professor Dr. Luis Octávio Regasini, por todo apoio e conselhos durante a execução deste trabalho,

Ao Fábio Moraes Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular, pela prontidão na realização dos espectros de RMN,

Aos professores doutores, Carlos Henrique Gomes Martins e Fernando Rogério Pavan pelos ensaios biológicos,

Ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE), e ao Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

RESUMO

As bactérias são microrganismos, que se encontram em praticamente todos os ambientes da Terra. Elas podem ser benéficas, como aquelas que vivem no intestino e ajudam na digestão, ou podem ser patogênicas, causando doenças em humanos, animais e plantas. As doenças causadas por bactérias podem ser mais simples, como infecções de garganta até mais graves e potencialmente fatais, como pneumonia bacteriana. Em decorrência disso, o objetivo geral deste trabalho é a síntese e avaliação de chalconas preniladas, afim de estudar a relação de estrutura e atividade antibacteriana. Estruturalmente, os compostos foram planejados sobre o protótipo 4'-hidroxi-4-*O*-geranilchalcona Assim sendo, 10 análogos chalcônicos foram propostos para serem sintetizados em duas séries, sendo a série I com modificações no anel A, com variações na posição da hidroxila, e a série II com modificações no anel B, variando as posições de diferentes grupos prenilas (isoprenila, geranila e farnesila). As sínteses foram realizadas em duas etapas, sendo a primeira envolveu uma reação de *O*-prenilação de derivados hidroxibenzaldeídicos, os quais foram submetidos à uma reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt com hidroxiacetofenonas. Após a síntese dos compostos foram realizados métodos cromatográficos para a purificação e técnicas de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) para a identificação estrutural. Em seguida, os compostos foram enviados pra ensaios biológicos para testar a atividade antibacteriana em Gram positivas e Gram negativas.

Palavras-chave: Antibacteriana. Chalconas preniladas. Cromatografia;

ABSTRACT

Bacteria are microorganisms that are found in virtually all environments on Earth. They can be beneficial, such as those that live in the gut and aid in digestion, or they can be pathogenic, causing disease in humans, animals, and plants. Diseases caused by bacteria can range from simple, such as throat infections, to more serious and potentially fatal, such as bacterial pneumonia. As a result, the overall objective of this work is the synthesis and evaluation of prenylated chalcones in order to study the structure-activity relationship for antibacterial activity. Structurally, the compounds were designed based on the prototype 4'-hydroxy-4-O-geranylchalcone. Accordingly, 10 chalcone analogs were proposed to be synthesized in two series, with series I containing modifications to ring A, varying the position of the hydroxyl group, and series II containing modifications to ring B, varying the positions of different prenyl groups (isoprenyl, geranyl, and farnesyl). Syntheses were carried out in two steps, with the first involving an O-prenylation reaction of hydroxybenzaldehyde derivatives, which were then subjected to a Claisen-Schmidt aldol condensation reaction with hydroxyacetophenones. After synthesis, chromatographic methods were used for purification and Nuclear Magnetic Resonance (NMR) techniques for structural identification. The compounds were then subjected to biological assays to test their antibacterial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria

Keywords: Antibacterial. Prenyl chalcone. Chromatography;

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura geral do núcleo	17
Figura 2. Estrutura 4'-hidroxi-4-geranilchaona (11) com atividade contra a <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	26
Figura 3. Grupos alila e prenilas	27

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Planejamento molecular dos análogos chalcônicos das séries I e II	18
Esquema 2. Estratégia de modificações no anel A – Série I	19
Esquema 3. Estratégia de modificações no anel B – Série II	19
Esquema 4. Estratégia sintética para obtenção das chalconas	20
Esquema 5. Formação do núcleo chalcônico	27
Esquema 6. Mecanismo de reação para a prenilação	28
Esquema 7. Mecanismo de reação para a condensação aldólica de Claisen-Schmidt	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tempo de reação dos grupos prenilas	28
Tabela 2. Rendimentos das reações	30
Tabela 3. Obtenção dos análogos de série I	31
Tabela 4. Obtenção dos análogos <i>O</i> -geranilado da série II	32
Tabela 5. Obtenção dos análogos <i>O</i> -isoprenilado série II	33
Tabela 6. Obtenção dos análogos <i>O</i> -alilado e <i>O</i> -farnesilado de série II	33
Tabela 7. Relação das amostras enviadas para ensaio de atividade antibacteriana e antimicobacteriana	34
Tabela 8. Resultados do MIC em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas	34
Tabela 9. Resultados do MIC em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas	34

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WHO – World Health Organization

TB – Tuberculose

FDA – Food and Drug Administration

DMSO – Dimetilsulfóxido hexadeuterado

CDCl₃ – Clorofórmio deuterado

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

MBT – *Mycobacterium tuberculosis*

CIM – Concentração Inibitória Mínima

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

RF – Fator de Retenção

EtOH – Etanol

OH – Hidroxila

E1cb – Eliminação unimolecular via base conjugada

ANEXOS

Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H de 1 (Acetona d_6 , 600MHz)	37
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C de 1 (Acetona d_6 , 151MHz)	38
Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H de 2 (CDCl_3 , 600MHz)	39
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C de 2 (Acetona d_6 , 151MHz)	40
Anexo 5. Espectro de RMN de ^1H de 3 (CDCl_3 , 600MHz)	41
Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C de 3 (Acetona d_6 , 151MHz)	42
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H de 4 (Acetona d_6 , 600MHz)	43
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C de 4 (Acetona d_6 , 151MHz)	44
Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H de 5 (Acetona d_6 , 600MHz)	45
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C de 5 (Acetona d_6 , 151MHz)	46
Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H de 6 (Acetona d_6 , 600MHz)	47
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C de 6 (Acetona d_6 , 151MHz)	48
Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H de 7 (DMSO- d_6 , 600MHz)	49
Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C de 7 (Acetona d_6 , 151MHz)	50
Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H de 8 (DMSO- d_6 , 600MHz)	51
Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C de 8 (DMSO- d_6 , 151MHz)	52

SUMÁRIO

1. Introdução	16
1.1. As bactérias	16
1.2. Antibacterianos	16
1.3. Chalconas	17
2. Objetivos	18
2.1. Objetivos gerais	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. Metodologia	18
3.1. Planejamento molecular dos análogos chalcônicos – séries I e II	18
3.2. Modificações no anel A – Série I	19
3.3. Modificações no anel B – Série II	19
4. Procedimento experimental	19
4.1. Estratégia sintética	19
4.2. Síntese dos compostos da série I	20
4.3. Síntese dos compostos da série II	21
4.4. Métodos cromatográficos e espectroscópios	24
4.4.1. Cromatografia em Camada Delgada	24
4.4.2. Cromatografia em Coluna de Gel de Sílica	25
4.4.3. Cromatografia em Coluna de Octadecilsilano	25
4.4.4. Cromatografia em Coluna de Permeação em Gel	25
4.4.5. Ressonância Magnética Nuclear	25
4.4.6. Ensaio Biológico	25
5. Resultado e discussão	26
5.1. Observações gerais	26
5.2. A série I	31
5.3. A série II	32
5.3.1. Chalconas <i>O</i> -geraniladas	32
5.3.2. Chalconas <i>O</i> -isopreniladas	32
5.3.3. Chalconas <i>O</i> -aliladas e <i>O</i> -farnesiladas	33
5.4. Ensaios de Atividade antibacteriana	33
6. Conclusões e perspectivas	35
7. Referências	35
8. Anexo	37

1. INTRODUÇÃO

1.1 As bactérias

As bactérias são seres vivos unicelulares e microscópicos que pertencem ao reino Monera. Elas são encontradas em praticamente todos os habitats do planeta Terra, desde os mais extremos, como água fervente e geleiras, até os mais comuns, como solo e água. Além disso, elas também podem ser encontradas em seres vivos, incluindo plantas, animais e outros microorganismos. As bactérias são capazes de se reproduzir rapidamente, o que as torna uma das formas de vida mais bem-sucedidas do planeta. Elas podem apresentar formas variadas, como esferas, bastonetes ou espirais, e muitas delas são capazes de se mover por meio de flagelos ou cílios.

Algumas bactérias são benéficas, como aquelas que habitam o trato digestivo humano e ajudam na digestão de alimentos, enquanto outras podem causar doenças. As doenças bacterianas podem variar em gravidade e sintomas, dependendo do tipo de bactéria envolvida e do local da infecção. Algumas das doenças bacterianas mais comuns incluem: pneumonia, meningite, infecções de pele, infecções no trato urinário e até doenças sexualmente transmissíveis. Além disso, é importante destacar que pacientes com HIV (vírus da imunodeficiência humana) têm um sistema imunológico enfraquecido, o que pode torná-los mais suscetíveis a infecções bacterianas, especialmente aquelas que são oportunistas, ou seja, que aproveitam a fraqueza do sistema imunológico para se proliferar.

Desse modo, percebe-se que alguns tipos de bactérias são particularmente problemáticos em pacientes com HIV, como o *Streptococcus pneumoniae* e o *Haemophilus influenzae*, que podem causar pneumonia bacteriana, meningite e outras infecções graves. O tratamento das infecções bacterianas em pacientes com HIV pode ser desafiador, pois alguns antibióticos podem ter interações com os medicamentos antirretrovirais utilizados para tratar a infecção pelo HIV.

Apesar de muitas doenças causadas por bactérias serem possivelmente fatais, existem métodos de prevenção e de tratamento. Para a prevenção, as vacinas são grandes aliadas e possuem extrema importância para prevenção dessas enfermidades. Caso ocorra a infecção, antibacterianos são ministrados para matar e impedir o crescimento das bactérias, evitando que a infecção piore.

1.2 Antibacterianos

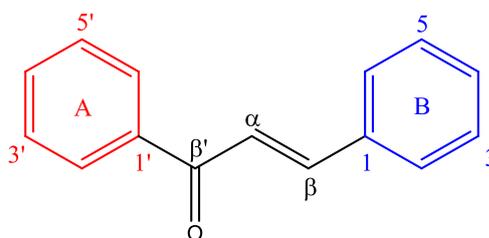
Os Antibacterianos são medicamentos que combatem infecções causadas por bactérias. Eles são usados para matar ou inibir o crescimento de bactérias, impedindo sua reprodução e ajudando o sistema imunológico do corpo a combater a infecção. Eles são amplamente utilizados em hospitais e consultórios médicos para tratar uma variedade de infecções, desde infecções do trato urinário até pneumonia e sepse. No entanto, o uso excessivo e inadequado de antibacterianos tem levado ao aumento da resistência bacteriana a esses medicamentos. A resistência ocorre quando as bactérias são capazes de sobreviver ao tratamento com antibacterianos, muitas vezes porque elas evoluíram para se adaptar ao medicamento. A resistência a antibacterianos é uma ameaça crescente à saúde pública em todo o mundo e tem sido associada a um aumento na morbidade, mortalidade e custos de saúde.

Para combater a resistência a antibacterianos, é importante usar esses medicamentos de forma responsável e seguir as orientações do médico em relação à dosagem e duração do tratamento. Também é importante evitar o uso desnecessário, como em casos de infecções virais ou outras condições que não respondem a esses medicamentos. Além disso, é crucial investir em pesquisa e desenvolvimento de novos antibacterianos, bem como promover práticas de prevenção de infecções para reduzir a necessidade de tratamento com antibacterianos. Diante disso, o projeto busca explorar a atividade antibacteriana de compostos naturais.

1.3 Chalconas

As chalconas (ou 1,3-diaril-2-propen-1-ona) pertencem à família dos flavonoides, sendo substâncias que podem ser encontradas em frutas, vegetais, chás e especiarias (NOWAKOWSKA, 2006). Além disso, as chalconas possuem propriedades biológicas *in vitro* e *in vivo*, exibindo um amplo espectro de possibilidades de exploração terapêutica, incluindo as atividades anti-inflamatória, antibacteriana, antifúngica, antioxidante, antitumoral, entre outros (ZHUANG, 2017). Estruturalmente, as chalconas são formadas por duas unidades fenílicas (anéis A e B), separados por uma ponte cetônica α,β -insaturada (DEWICK, 2009).

Figura 2. Estrutura geral do núcleo chalcônico



Devido às propriedades farmacológicas que apresentam, as chalconas se tornaram um grande alvo de pesquisa científica em busca de análogos chalcônicos (podendo ou não conter substituintes nos anéis A e B) que possam melhorar as atividades biológicas.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é a síntese de análogos chalcônicos com modificações no anel A e B, e a avaliação da atividade antibacteriana de chalconas preniladas.

2.2. Objetivos específicos

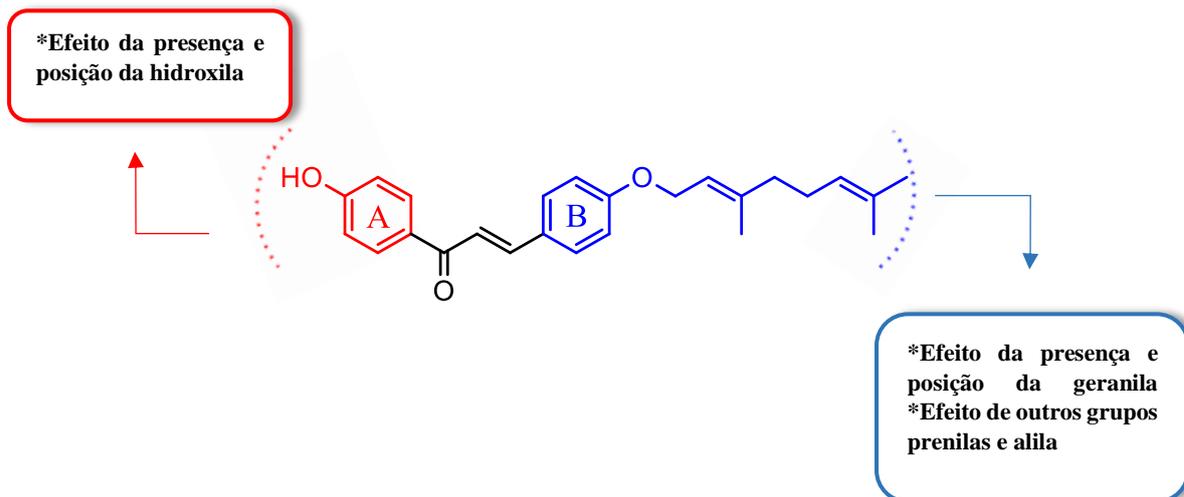
- Síntese de 10 análogos chalcônicos, explorando a posição de grupos hidroxilas e prenilas;
- Avaliação de atividade biológica contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas

3. METODOLOGIA

3.1. Planejamento Molecular dos Análogos Chalcônicos - Séries I e II

Foram planejadas duas séries de análogos chalcônicos. Na série I, foram realizadas modificações no anel A, e na série II, modificações foram feitas no Anel B.

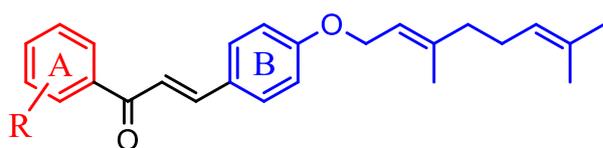
Esquema 1. Planejamento molecular dos análogos chalcônicos das séries I e II.



3.2. Modificações no anel A – Série I

Foram planejados 3 análogos para a série I. Essa série se baseia em modificações apenas no anel A, com o anel B com um grupo *O*-geranila *para*-posicionado. Com essas substituições propostas para esses análogos, será possível compreender importância da presença de um grupo hidroxila fenólico, além disso, a importância da posição (*orto*, *meta* e *para*) em que esse grupo de encontra.

Esquema 2. Estratégia de modificações no anel A – Série I

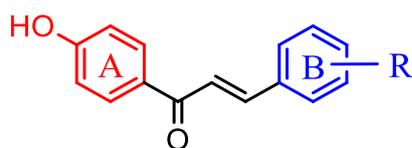


1. R = H
2. R = 3'-OH
3. R = 2'-OH

3.3. Modificações no anel B – Série II

Foram planejados 7 análogos para a série II. As modificações nessa série irão ocorrer apenas no anel B, com o anel A com um grupo hidroxila *para*-posicionado. As substituições serão nas posições *orto*, *meta* e *para*, para os grupos geranila e isoprenila, a fim de comparar a importância desses grupos para a bioatividade. Além disso, inicialmente, serão testados na posição *para* os grupos alila e farnesila, e caso esses grupos apresentem uma maior atividade biológica quando comparados com a geranila e isoprenila, uma nova série de análogos será desenvolvida para que os grupos sejam testados em posições *orto* e *meta*.

Esquema 3. Estratégia para modificações no anel B – Série II



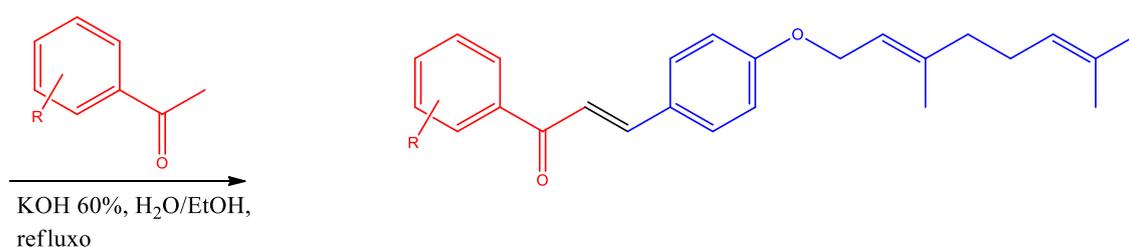
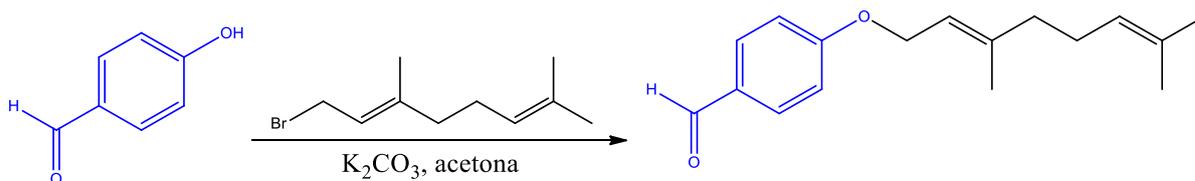
4. R = 3-*O*-geranila
5. R = 2-*O*-geranila
6. R = 4-*O*-isoprenila
7. R = 3-*O*-isoprenila
8. R = 2-*O*-isoprenila
9. R = 4-*O*-alila
10. R = 4-*O*- farnesila

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. Estratégia sintética

Para a síntese dos 10 análogos chalcônicos será utilizada uma estratégia sintética com duas etapas. A primeira é uma reação de *O*-geranilação de um aldeído. A segunda etapa, será realizada uma condensação de Claisen-Schmidt.

Esquema 4: Estratégia sintética para obtenção das chalconas.



4.2. Síntese dos compostos da série I

Síntese do análogo **1**: Em um balão em banho de gelo foram adicionados 780 mg de K_2CO_3 e 5 mL de acetona, seguido de 200 mg de 4-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol). Após 10 minutos agitação constante, adicionou-se brometo de geranila (0,32 mL, 1,64 mmol) em quatro alíquotas de 0,1 mL cada em um intervalo de 15 min. Após 2,5 h a reação, observou a conversão total, sendo o meio reacional submetido a uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água como contra-fases, para a remoção do K_2CO_3 . A fase orgânica foi evaporada sob pressão reduzida em evaporador rotativo, obtendo-se um óleo marrom claro. Na segunda etapa, para a reação de condensação de Claisen-Schmidt, adicionou-se 250 mg de acetofenona (2,57 mmol) solubilizada em 5 mL de etanol. Em seguida, gotejou-se lentamente uma solução de 2 mL de KOH na reação em banho de gelo. Após 15 minutos, solubilizou-se o produto da primeira etapa, o aldeído *O*-geranilado (2,32 mmol), em 2 mL de etanol, que depois foi adicionado na reação em 4 alíquotas de 0,5 mL em intervalos de 10 minutos. Após 24 horas, ainda havia quantidades detectáveis de reagentes, porém a reação foi interrompida para evitar a formação de mais subprodutos. Após o término da reação, foi realizada uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água como contra-fases, extraíndo a substância para para a fase orgânica. Inicialmente, análogo **1** foi submetido cromatografia de gel de sílica, eluído em hexano e acetato (95:5) para retirar subprodutos formados, e em seguida, a amostra purificada por cromatografia em octadecilsilano, eluída

em 6:4 (etanol/água). Foi obtido 184 mg de um sólido amarelo claro, com rendimento global de 18%.

Síntese do análogo 2: De maneira similiar ao análogo 1, foi realizada uma reação de *O*-prenilação com 780 mg de carbonato de potássio, e 200 mg de 4-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol), utilizando a acetona como solvente, e em seguida, foi adicionado brometo de geranila (0,32 mL, 164 mmol) A reação foi acompanhada por cromatografia em camada delgada e interrompida após 2,5 h. Na segunda etapa, em um balão e em banho de gelo, colocou-se 200 mg de 3'-hidroxiacetofenona (3,42 mmol) dissolvida em 5 mL de etanol. Paralelamente, foi prepada uma solução de 2 mL de KOH 60% e à solução de 3'-hidroxiacetofenona foi adicionada gota-à-gota. Em seguida, solubilizou-se o aldeído 4-*O*-geranilado em 2 mL de etanol, que foi adicionado em quatro alíquotas de 0,5 mL em intervalos de 10 minutos. A reação foi interrompida após 48 horas. O produto bruto foi purificado em cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando uma mistura de hexano e acetato de etila (8:2). Obteve-se 47 mg da amostra pura, um rendimento de 7%.

Síntese do análogo 3: A síntese desse análogo foi realizada em duas etapas, sendo a primeira uma reação de *O*-prenilação. De modo semelhante, utilizou-se carbonato de potássio (680 mg), e 200 mg de 4-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol) que foi solubilizado em acetona (5 mL) e adicionado ao balão da reação. Após o término da primeira reação, a etapa da condensação de Claisen-Schmidt foi iniciada. Adicionou-se em um balão e em banho de gelo, 250 mg de 2'-hidroxiacetofenona (3,42 mmol) solubilizada em 5 mL de etanol. Em seguida, gotejou-se a solução básica. Por último, foi adicionado o aldeído 4-*O*-geranilado, em quatro alíquotas de 0,5 mL em intervalos de 10 minutos. Após 24 h, a reação foi interrompida. O produto bruto foi purificado por duas técnicas, sendo a primeira cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída em hexano e acetato de etila (95:5) e posteriormente por cromatografia em coluna de octadecilsilano, eluída em etanol e água (6:4). Foi obtido 166 mg, com um rendimento global de 15%.

4.3. Síntese dos compostos da série II

Síntese do análogo 4: Em um balão e em banho de gelo, adicionou-se 780 mg de carbonato de potássio e 5 mL de acetona, seguido de 200 mg de 3-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol) dissolvido em 2 mL de acetona. Em seguida, colocou-se brometo de geranila (0,32

mL, 1,64 mmol) em quatro alíquotas de 0,1 mL em intervalos de 10 min. Após 2,5 h, o material de partida havia sido consumido totalmente. Foi realizada uma partição líquido-líquido em acetato de etila e água, sendo fase orgânica evaporada, fornecendo um óleo com coloração marrom. Na segunda etapa, foi realizada a reação de Claisen-Schmidt, similarmente às reações anteriores. Em um balão, foi adicionado 250 mg de 4'-hidroxiacetofenona (1,68 mmol) com etanol (5 mL) em banho de gelo e sob agitação constante. Em seguida, foi gotejado lentamente uma solução de KOH 60%. Após 15 min, o aldeído 3-*O*-geranilado foi dissolvido em 2 mL de etanol e posteriormente, a ele foram adicionadas quatro alíquotas em intervalos de 15 min. A conversão dos reagentes foi acompanhada por cromatografia em camada delgada. Após 24 h, a reação foi interrompida para evitar a formação de subprodutos. Foi realizada uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água. A fase orgânica foi seca e purificada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com uma mistura de hexano, diclorometano e acetona (5:1:0,5), dando origem a um pó amarelo. Foi obtido 106 mg da amostra, um rendimento global de 17%.

Síntese do análogo 5: De maneira semelhante ao descrito para a preparação do análogo 4, foram realizadas duas etapas sintéticas. A primeira envolveu uma reação de *O*-prenilação e em seguida uma reação de condensação de Claisen-Schmidt. Para a síntese de 5, foi utilizado o 2-hidroxibenzaldeído. Todos os demais procedimentos de síntese e purificação foram similares àqueles empregados para a síntese de 4, porém com diferença na proporção da fase móvel utilizada. A coluna foi eluída em uma mistura de hexano, diclorometano e acetona (5:0,5:0,2). Obteve-se 83 mg de um sólido amarelo alaranjado, com rendimento global de 14%.

Síntese do análogo 6: Em um balão e em banho de gelo foram adicionados 780 mg de carbonato de potássio e 5 mL de acetona, seguido de 300 mg (2,45 mmol) de 4-hidroxibenzaldeído solubilizado 2 mL de acetona. Posteriormente, foi colocado brometo de isoprenila (0,39 mL, 3,43 mmol) em quatro alíquotas iguais e em intervalos de 10 minutos. Após 2 h, todos os reagentes foram convertidos. Foi realizada uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água como contra-fases. A fase acetato de etila foi evaporada e aldeído *O*-isoprenilado foi obtido como um óleo amarelo claro. Em seguida, foi realizada a reação de Claisen-Schmidt. Em um balão, 671 mg (4,93 mmol) de 4'-hidroxiacetofenona foram solubilizados em 5 mL de etanol. Em seguida, foi gotejada uma solução de KOH (2 mL, 60%). Após 15 min, o aldeído *O*-isoprenilado foi colocado em quatro alíquotas de 0,5 mL cada,

com intervalos de 10 minutos. Após 24 h, a reação foi interrompida após o consumo dos reagentes. Foi realizada uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água para a extração do produto bruto pela fase orgânica, a qual foi evaporada em evaporador rotativo. O produto bruto foi purificado por meio de cromatografia em coluna de gel de sílica eluída com hexano e acetato de etila (7:3), obtendo-se 198 mg de um sólido amarelo, com rendimento global de 28%.

Síntese do análogo 7: Para a obtenção do composto **7**, foram realizadas duas reações, iguais às descritas anteriormente para o análogo **6**. A diferença nessa síntese foi a utilização do 3-hidroxibenzaldeído na primeira etapa. Os procedimentos de síntese foram idênticos àqueles adotados para o análogo **6**. O processo de purificação foi por meio de cromatografia em gel de sílica, eluída em 7:3, seguido de cromatografia em coluna de octadecilsilano, eluída em 7:3 (etanol/água), obtendo-se um sólido amarelo, com rendimento global de 11%.

Síntese do análogo 8: Para a obtenção do composto **8**, foram realizadas duas reações, iguais às descritas anteriormente para os análogos **6** e **7**. A diferença nessa síntese foi a utilização do 2-hidroxibenzaldeído (salicilaldeído) na primeira etapa. Os procedimentos de síntese e purificação foram idênticos àqueles adotados para os análogos **6** e **7**. Contudo, a purificação de **8** foi realizada por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída em 7:3 (hexano/acetato de etila). Foi obtido puro 173 mg, um sólido amarelo alaranjado, com rendimento global de 23%.

Síntese do análogo 9: Em um balão e em banho de gelo foram adicionados 780 mg de carbonato de potássio em 5 mL de acetona, seguido de 200 mg de 4-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol) solubilizados em 2 mL de acetona. Em seguida, foi adicionado à reação brometo de alila (0,17 mL, 1,96 mmol), em duas alíquotas em intervalos de 10 min. Após 1,5h, a reação foi interrompida, pois todo o material de partida foi consumido. Foi realizada uma partição líquido-líquido utilizando acetato de etila e água como contra-fases. A fase orgânica foi evaporada em evaporador rotativo, restando um óleo amarelo pálido. Em seguida, foi realizada a reação de Claisen-Schmidt. Em um balão foram adicionados 250 mg de 4-hidroxiacetofenona (3,25 mmol), a qual foi solubilizada em 5 mL de etanol. Em seguida, uma solução de KOH (2 mL, 60%) foi gotejada no meio reacional. Após 15 min, colocou-se o produto da primeira reação (440 mg) dissolvido em 2 mL de etanol em quatro alíquotas de 0,5 mL em intervalos 10 min. Após 24 h, a reação foi interrompida. Foi realizada uma

partição líquido-líquido com acetato de etila e água para a extração do produto bruto pela fase orgânica, a qual foi evaporada em rotaevaporador o solvente. O produto obtido não foi purificado, pois apresenta o mesmo fator de retenção que sua acetofenona.

Síntese do análogo 10: De maneira semelhante aos procedimentos anteriores, foram realizadas duas sínteses para esse análogo. Sendo a primeira uma síntese de Williamson, seguida de uma condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Em um balão e em banho de gelo foram adicionados 780 mg de carbonato de potássio em 5 mL de acetona, seguido de 200 mg de 4-hidroxibenzaldeído (1,64 mmol) que foram solubilizados em 2 mL de acetona. Posteriormente, adicionou-se cloreto de farnesila (0,55mL, 196mmol), em quatro alíquotas com intervalo de 10 min entre elas. Após 24 horas, todo o aldeído foi consumido e a reação chegou ao fim. Realizou-se uma partição com acetato de etila e água como contra-fases. A fase orgânica foi coletada e levada ao ecaporador rotativo, rendendo um óleo marrom claro. Na reação de condensação, foram adicionados em um balão 235 mg de '4-hidroxiacetofenona (172mmol), a qual foi solubilizada em 5 mL de etanol. Em seguida, uma solução de KOH (2 mL, 60%) foi gotejada no meio reacional. Após 15 minutos, adicionou-se o produto da primeira reação (635 mg) dissolvidos em 2 mL de etanol em quatro alíquotas de 0,5 mL com um intervalo de 10 minutos entre elas. Após 36 horas, a reação foi interrompida devido a formação de subprodutos. Foi realizada uma partição líquido-líquido com acetato de etila e água para a extração do produto bruto pela fase orgânica, a qual foi levada para o rotaevaporador para retirar o solvente. Infelizmente, não foi possível purificar o análogo 10, devido a formação excessiva de subprodutos.

4.4. Métodos cromatográficos e espectroscópicos

Para o acompanhamento das reações e purificação e dos compostos, foram utilizados métodos cromatográficos, incluindo cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna de gel de sílica, cromatografia em coluna de octadecilsilano e cromatografia em coluna de permeação em gel. Para a caracterização estrutural desses compostos, foram realizadas análises espectroscópicas por Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e Carbono-Treze (RMN de ^{13}C).

4.4.1. Cromatografia em Camada Delgada

A cromatografia em camada delgada foi utilizada para o acompanhamento das reações, reunião das frações após separações cromatográficos e verificação de pureza. Para isso,

utilizou-se placas e gel de sílica uma base de alumínio (8.0– 12.0 μm , 200 μm). Para uma visualização dos analitos, as cromatoplasmas foram reveladas sob lâmpadas ultravioleta de 365 nm e 254 nm e em seguida, com o reagente anisaldeído sulfúrico. As cromatoplasmas foram adquiridas da Supelco® e Sigma-Aldrich®.

4.4.2. Cromatografia em Coluna de Gel de Sílica

. Para a realização de cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizou-se gel de sílica 100 a 200 Mesh (Sigma Aldrich®) como fase estacionária. Como fase móvel, utilizou-se misturas de solventes, incluindo hexano, acetato de etila, acetona e diclorometano. As proporções de cada solvente variaram-se de acordo com cada amostra.

4.4.3. Cromatografia em Coluna de Octadecilsilano

A cromatografia em coluna de octadecilsilano (ODS, C18) é uma técnica de cromatográfica de fase reversa, para a qual utilizou-se misturas de água e etanol como eluentes. A fase estacionária foi adquirida da Supelco®. As proporções de etanol/água foram variadas de acordo com a amostra em processo de purificação.

4.4.4. Cromatografia em Coluna de Permeação em Gel

A cromatografia de permeação em gel (ou cromatografia de exclusão molecular) foi realizada tendo como suporte cromatográfico Sephadex LH-20 (Sigma Aldrich®). Como fase móvel foi utilizado etanol.

4.4.5. Ressonância Magnética Nuclear

A análise dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) foi utilizada para a confirmação da identidade das substâncias sintetizadas. Os espectros foram obtidos nos espectrômetros Bruker Avance III, de 14,0 Tesla,. Para as análises, as substâncias foram solubilizadas em solventes deuterados, incluindo acetona-d₆, CDCl₃ e DMSO.

4.5.6. Ensaio Biológico

Para os ensaios de microdiluição seriada, foram utilizadas as cepas bacterianas obtidas da American Type Culture Collection (ATCC®, Rockville, MD, USA), sendo elas *Staphylococcus aureus* BAA 44 (MRSA), *S. aureus* ATCC 6538, *S. pneumoniae* ATCC6305, *S. sobrinus* ATCC 33478, *S. sanguinis* ATCC 10556, *S. mutans* ATCC 25175, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27453, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

As bactérias foram cultivadas em caldo Infusão Cérebro e Coração (CICC) do inglês Brain Heart Infusion Broth (BHIB) mantidos a 37°C por 24 horas. Após esse período foi ajustado a turbidez da solução comparando com a solução padrão McFarland de 0,5 que equivale à 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL (CLSI, 2020). Os diferentes compostos, inicialmente, foram diluídos em dimetilsulfóxido (DMSO) a 1% estéril e a solução estoque foram preparadas em caldo CICC estéril na concentração estoque de 800 µg.mL⁻¹ (CLSI, 2006).

As placas de 96 poços foram preenchidas com 80 µL CICC e em seguida foram adicionados 100 µL da solução estoque de cada chalcona, executando a microdiluição seriada e completando os poços com 10 µL de inóculo bacteriano e 10 µL do corante estéril resazurina 0,1%. Também foram realizados o controle de esterilidade do meio de cultura, o controle de crescimento bacteriano, o controle negativo (DMSO) e controle de suscetibilidade sendo, Vancomicina para *S. aureus* BAA 44 (MRSA), Tetraciclina para *S. aureus* ATCC 6538, *S. pneumoniae* ATCC6305, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27453 e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 e Clorexidina para *S. sobrinus* ATCC 33478, *S. sanguinis* ATCC 10556, *S. mutans* ATCC 25175.

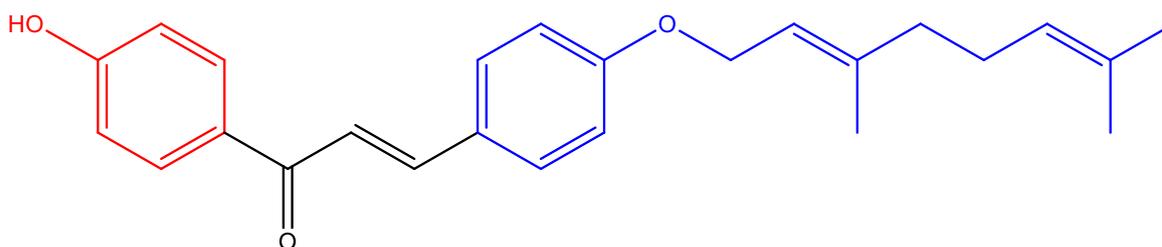
As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Por leitura visual do resultado, o crescimento bacteriano foi indicado pelo consumo da resazurina alterando a cor do meio para verde claro e a inibição da foi indicada pela manutenção do tom azul esverdeado do meio.

5. RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1. Observações gerais

Os análogos chalcônicos propostos neste trabalho foram baseados na 4'-hidroxi-4-*O*-geranilchalcona, um composto sintetizado e purificado no Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ) que apresentou atividade biológica contra *M. tuberculosis*. A partir deste composto, foram propostas duas séries de congêneres, com o objetivo de potencializar a bioatividade e estabelecer dados de relações estrutura-atividade.

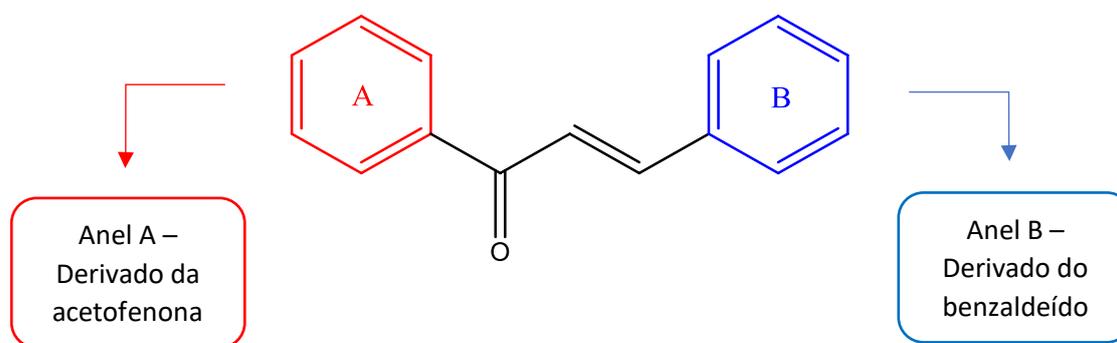
Figura 2. Estrutura da 4'-hidroxi-4-*O*-geranilchalcona (**11**) com atividade contra a *Mycobacterium tuberculosis*



Como mencionado anteriormente, as chalconas são cetonas α,β -insaturadas, e são formadas por dois anéis aromáticos A e B. Para a obtenção de um núcleo chalcônico, é feita

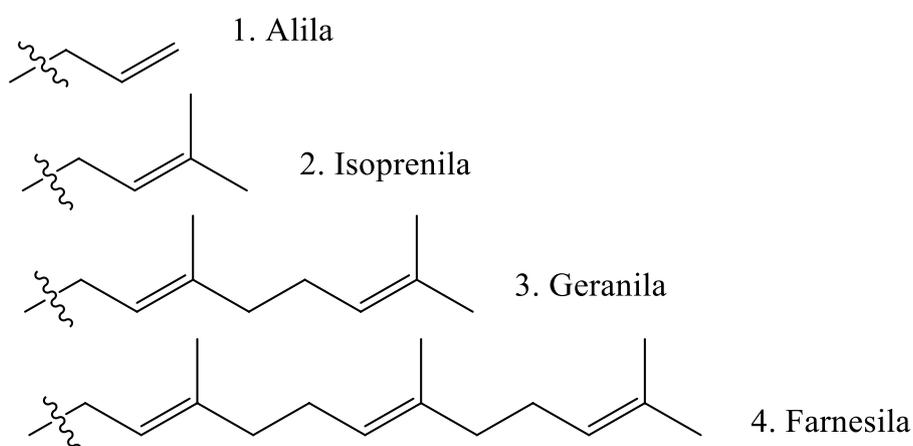
uma reação, conhecida como condensação aldólica de Claisen-Schmidt, onde reage-se um derivado acetofenônico e um derivado benzaldeídico. Desse modo, para as modificações na estrutura da molécula, variou-se os derivados acetofenônicos para as alterações no anel A e os derivados benzaldeídicos para as alterações no anel B.

Esquema 5. Formação do núcleo chalcônico.



Todos os compostos foram sintetizados com a mesma estratégia sintética contendo duas etapas. Sendo a primeira, uma reação de *O*-prenilação, a segunda, uma reação de condensação de Claisen-Schmidt. Inicialmente, realizou-se a reação de *O*-prenilação, cujo o objetivo desta etapa é adicionar os grupos prenils desejados no aldeído, e desse modo, realizando a alteração para o anel B da futura chalcona. Os grupos prenils que foram usados nas reações, foram a alila, isoprenila, geranila e farnesila.

Figura 3. Grupos alila e prenils



Durante a etapa de prenilação dos aldeídos, percebeu-se que houve uma grande variação no tempo de reação. Os grupos prenils menores forneceram reações mais rápidas .

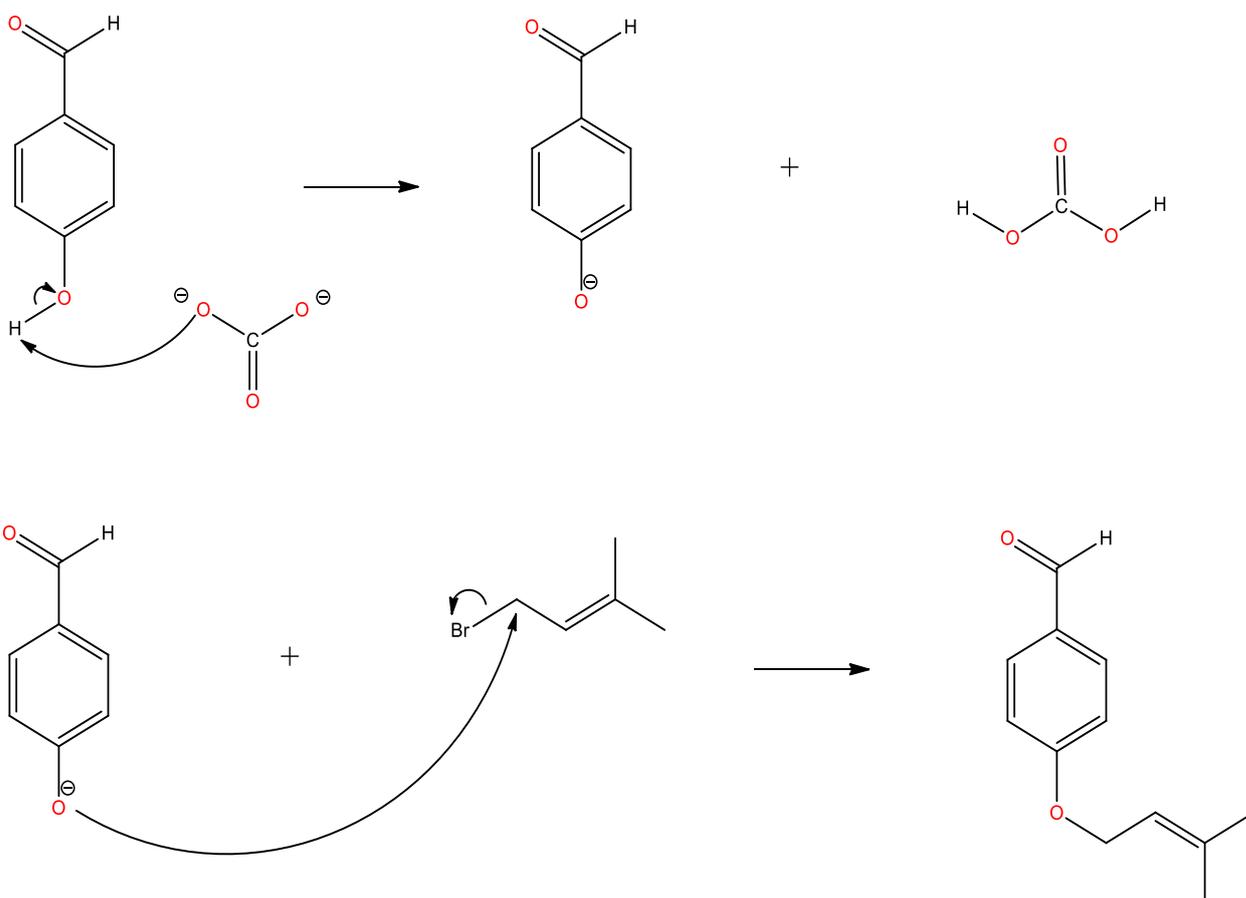
Tabela 1. Tempo de reação para haletos de alila e prenilas

Grupo	Tempo de reação (h)
alila	1,5
isoprenila	2,0
geranila	2,5
farnesila	24

As diferenças no tempo de reação podem ser explicados pelo impedimento estérico causado pelos grupos prenilas mais volumosos. Durante a reação, o carbono metilênico ligado ao haleto (Cl ou Br) é atacado pelo oxigênio nucleofílico do fenolato pelo lado oposto do grupo de saída. Isso ocorre porque o grupo abandonador bloqueia a aproximação do nucleófilo. Quando esse ataque ocorre, os grupos mais volumosos dificultam a aproximação nucleófilo-carbono metilênico, diminuindo a velocidade da reação. Além disso, a velocidade da reação também depende do grupo de saída. Bases fracas não são ligadas fortemente ao carbono, pois elas não compartilham bem seus elétrons. Devido as propriedades periódicas na família dos halogênios, sabe-se que, átomos maiores e menos eletronegativos são melhores grupos de saída portanto, o bromo é um grupo de saída privilegiado em comparação ao cloro. As reações a *O*-prenilação tiveram rendimentos satisfatórios, variando em torno de 85 a 96%.

A reação de *O*-prenilação, é um por meio do mecanismo de S_N2. Inicialmente, a reação é colocada em meio básico, e quando submetidas a essas condições, o grupo hidroxila (OH) do benzaldeído libera H⁺ em solução, dando origem ao ânion enolato, que age como nucleófilo. Esse nucleófilo ataca o carbono (que possui uma carga parcial positiva) que está ligado ao halogênio. Conforme o nucleófilo se aproxima do carbono o grupo de saída (Bromo) se afasta, até que a ligação seja completamente rompida.

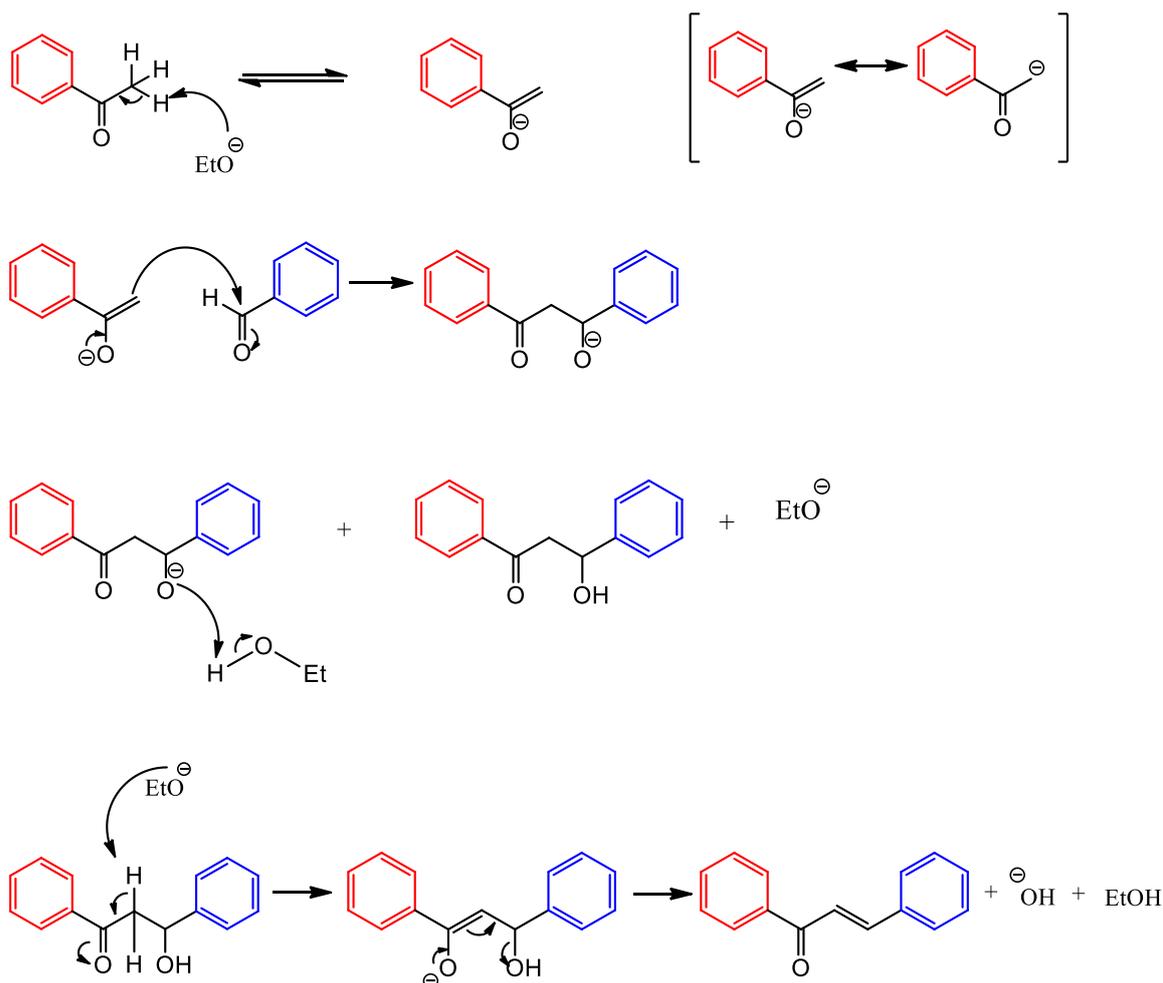
Esquema 6. Mecanismo para a reação de *O*-prenilação.



Em seguida, foi feita a segunda etapa da estratégia sintética. Foi realizada a reação de condensação de Claisen-Schmidt, com o objetivo formar uma cetona α,β -insaturada. A reação é iniciada pela retirada de um hidrogênio pelo OH do meio reacional, formando o ânion fenolato, que age como nucleófilo.

O enolato ataca o carbono do benzaldeído, dando origem ao um íon alcóxido, que retira um próton do solvente, originando um íon etóxido e a um aldol. Por fim, o íon etóxido retira um hidrogênio α , e posteriormente, ocorre a saída hidróxido (OH), via E1cb (eliminação unimolecular via base conjugada), formando o núcleo chalcônico.

Esquema 7. Mecanismo para a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt



Fonte: CLAYDEN, Jonathan. Organic Chemistry. Oxford University Press. 2012.

De modo geral, não houve grandes problemas para a realização das reações de condensação de Claisen-Schmidt, porém a maioria dos experimentos foram interrompidos, devido ao não consumos do reagente limitante (aldeído prenilado) e a formação de produtos indesejados. As reações tiveram rendimentos satisfatórios para os ensaios biológicos. Na etapa de purificação utilizando separações cromatográficas, houve dificuldades para todos os análogos, devido as chalconas desejadas apresentaram o mesmo RF (fator de retenção) que as respectivas acetofenonas.

Tabela 2. Rendimento das reações

Análogo	Rendimento <i>O</i> -prenilação	Rendimento condensação	Rendimento global
1	90%	21%	18%
2	89%	8%	7%
3	87%	18%	15%

4	85%	20%	17%
5	89%	16%	14%
6	96%	29%	28%
7	86%	14%	11%
8	90%	25%	23%
9	92%	-	-
10	78%	-	-

5.2. Série I

Para a obtenção dos compostos da série I, na primeira etapa (*O*-prenilação), para os análogos **1–3**, todo o material de partida foi completamente consumido e não houve formação de subprodutos. Desse modo, não foi necessária a utilização de técnicas cromatográficas para a purificação. Na segunda etapa (Claisen-Schmidt), todas as acetofenonas foram empregadas como reagentes em excesso, com o objetivo de consumir todo o aldeído proveniente da primeira etapa. A síntese do análogo **2** foi mantida por 24 h e ao realizar análise por cromatografia em camada delgada, observou-se a presença do reagente limitante (derivado benzaldeídico). Diante da conversão insuficiente, foi adicionado mais catalisador e manteve-se a reação por 24 h. Foi observado a presença de material de partida e a presença de subprodutos, dificultando a purificação do produto bruto devido à complexidade da separação. Desse modo, as reações de condensação dos análogos **1 e 3**, foram mantidas por 24 h, e mesmo com um tempo menor, ainda houve formação de subprodutos.

Todos os análogos foram purificados com sucesso. Durante o processo de separações cromatográficas os análogos **1 e 3** da série I, análises por cromatografia em camada delgada indicaram que os produtos chalconicos e seus respectivos aldeídos e acetofenonas apresentavam fatores de retenção (RF) muito próximos ou iguais. Diante desse desafio, foi necessário um estudo de fase móvel para otimizar a resolução cromatográfica e a utilização de outras técnicas cromatográficas. Os análogos **1 e 3** foram submetidos a cromatografia em coluna de gel de sílica, eluídos em hexano e acetato (95:5) para retirar subprodutos formados e em seguida submetidos a cromatografia em coluna de octadecilsilano eluídas em etanol e água (6:4). A processo para o análogo **2** foi mais simples, utilizando apenas coluna em gel de sílica, eluída em hexano/acetato (8:2).

Tabela 3. Obtenção dos análogos de série I.

Análogo	Código	Síntese	RMN de ¹ H	RMN de ¹³ C	Pureza	Massa (mg)
---------	--------	---------	-----------------------	------------------------	--------	------------

1	S/SB-4og	Sim	Sim	Sim	Sim	184
2	3OH-4og	Sim	Sim	Sim	Sim	47
3	2OH-4og	Sim	Sim	Sim	Sim	166

5.3. Série II

5.3.1. Chalconas *O*-geraniladas

Para a síntese dos análogos *O*-geranilados da série II, todas as reações também seguiram a estratégia sintética com duas etapas. Durante a reação de *O*-geranilação, para os análogos **4** e **5**, todo o material de partida foi consumido com 2,5 h de reação, não havendo necessidade de separações cromatográficas. Posteriormente, foi realizada a reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, que foi interrompida após 48 horas, devido a formação de subprodutos indesejados. Os análogos chalcônicos **4** e **5** apresentaram o mesmo RF que os respectivos derivados acetofenônicos, indicando a necessidade de purificação via técnicas cromatográficas. O estudo de fases móveis para cromatografia em coluna de gel de sílica, indicou a mistura de hexano, diclorometano e acetona (5:1:0,5), a qual foi capaz de separar o análogo **4**. Para o análogo **5** foi utilizada a mistura de hexano, diclorometano e acetona(5:0,5:0,2). Com o uso de uma fase móvel ternária foi possível o isolamento dos análogos **4** e **5**, após cromatografia em coluna de gel de sílica.

Tabela 4. Obtenção dos análogos *O*-geranilados da série II

Análogo	Código	Síntese	RMN de ¹ H	RMN de ¹³ C	Pureza	Massa (mg)
4	4OH-3og	Sim	Sim	Sim	Sim	106
5	4OH-2og	Sim	Sim	Sim	Sim	83

5.3.2. Chalconas *O*-isopreniladas

Quando comparadas às chalconas *O*-geraniladas, as chalconas *O*-isopreniladas exibiram uma síntese mais rápida e menos complexa, bem como com rendimentos superiores. Isso se deve ao tamanho do grupo prenila ligado ao anel B. Para os análogos **6**–**8**, com apenas 2 h de reação na primeira etapa, todo o material de partida havia sido consumido sem a formação de subprodutos. Em seguida, os aldeídos *O*-isoprenilados foram submetidos a à reação de condensação com a 4'-hidroxiacetofenona. Após 24 h o aldeído (reagente limitante) ainda não havia sido completamente consumido, porém as reações foram interrompidas para evitar formação de subprodutos.

Os análogos **6** e **8** foram purificados por cromatografias em coluna de gel de sílica, eluídas em hexano/acetato (7:3). O análogo **7** foi submetido aos mesmos métodos cromatográficos que **6** e **8**, porém devido sua cor amarela pálida não foi possível uma

adequada detecção visual, dificultando na coleta das frações, o que impediu o isolamento do análogo **7** de sua respectiva acetofenona. Diante dessa problemática, **7** foi submetido a coluna de octadecilsilano, eluído com etanol/água (7:3).

Tabela 5. Obtenção dos análogos *O*-isoprenilados da série II

Análogo	Código	Síntese	RMN de ¹ H	RMN de ¹³ C	Pureza	Massa (mg)
6	4OH-4iso	Sim	Sim	Sim	Sim	198
7	4OH-3iso	Sim	Sim	Sim	Sim	139
8	4OH-2iso	Sim	Sim	Sim	Sim	173

5.3.3. Chalconas *O*-aliladas e *O*-farnesiladas

O brometo alila forneceu uma reação mais rápida que o brometo isoprenila, resultando em uma reação de *O*-prenilação em 1,5 h . Em seguida, o aldeído *O*-alilado foi submetido à reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. A reação foi interrompida após 24 horas, não sendo detectada a formação de subprodutos. O produto bruto do análogo **9** foi submetido a purificação a todas as técnicas cromatográficas disponíveis no laboratório, porém todas com insucesso.

A síntese do análogo farnesilado rendeu a reação mais demorada e mais difícil de ser realizada. A primeira etapa demorou 24 horas para consumir todo o reagente limitante. Na segunda etapa, a reação foi interrompida devido a formação de produtos indesejados. Durante o processo de purificação houve formação descontrolada de subprodutos, levando a degradação do composto e o insucesso do isolamento de **10**.

Tabela 6. Obtenção dos análogos *O*-alilado e *O*-farnesilado da série II

Análogo	Código	Síntese	RMN de ¹ H	RMN de ¹³ C	Pureza	Massa (mg)
9	4OH-4ali	Sim	Não	Não	Não	-
10	4OH-4far	Sim	Não	Não	Não	-

5.4. Ensaios de Atividade Antibacteriana e Antimicobacteriana

As amostras foram enviadas para a realização dos ensaios antibacterianos e antimicobacterianos. Para ensaios contra *M. tuberculosis*, as amostras foram enviadas para a Universidade Estadual Paulista – Campus Araraquara, sob supervisão do Prof. Dr. Fernando Rogério Pavan. Para ensaios contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e micobactérias não-*tuberculosis*, as amostras foram enviadas para a Universidade Federal de Uberlândia, sob supervisão do Prof. Carlos Henrique Gomes Martins.

Tabela 7. Relação das amostras enviadas para ensaios de atividade antibacteriana e antimicobateriana.

Análogo	Enviado para ensaio
1 – S/SB-4og	Sim
2 – 3OH-4og	Sim
3 – 2OH-4og	Sim
4 – 4OH-3og	Sim
5 – 4OH-2og	Sim
6 – 4OH-4iso	Sim
7 – 4OH-3iso	Sim
8 – 4OH-2iso	Sim
9 – 4OH-4ali	Não
10 – 4OH-4ofar	Não

Os resultados dos ensaios biológicos realizados contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas estão disponíveis nas tabelas 8 e 9. Ao analisar os resultados, conclui-se que, embora o análogo 5 tenha apresentado uma concentração inibitória mínima (CIM) menor que o composto-protótipo, ainda não conseguiram atingir uma CIM satisfatório menor que 25 µg/mL.

Tabela 8. Valores de Concentração Inibitória Mímicma (CIM) contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Análogo	Amostra	<i>S. aureus</i> BAA 44 (MRSA)	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>S.</i> <i>pneumoniae</i> ATCC6305	<i>S. sobrinus</i> ATCC 33478
2	3OH-4og	> 400	> 400	> 400	> 400
Protótipo	4OH-4og	> 400	> 400	> 400	> 400
4	4OH-3og	> 400	> 400	400	400
5	4OH-2og	> 400	> 400	> 400	200
6	4OH-4iso	> 400	> 400	> 400	> 400
8	4OH-2iso	> 400	> 400	> 400	> 400

Tabela 9. Resultados do MIC em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Análogo	Amostra	<i>S. sanguinis</i> ATCC 10556	<i>S. mutans</i> ATCC 25175	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27453	<i>K.</i> <i>pneumoniae</i> ATCC 13883
2	3OH-4og	400	>400	> 400	> 400
Protótipo	4OH-4og	400	>400	> 400	> 400
4	4OH-3og	400	400	> 400	> 400
5	4OH-2og	200	400	> 400	> 400

6	4OH-4iso	400	>400	> 400	> 400
8	4OH-2iso	400	>400	> 400	> 400

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Baseado nos resultados biológicos do composto-protótipo (4'-hidroxi-4-*O*-geranilchalcona, **11**), este trabalho propôs 10 análogos, nos quais 8 estão puros, 2 foram sintetizados, porém com insucesso na purificação. O acompanhamento e purificação dos análogos se deu por meio de diversas técnicas cromatográficas, incluindo cromatografia em camada delgada, cromatografia em coluna de gel de sílica, cromatografia em coluna de octadecilsilano e cromatografia de permeação em gel. Além disso, a estrutura desses 8 compostos foram confirmados por RMN de ¹H, sendo enviados para ensaio de atividade antibacteriana e antimicobacteriana.

Todos os compostos foram obtidos com rendimentos globais satisfatórios em torno de 7 a 28%, os menores rendimentos obtidos são dos compostos com grupos geranila, e os maiores rendimentos são da isoprenila. Os resultados dos ensaios que foram apresentados mostraram que os análogos sintetizados não tiveram CIM satisfatórias contra bactérias Gram positivas e negativas.

7. REFERÊNCIAS

BARREIRO, E. J., FRAGA, C. A. M. Química medicinal: bases moleculares da ação dos fármacos. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 608 p.

BRASIL, Ministério da saúde. Departamento de doenças de condições crônicas e infecções sexualmente transmissíveis. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/publico-geral/tuberculose>. Acesso em 20 de junho de 2022.

BROWN, LEMAY & BURSTEN, QUÍMICA A CIÊNCIA CENTRAL - 9.ed. Pearson Prentice Hall ed. 2005. v.1 992 p.

BRUICE, Paula Yurkanis. Química orgânica. 4.ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 4ªed, 2006. v.1. 704 p.

BRUICE, Paula Yurkanis. Química orgânica. 4.ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 4ªed, 2006. v.2. 672 p.

DEWICK, P. M. Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons LTD, 2ª ed., 2009.

GUIDO, R. V. C.; ANDRICOPULO, A. D.; OLIVA, G., Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. Estudos Avançados, São Paulo, 24, 81–98, 2010.

NOWAKOWSKA, Z., A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. European Journal of Medicinal Chemistry, 42, 125–137, 2007.

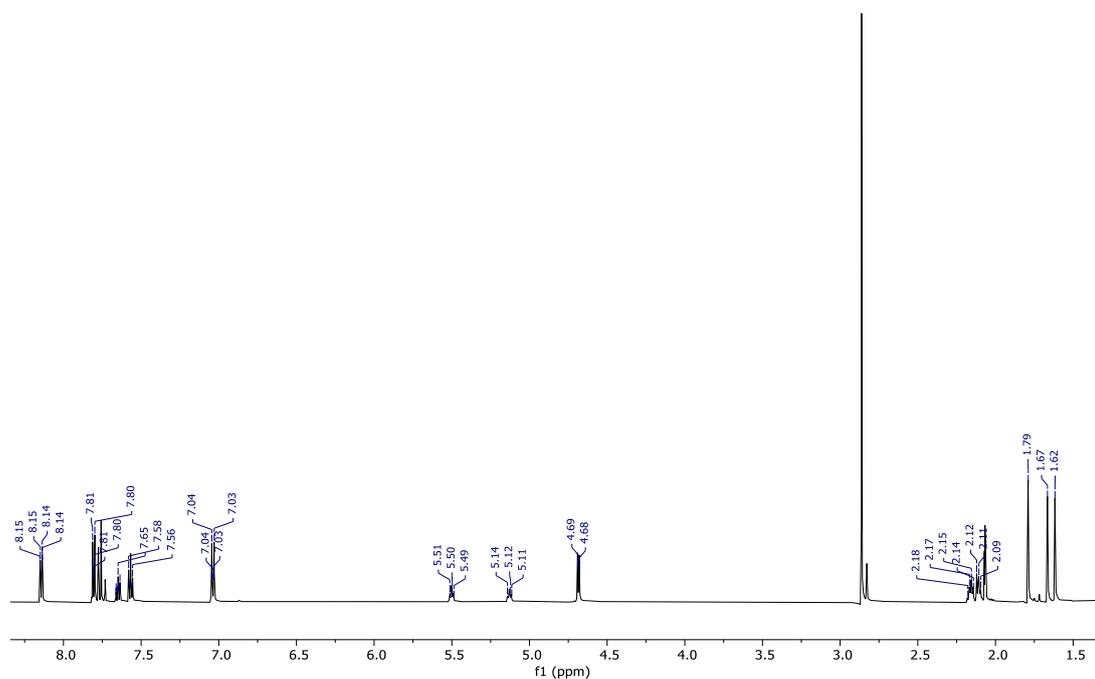
OPAS, Organização Pan-Americana de Saúde. Diagnóstico de novos casos de tuberculose caiu entre 15% e 20% nas Américas em 2020 devido à pandemia, 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/24-3-2021-diagnostico-novos-casos-tuberculose-caiu-entre-15-e-20-nas-americas-em-2020>. Acesso em: 21 de junho de 2022.

OPAS, Organização Pan-Americana de Saúde. Mortes por tuberculose aumentam pela primeira vez em mais de uma década devido à pandemia de COVID-19, 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/14-10-2021-mortes-por-tuberculose-aumentam-pela-primeira-vez-em-mais-uma-decada-devido>. Acesso em 21 de junho de 2022.

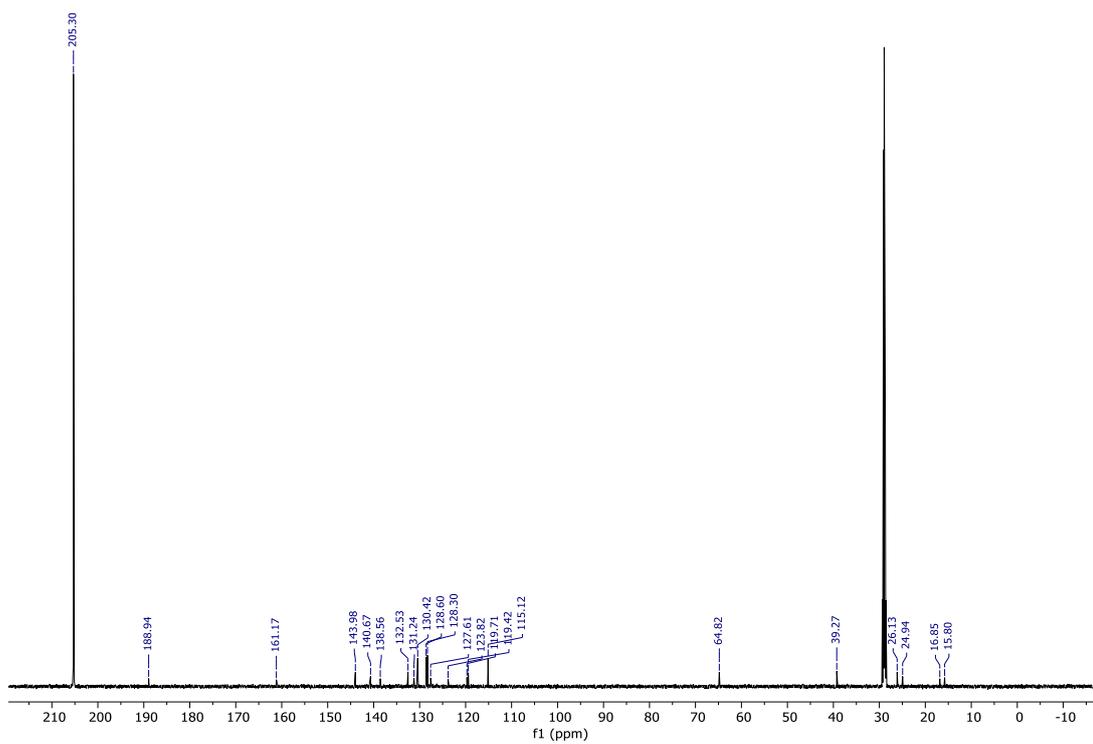
SINGH, P., ANAND, A., KUMAR, V., Recent developments in biological activities of chalcones: A mini review. European Journal of Medicinal Chemistry, 85, 758–777, 2014.

8. ANEXOS

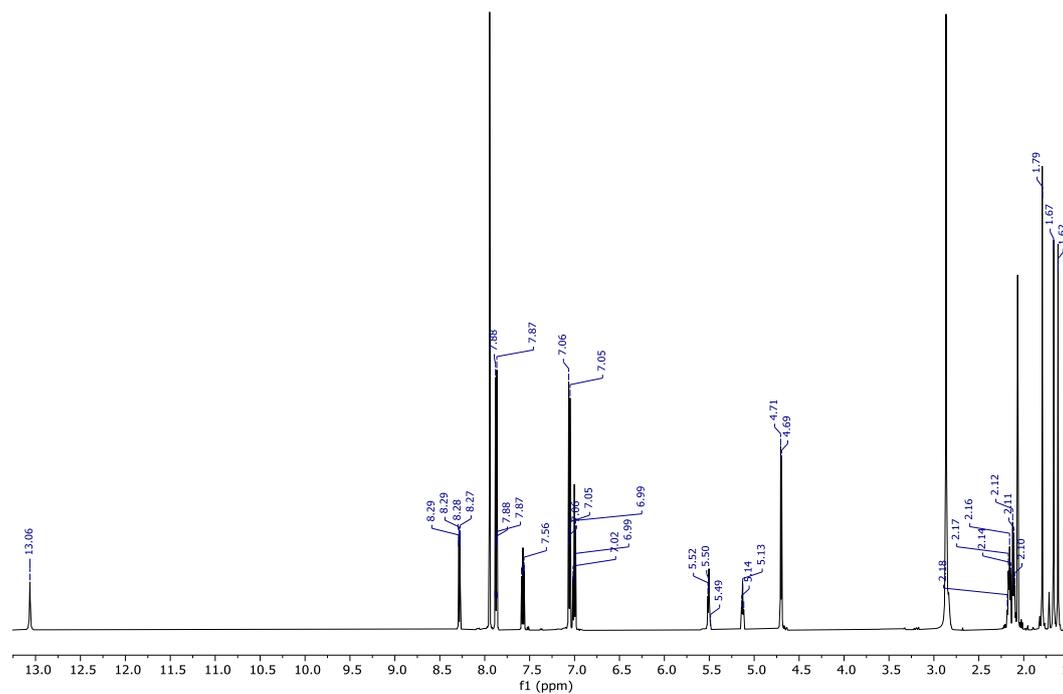
Anexo 1. Espectro de RMN de ^1H de **1** (Acetona; 600 MHz)



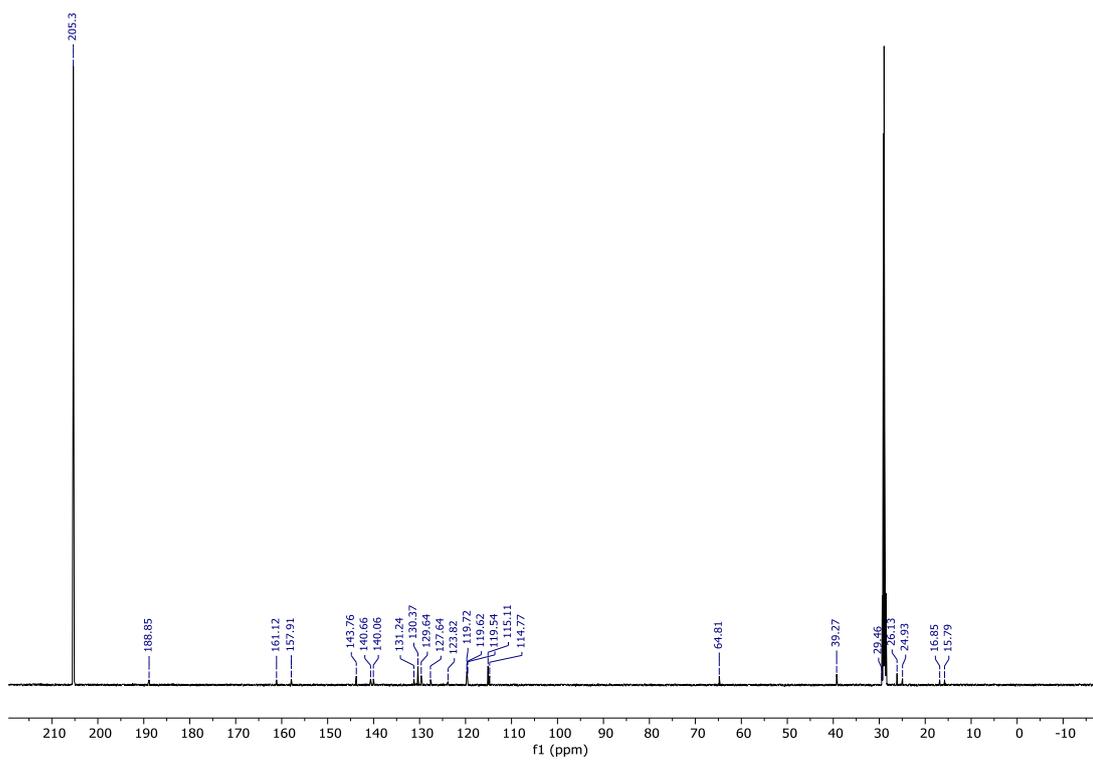
^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 8.14 (dd, $J = 8.4, 1.4$ Hz, 2H), 7.83 – 7.78 (m, 3H), 7.68 – 7.62 (m, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.06 – 7.02 (m, 2H), 2.18 – 2.11 (m, 1H), 2.10 (d, $J = 7.2$ Hz, 1H), 1.79 (s, 2H), 1.67 (s, 2H), 1.62 (s, 2H).

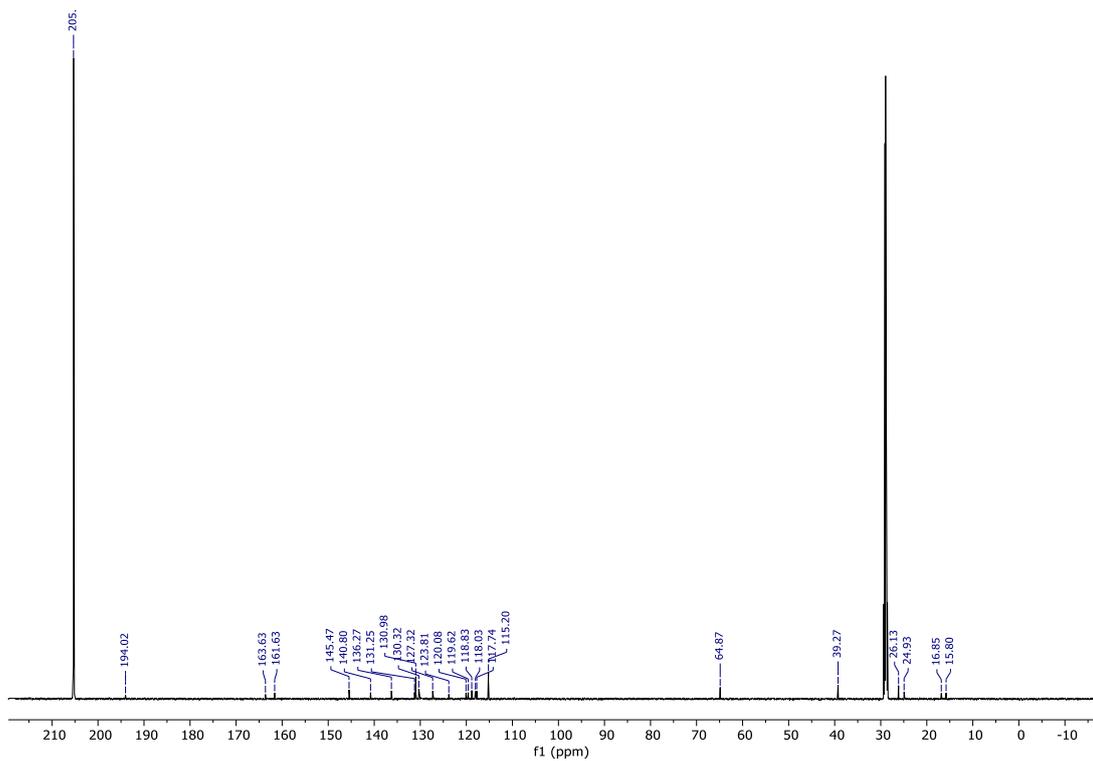
Anexo 2. Espectro de RMN de ^{13}C de **1** (Acetona- d_6 ; 600 MHz).

Anexo 3. Espectro de RMN de ^1H de **2** (Acetona- d_6 , 600MHz)

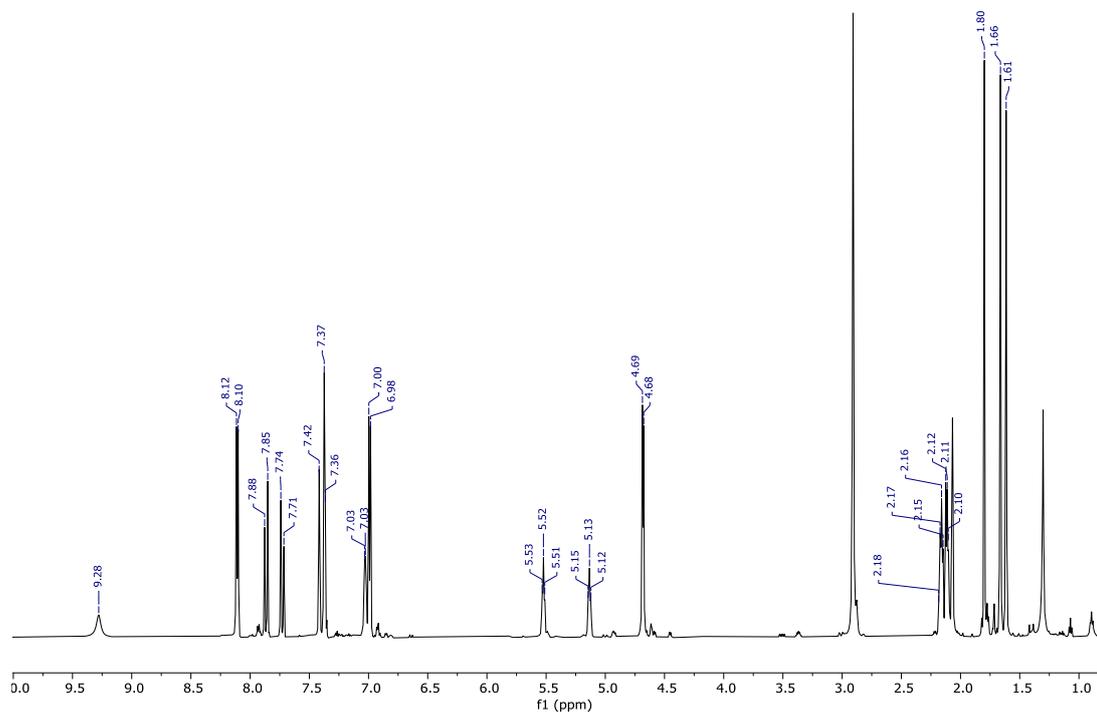


^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 8.29 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 8.28 (d, $J = 1.8$ Hz, 1H), 7.88 (s, 1H), 7.87 (s, 1H), 7.57 (dd, $J = 15.5, 1.7$ Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 7.05 (d, $J = 2.1$ Hz, 2H), 7.02 (d, $J = 1.2$ Hz, 0H), 6.99 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 5.51 (d, $J = 7.8$ Hz, 0H), 5.13 (t, $J = 6.9$ Hz, 0H), 4.70 (d, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.20 – 2.07 (m, 3H), 1.79 (s, 3H), 1.67 (s, 2H), 1.62 (s, 3H).

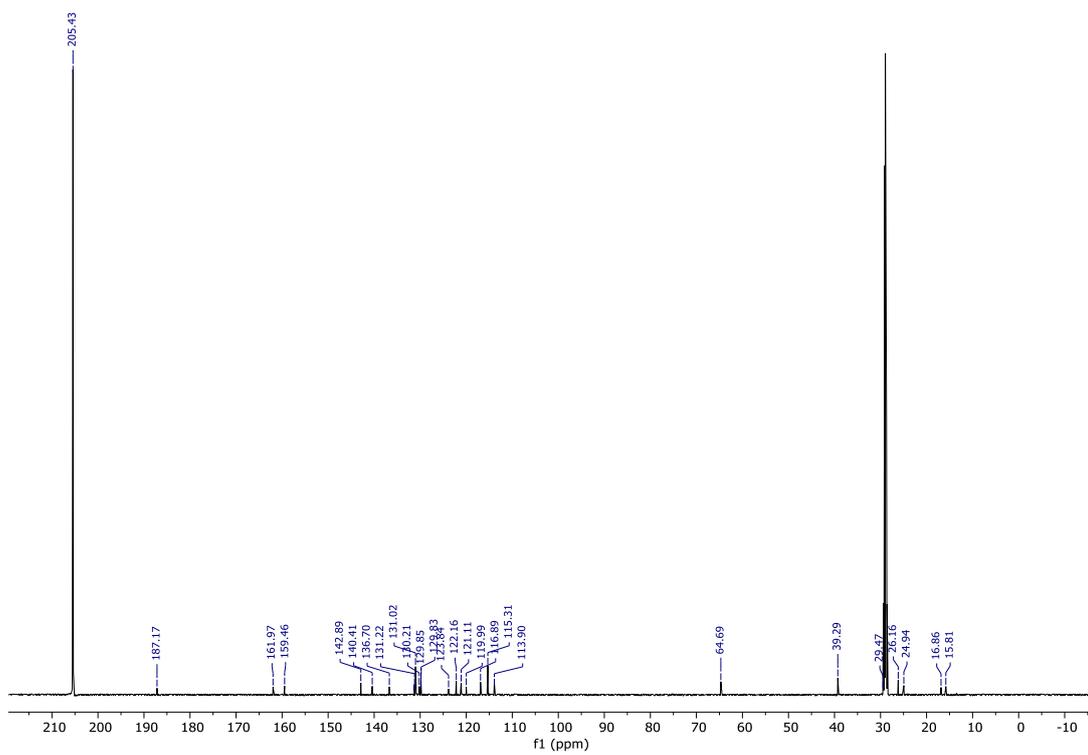
Anexo 4. Espectro de RMN de ^{13}C de **2** (Acetona- d_6 , 151MHz)

Anexo 6. Espectro de RMN de ^{13}C de **3** (Acetona- d_6 , 151MHz)

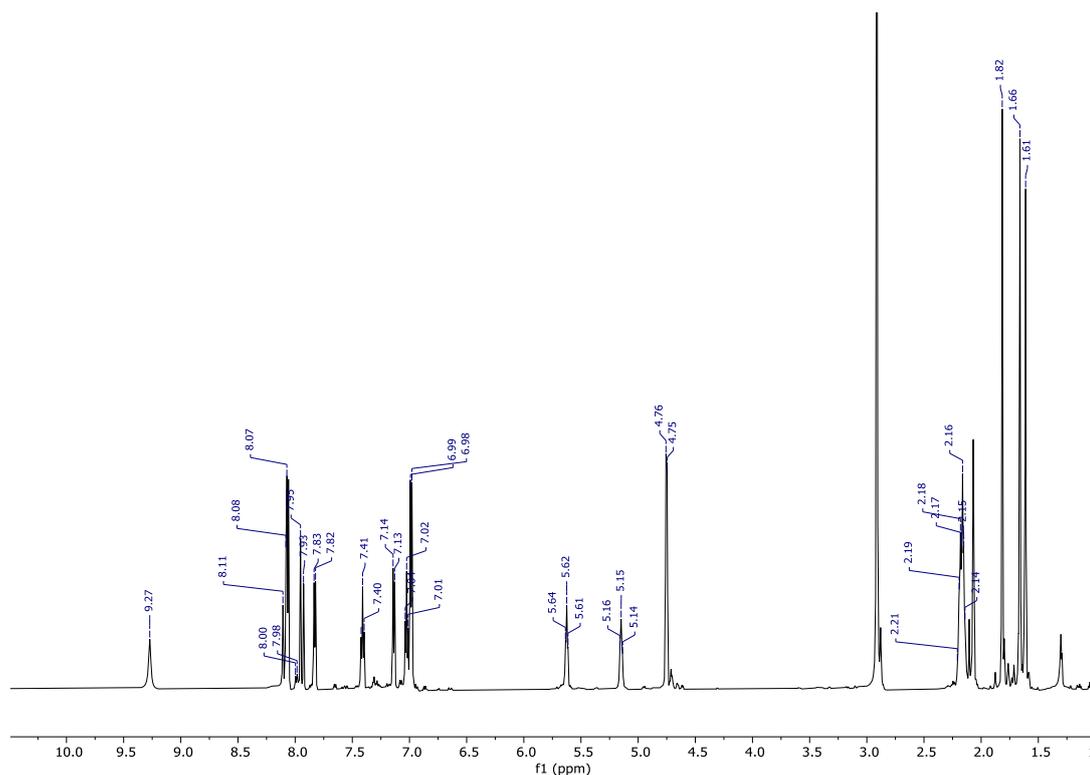
Anexo 7. Espectro de RMN de ^1H de **4** (Acetona- d_6 , 600MHz)



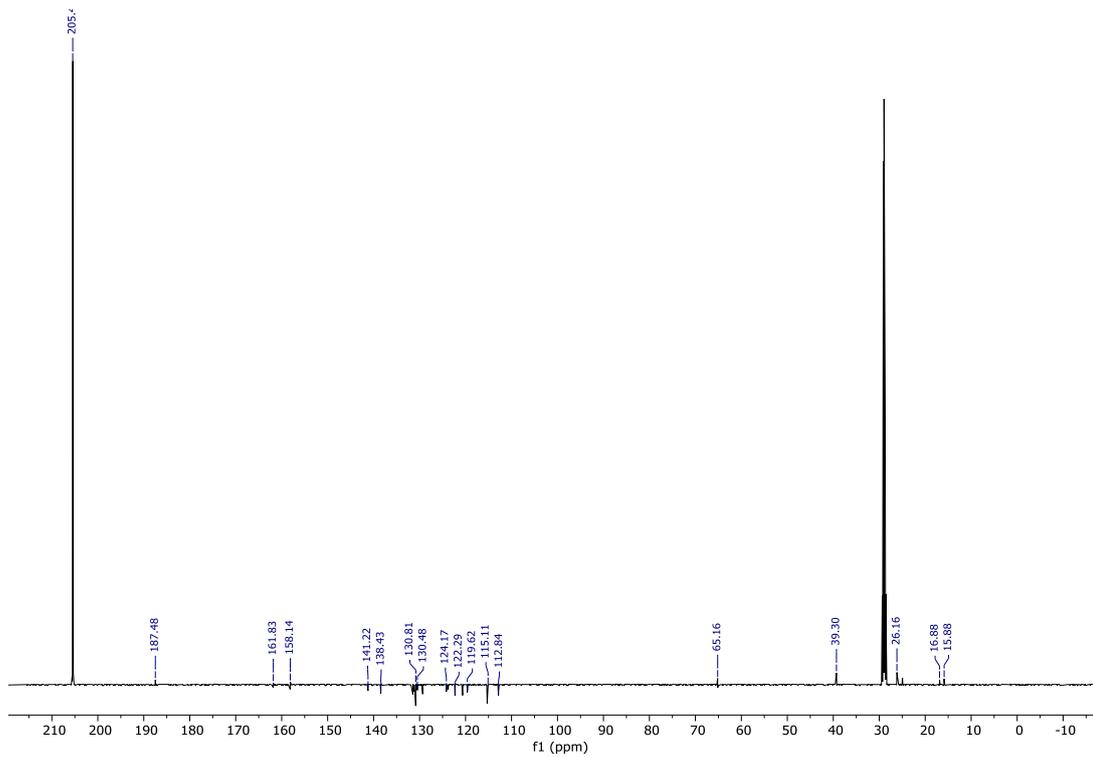
^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 7.86 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.73 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 6.1$ Hz, 2H), 7.03 (d, $J = 3.3$ Hz, 0H), 6.99 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 5.52 (t, $J = 6.6$ Hz, 1H), 5.13 (t, $J = 7.2$ Hz, 1H), 4.68 (d, $J = 6.5$ Hz, 2H), 2.17 (q, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.15 – 2.07 (m, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.66 (s, 3H), 1.61 (s, 3H).

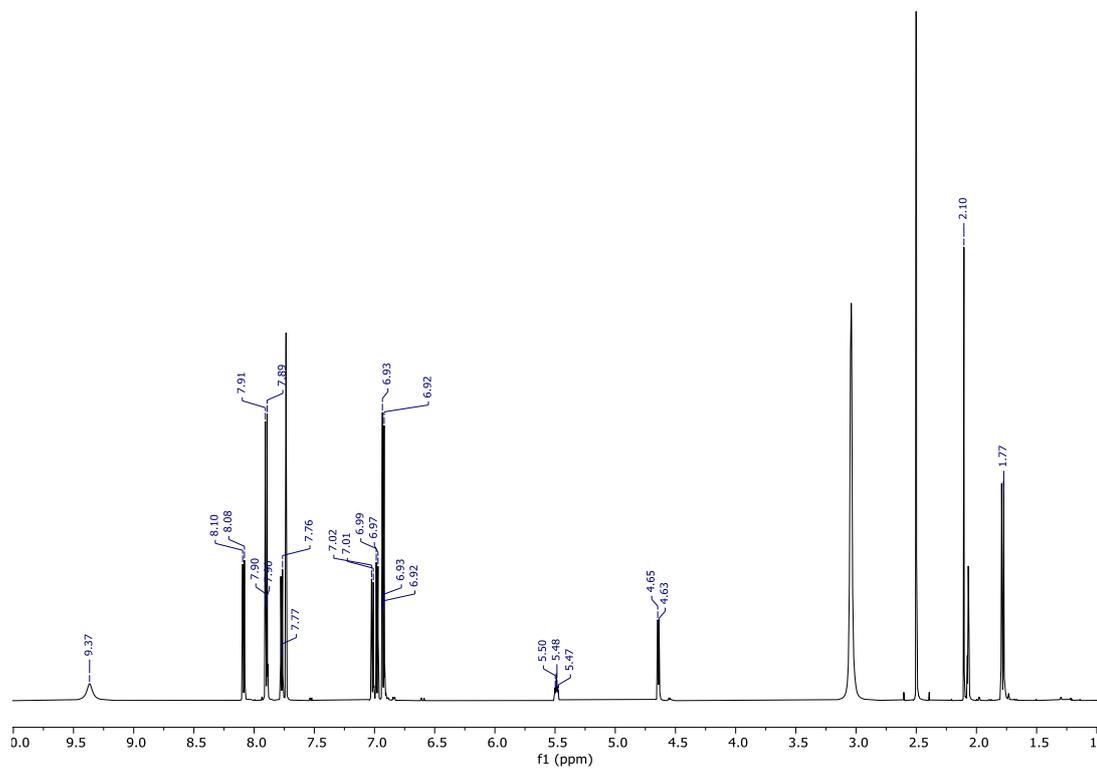
Anexo 8. Espectro de RMN de ^{13}C de **4** (Acetona- d_6 , 151MHz)

Anexo 9. Espectro de RMN de ^1H de **5** (Acetona- d_6 , 600MHz)

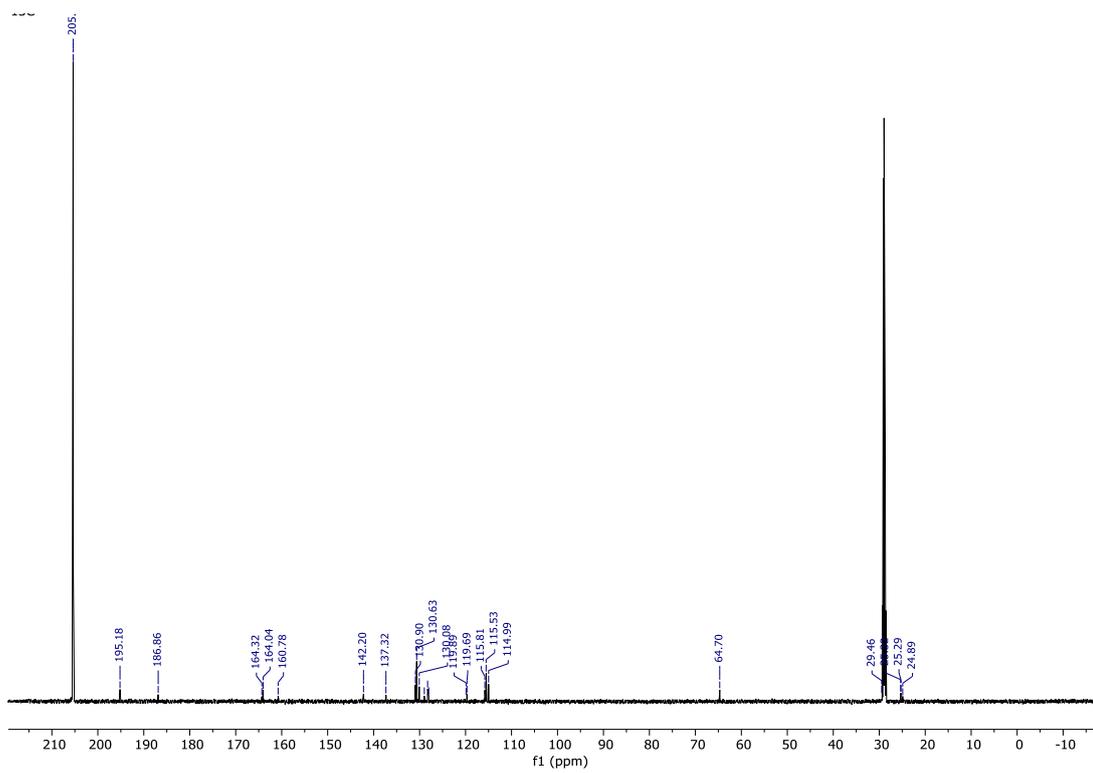


^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 8.11 (s, 0H), 8.08 (d, $J = 5.1$ Hz, 1H), 7.94 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 7.7$ Hz, 1H), 7.41 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.14 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.01 (dd, $J = 27.7, 7.4$ Hz, 2H), 5.62 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 5.15 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 4.75 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 2.17 (dq, $J = 12.5, 6.5$ Hz, 3H), 2.10 (d, $J = 1.4$ Hz, 0H), 1.82 (s, 3H), 1.66 (s, 4H), 1.61 (s, 3H).

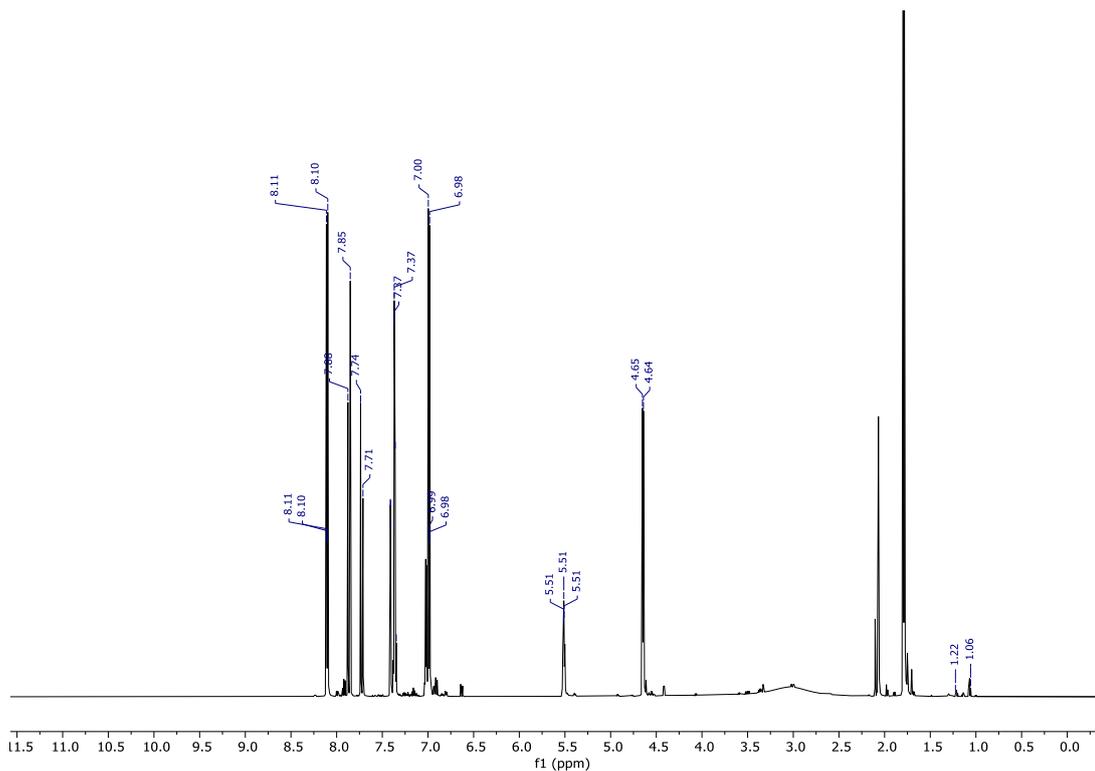
Anexo 10. Espectro de RMN de ^{13}C de **5** (Acetona- d_6 , 151MHz)

Anexo 11. Espectro de RMN de ^1H de **6** (Acetona- d_6 , 600MHz)

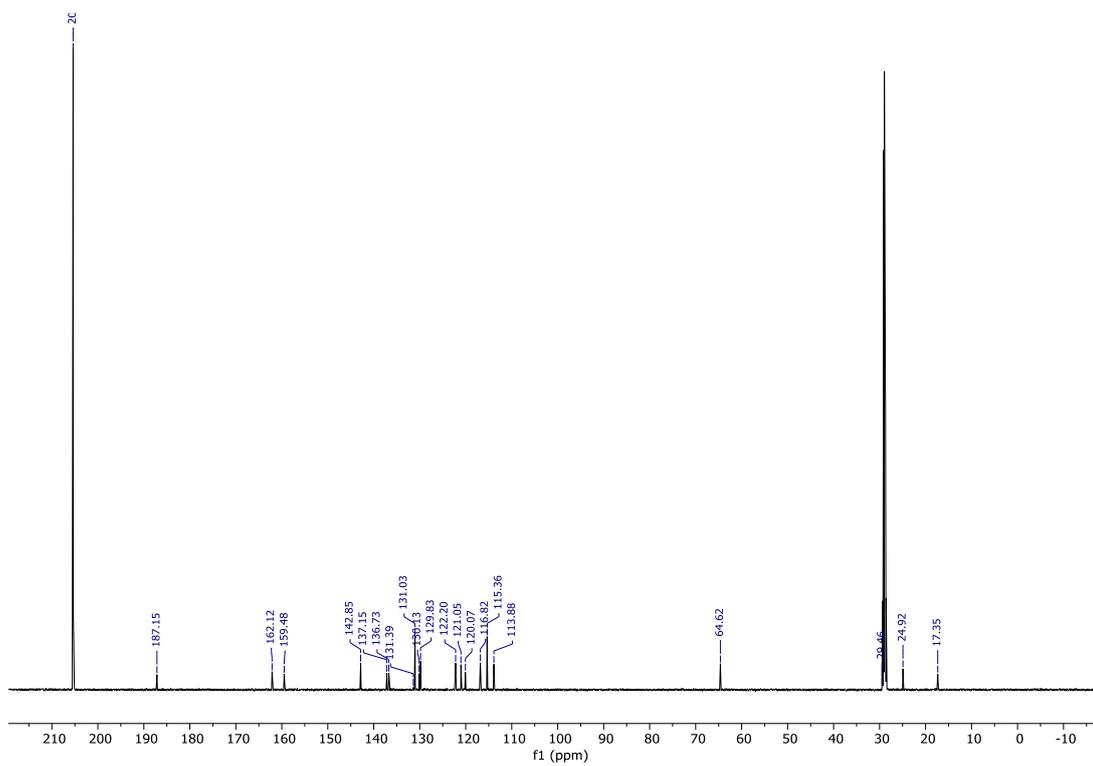
^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 9.37 (s, 1H), 8.09 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.94 – 7.87 (m, 3H), 7.77 (d, $J = 6.7$ Hz, 1H), 7.73 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 6.95 – 6.89 (m, 2H), 5.49 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 4.64 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 2.10 (s, 1H), 1.77 (s, 1H).

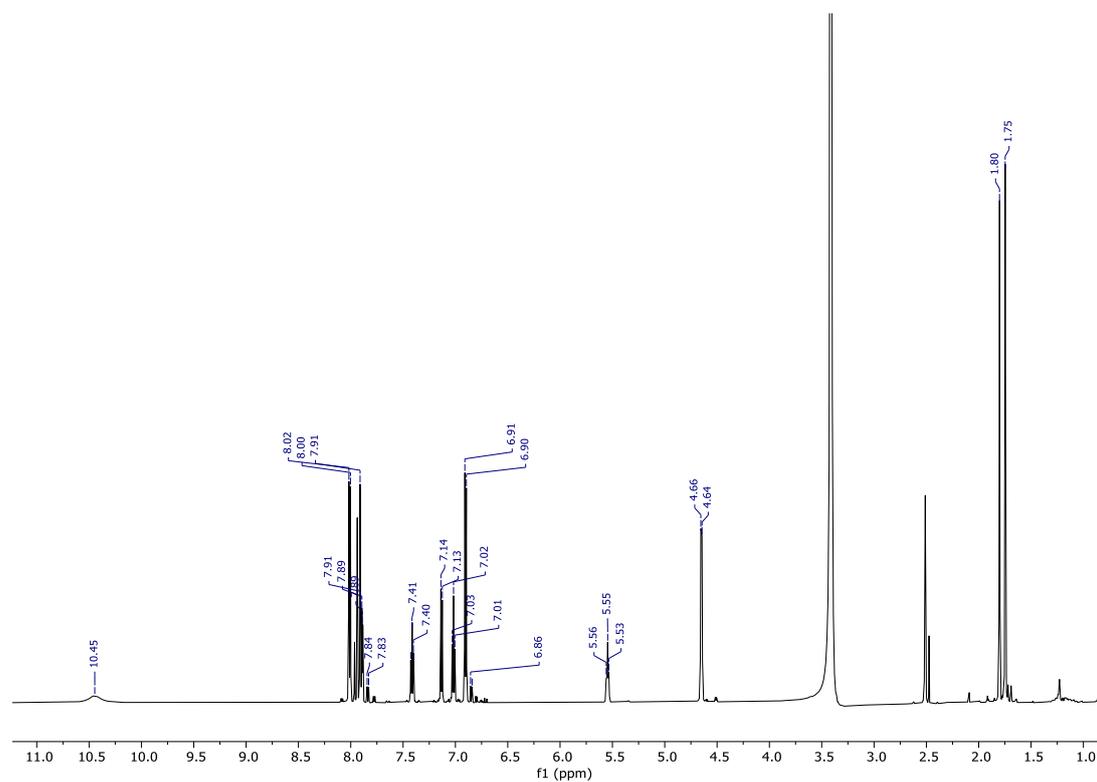
Anexo 12. Espectro de RMN de ^{13}C de **6** (Acetona- d_6 , 151MHz)

Anexo 13. Espectro de RMN de ^1H de **7** (Acetona- d_6 , 600MHz)



^1H NMR (600 MHz, Acetone) δ 8.13 – 8.07 (m, 1H), 7.86 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.72 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H), 7.42 – 7.39 (m, 1H), 7.37 (d, $J = 1.1$ Hz, 1H), 7.36 (s, 0H), 5.54 – 5.43 (m, 0H), 4.65 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H), 1.22 (s, 0H), 1.06 (s, 0H).

Anexo 14. Espectro de RMN de ^{13}C de **7** (Acetona- d_6 , 151MHz)

Anexo 15. Espectro de RMN de ^1H de **8** (DMSO- d_6 , 600MHz)

^1H NMR (600 MHz, DMSO) δ 10.45 (s, 1H), 8.02 (s, 2H), 7.95 (d, $J = 15.7$ Hz, 2H), 7.92 – 7.87 (m, 3H), 7.41 (t, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.13 (s, 1H), 7.02 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 6.90 (d, $J = 8.8$ Hz, 3H), 5.57 – 5.52 (m, 1H), 4.65 (d, $J = 6.9$ Hz, 4H), 1.80 (s, 6H), 1.75 (s, 6H).

Anexo 16. Espectro de RMN de ^{13}C de **8** (DMSO- d_6 , 151MHz)