

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo desta tese será
disponibilizado somente a partir
de 18/08/2024



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Julyanna Andrade Silva Nascentes

Síntese e avaliação de metoxichalconas como agentes antidermatofíticos

São José do Rio Preto

2022

Julyanna Andrade Silva Nascentes

Síntese e avaliação de metoxichalconas como agentes antidermatofíticos

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 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
Coorientadoras: Profa. Dra. Ana L. F. Saltoratto e
Profa. Dra. Margarete T. G. de Almeida

São José do Rio Preto

2022

N244s Nascentes, Julyanna Andrade Silva.
Síntese e avaliação de metoxichalconas como agentes
antidermatofíticos / Julyanna Andrade Silva Nascentes. -- São
José do Rio Preto, 2022
133 f. : il., tabs., fotos

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

Orientador: Luis Octavio Regasini

Coorientador: Margarete Teresa Gottardo de Almeida

1. Micoses superficiais. 2. Chalconas. 3. Metoxichalconas. 4.
Dermatófitos. 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.

Julyanna Andrade Silva Nascentes

Síntese e avaliação de metoxichalconas como agentes antidermatofíticos

Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, 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

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

UNESP - Campus de São José do Rio Preto

Orientador

Prof. Dr. Marcelo Vallim

Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP

Prof. Dra. Jupyracyara Jandyra de Carvalho Barros

Universidade Federal de Catalão – UFCAT

Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins

Universidade Federal de Uberlândia – UFU Uberlândia

Prof. Dr. João Paulo Zen Siqueira

Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP São José do Rio Preto

São José do Rio Preto

18 de agosto de 2022

Pessoas incríveis manifestam o incrível nas pessoas!

Autor Desconhecido

Dedico este trabalho a Deus e à Espiritualidade que sempre estiveram junto a mim, auxiliando-me e amparando em todos os momentos. Aos meus pais, Vicente e Carminha (no meu coração), ao meu marido André, aos meus irmãos Cris e Lu, e aos meus amigos Leticia de Assis e Thiago Lemes.

AGRADECIMENTOS

A construção dessa tese foi uma somatória de esforços de pessoas especiais e Instituições de Fomento à Pesquisa, sem as quais não seria possível a sua realização e conclusão. Serei eternamente grata:

Aos meus pais que de forma única primaram pela minha Educação e dos meus irmãos, colocando nossos sonhos como prioridades! Obrigada Nego e Nega (*in memória*), por estarem sempre presentes, me permitindo viver a vida com Amor! Aos meus queridos irmãos, Cristhiano e Luciana, por sempre me auxiliarem e vivenciarem comigo as melhores histórias. Agradeço aos meus sobrinhos, e as minhas menininhas, Lana, Meg e a minha estrelinha Malu, o amor de vocês facilitaram essa jornada. Aos meus cunhados, principalmente ao Luiz Fernando, obrigada pelo seu cuidado com a minha família.

Em especial, agradeço ao André, meu amigo e marido dedicado e fiel ao que juntos projetamos! Obrigada por estar presente em cada momento dessa jornada, mas principalmente nos momentos de maior crescimento. “*Depois que toda minha força se foi; você foi minha força*” (Whitney Houston). É uma conquista nossa!

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Luis Octavio pela oportunidade, por sua orientação, auxílio e amizade durante esses anos. Agradeço, principalmente, por seu auxílio e “momentos de terapias” nestes últimos meses! Que Deus possa recompensá-lo por todo carinho e atenção dedicados a mim.

As minhas coorientadoras, Profa. Dra. Margarete Almeida, sempre atenciosa e disponível a me auxiliar para a realização desse projeto, e a Profa. Dra. Ana Lúcia Saltoratto, por todo auxílio ofertado no decorrer desses anos.

Ao querido Prof. Dr. Pedro Fernando Romanelli (*in memória*), que abriu as portas para que eu pudesse realizar o sonho da pós-graduação, “Roma” você foi essencial para minha formação.

Aos amigos do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos - LAQ, Letícia de Assis, Reinaldo Theodoro, Júlio Gabriel, Veridiana Pattini, Dinis Kandjamba, Miguel Divino, Eduarda Cardoso, Anelise Assumpção, Rodrigo Lemos, Ligia Rodrigues, Maria Beatriz, Giovana Martinez, Álvaro Luiz, Carlos Polaquini, Mariana Bastos, Beatriz Marques, obrigada pelo auxílio na realização do projeto e pelos bons momentos que vivenciamos.

Aos amigos do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Medicina da Famerp, que me auxiliaram na execução das análises microbiológicas e me proporcionaram muitas risadas e momentos de grandes alegrias. Agradeço ao Thiago Henrique, Natalia Seron, Mariela

Domiciano, Luceli Ferreira, Taiza Maschio, Bianca Gottardo, Maicon Henrique, Emília Cristina, vocês são demais.

Aos meus queridos amigos Mislaine do Vale, Marlon Bussoloti, Márcio do Vale, Dona Julinda do Vale, Iara, Zi, Glória, Dona Antônia, Edson de Paula, Ana Casarim, agradeço por me acolherem e tornarem minha família Paulista.

Aos amigos do Grupo Corrente do Bem, Nilda, Ginaldo, Alvina, Cláudia, Denise, Jean, Selma, Denise, Marcos, Marcelo, obrigada pelas vibrações, carinho e cuidado. Devo parte dessa vitória a vocês!

As minhas amigas de profissão, que sempre me apoiaram e me incentivaram na busca no meu aprimoramento profissional, me mostrando que ser Professora é importar-se com o outro, é cultivar, é amar, é cuidar! Márcia Munhoz, Adriana Guilherme, Adriana Mariano, Marlene Puga, Vanderlice Gomes, Lúcia Peral, Ana Maria Nascimento, Cristiane, Gislaine (Gi), meus sinceros agradecimentos.

À Marines Siqueira, por me ensinar sobre a vida e a importância do Professor e da Educação Pública como meios essenciais para o desenvolvimento do Brasil.

A minha querida amiga que a graduação em Ciências Biológicas me apresentou, Adriane Ribeiro, obrigada pela sua presença constante, por seu amor e cuidado, “estaremos juntas até o céu”.

Ao meu querido primo Raphaell, por todo incentivo, auxílio e por sua amizade!

Aos meus alunos, por serem o meu motivo de buscar sempre mais!

Aos meus amigos da E. E. Voluntários de 32, em especial, Daniel Cardena, Daniela Araújo, Deise, Cláudia, Beatriz, Silvia Leticia, Santa, Tânia, Elaine, Andreia, Antônia, Ingrid, Juliana e Rose, obrigada pela oportunidade de integrar nesse grupo e pelo apoio incondicional no momento que mais aprendi e amadureci nessa minha existência.

As três queridas médicas que sempre primaram pela minha saúde e muito me auxiliaram nesses anos, Dra. Raquel Maciel, Dra. Cláudia Sant’Ana e Dra. Maria Fernanda Bucater.

Aos membros da comissão examinadora desta tese, Prof. Dr. Marcelo Vallim, Prof. Dra. Jupyacyara Jandyrá de Carvalho Barros, Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins, Prof. Dr. João Paulo Zen Siqueira, pelo aceite do convite em enriquecer nosso trabalho, agregando experiências e conhecimentos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia da Unesp e a todos os professores que se dedicaram na formação de seus alunos.

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

"A gratidão é a base de toda a felicidade. Todo aquele que é grato à vida está oferecendo a Deus a oblata do seu sentimento mais nobre."

(Franco, 2022)

RESUMO

As chalconas são substâncias de plantas que apresentam inúmeras bioatividades, dentre elas atividade antifúngica, sendo de síntese concisa. Estudos realizados por este grupo de pesquisa demonstraram a ação da 2',4'-dimetoxichalcona (**JA-0**) contra espécies de *Candida*, exibindo Concentração Inibitória Mínima (CIM) entre 15,6 µg/mL e 61,2 µg/mL. Com o objetivo de otimizar a atividade antifúngica dessas dimetoxichalconas, foi proposta uma série de análogos de **JA-0** com modificações no anel B, por meio de substituintes eletrodoadores e eletroatratores. A síntese desses análogos, foi realizada por meio da reação aldólica de Claisen-Schmidt. A avaliação antidermatofítica foi realizada contra *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* e *Epidermophyton floccosum* incluindo cepas de referência da American Type Culture Collection (ATCC) e isolados oriundos de micoses superficiais. A partir dos valores da CIM, foram selecionados os três compostos mais ativos para avaliação da sua combinação com diferentes fármacos antifúngicos, a avaliação do tempo de morte e a avaliação da toxicidade contra queratinócitos humanos e larvas de *Galleria mellonella*. Foram obtidos trinta e um compostos com rendimentos globais entre 15 e 96%, e pureza entre 90 e 98%. Cinco substâncias são inéditas na literatura, **JA-2F**, **JA-3Br**, **JA-3OMe**, **JA-2OH3F** e **JA-4-terc**. Os ensaios de susceptibilidade fúngica *in vitro* indicaram os valores de CIM e da Concentração Fungicida Mínima (CFM). Os análogos mais ativos contra os dermatófitos exibiram valores de CIM entre 0,9 µg/mL e 31,2 µg/mL. Os compostos **JA-0** e **JA-2F** apresentaram atividade antidermatofítica mais pronunciada sendo selecionadas para estudos mais aprofundados. O composto **JA-4OMe**, é um fármaco chalcônico já em comercialização, nos motivando a continuar com sua avaliação contra os dermatófitos. Os compostos **JA-0**, **JA-2F** **JA-4OMe** provocaram danos a membrana plasmática e na parede celular da célula fúngica, o que pode ser sugestivo para um mecanismo de ação. Ao combinar os análogos metoxilados com os antifúngicos anfotericina B, caspofungina, fluconazol, terbinafina e voriconazol, esses evidenciaram efeito sinérgico em combinação com a maior parte dos fármacos testados. Quanto a toxicidade contra *G. mellonella*, os três análogos não apresentaram toxicidade a 500 µg/mL. Os resultados obtidos indicam uma potencialidade das metoxichalconas para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos, demonstrando potencial aplicabilidade para o tratamento de dermatofitoses.

Palavras-chave: Micoses superficiais. Chalconas. Metoxichalconas. Dermatófitos.

ABSTRACT

Chalcones are plant substances that have numerous bioactivities, including antifungal activity, being concise synthesis. Studies carried out by this research group demonstrated the action of 2',4'-dimethoxyhalcone (JA-0) against *Candida* species, exhibiting Minimum Inhibitory Concentration (MIC) between 15.6 µg/mL and 61.2 µg/mL. With the objective of optimizing the antifungal activity of these dimethoxyhalcones, a series of JA-0 analogues with modifications in the B ring was proposed, through electrodes and electroattractors substituents. The synthesis of these analogues was performed using the Claisen-Schmidt aldol reaction. The antidermatophytic evaluation was performed against *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum canis* and *Epidermophyton floccosum*, including reference strains from the American Type Culture Collection (ATCC) and isolates from superficial mycoses. From the MIC values, the three most active compounds were selected for the evaluation of their combination with different antifungal drugs, the evaluation of the time of death and the evaluation of toxicity against human keratinocytes and larvae of *Galleria mellonella*. Thirty-one compounds were obtained with overall yields between 15 and 96%, and purity between 90 and 98%. Five substances are unpublished in the literature, JA-2F, JA-3Br, JA-3OMe, JA-2OH3F and JA-4-terc. In vitro fungal susceptibility assays indicated MIC and Minimum Fungicide Concentration (MFC) values. The most active analogues against dermatophytes exhibited MIC values between 0.9 µg/mL and 31.2 µg/mL. Compounds JA-0 and JA-2F showed more pronounced antidermatophytic activity and were selected for further studies. The compound JA-4OMe, is a chalconic drug already in commercialization, motivating us to continue with its evaluation against dermatophytes. Compounds JA-0, JA-2F JA-4OMe caused damage to the plasma membrane and cell wall of the fungal cell, which may be suggestive of a mechanism of action. When combining the methoxylated analogues with the antifungals amphotericin B, caspofungin, fluconazole, terbinafine and voriconazole, these showed a synergistic effect in combination with most of the drugs tested. As for toxicity against *G. mellonella*, the three analogues did not show toxicity at 500 µg/mL. The results obtained indicate the potential of methoxyhalcones for the development of new antifungal agents, demonstrating potential applicability for the treatment of dermatophytosis.

Keywords: Superficial mycoses. Chalcones. Methoxyhalcones. Dermatophytes.

LISTA DE ESQUEMAS

CAPÍTULO II

Esquema 1	Planejamento das séries I e II de análogos chalcônicos 2',4'-dimetoxichalconas	44
Esquema 2	Reação de condensação Aldólica de Claisen-Schmidt para a obtenção das metoxichalconas da Série I e II.....	45
Esquema 3	Fórmula para o cálculo do Índice de Concentração Inibitória Fracionada ICIF.....	62

CAPÍTULO III

Esquema 1	Síntese da 2',4',4'-trimetoxichalcona e seus análogos	69
------------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1	Estrutura da 2',4'-dimetoxichalcona (1) ativa contra espécies de <i>Candida</i> (MARQUES et al., 2020)	21
Figura 2	<i>Tinea pedis</i> interdigital.....	23
Figura 3	<i>Tinea manuum</i>	24
Figura 4	<i>Tinea capitis</i>	24
Figura 5	Unha com onicomicose devido a infecção por <i>Trichophyton rubrum</i>	25
Figura 6	Macromorfologia e micromorfologia de <i>Microsporum canis</i>	27
Figura 7	Colônias de <i>Trichophyton rubrum</i> com produção de pigmentos vermelhos e amarelos	27
Figura 8	Morfologia de <i>Trichophyton mentagrophytes</i>	28
Figura 9	Alvos moleculares de agentes antifúngicos.....	29
Figura 10	Estrutura química da anfotericina B.....	30
Figura 11	Estrutura dos fármacos usados no tratamento da dermatofitoses.....	32
Figura 12	Núcleo Chalcônico.....	34
Figura 13	Chalconas com atividade antidermatofítica (LÓPEZ et al., 2008)	35
Figura 14	Chalconas com ação sinérgica com o fluconazol contra <i>Candida albicans</i> (WANG et al., 2016)	36
Figura 15.	Estrutura das Metoxichalconas com atividade contra espécies de <i>Candida</i> . CIM = Concentração Inibitória Mínima (MARQUES et al., 2020)	36
Figura 16.	Estrutura dos fármacos chalcônicos	37

CAPÍTULO II

Figura 1.	Tempo de morte de <i>Trichophyton rubrum</i> CBS incubado na presença de JA-0 e JA-2F	55
Figura 2.	Toxicidade das chalconas selecionadas contra as larvas de <i>Galleria mellonella</i>	57
Figura 3.	Fluxograma para avaliação do efeito sinérgico das metoxichalconas e diferentes fármacos antifúngicos	62

CAPÍTULO III

Figura 1	Fármacos chalcônicos.....	68
Figura 2.	Curva do tempo de morte de <i>Trichophyton rubrum</i> CBS118892 na presença de 125 µg/mL de JA-4OMe.....	76
Figura 3.	Representação gráfica do teste de toxicidade da metoxichalcona JA-4OMe em <i>Galleria mellonella</i>	77

CAPÍTULO IV

APÊNDICE A

Figura 1a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-2F (600 MHz, CDCl ₃)	101
Figura 1b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-2F (150 MHz, CDCl ₃)	101
Figura 2a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-3F (600 MHz, CDCl ₃)	102
Figura 2b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-3F (150 MHz, CDCl ₃)	102
Figura 3a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-4F (600 MHz, CDCl ₃)	103
Figura 3b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-4F (150 MHz, CDCl ₃)	103
Figura 4a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-2Br (600 MHz, CDCl ₃)	104
Figura 4b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-2Br (150 MHz, CDCl ₃)	104
Figura 5a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-3Br (600 MHz, CDCl ₃)	105
Figura 5b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-3Br (150 MHz, CDCl ₃)	105
Figura 6a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-4Br (600 MHz, CDCl ₃)	106
Figura 6b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-4Br (150 MHz, CDCl ₃)	106
Figura 7a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-2Cl (CDCl ₃ , 600 MHz)	107
Figura 7b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-2Cl (CDCl ₃ , 150 MHz)	107
Figura 8a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-3Cl (CDCl ₃ , 600 MHz)	108
Figura 8b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-3Cl (CDCl ₃ , 150 MHz)	108
Figura 9a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-4Cl (CDCl ₃ , 600 MHz)	109
Figura 10a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-2,4Cl (CDCl ₃ , 600 MHz)	110
Figura 10b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-2,4Cl (CDCl ₃ , 150 MHz).....	110
Figura 11a.	Espectro de RMN de ¹ H da chalcona JA-2,6Cl (CDCl ₃ , 600 MHz)	111
Figura 11b.	Espectro de RMN de ¹³ C da chalcona JA-2,6Cl (CDCl ₃ , 150 MHz)	111

Figura 12a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-3,4Cl (CDCl_3 , 600 MHz)	112
Figura 12b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-3,4Cl (CDCl_3 , 150 MHz).....	112
Figura 13a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-3CF ₃ (CDCl_3 , 600 MHz)	113
Figura 13b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-3CF ₃ (CDCl_3 , 150 MHz)	113
Figura 14a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-4CF ₃ (CDCl_3 , 600 MHz)	114
Figura 14b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-4CF ₃ (CDCl_3 , 150 MHz)	114
Figura 15a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-4OCF ₃ (CDCl_3 , 600 MHz)	115
Figura 16a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2NO ₂ (CDCl_3 , 600 MHz)	116
Figura 16b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-2NO ₂ (CDCl_3 , 150 MHz)	116
Figura 17a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-3NO ₂ (CDCl_3 , 600 MHz)	117
Figura 17b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-3NO ₂ (CDCl_3 , 150 MHz)	117
Figura 18a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-1Naftila (CDCl_3 , 600 MHz)	118
Figura 18b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-1Naftila (CDCl_3 , 150 MHz)	118
Figura 19a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2Naftila (CDCl_3 , 600 MHz)	119
Figura 19b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-2Naftila (CDCl_3 , 150 MHz)	119
Figura 20a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2Tienila (CDCl_3 , 600 MHz)	120
Figura 20b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-2Tienila (CDCl_3 , 150 MHz)	120
Figura 21a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2furanila (CDCl_3 , 600 MHz)	121
Figura 21b.	Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-2furanila (CDCl_3 , 150 MHz)	121
Figura 22a.	Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2OH3F (CDCl_3 , 600 MHz)	121

CAPÍTULO IV

APÊNDICE B

Figura 1a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-4OMe (DMSO- d_6 , 600 MHz)	127
Figura 1b. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-4OMe (DMSO- d_6 , 150 MHz)	127
Figura 2a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-3OH (DMSO- d_6 , 600 MHz)	128
Figura 2b. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-3OH (DMSO- d_6 , 150 MHz)	128
Figura 3a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-4OH (CDCl $_3$, 600 MHz)	129
Figura 4a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-3Me (CDCl $_3$, 600 MHz)	130
Figura 4b. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-3Me (CDCl $_3$, 150 MHz)	130
Figura 5a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-2OMe (DMSO- d_6 , 600 MHz)	131
Figura 5b. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-2OMe (DMSO- d_6 , 150 MHz)	131
Figura 6a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA-4terc (CDCl $_3$, 600 MHz)	132
Figura 7a. Espectro de RMN de ^1H da chalcona JA4etil (CDCl $_3$, 600 MHz)	133
Figura 7b. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona JA-4etil (CDCl $_3$, 150 MHz)	133

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1.	Atividade de metoxichalconas selecionadas contra <i>Trichophyton rubrum</i> CBS118892 expressa em µg/mL	43
Tabela 2.	Atividade Antifúngica de metoxichalconas contra <i>Trichophyton mentagrophytes</i> TM ¹ (ATCC11481 e isolados clínicos) expressa em µg/mL.....	46
Tabela 3.	Atividade antifúngica de metoxichalconas contra <i>Trichophyton rubrum</i> ¹ TR expressa em µg/mL	48
Tabela 4.	Atividade Antifúngica de metoxichalconas contra <i>Microsporum canis</i> ¹ MC e <i>Epidermophyton floccosum</i> ² EF	50
Tabela 5.	Efeito sinérgico entre JA-0 e diferentes fármacos contra <i>Trichophyton rubrum</i> TRCBS118892	52
Tabela 6.	Efeito sinérgico entre JA-2F e diferentes fármacos contra <i>Trichophyton rubrum</i> TRCBS118892	52
Tabela 7	Valores de CIM das metoxichalconas JA-0 e JA-2F na presença e ausência de ergosterol	54
Tabela 8.	Valores de CIM das metoxichalconas JA-0 e JA-2F na presença e ausência de sorbitol	54
Tabela 9.	Toxicidade contra fibroblastos de pele (HDFa) e índice de seletividade (IS)	56
Tabela 10.	Origem clínica dos isolados utilizados neste estudo.....	60

CAPÍTULO III

Tabela 1	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) das chalconas contra <i>Trichophyton mentagrophytes</i> , expressa em µg/mL.	69
Tabela 2	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM) das chalconas contra <i>Trichophyton rubrum</i> , expressa em µg/mL	70

	Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida	
Tabela 3	Mínima (CFM) das chalconas contra <i>Microsporum canis</i> e <i>Epidermophyton floccosum</i> , expressa em µg/mL	71
Tabela 4.	Valores de Índice de Concentração Inibitória Fracionária (ICIF) e efeito da combinação de chalconas contra <i>Trichophyton rubrum</i>	73
Tabela 5.	Mecanismo de ação da JA-4OMe na membrana celular de <i>Trichophyton rubrum</i> expresso em valores de CIM em µg/mL	74
Tabela 6.	Mecanismo de ação da JA-4OMe na parede celular de <i>Trichophyton rubrum</i> expresso em valor de CIM em µg/mL	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABD	Agar Batata Dextrose
AmfB	anfotericina B
ASD	Agar Sabouraud Dextrose
ATCC	American Type Culture Collection
Br	Bromo
CBS	Fungal Biodiversity Center
CCD	Cromatografia de Camada Delgada
CFM	Concentração Fungicida Mínima
CH3	Metila
CIM	Concentração Inibitória Mínima
Cl	Cloro
CSD	Caldo Sabouraud Dextrose
d	duplete
dd	Duplo duplete
ddd	Duplo duplo duplete
DMSO	Dimetilsulfóxido
EF	<i>Epidermophyton floccosum</i>
F	Flúor
HDFa	Fibroblasto de pele
HPLC	Cromatografia líquida de alta performance
HPLC-PAD	detector de matriz de fotodiodos
Hz	Hertz
IC50	Concentração
ICIF	Índice de Concentração Inibitória Fracionária
IS	Índice de seletividade
J	Constante de acoplamento
KOH	Hidróxido de potássio
MC	<i>Microsporum canis</i>
mg	Miligrama
mL	mililitro
mmol	Milimol

N	Nitrogênio
NaHSO ₃	bissulfito de sódio
nm	nanômetro
O	Oxigênio
OCH ₃ (OMe)	metoxila
OH	Hidroxila
PDA	ágar Batata Dextrose
pH	potencial hidrogeniônico
ppm	parte por milhão
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
s	simpleto
S	enxofre
t	triplete
TM	Trichophyton mentagrophytes
TR	Trichophyton rubrum
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
µg/mL	microgramas por mililitro
δC:	deslocamento químico de carbono treze
δH:	deslocamento químico de hidrogênio
π	número Pi
°C	graus Celsius

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	20
1.1 Considerações iniciais	20
1.2 Revisão de literatura	22
1.2.1 Dermatofitoses	22
1.2.2 Agentes etiológicos	25
1.2.3 Tratamento antifúngico	28
1.2.4 Mecanismos de resistências aos antifúngicos	32
1.2.5 Chalconas	33
1.2.6 Metoxichalconas	35
1.3 Objetivos	38
1.3.1 Objetivo geral	38
1.3.2 Objetivos específicos	38
2 ARTIGO 1 - SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIDERMATOFÍTICA DE 2',4'-DIMETOXICHALCONA E SEUS ANÁLOGOS	40
Resumo	41
1 Introdução	41
2 Resultados e Discussão	43
2.1 Planejamento	43
2.2 Síntese dos análogos da 2',4'-dimetoxichalconas	44
2.3 Atividade antifúngica das 2',4'-dimetoxichalconas	45
2.3.1 Atividade antifúngica contra <i>Trichophyton mentagrophytes</i> e <i>Trichophyton rubrum</i>	45
2.3.2 Atividade antifúngica contra <i>Microsporum canis</i> e <i>Epidermophyton floccosum</i>	49
2.4 Efeito da combinação de metoxichalconas e fármacos antifúngicos	51
2.5 Efeito das chalconas na membrana e parede celular fúngicas	53
2.6 Tempo de morte de <i>Trichophyton rubrum</i>	54
2.7 Toxicidade contra fibroblastos cutâneos	55
2.8 Toxicidade contra as larvas de <i>Galleria mellonella</i>	56
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
4 EXPERIMENTAL	59
4.1 Procedimentos químicos gerais	59
4.1.1 Síntese	59
4.2 Microrganismos	60
4.3 Preparo dos inóculos e diluição das substâncias	61
4.4 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e da Concentração Fungicida Mínima (CFM)	61
4.5 Análise do efeito sinérgico das metoxichalconas com fármacos antifúngicos	61
4.6 Efeito contra a membrana e parede celular fúngica	63
4.7 Tempo de morte	63
4.8 Toxicidade contra células de pele	64
4.9 Toxicidade contra larvas de <i>Galleria mellonella</i>	64
3 Artigo 2 - AVALIAÇÃO DE 2',4',4'-TRIMETOXICHALCONA (METOCHALCONA, VESIDRYL) E ANÁLOGOS CONTRA FUNGOS DERMATÓFITOS	65
Resumo	66
1 Introdução	66
2 Resultados e Discussão	68
2.1 Química	68

2.2	Atividade antidermatofítica de análogos de 2',4'-dimetoxichalconas .	69
2.3	Avaliação da combinação entre a metoxichalcona JA-4OMe e fármacos antifúngicos	73
2.4	Efeito sobre a membrana e parede celular fúngica	74
2.5	Ensaio de tempo de morte de <i>Trichophyton rubrum</i> exposto a metochalcona.	75
2.6	Ensaio de toxicidade contra larvas de <i>Galleria mellonella</i>	76
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
4	EXPERIMENTAL	79
4.1	Química	79
4.1.1	Síntese	79
4.2	Microrganismos e culturas	79
4.3	Avaliação da atividade antifúngica	79
4.3.1	Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) e Concentração Fungicida Mínima (CFM)	79
4.3.2	Atividade sinérgica - Método de tabuleiro de xadrez	79
4.3.3	Time-kill	79
4.3.4	Ensaio de toxicidade com modelo experimental <i>Galleria mellonella</i>	79
4	CONCLUSÕES GERAIS	80
	REFERÊNCIAS	81
	APÊNDICE A: MATERIAL COMPLEMENTAR DO CAPÍTULO II [artigo 1]	90
	APÊNDICE B: Material complementar do Capítulo III [artigo 2]	123

1 INTRODUÇÃO

1.1 Considerações iniciais

As infecções fúngicas se apresentam como um problema de saúde pública no cenário global, devido ao número crescente de indivíduos imunossuprimidos (SARDI et al., 2013). Essas infecções geram constante preocupação por estarem amplamente difundidas e devido a seleção de linhagens multirresistentes a terapia fúngica convencional (HSIEH et al., 2019; PERFECT 2017).

Dentre as infecções geradas pelos fungos, as dermatofitoses se constituem como uma das infecções fúngicas mais prevalente

s, afetando em torno de 20 a 25% da população mundial e representando em torno de 30% das infecções fúngicas. Os principais agentes etiológicos das dermatofitoses são os fungos filamentosos, pertencentes aos gêneros *Epidermophyton*, *Microsporum* e *Trichophyton*, sendo *Trichophyton rubrum* a espécie de maior incidência, seguida por *Trichophyton mentagrophytes*. Segundo Al-Khikani (2020) a prevalência das dermatofitoses pode variar dentro de um mesmo país e entre países diferentes.

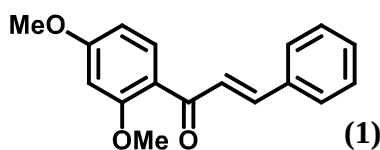
Os fungos dermatófitos são organismos queratinofílicos, ou seja, apresentam a capacidade de utilizar a queratina da pele, unhas e cabelos como fonte de aminoácidos, causando danos dermatológicos. Esses microrganismos produzem enzimas que irão auxiliá-los na invasão dos tecidos queratinizados e causar o processo infeccioso (AL SHEIKH, 2009; AL-JANABI, 2014).

O aumento na incidência de dermatofitoses tem gerado alerta na comunidade científica, pois a terapia antifúngica convencional apresenta sérias limitações, incluindo a necessidade de longos períodos de tratamentos, efeitos adversos severos e recrudescimento da resistência. Neste sentido, é urgente a busca por substâncias que tenham atividades antifúngicas para compor um arsenal terapêutico contra a ação destes patógenos (JIN, 2019; ROBBINS, CAPLAN, COWEN, 2017).

Diante do rápido acesso sintético e espectro de bioatividades apresentados pelas chalconas, incluindo resultados obtidos pelo Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos, advém nosso interesse pelas chalconas substituídas pelo grupo metoxila, as quais apresentaram ação contra fungos, bactérias e células tumorais (NASCENTES et al., 2018; MARQUES et al., 2020).

Esses dados nos motivaram a sintetizar uma série de análogos de chalconas metoxiladas, a partir da 2',4'-dimetoxichalcona (**1**) e pesquisar a ação desta substância e seus análogos contra as espécies de dermatófitos, uma vez que esta substância já foi ativa contra espécies de *Candida* (MARQUES et al., 2020) (Figura 1).

Figura 1. Estrutura da 2',4'-dimetoxichalcona (**1**) ativa contra espécies de *Candida* (MARQUES et al., 2020)



Para melhor entendimento, os dados dessa tese foram organizados em quatro capítulos. No capítulo I, foi realizada uma revisão bibliográfica sobre as dermatofitoses, os agentes dermatofíticos, incidência dessa infecção e uma descrição dos compostos chalcônicos metoxilados.

No capítulo II, foi apresentado o manuscrito da caracterização antifúngica de análogos da 2',4'-dimetoxichalcona com diferentes substituintes eletroatratores. A partir dessa triagem, foram selecionados dois compostos mais ativos para uma avaliação mais detalhada da atividade antidermatofítica. No capítulo III foi elucidada a atividade antidermatofítica de oito análogos da 2',4'-dimetoxichalcona contra as três espécies principais de fungos dermatofíticos, seguido da avaliação da combinação de uma chalcona selecionada com vários agentes antifúngicos, avaliação de possíveis mecanismos de ação e avaliação do perfil de toxicidade.

Por fim, no capítulo IV foram apresentadas as conclusões gerais dos estudos das metoxichalconas contra os fungos dermatofitos, além das referências, e os apêndices dos Capítulos II e III.

4. CONCLUSÕES GERAIS

Nessa pesquisa utilizamos a 2',4'-dimetoxichalcona como protótipo para o planejamento de análogos metoxilados de chalconas. Foram sintetizadas por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt, um total de 31 compostos, com rendimentos de 15 a 96%.

Os análogos foram avaliados contra fungos dermatófitos, utilizando cepas de referência e isolados clínicos de *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *M. canis* e *E. floccosum*. Uma triagem inicial a 31,2 µg/mL permitiu a seleção dos compostos mais ativos. Os análogos que continham substituintes eletrodoadores foram menos ativos que os análogos com substituídos por grupos eletroatratores.

A substância **JA-0** e os análogos **JA-2F** e **JA-4OMe** apresentaram efeitos promissores para a atividade antidermatofítica. Esses dois compostos, apresentaram ação sinérgica ao combiná-los com anfotericina B, terbinafina e voriconazol. A ausência de toxicidade dos compostos no modelo *in vivo*, *Galleria mellonella*, possibilita o seu uso como opções para novas abordagens terapêuticas no controle das dermatofitoses.

Através deste trabalho, foi possível verificar que os compostos chalcônicos metoxilados pode ser uma classe candidata promissora para o desenvolvimento de novos agentes antidermatofítica, pois apresentam ação de amplo espectro contra um painel de fungos dermatófitos.

REFERÊNCIAS

AL-JANABI, A. A. Dermatophytosis: Causes, clinical features, signs, and treatment. **Journal of Symptoms and Signs**, v. 3, n. 3, p. 200-3, 2014.

AL-KHIKANI, F. H. O. et al. Dermatophytosis a worldwide contiguous fungal infection: Growing challenge and few solutions. **Biomedical and Biotechnology Research Journal (BBRJ)**, v. 4, n. 2, p. 117, 2020.

AL SHEIKH, H. Epidemiology of dermatophytes in the eastern province of Saudi Arabia. *Research Journal of Microbiology*, v.4, p. 229-234, 2009.

ALSPAUGH, J. A. New Spins on Old Drugs: Enhancing Activity of Antifungals. **Cell Chemical Biology**, v. 27, n. 3, p. 255–256, 2020.

ASHBURN, T. T.; THOR, K. B. Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. **Nature reviews Drug discovery**, v. 3, n. 8, p. 673-683, 2004.

BAX, H. et al. The role of the time-kill kinetics assay as part of a preclinical modeling framework for assessing the activity of anti-tuberculosis drugs. **Tuberculosis (Edinb)**, v. 105, p. 80-85, 2017.

BELTRAMINO R., PENENORY A., BUCETA A.M. An open-label, randomized multicenter study comparing the efficacy and safety of Cyclo 3 Fort® versus hydroxyethyl rutoside in chronic venous lymphatic insufficiency. **Angiology**, v.51, p. 535–544, 2000.

BOECK, P. et al. S. Antifungal activity and studies on mode of action of novel xanthoxylone-derived chalcones. **Archiv der Pharmazie - Chemistry in Life Sciences**, n. 338, p.87-95, 2005.

BOWMAN S.M., FREE S.J. The structure and synthesis of the fungal cell wall. **Bioessays**, v. 28, p. 799-808, 2006.

BURMAOGLU, S. et al. Design of potent fluoro-substituted chalcones as antimicrobial agents. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 32, n. 1, p. 490-495, 2017.

BUZZI, F. de C. et al. **Síntese de novas moléculas com potencial terapêutico: imidas cíclicas, chalconas e compostos relacionados**. (Tese) Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, p. 198. 2007.

CARMONA, E. M.; LIMPER, A. H. Overview of Treatment Approaches for Fungal Infections. **Clinics in Chest Medicine**, v. 38, n. 3, p. 393–402, 2017.

CARRASCAL-CORREA, D. F.; ZULUAGA, A.; GONZÁLEZ, A. Species distribution of the main aetiologic agents causing skin dermatophytosis in Colombian patients: A 23-year experience at a Mycological Reference Center. **Mycoses**, v. 63, p. 494–499, 2020.

CEILLEY, R. I. Fungus: New Treatment Options for Toenail Onychomycosis and Tinea Pedis. **Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery**, Irvine, v.34, n.4, p. 61- 64, jun. 2015.

CHAMORRO, M.J.; HOUSE, S.A. Tinea Manuum. **In: StatPearls. StatPearls Publishing**, Treasure Island (FL), 2021. PMID: 32644474.

CHOI, Myeong A. et al. Synthesis of 2', 4'-Dimethoxychalcone Derivatives and Evaluation of Their Antitumor Activities Against Non-small Cell Lung Cancer. **YAKHAK HOEJI**, v. 60, n. 3, p. 135-140, 2016.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2008) Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Conidium-forming Filamentous Fungi, M38–A2. Wayne, PA: **CLSI**.

COSTA-ORLANDI, C. B. et al. In vitro characterization of Trichophyton rubrum and T. mentagrophytes biofilms. **Biofouling**, v. 30, n. 6, p. 719-727, 2014.

DALLA LANA, D. F. et al. Dermatofitoses: agentes etiológicos, formas clínicas, terapêutica e novas perspectivas de tratamento. **Clinical and biomedical research**, Vol. 36, n. 4, p. 230-241, 2016.

DOAN, T. N. TRAN, D. T. Synthesis, antioxidant and antimicrobial activities of a novel series of chalcones, pyrazolic chalcones, and allylic chalcones. **Pharmacology & Pharmacy**, v. 2, n. 04, p. 282, 2011.

DOS SANTOS, R.M.; DIAS-SOUZA, M.V. Effectiveness of five antidandruff cosmetic formulations against planktonic cells and biofilms of dermatophytes. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.24, p. 331-337, 2015.

EKINS, S. et al. In silico repositioning of approved drugs for rare and neglected diseases. **Drug discovery today**, v. 16, n. 7-8, p. 298-310, 2011.

ELEWSKI, BE, TOSTI, A Risk Factors and Comorbidities for Onychomycosis. **The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology**, v. 11, n. 8, p. 38-42, 2015.

ESCALANTE, A. et al. Evidence for the mechanism of action of the antifungal phytolaccoside B Isolated from Phytolacca tetramera Hauman. **Journal of Natural Products**, v. 17, p. 1720-1725, 2008.

FRANCO, D.; INTEGRAL, **Vida Plena**. pelo espírito Joanna de Ângelis. Salvador. Livraria Espírita Alvorada, 2022.

FRÍAS-DE-LEÓN M. G. et al. Molecular identification of isolates of the Trichophyton mentagrophytes complex. **International Journal of Medical Sciences**, v.17, n. 1, p. 45-52, 2020.

FROTA, M.Z. M. Avaliação de métodos de extração de DNA e de identificação de dermatófitos por análise de PCR-RFLP. 2011. 94 f. **Tese** (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2011.

FUENTEFRI, A., et al. Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. **Letters in Applied Microbiology**, v. 66, p. 2–13, 2017.

GARCIA, A. R. et al. Identification of chalcone derivatives as inhibitors of *Leishmania infantum* arginase and promising antileishmanial agents. **Frontiers in Chemistry**, v. 8, p. 624-678, 2021.

GAUR, R. et al. Synthesis, antitubercular activity, and molecular modeling studies of analogues of isoliquiritigenin and liquiritigenin, bioactive components from *Glycyrrhiza glabra*. **Medicinal Chemistry Research**, v. 24, n. 9, p. 3494-3503, 2015.

GAUR, R. et al. In vivo anti-diabetic activity of derivatives of isoliquiritigenin and liquiritigenin. **Phytomedicine**, v. 21, n. 4, p. 415-422, 2014.

GEISSEL, B. et al. Azole-induced cell wall carbohydrate patches kill *Aspergillus fumigatus*. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–13, 2018.

GNAT, S., ŁAGOWSKI, D., & NOWAKIEWICZ, A. Major challenges and perspectives in the diagnostics and treatment of dermatophyte infections. **Journal of Applied Microbiology**, n.129, v. 2, p.212-232, 2020.

GNAT S., NOWAKIEWICZ A., ZIEZBA, P. Taxonomy of dermatophytes – the classification systems may change but the identification problems remain the same. **Advancements of Microbiology – Postępy Mikrobiologii**, v.58, n.1, p. 49-58, 2019.

GOMES, M. N. et al. Chalcone derivatives: promising starting points for drug design. **Molecules**, v. 22, n. 8, p. 1210, 2017.

HAVLICKOVA B, CZAİKA V, FRIEDRICH M. 2009. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. **Mycoses**, v.51, p. 2-15, 2009.

HSIEH, A. et al. A new mutation in the *SQLE* gene of *Trichophyton mentagrophytes* associated to terbinafine resistance in a couple with disseminated tinea corporis. **Journal de mycologie medicale**, v. 29, n. 4, p. 352-355, 2019.

HIGUCHI K., et al. Sofalcone, a gastroprotective drug, promotes gastric ulcer healing following eradication therapy for *Helicobacter pylori*: A randomized controlled comparative trial with cimetidine, an H2-receptor antagonist. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 25, p. 155–160, 2010.

HOOG et al. Toward a Novel Multilocus Phylogenetic Taxonomy for the Dermatophytes. **Mycopathologia**, v.182, n. 1-2, p. 5-31, 2017.

IGNASIAK, K.; MAXWELL, A. *Galleria mellonella* (greater wax moth) larvae as a model for antibiotic susceptibility testing and acute toxicity trials. **BMC Res Notes**, v.10, p. 428, 2017.

ILYAS, M.; SHARMA, A. Cutaneous fungal infections in solid organ transplant recipients. **Transplantation Reviews**, v. 31, n. 3, p. 158-165, 2017.

JIN, Yong-Sheng. Recent advances in natural antifungal flavonoids and their derivatives. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 29, n. 19, p. 126589, 2019.

KANG, L. et al. Structure–activity relationship investigation of coumarin–chalcone hybrids with diverse side-chains as acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitors. **Molecular diversity**, v. 22, n. 4, p. 893-906, 2018.

KAVERI, M.V. et al. Synthesis and spectral studies of $\text{RuCl}(\text{CO})(\text{L})(\text{PPh}_3)(\text{B})$ ($\text{HL}=2'$ -hydroxychalcones and $\text{B}=\text{PPh}_3$, pyridine or piperidine) and their catalytic and biological applications. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.61, p. 2915-2918, 2005.

KHEDMATI, E. et al. Identification of subtilisin virulence genes (SUB1-7) in *Epidermophyton floccosum* isolated from patients with dermatophytosis in Iran. **Gene Reports**, v. 20, p. 100748, 2020.

KHURANA, A.; SARDANA, K.; CHOWDHARY, A. Antifungal resistance in dermatophytes: Recent trends and therapeutic implications. **Fungal Genetics and Biology**, v. 132, p. 103255, 2019.

KIM, Y.S. et al. Methoxychalcone inhibitors of androgen receptor translocation and function. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 5, p. 2105-2109, 2012.

KLEPSE Michael et al. Influence of Test Conditions on Antifungal Time-Kill Curve Results: Proposal for Standardized Methods. **Antimicrob. Agents Chemother**, v. 42, p. 1207–1212, 1998.

KUCEROVA-CHLUPACOVA, Marta et al. Novel pyrazine analogs of chalcones: synthesis and evaluation of their antifungal and antimycobacterial activity. **Molecules**, v. 20, n. 1, p. 1104-1117, 2015.

KUMAR, S.N., et al. Activity and synergistic interactions of 384stilbenes and antibiotic combinations against bacteria in vitro. *World J Microbiol* 385Biotechnol. 2012; 28: 3143–3150

LAHTCHEV, K. L. et al. Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains. **European journal of medicinal chemistry**, v. 43, n. 10, p. 2220-2228, 2008.

LEMES, T. H. et al. *In vitro* antifungal activity of *Candida* culture extracts against *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. **Brazilian Journal of Case Reports**, v. 1, n. 4, p. 135 – 152, 2021.

LEON-GONZALEZ, Antonio et al. Chalcones as promising lead compounds on cancer therapy. **Current medicinal chemistry**, v. 22, n. 30, p. 3407-3425, 2015.

LEWIS, R. E. Current concepts in antifungal pharmacology. *Mayo Clin Proc*, v.86, n. 8, p. 805-817, 2011.

LLADÓ, D. C., Arias, L. F., Mendoza, I. A., Bonifaz, A. (2016). La onicomycosis y su influencia en la calidad de vida: Onychomycosis and its Influence on Quality of Life. *Dermatología Cosmética, médica y Quirúrgica* 14, 318–327.

LÓPEZ, S. N et al. *In vitro* antifungal evaluation and structure–activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 9, p.1999–2013, 2001.

LOPES, G.; PINTO, E.; SALGUEIRO, L. Natural products: an alternative to conventional therapy for dermatophytosis? **Mycopathologia**, v. 182, n. 1-2, p. 143-167, 2017.

MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Chalcone scaffolds as anti-infective agents: Structural and molecular target perspectives. **European journal of medicinal chemistry**, v. 101, p. 496-524, 2015.

MARAVALHO, I.V.S. **Síntese de chalconas e seus derivados heterocíclicos com potencial fotofísico**. (Monografia). Instituto de Química, Universidade de Brasília, Brasília-DF, p. 45. 2019.

MARQUES, Beatriz C. et al. Methoxychalcones: effect of methoxyl group on the antifungal, antibacterial and antiproliferative activities. **Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 7, p. 881-891, 2020.

MARTINEZ-ROSSI N.M.et al. Dermatophyte resistance to antifungal drugs: mechanisms and prospectus. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 1108, 2018.

MARTO, P. G.; et al.Dermatofitosis por hongos antropofilicos em Cádiz (1997–2008). **Actas Dermo-Sifiliograficas**, v.101, n.3, p.242-247, 2010.

MATOS, Maria João et al. Potential pharmacological uses of chalcones: a patent review (from June 2011–2014). **Expert opinion on therapeutic patents**, v. 25, n. 3, p. 351-366, 2015.

MENDONÇA, A.M. S. et al. Synergism between Fluconazole and Terminalia catappa Extract and its Use in the Treatment of Candida-infected Tenebrio molitor Larvae. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78929-78950, 2020.

MERCER, D. K.; STEWART, C. S. Keratin hydrolysis by dermatophytes. **Medical Mycology**, v. 57, n. 1, p. 13-22, 2019.

MESSIER, C. et al. Inhibition of Candida albicans biofilm formation and yeast-hyphal transition by 4-hydroxycordoin. **Phytomedicine**, v. 18, n. 5, p. 380-383, 2011.

MIGUEL, F.B.; et al. Spectrochimica Acta Part A: **Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 152, 318-326, jan. 2016.

MITCHELL, G.; et al. Tomatidine acts in synergy with aminoglycoside antibiotics against multiresistant *Staphylococcus aureus* and prevents virulence gene expression. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, p. 559- 568, 2012.

MONK, B.C.; GOFFEAU A. Outwitting multidrug resistance to antifungals. **Science**, v. 321, p. 367-369, 2008.

NARWAL, S.; KUMAR, S.; VERMA, P. K. Synthesis and biological activity of new chalcone scaffolds as prospective antimicrobial agents. **Research on Chemical Intermediates**, v. 47, n. 4, p. 1625-1641, 2021.

NASCENTES, J. A. S. et al. Síntese e Avaliação de Análogos da 2',4'-Dimetoxichalcona Contra Fungos Dermatófitos. **In.:** V Simpósio de Biociências e Microbiologia, 2020.

NASCENTES, J. A. S. et al. Atividade antifúngica de metoxichalconas contra *Trichophyton rubrum*. **In.:** III Simpósio de Biociências e Microbiologia, 2018.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural products as sources of new drugs over the nearly four decades from 01/1981 to 09/2019. **Journal of Natural Products**, v. 83, n. 3, p. 770-803, 2020.

NOSENGO N. Can you teach old drugs new tricks? **Nature**, v. 16, n. 534, p. 314-316, 2016.

NOWAKOWSKA, Zdzisława. A review of anti-infective and anti-inflammatory chalcones. **European journal of medicinal chemistry**, v. 42, n. 2, p. 125-137, 2007.

PERES, N. T. A. et al. Dermatophytes: host-pathogen interaction and antifungal resistance. **Anais brasileiros de dermatologia**, v. 85, n. 5, p. 657-667, 2010.

PEREIRA, Thais Cristine. Recent Advances in the Use of *Galleria mellonella* Model to Study Immune Responses against Human Pathogens. **J Fungi (Basel)**, v. 27 n. 4, p. 128, 2018.

PERFECT, John R. The antifungal pipeline: a reality check. **Nature reviews Drug discovery**, v. 16, n. 9, p. 603, 2017.

RAMOS, M. A. S. et al. Syngonanthus nitens Bong.(Rhul.)-loaded nanostructured system for vulvovaginal candidiasis treatment. **International journal of molecular sciences**, v. 17, n. 8, p. 1368, 2016.

ROBBINS, N.; CAPLAN, T.; COWEN, L. E. Molecular evolution of antifungal drug resistance. **Annual review of microbiology**, v. 71, p. 753-775, 2017.

ROCHA D, VIEIRA F.A.S. Levantamento epidemiológico de infecções fúngicas de pacientes atendidos em um laboratório da região do Vale dos Sinos, RS. **NewsLab: a revista do Laboratório Moderno**2014;121:100-8.

ROSEN, T. et al. Onychomycosis: epidemiology, diagnosis, and treatment in a changing landscape. **Journal of Drugs in Dermatology: JDD**, v. 14, n. 3, p. 223– 33, 2015.

ROTTA, I. et al. Eficácia de antifúngicos tópicos em diferentes dermatomicoses: uma revisão sistemática com metanálise. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, p. 308-318, 2012.

RUPARELIA, K. C. et al. The synthesis of chalcones as anticancer prodrugs and their bioactivation in CYP1 expressing breast cancer cells. **Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 4, p. 322-332, 2018.

SAHOOS, A.K.; MAHAJAN R. Management of tinea corporis, tinea cruris, and tinea pedis: A comprehensive review. **Indian Dermatol Online**, v. 7, p.77-86, 2016.

SAINI, M. S. et al. A review: biological significances of heterocyclic compounds. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 4, n. 3, p. 66-77, 2013.

SARDANA K., ARORA P., MAHAJAN K. Intracutaneous pharmacokinetics of oral antifungals and their relevance in recalcitrant cutaneous dermatophytosis: Time to revisit basics. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology.**, v.83, p.730-732, 2017.

SARDI, J. C. et al. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. **Journal of Medical Microbiology**, v. 62, n. Pt 1, p. 10-24, Jan 2013. ISSN 1473-5644 (Electronic) 0022-2615 (Linking)

SANTOS, M. B. et al. Antiproliferative activity and p53 upregulation effects of chalcones on human breast cancer cells. **Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry**, v. 34, n. 1, p. 1093-1099, 2019.

SANTOS, Mariana B. et al. Antiproliferative and pro-apoptotic activities of 2'-and 4'-aminochalcones against tumor canine cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 884-889, 2017.

SCORZONI, L. et al. Antifungal Therapy: New Advances in the Understanding and Treatment of Mycosis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n.36, 2017.

SHARMA, M., et al. Antifungal curcumin induces reactive oxygen species and triggers an early apoptosis but prevents hyphae development by targeting the global repressor TUP1 in *Candida albicans*. **Bioscience Reports**, v. 30, p.391–404, 2010.

SHABAA, R. A. H. Microbial study of *Trichophyton rubrum* isolated from various Tinea infections. **EurAsian Journal of BioSciences**, v. 14, n. 2, p. 2553-2558, 2020.

SHALABY M.F., EL-DIN, EL-HAMD, M.A. Isolation, Identification, and In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Dermatophytes from Clinical Samples at Sohag University Hospital in Egypt. **Electron Physician**, v. 8, p. 2557–67, 2016.

SHEEHAN G, KAVANAGH K. Analysis of the early cellular and humoral responses of *Galleria mellonella* larvae to infection by *Candida albicans*. **Virulence**, v. 9, p.163, 2018.

- SIDRIM, J.J.C.; MOREIRA, J. L. B. Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica. **In: Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica.** p. 287-287, 1999.
- SINHA, S. et al. In vitro anti-malarial efficacy of chalcones: cytotoxicity profile, mechanism of action and their effect on erythrocytes. **Malaria Journal**, v. 18, n. 1, p. 1-11, 2019.
- SINGH, A. et al. High terbinafine resistance in *Trichophyton interdigitale* isolates in Delhi, India harbouring mutations in the squalene epoxidase gene. **Mycoses**, v. 61, n. 7, p. 477-484, 2018.
- SILVA, E. S. et al. Clinical aspects of the incident of dermatophytoses in the State of Sergipe, Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, 2021.
- SIVAKUMAR, P. M.; MUTHU KUMAR, T.; DOBLE, M.. Antifungal activity, mechanism and QSAR studies on chalcones. **Chemical biology & drug design**, v. 74, n. 1, p. 68-79, 2009.
- TAINWALA R, SHARMA Y. Pathogenesis of dermatophytoses. **Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology**, v.56, p.259-261, 2011.
- THILLAINAYAGAM, M. et al. In silico analysis reveals the anti-malarial potential of quinolinyl chalcone derivatives. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 33, n. 5, p. 961-977, 2015.
- THOMPSON, G. R.; CADENA, J.; PATTERSON, T. F. Overview of antifungal agents. **Clinics in chest medicine**, v. 30, n. 2, p. 203-215, 2009.
- TOSTI, A.; ELEWSKI, B. E. Onychomycosis: practical approaches to minimize relapse and recurrence. **Skin appendage disorders**, v. 2, n. 1-2, p. 83-87, 2016.
- VEASEY, J.V. et al. Epidemiological profile of tinea capitis in São Paulo City. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 92, n. 2, p. 283-284, 2017.
- VENTURA, T. L. B. et al. Antimycobacterial and anti-inflammatory activities of substituted chalcones focusing on an anti-tuberculosis dual treatment approach. **Molecules**, v. 20, n. 5, p. 8072-8093, 2015.
- VERMOUT, S. et al. Pathogenesis of dermatophytosis. **Mycopathologia**, v. 166, n. 5, p. 267-275, 2008.
- VILAR, S.; SANTANA, L.; URIARTE, E. Probabilistic neural network model for the in silico evaluation of anti-HIV activity and mechanism of action. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1118-1124, 2006.
- VLAHOVIC, T.C. Onychomycosis. **Clinics in Podiatric Medicine and Surgery**, v. 33, p. 305-318, 2016.

WANG Y-H, et al. The synthesis and synergistic antifungal effects of chalcones against drug resistant *Candida albicans*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 26, p. 3098–3102, 2016.

WIEDERHOLD, Nathan P. The antifungal arsenal: alternative drugs and future targets. **International journal of antimicrobial agents**, v. 51, n. 3, p. 333-339, 2018.

WEITZMAN, I.; SUMMERBELL, R. C. The dermatophytes. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 8, n. 2, p. 240-259, 1995.

YADAV, Neesha et al. Antimalarial activity of newly synthesized chalcone derivatives in vitro. **Chemical biology & drug design**, v. 80, n. 2, p. 340-347, 2012.

YAEGHOOBI, M. et al. QSAR, in silico docking and in vitro evaluation of chalcone derivatives as potential inhibitors for H1N1 virus neuraminidase. **Medicinal Chemistry Research**, v. 25, n. 10, p. 2133-2142, 2016.

YOSHIKAWA, F.S.Y. **A participação dos receptores da imunidade inata na resposta contra *Trichophyton rubrum***. 2016. 202f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

ZHUANG, Chunlin et al. Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. **Chemical reviews**, v. 117, n. 12, p. 7762-7810, 2017.