

Maria Beatriz Silva Costa

**Síntese, Atividades Antibacteriana, Antimicobacteriana e Toxicidade de
Bavachalcona e Análogos**

São José do Rio Preto
2024

Maria Beatriz Silva Costa

**Síntese, Atividades Antibacteriana, Antimicobacteriana e Toxicidade de
Bavachalcona e Análogos**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de doutorado, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes / FAPEAM/ Processo
88887.487717/2020-00

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

**São José do Rio Preto
2024**

C837s Costa, Maria Beatriz Silva
Síntese, atividades antibacteriana, antimicobacteriana e toxicidade de bavachalcona e análogos / Maria Beatriz Silva Costa. -- São José do Rio Preto, 2024
142 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientador: Luis Octávio Regasini

1. Antibacteriana. 2. Antimicobacteriana. 3. Bavachalcona. 4. Tuberculose. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Maria Beatriz Silva Costa

**Síntese, Atividades Antibacteriana, Antimicobacteriana e Toxicidade de
Bavachalcona e Análogos**

Tese apresentada como requisito para a obtenção do título de doutorado, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Financiadora: Capes / FAPEAM/ Processo
88887.487717/2020-00

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Luis Octávio Regasini (Orientador)
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP

Prof. Dr. Carlos Henrique G. Martins
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Prof. Dra. Janaina de Cássia Orlandi Sardi
Universidade de Guarulhos -UNG

Prof. Dr. Guilherme Dilarri
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Profa. Dra. Camila Martins de Oliveira
Universidade Federal de Rondonópolis – UFR

**São José do Rio Preto
21 de fevereiro de 2024**

*Dedico este trabalho à minha família,
especialmente, aos meus pais, **Joaquina e Expedito**,
ao meu irmão **Adriano** e ao meu esposo **Gustavo**.*

AGRADECIMENTOS

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

Este trabalho também foi financiado pelo Governo do Estado do Amazonas com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM.

Agradeço primeiramente à Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada, sem Ele eu não teria conseguido.

Aos meus pais Joaquina e Expedito, pelo amor incondicional e pela paciência. Por terem feito o possível e o impossível para me oferecerem a oportunidade de estudar, acreditando e respeitando minhas decisões e nunca deixando que as dificuldades acabassem com os meus sonhos, serei imensamente grata.

Ao meu irmão Adriano, que também me ajudou intensamente nessa caminhada acadêmica, confiando e me ajudando para que eu superasse as dificuldades e alcançasse meus objetivos.

Ao meu esposo, Gustavo por compreender a importância dessa conquista e aceitar a minha ausência quando necessário, me dando força sempre para superar os medos e anseios da universidade e da vida.

À **Capes** e **FAPEAM**, pela bolsa concedida, a **Fapesp** e **CNPq** pelos auxílios financeiros que foram essenciais na realização da pesquisa.

Ao meu orientador **Dr. Luis Octavio Regasini**, o qual eu admiro e sou muito grata pela oportunidade de aprendizado e incentivo, como também por toda sua paciência, sabedoria e discernimento para dirigir com coerência este trabalho.

À **Dra. Leticia Ribeiro de Assis**, que tive a honra de conhecer, obrigada por todos os ensinamentos, auxílio profissional e pessoal, pelas inúmeras ajudas, conversas, e momentos de descontrações.

Ao Prof. Dr. **Carlos Henrique Gomes Martins** e as suas alunas, Universidade Federal de Uberlândia, Laboratório de Ensaios Antimicrobianos – LEA, pela realização dos ensaios antibacterianos e antimicobacterianos.

Ao Prof. Dr. **Emerson Silva Lima** e as suas alunas, Universidade Federal do Amazonas, Laboratório de Ciências Farmacêuticas, pela realização dos ensaios de citotoxicidade.

A Profa. Dr. **Janaina de Cássia Orlandi Sardi**, Universidade de Guarulhos, pela realização dos ensaios de citotoxicidade em *Galleria mellonella*.

Ao Me. **Guilherme Dilarri** e Prof. Dr. **Henrique Ferreira**, membros do Laboratório de Genética de Bactérias, Instituto de Biociências, UNESP/Rio Claro, pela realização dos ensaios de permeação em membrana.

Ao Prof. Dr. **Fernando Rogério Pavan**, e seus alunos pela realização dos experimentos antimicobacterianos.

Ao Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos – LAQ, onde desenvolvi toda a parte experimental química. Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram com esse trabalho, especialmente a **Leticia Ribeiro de Assis, Julyanna Andrade, Reinaldo Theodoro, Giovana Martinez, Dinis Caina, e Graciele de Moraes**.

Ao Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP/São José do Rio Preto (FAPESP – Processo nº 2009/53989-4), especialmente, ao Dr. **Fábio Moraes**, pela realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear. À Me. **Dani C Oliveira Lisboa**, Laboratório de Bioenergia (UNESP/São José do Rio Preto), pelas análises de HPLC. Ao pesquisador **João Bronzel**, pelos experimentos de espectrometria de massas.

Por fim e não menos importante, quero expressar meu profundo apreço pela amizade e apoio contínuo que recebi de cada um de vocês, em especial **Jéssica Vani, Matheus Mello, Vanessa Benato, Vanessa Hentges, Erika Orozco, Sâmily Moraes, Ailson Dias, Bruno Baldo, Luane Oliveira**. Esta conquista não teria sido possível sem a presença calorosa e encorajadora de meus amigos ao meu lado. Que nossas amizades continuem a florescer e que possamos compartilhar muitas mais vitórias juntos.

RESUMO

As enfermidades causadas por bactérias apresentam um desafio para a saúde mundial, afetando milhões de indivíduos em escala global. No contexto brasileiro, uma das doenças bacterianas mais comuns e capaz de ocasionar complicações graves é a tuberculose, sendo uma das dez principais causas de mortalidade. Assim, os fármacos antibacterianos, incluindo os tuberculostáticos, são cruciais à manutenção da expectativa de vida. Inúmeras razões justificam a necessidade por novos agentes antibacterianos, destacando-se a elevada taxa de morbimortalidade e o surgimento de cepas resistentes a antibióticos. Diante disso, a presente tese teve como objetivo a síntese e avaliação antibacteriana e antimicobacteriana de bavachalcona (**BVC**), uma chalcona tri-hidroxilada e C-isoprenilada. Considerando as evidências das propriedades farmacológicas de **BVC**, foi planejada e sintetizada uma série de 16 análogos chalcônicos de **BVC** com modificações no anel B. Dentre esses, onze análogos são chalconas conhecidas e oito são substâncias inéditas. As substâncias foram sintetizadas em cinco etapas, incluindo iodação regioseletiva, condensação de Claisen-Schmidt, proteção/desproteção com o grupo metoximetila e acoplamento de Suzuki-Miyuara, obtendo rendimentos globais de 1 a 22%. A atividade antibacteriana da **BVC** e análogos foi avaliada *in vitro* contra espécies Gram-positivas, Gram-negativas e micobactérias. **BVC** e seus análogos tiveram ação antibacteriana contra *Streptococcus sanguinis* (CIM = 6,25 - 12,5 µg/mL), *Streptococcus sobrinus* (CIM = 3,12–25 µg/mL), e *Streptococcus mutans* (CIM = 3,12 – 25 µg/mL). A atividade antimicobacteriana de **BVC** e análogos foi avaliada contra *M. tuberculosis* H37Rv e mostraram efeitos contra *M. tuberculosis* (CIM₉₀ = 2,56 -18,64 µg/mL). Os análogos **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** foram os mais promissores, uma vez que apresentaram os menores valores de CIM contra *M. tuberculosis* H37Rv e baixa toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano e larvas de *Galleria mellonella*. Esses resultados corroboraram **BVC** e análogos como hits para a descoberta de novos agentes capazes de combater bactérias patogênicas humanas.

Palavras-chave: Antibacteriana. Antimicobacteriana. Bavachalcona. Tuberculose

ABSTRACT

Diseases caused by bacteria present a challenge to global health, affecting millions of individuals on a global scale. In the Brazilian context, one of the most common bacterial diseases capable of causing serious complications is tuberculosis, being one of the ten main causes of mortality. Thus, antibacterial drugs, including tuberculostatics, are crucial ones for maintaining life expectancy. Several reasons justify the need for new antibacterial agents, highlighting the high morbidity and mortality rates and the emergence of antibiotic-resistant strains. Therefore, the present thesis aimed the synthesis and antibacterial evaluation of bavachalcone (**BVC**), a trihydroxylated and C-isoprenylated chalcone. Considering the evidences of the pharmacological properties of **BVC**, a series of 16 chalconic analogs of **BVC** was designed and synthesized with modifications in the B ring. Among these, eleven analogs are known chalcones and eight are new ones. Compounds were synthesized in five steps, including regioselective iodination, Claisen-Schmidt condensation, protection/deprotection with methoxymethyl group and Suzuki-Miyaura coupling, obtaining overall yields ranging from 1 to 22%. The antibacterial activity of **BVC** and analogs was evaluated *in vitro* against Gram-positive, Gram-negative and mycobacteria species. **BVC** and its analogs have antibacterial activity against *Streptococcus sanguinis* (MIC = 6,25 - 12,5 µg/mL), *Streptococcus sobrinus* (MIC = 3,12–25 µg/mL) and *Streptococcus mutans* (MIC = 3,12 – 25 µg/mL). The antimycobacterial activity of **BVC** and analogs was evaluated against *M. tuberculosis* H37Rv and demonstrated effects against *M. tuberculosis* (MIC₉₀=2.56 -18.64 µg/mL). The analogs **BVC 12**, **BVC 14** and **BVC 16** were the most promising compounds, and they presented the lowest MIC values against *M. tuberculosis* H37Rv and low toxicity against human lung fibroblasts and *Galleria mellonella* larvae. These results corroborated **BVC** and analogs as hits for the discovery of new agents able to combat human pathogenic bacteria.

Keywords: Antibacterial. Antimycobacterial. Bavachalcone. Tuberculosis

FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Coeficiente de incidência de tuberculose (casos por 100 mil habitantes) por UF.....	21
Figura 2. Estrutura de Bavachalcona (BVC).....	23
Figura 3. Fármacos administrados no tratamento de TB.....	27
Figura 4. Fármacos administrados no tratamento de MDR-TB e XDR-TB.....	27
Figura 5. Planejamento molecular dos análogos de BVC , explorando o anel chalcônico B por meio de substituintes (R) eletrodoadores e eletroaceptores.....	36

CAPÍTULO II

Figura 1. Efeito do BVC e BVC 2 na formação de biofilme de <i>S. sanguinis</i> (ATCC 10556). As barras pontilhadas representam os valores de CIMB ₅₀ . As linhas representam a densidade ótica (A _{595 nm}).....	56
Figura 2. Efeito de BVC 12 , BVC 14 e BVC 16 na formação de biofilme de <i>S. aureus</i> (ATCC 6538). As barras pontilhadas representam os valores de CIMB ₅₀ . As linhas representam a densidade ótica (A _{595 nm}).....	77
Figura 3. Porcentagem de células de <i>S. aureus</i> com membranas rompidas. C: células tratadas com BVC; PC: células tratadas com nisina (controle positivo) e NC: células tratadas com 1% de DMSO (controle negativo).....	58
Figura 4. Microscopia de fluorescência de <i>S. aureus</i> corado com iodeto de propídio e SYTO9. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células tratadas com nisina a 5,0 µg/mL). (C) células tratadas com BVC 100 µg/mL em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100x, barra de escala 2 µm.....	59
Figura 5. Porcentagem de células de <i>S. aureus</i> com membranas rompidas. C: células tratadas com BVC 16 e BVC 12 ; PC: células tratadas com nisina (controle positivo) e NC: células tratadas com 1% de DMSO (controle negativo).....	59
Figura 6. Microscopia de fluorescência de <i>S. aureus</i> corado com iodeto de propídio e SYTO9. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células tratadas com nisina a 5,0 µg/mL). (C) células tratadas com BVC 14 100 µg/mL em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100x, barra de escala 2 µm.....	60
Figura 7. Microscopia de fluorescência de <i>S. aureus</i> corado com iodeto de propídio e SYTO9. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células tratadas com nisina a 5,0 µg/mL). (C) células tratadas com BVC 12 100 µg/mL em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100x, barra de escala 2 µm.....	60
Figura 8. Efeito de BVC na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4.....	62
Figura 9. Efeito de BVC 2 na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4.....	62
Figura 10. Efeito de BVC 12 na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4.....	63
Figura 11. Efeito de BVC 14 na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4.....	64
Figura 12. Efeito de BVC 16 na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4.....	65

Figura 13. Efeito letal de BVC nas larvas de <i>Galleria mellonella</i>	65
Figura 14. Efeito de BVC 12 e BVC 16 na viabilidade da <i>Galleria mellonella</i> em porcentagem.....	65

CAPÍTULO III

Figura 1. Espectro RMN 1H de BVC (acetona-d6; 600 MHz)	98
Figura 2. Espectro RMN 13C de BVC (acetona-d6; 150 MHz)	99
Figura 3. HPLC Cromatograma do composto BVC. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	99
Figura 4. Espectro de massas BVC	100
Figura 5. Espectro RMN 1H de BVC 1 (Acetona-d6; 600 MHz)	101
Figura 6. Espectro RMN 13C de BVC 1 (Acetona-d6; 150 MHz)	101
Figura 7. HPLC Cromatograma do composto BVC 1. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	102
Figura 8. Espectro de massas BVC-1	102
Figura 9. Espectro RMN 1H de BVC 2 (acetona-d6; 600 MHz)	103
Figura 10. Espectro RMN 13C de BVC 2 (acetona-d6; 150 MHz)	104
Figura 11. HPLC Cromatograma do composto BVC 2. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	104
Figura 12. Espectro de massas BVC 2	104
Figura 13. Espectro RMN BVC 3 (acetona-d6; 600 MHz).....	106
Figura 14. Espectro RMN 13C de BVC 3 (acetone-d6; 150 MHz)	107
Figura 15. HPLC Cromatograma do composto BVC 3. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	107
Figura 16. Espectro de massas BVC 3	108
Figura 17. Espectro RMN 1H de BVC 4 (Acetona-d6; 600MHz)	109
Figura 18. Espectro RMN 13C de BVC 4(Acetona-d6;150 MHz)	110
Figura 19. HPLC Cromatograma do composto BVC 4. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	110
Figura 20. Espectro RMN 1H de BVC 5 (acetona-d6; 600 MHz)	111
Figura 21. Espectro RMN 13C de BVC 5 (acetona-d6; 150 MHz)	112
Figura 22. HPLC Cromatograma do composto BVC 5. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	112
Figura 23. Espectro de Massas BVC 5.	113
Figura 24. Espectro RMN 1H de BVC 6 (acetona-d6; 600 MHz)	114
Figura 25. Espectro RMN 13C de BVC 6 (acetona-d6; 150 MHz)	114
Figura 26. HPLC Cromatograma do composto BVC 6. Metanol:Água (75:25), 254 nm.....	115
Figura 27. Espectro de massas de BVC 6.....	115
Figura 28. Espectro RMN 1H de BVC 7 (acetona-d6; 600 MHz)	116
Figura 29. Espectro RMN 13C de BVC 7 (acetona-d6; 150 MHz)	117
Figura 30. HPLC Cromatograma do composto BVC 7. Metanol:Água (8:2), 254 nm.....	117
Figura 31. Espectro de Massas BVC 7	118
Figura 32. Espectro RMN 1H de BVC 8 (acetona-d6; 600 MHz)	119
Figura 33. Espectro RMN 13C de BVC 8 (acetona-d6; 150 MHz)	119
Figura 34.HPLC Cromatograma do composto BVC 8. Metanol:Água (8:2), 254 nm.....	120
Figura 35. Espectro de massas BVC 8	120
Figura 36. Espectro RMN 1H de BVC 9 (acetona-d6; 600 MHz)	121
Figura 37. Espectro RMN 13C de BVC 9 (acetona-d6; 150 MHz)	122
Figura 38. HPLC Cromatograma do composto BVC 9. Metanol:Água (8:2), 254 nm.....	122
Figura 39. Espectro de massas de BVC 9.....	123
Figura 40. Espectro RMN 1H de BVC 10 (CDCl3, 600 MHz)	124
Figura 41. Espectro RMN 13C de BVC 10 (CDCl3, 150 MHz).....	125

Figura 42. HPLC Cromatograma do composto BVC 10. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	125
Figura 43. Espectro de Massas BVC 10.....	126
Figura 44. Espectro RMN 1H de BVC 11 (acetona-d ₆ ; 600 MHz)	127
Figura 45. Espectro RMN 13C de BVC 11 (CDCl ₃ ; 150 MHz).....	127
Figura 46. HPLC Cromatograma do composto BVC 11. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	128
Figura 47. Espectro de Massas BVC 11	128
Figura 48. Espectro RMN 1H de BVC 12 (CDCl ₃ ; 600 MHz)	129
Figura 49. Espectro RMN 13C de BVC 12 (CDCl ₃ ; 150 MHz).....	129
Figura 50. HPLC Cromatograma do composto BVC 12. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	130
Figura 51. Espectro de Massas BVC 12	130
Figura 52. Espectro RMN 1H de BVC 13 (CDCl ₃ ; 600 MHz)	131
Figura 53. Espectro RMN 13C de BVC 13 (CDCl ₃ ; 150 MHz).....	131
Figura 54. HPLC Cromatograma do composto BVC 13. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	132
Figura 55. Espectro RMN 1H de BVC 14 (acetona-d ₆ ; 600 MHz)	133
Figura 56. Espectro RMN 13C de BVC 14 (acetona-d ₆ ; 150 MHz)	133
Figura 57. HPLC Cromatograma do composto BVC 14. Metanol:Água (75:25), 254 nm....	134
Figura 58. Espectro de Massas BVC 14.....	134
Figura 59. Espectro RMN 1H de BVC 15 (acetona-d ₆ ; 600 MHz)	135
Figura 60. Espectro RMN 13C de BVC 15 (acetona-d ₆ ; 150 MHz)	135
Figura 61. HPLC Cromatograma do composto BVC 15. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	136
Figura 62. Espectro de Massas BVC 15	136
Figura 63. Espectro RMN 1H de BVC 16 (CDCl ₃ ; 600 MHz)	137
Figura 64. Espectro RMN 13C de BVC 16 (CDCl ₃ ; 150 MHz).....	137
Figura 65. HPLC Cromatograma do composto BVC 16. Metanol:Água (80:20), 254 nm....	138
Figura 66. Espectro de Massas BVC 16	138

QUADROS

CAPÍTULO I

Quadro 1. Lista de Patógenos Prioritários para Pesquisa e Desenvolvimento de Novos Fármacos Antibacterianos.....	26
Quadro 2. Doenças associadas a bactérias patogênicas.....	28

TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela1. Atividade contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> de BVC e seus análogos (BVC 1– BVC 16).....	51
Tabela 2 Atividade antibacteriana de BVC ,seus análogos e controles positivos.....	53
Tabela 3. Efeito sinérgico de BVC e BVC 2 e Clorexidina.....	55
Tabela 4. Efeito sinérgico de análogos de BVC e tetraciclina.....	55
Tabela 5. Propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e <i>druglikeness</i> de BVC e análogos selecionados.....	67

ESQUEMAS

CAPÍTULO I

Esquema 1. Síntese total BVC por Sugamoto et al (2011): (a) MOMCl, K ₂ CO ₃ , Acetona, 0 °C → rt: 3h; (b) cloreto de 3,3-dimetilalila, acetona, 0 °C → rt: 24 h; (c) 4-metoximetoxibenzaldeído, 3M NaOH, EtOH, rt; 24 h; (d) Montmorilonita K10, CH ₂ Cl ₂ ; 0 °C → rt: 0.5 h; (e) 3M HCl, MeOH, 0 °C; 0.5 h, 0 °C → rt.....	34
Esquema 2. Síntese total BVC por Wang et al (2015): (a) NaH, MOMCl, CH ₂ Cl ₂ , 0 °C, 2 h; (b) NIS, DMF, 70 °C, 10h (c) KOH, etanol, água, 0 °C; 0 °C → rt; 12 h, (d) Cs ₂ CO ₃ , PdCl ₂ (dppf), DMF, 70 °C, 2 h (e) 2M HCl, MeOH, 0 °C; 6 h, 0 °C → 50 °C.....	35

CAPÍTULO II

Esquema 1. Síntese total de BVC : (a) NIS, p-TsOH.H ₂ O, ACN, 0 °C → rt , 14 h; (b) MOMCl, K ₂ CO ₃ , Acetona, 0 °C → rt, 2h; (c) 4-metoximetoxibenzaldeído, KOH, etanol, água, 0 °C; 0 °C → rt; 4 h; (d) éster pinacol do ácido isoprenilborônico, Cs ₂ CO ₃ , PdCl ₂ (dppf), DMF, 70 °C, 2 h; (e) HCl 1 mol L ⁻¹ , MeOH:THF (1:1), 55 °C, 6h.....	49
Esquema 2. Rota sintética para chalconas (BVC-1-16). a) condições reacionais para chalconas C1-C16 : 60% KOH, EtOH, rt.....	50
Esquema 3. Preparo de R.1 (éster pinacol do ácido isoprenilborônico).....	50
Esquema 4. Relação estrutura-atividade antimicobacteriana de BVC e seus análogos.....	52

ABREVIACÕES E SBOLOS

ADME: absorção, distribuição, metabolismo e excreção

ATCC: American Type Culture Collection

BBB: blood-brain barrier

BHI – Brain Heart Infusion

BVC: Bavachalcona

CBM: concentração bactericida mínima

CIF: concentração inibitória fracionada

CIM: concentração inibitória mínima

CIMB₅₀: concentração inibitória mínima capaz de inibir em 50% a formação de biofilme.

d: duplete

dd: duplo duplete

ddd: triplo duplete

DNA: cido desoxirribonucleico

FDA: Food and Drug Administration

Hab. – habitantes

HBA: hydrogen bond acceptor

HBD: hydrogen bond donor

HIV: Human Immunodeficiency Virus

HPLC: High Performance Liquid Chromatography

ICIF: ndice de concentração inibitória fracionada

INH: isoniazida

ITU - Infecções do Trato Urinrio

J: constante de acoplamento

log *P*: log do coeficiente de partição

log *S*: log da constante de solubilidade

m: multiplete

MDR-TB: Multidrug-resistant tuberculosis

MOM: metoximetila

MR: Molar Refraction

MRSA: Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*

MS: mass spectrometry
MSSA: Methicillin Sensitive *Staphylococcus aureus*
MTB: *Mycobacterium tuberculosis*
MW: mass weight
NA: número de átomos
NROT: number of rotatable bonds
NTM: nontuberculous mycobacteria
P&D: pesquisa e desenvolvimento
PAD: photodiode array detector
PBS – Phosphate Buffered Saline
PN: produtos naturais
REMA: Resazurin Microtiter Assay
RMN: Ressonância Magnética Nuclear
RMP: rifampicina
RNA: Ácido ribonucleico
RR-TB: rifampicin resistance
SAR: structure-activity relationship
SUS - Sistema Único de Saúde
TB: tuberculose
TPSA: Topological Polar Surface Area
UF – unidades da federação
UFC: unidades formadoras de colônia
WHO: World Health Organization
XDR-TB: Extensively Drug-Resistant Tuberculosis
 δ : deslocamento químico

SUMÁRIO

CAPÍTULO I: Introdução geral, revisão da literatura e objetivos

1. Introdução Geral.....	19
2. Revisão da literatura.....	22
2.1 Resistência a fármacos.....	22
2.2 Bactérias patogênicas	26
2.2.1 Bactérias Gram-Positivas	26
2.2.2 Bactérias Gram-Negativas.....	28
2.2.3 Micobactérias.....	29
2.3 Atividade Antimicrobiana de Bavachalcona.....	29
2.4 Síntese Total de Bavachalcona (BVC)	30
3. Objetivos	32
3.1 Objetivo geral.....	32
3.2 Objetivos detalhados capítulo II.....	32
3.3 Objetivos detalhados do Capítulo III.....	33

CAPÍTULO II: Atividade antibacteriana e antimicobacteriana de Bavachalcona e análogos

1. Introdução.....	36
2. Materiais e Métodos.....	37
2.1 Bavachalcona (BVC) e análogos (BVC 1-16).	37
2.2 Procedimentos de síntese.....	38
2.3 Ensaio antimicobacterianos.....	39
2.4 Ensaio antibacterianos	40
2.5 Efeito sinérgico	41
2.6 Ensaio antibiofilme.....	42
2.6.1 Ensaio antibiofilme de BVC	42
2.6.2 Ensaio antibiofilme dos análogos de BVC	42
2.7 Ensaio de Rompimento de Membrana.....	44
2.8 Ensaio de toxicidade.....	44

2.8.1 Toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano	44
2.8.2 Toxicidade contra larvas de <i>Galleria mellonella</i>	45
3. Resultados e Discussões	46
3.1 Síntese da Bavachalcona e Análogos (BVC 1 a BVC-16)	46
3.1.1 Síntese da Bavachalcona (BVC)	46
3.1.2 Síntese dos análogos BVC 1 a BVC 16	47
3.2 Atividade antimicobacteriana	48
3.3 Atividades antibacteriana	50
3.4 Efeito sinérgico de BVC e seus análogos com fármacos antibacterianos	53
3.5 Ensaio de atividade antibiofilme	53
3.6 Ensaio de rompimento de membrana	55
3.7 Ensaio de toxicidade	59
3.7.1 Toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano	59
3.7.2 Toxicidade contra <i>Galleria mellonella</i>	62
3.8 Investigação <i>in silico</i> das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e druglikeness	63
4. Conclusões	67
 CAPÍTULO III: Referências e Material Suplementar	
REFERÊNCIAS	69
MATERIAL SUPLEMENTAR	78

CAPÍTULO I

Introdução geral, revisão da literatura e objetivos

Capítulo I

1. Introdução Geral

As doenças bacterianas representam uma preocupação de saúde pública global, afetando milhões de pessoas em todo o mundo (OPAS, 2024). Infecções bacterianas são frequentemente desencadeadores de complicações agudas. O impacto global da morbidade e mortalidade associada a essas condições é substancial, atingindo significativamente a qualidade de vida e os sistemas de saúde em todo o mundo (WHO, 2017).

No Brasil, uma das condições bacterianas mais prevalentes e severas é a tuberculose, sendo considerada uma das dez principais causas de morte no país. De acordo com dados do Ministério da Saúde, em 2022 foram registrados 78.057 casos novos da doença, com uma taxa de incidência de 36,3 casos por 100 mil habitantes. As Unidades da Federação (UF) que apresentaram populações sob maior risco de adoecimento por TB foram Amazonas (84,1 casos por 100 mil hab.), Roraima (75,9 casos por 100 mil hab.) e Rio de Janeiro (68,6 casos por 100 mil hab.) Um total de 13 UF registraram coeficiente de incidência superior ao nacional (36,3 casos por 100 mil hab.) (Figura 1) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2023).

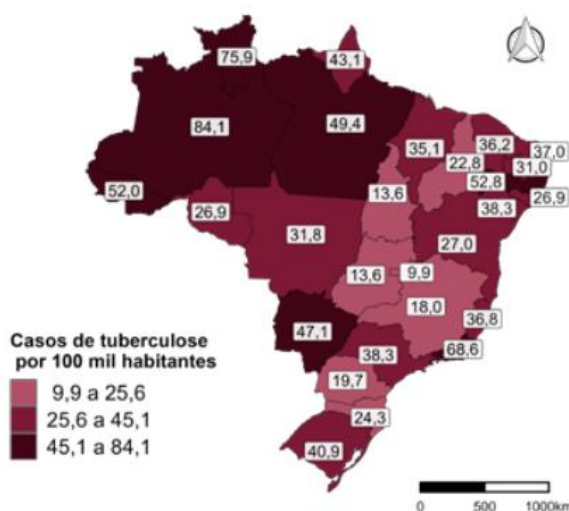


Figura 1. Coeficiente de incidência de tuberculose (casos por 100 mil habitantes) por UF (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2023).

As maiores taxas de incidência de TB são em áreas urbanas e em populações vulneráveis, como pessoas em situação de rua, usuários de drogas, pessoas privadas de liberdade, entre outros. A desigualdade social e a falta de acesso a serviços de saúde adequados contribuem para o aumento do número de casos e para a disseminação da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2019).

O controle da tuberculose no Brasil é realizado por meio do Sistema Único de Saúde (SUS), que disponibiliza tratamento gratuito e universal para os pacientes diagnosticados com a doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2022). No entanto, a tuberculose é um desafio no Brasil, sendo necessários investimentos em políticas públicas e em pesquisa para reduzir os índices de incidência e mortalidade pela doença.

Os desafios relacionados à tuberculose incluem o diagnóstico tardio, o tratamento prolongado e a resistência aos fármacos. A coinfeção com o HIV contribui para a complexidade do manejo da tuberculose. Além disso, a urbanização irracional, a desigualdade social e as condições de vida precárias em algumas áreas do Brasil podem favorecer a propagação da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2021).

A resistência aos fármacos é um desafio crescente no tratamento das doenças infecciosas. Segundo um relatório liderado pelo economista britânico Jim O'Neill, em 2016, cerca de 700.000 pessoas morrem a cada ano devido a infecções resistentes a antibióticos em todo o mundo, e esse número pode aumentar para 10 milhões de mortes por ano até 2050, caso não sejam tomadas medidas urgentes para enfrentar o problema (JIM O'NEILL, 2016).

Durante o tratamento da tuberculose, alguns desafios específicos podem surgir, especialmente em casos graves que podem exigir entubamento e suporte respiratório. E esses pacientes podem estar mais suscetíveis a infecções respiratórias secundárias, incluindo pneumonia causada por microrganismos oportunistas (WHO, 2019). Essa situação exige esforços para o desenvolvimento de novos antimicobacterianos e para aprimorar os existentes. É fundamental que haja uma abordagem global e colaborativa para lidar com a resistência aos antibióticos e outras ameaças à saúde pública, incluindo investimentos em pesquisa e desenvolvimento de novas farmacoterapias, aprimoramento das medidas de prevenção e controle de infecções, conscientização da população e fortalecimento dos sistemas de saúde.

Nesse contexto, os fármacos tuberculostáticos são cruciais para manter a expectativa de vida, especialmente em pacientes HIV positivos. Inúmeras razões justificam a necessidade de novos agentes antimicobacterianos, destacando-se a alta morbidade e mortalidade da tuberculose. O ressurgimento de cepas multirresistentes (MDR-TB) e extensivamente resistentes (XDR-TB), além das características morfofisiológicas peculiares do *Mycobacterium tuberculosis*, bem como as diferentes formas fenotípicas (ativas ou latentes), representam desafios para a descoberta de tuberculostáticos. Esforços são urgentes para descobrir e desenvolver fármacos contra a tuberculose com padrões estruturais e mecanísticos inovadores.

A busca por terapias alternativas e complementares para o tratamento da tuberculose tem aumentado devido à necessidade de abordagens mais eficazes e acessíveis, especialmente

em regiões onde o acesso aos medicamentos convencionais é limitado. Plantas medicinais e seus extratos e substâncias têm despertado interesse contínuo devido às suas propriedades terapêuticas. As fontes naturais oferecem uma fonte rica de substâncias bioativas, como alcaloides, flavonoides e terpenoides, que demonstraram atividade contra o *M. tuberculosis* (KARIMI et al., 2021; ZHANG et al., 2023).

As chalconas são flavonoides encontrados em plantas e com ampla distribuição em várias famílias BOTÂNICAS. Estruturalmente são formadas por duas unidades benzênicas (anéis A e B), separadas por uma cetona α,β -insaturada (DEWICK, 2009)(SALEHI et al., 2020; VÁSQUEZ-MARTÍNEZ et al., 2019). A bavachalcona (**BVC**) é uma chalcona tri-hidroxilada e C-isoprenilada na posição 5' (Figura 2), que foi isolada primeiramente de *Psoralea corylifolia* (Fabaceae) (BHALLA; NAYAK; DEV, 1968) e pode ser obtida por síntese para fins de pesquisa e desenvolvimento de substâncias bioativas.

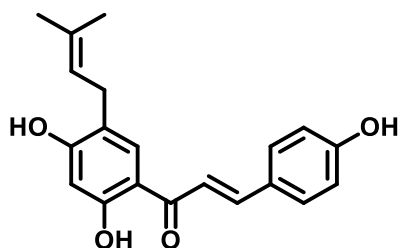


Figura 2. Estrutura de bavachalcona (**BVC**)

A presente tese objetivou a síntese e avaliação biológica de bavachalcona (**BVC**) e análogos chalcônicos, utilizando-se uma rota sintética que incluiu reações de iodação, uso de grupos protetores, condensação de Claisen-Schmidt e acoplamento de Suzuki. A atividade antimicobacteriana foi determinada contra a cepa suscetível H37Rv, indicando valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM). As substâncias antimicobacterianas tiveram sua toxicidade avaliada contra fibroblastos pulmonares humanos (MRC-5) e larvas de *Galleria mellonella*.

Selecionamos **BVC** como protótipo para planejar 16 análogos (**BVC 1–BVC 16**) com modificações no anel B. As substâncias foram sintetizadas e avaliadas *in vitro* contra bactérias patogênicas humanas, incluindo micobactérias (*Mycobacterium tuberculosis*), bactérias Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Helicobacter pylori*) e bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus mutans*). Além disso, as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness* de **BVC** e seus análogos foram preditas por análises *in silico*.

Essa tese foi organizada em três capítulos (I–III). O capítulo I apresentou uma revisão da literatura sobre o problema de patógenos bacterianos e a relevância de chalconas preniladas naturais como agentes antibacterianos. Entre os produtos naturais, destacamos **BVC** e sua atividade antibacteriana e antimicobacteriana contra bactérias patogênicas. Além disso, revisamos as abordagens de síntese descritas para **BVC**. No final do capítulo I, apresentamos os objetivos gerais e específicos. No capítulo II, apresentamos a síntese total de **BVC** e seus análogos e sua atividade antibacteriana contra cinco espécies de bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus* e *S. mutans*) e três bactérias Gram-negativas (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* e *H. pylori*), bem como contra espécies micobacterianas (*M. tuberculosis*, *M. avium*, *M. kansasii*). As substâncias mais ativas (**BVC**, **BVC 2**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) foram selecionadas para bioensaios adicionais, como avaliação antibacteriana associados a antibióticos, atividade antibiofilme, citotoxicidade e mecanismo de ação antibacteriana, discutindo a relação estrutura-atividade antimicobacteriana e as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness*. No capítulo III, apresentamos as referências e material suplementar, contendo o procedimento de síntese, espectros e cromatogramas de **BVC** e seus análogos.

2. Revisão da literatura

2.1 Resistência a fármacos

A resistência aos fármacos é um problema global de saúde pública que afeta a eficácia dos tratamentos médicos, tornando muitos deles pouco eficazes e aumentando a morbidade e a mortalidade em todo o mundo (WHO, 2023). Esse fenômeno ocorre quando microrganismos se tornam menos suscetíveis aos fármacos usados para combatê-los. Isso pode ocorrer naturalmente, devido à pressão evolutiva sobre os microrganismos, ou pode ser causado pelo uso indiscriminado de fármacos antibacterianos (CDC, 2019).

A resistência aos fármacos pode afetar vários tipos de microrganismos, como as bactérias que causam infecções do trato urinário, pulmonar, sanguíneas, entre outras. A resistência pode surgir devido à mutação genética ou transferência horizontal de genes de resistência entre diferentes espécies bacterianas (VENTOLA, 2015).

Para combater a resistência aos fármacos é necessário adotar medidas preventivas e estratégias de gestão de uso de fármacos, como o uso racional de antibióticos, a implementação de protocolos de prevenção de infecções, a conscientização sobre o uso adequado de medicamentos, e a pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos e medicamentos (WHO, 2023).

Os fármacos antibacterianos, utilizados para combater infecções causadas por bactérias em humanos, animais e plantas, podem ser obtidos de fontes naturais ou por síntese. Eles são classificados em bacteriostáticos, que inibem o crescimento bacteriano, e bactericidas, que exercem efeito letal contra as bactérias. Além disso, eles são agrupados de acordo com seus mecanismos de ação, como inibição da biossíntese da parede celular, inibição da biossíntese proteica, aumento da permeabilidade da membrana celular e interferência na replicação do DNA (WALLER; SAMPSON, 2018).

No entanto, o uso excessivo e inadequado desses fármacos pode levar ao desenvolvimento de resistência bacteriana, o que pode tornar o tratamento de infecções mais difícil e complexo (OPAS, 2024). Além disso, a resistência pode se dispersar facilmente entre diferentes espécies bacterianas e, conseqüentemente, aumentar o risco de infecções graves e até mesmo morte (WHO, 2021a). A resistência aos fármacos pode ser adquirida por vários mecanismos, incluindo limitação da permeação do fármaco pela membrana bacteriana, modificação da afinidade pelo alvo molecular, inativação (biotransformação) do fármaco, formação de biofilme e efluxo ativo do fármaco por bombas (BEYER; PAULIN, 2020; C REYGAERT, 2018).

A Organização Mundial da Saúde (WHO) sugeriu uma lista de prioridades de bactérias patogênicas para encorajar esforços globais em pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos (WHO, 2017). Essa lista (Quadro 1) incluiu 12 grupos bacterianos agrupados de acordo com a categoria de prioridade, sendo crítica, alta e média, considerando seus riscos à saúde humana. Os critérios aplicados para estabelecer esta classificação foram relacionados com a taxa de letalidade da infecção, incluindo hospitalizações prolongadas, resistência dos microrganismos aos antibióticos de uso clínico; transmissibilidade entre pessoas e pessoas, bem como entre pessoas e animais; sucesso de programas de prevenção e tratamentos convencionais e novos.

Prioridade	Bactéria ou grupo bacteriano	Resistência
1-CRÍTICO	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	carbapenêmicos
	<i>Enterobacteriaceae</i> *	carbapenêmicos e cefalosporinas de terceira geração
2 – ALTO	<i>Enterococcus faecium</i>	vancomicina
	<i>Staphylococcus aureus</i>	meticilina e vancomicina (resistência intermediária)
	<i>Helicobacter pylori</i>	claritromicina
	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Salmonellae</i>	fluoroquinolonas
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	cefalosporinas e fluoroquinolonas
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	penicilina
3- MÉDIO	<i>Haemophilus influenzae</i>	ampicilina
	<i>Shigella</i> spp	fluoroquinolonas

*Enterobacteriaceae incluem *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Proteus* spp., and *Providencia* spp, *Morganella* spp.

Quadro 1. Lista de Patógenos Prioritários para Pesquisa e Desenvolvimento de Novos Fármacos Antibacterianos

A tuberculose (TB) é outro desafio global em doenças infecciosas, que permanece como a principal causa de morte por vários anos em todo o mundo. Em 2020, cerca de 1,5 milhão de pessoas morreram de TB, sendo a segunda causa de morte no mundo, após a Covid-19 (WHO, 2021a). Foram relatados 9,9 milhões de casos de TB, uma ligeira redução (2%) em comparação com o ano anterior. No entanto, essa redução pode ser consequência da interrupção dos serviços de saúde por vários meses, o que dificultou o diagnóstico de novos casos de TB. Como consequência agravante, o número de mortes por TB aumentou pela primeira vez em mais de uma década (WHO, 2021a). Além disso, pessoas com tuberculose pré-existente têm uma chance maior de desenvolver complicações graves devido à coinfeção por SARS-CoV-2 (GAO et al., 2021).

O tratamento padronizado da TB tem pelo menos seis meses de duração, compreendendo uma combinação de rifampicina (1; RMP), isoniazida (2; INH), pirazinamida (3) e etambutol (4) (Figura 3). Em 2020, 71% (2,1 / 3,0 milhões) das pessoas diagnosticadas com TB pulmonar foram testadas bacteriologicamente para resistência à rifampicina (RR-TB), um aumento de 61% em comparação com 2019. Entre esses, foram detectados aproximadamente 132 mil novos casos de TB multifármaco resistente (MDR-TB; resistente a INH e RMP) (WHO, 2021a).

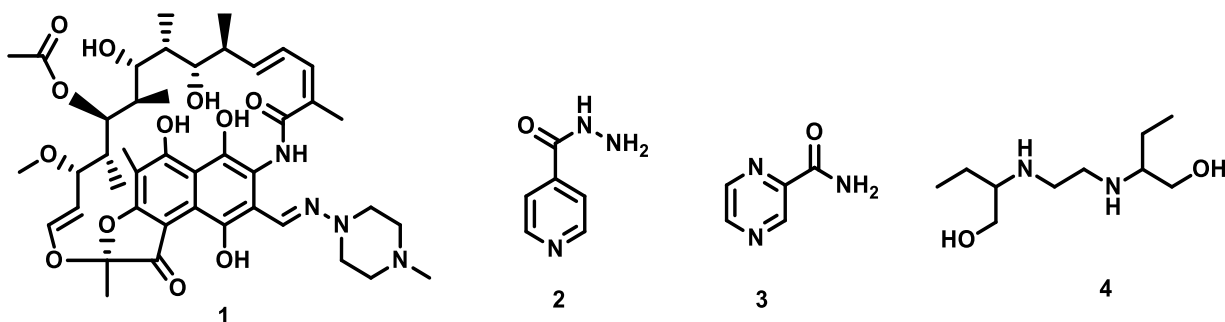


Figura 3. Fármacos administrados no tratamento de TB

A farmacoterapia da MDR-TB é relativamente mais complexa, levando a altas taxas de abandono e falhas no tratamento (SEUNG; KESHAVJEE; RICH, 2015). O tratamento da MDR-TB requer a combinação de pelo menos uma fluoroquinolona (ofloxacina, levofloxacina ou moxifloxacina) e um fármaco injetável (capreomicina, canamicina ou ampicilina) por 18 meses. Além disso, o surgimento da TB-XDR, resistente aos fármacos de primeira e segunda linha, representa um enorme desafio global de saúde (SEUNG; KESHAVJEE; RICH, 2015; WHO, 2021a). Nos últimos dez anos a FDA, aprovou delamanida (5), pretomanida (6) e bedaquilina (7) (Figura 4) contra TB-MDR e TB-XDR, reduzindo o tempo de tratamento e melhorando as terapias anti-TB-MDR e anti-TB-XDR para 9–11 meses (WHO, 2021a). No entanto, a resistência aos fármacos atuais tem sido relatada (BLOEMBERG et al., 2015; GÓMEZ-GONZÁLEZ et al., 2021).

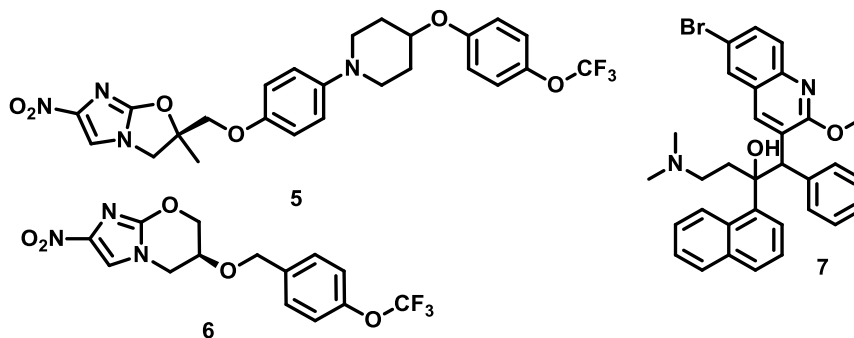


Figura 4. Fármacos administrados no tratamento de MDR-TB e XDR-TB

Outras espécies de *Mycobacterium* estão envolvidas em doenças pulmonares, mas não causam tuberculose, sendo definidas como micobactérias não-tuberculosas (NTM). Embora tenham sido descritas cerca de 150 espécies de NTM, apenas algumas estão envolvidas em infecções pulmonares humanas, tais como o complexo *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium kansasii* e *Mycobacterium abscessus*. NTM está se tornando uma preocupação global devido ao aumento do número de casos relatados nos últimos anos, incluindo aqueles causados por cepas multifármaco resistentes (WASSILEW et al., 2016). A infecção causada por NTM desafia o diagnóstico e o tratamento, exigindo uma combinação de vários fármacos por um

longo período, o que leva a uma alta taxa de abandono e falhas no tratamento (RATNATUNGA et al., 2020).

2.2 Bactérias patogênicas

A relação entre microrganismos patogênicos e doenças em humanos é uma trama complexa que abrange uma variedade de agentes infecciosos. Dentre os microrganismos mencionados, destacam-se bactérias Gram-positivas, bactérias Gram-negativas, além de micobactérias, cada uma desempenhando papéis específicos em condições fisiopatológicas distintas (Quadro 2).

Bactérias	Doenças associadas
<i>Staphylococcus aureus</i>	pneumonia; sinusite; foliculite; celulite; abscessos cutâneos; bacteremia; endocardite; SCT (Síndrome do Choque Tóxico); intoxicação alimentar; infecções do trato urinário; conjuntivite; osteomielite e artrite séptica
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	pneumonia; sinusite; otite média; meningite; infecções do trato respiratório superior
<i>Streptococcus sobrinus</i>	cárie dentária
<i>Streptococcus sanguinis</i>	endocardite bacteriana
<i>Streptococcus mutans</i>	cárie dentária
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	infecções respiratórias, especialmente em pacientes com fibrose cística e outras condições pulmonares; infecções do trato urinário; infecções cutâneas; infecções sistêmicas em pacientes imunocomprometidos
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	pneumonia; infecções do trato urinário; infecções sanguíneas.
<i>Helicobacter pylori</i>	úlceras pépticas; gastrite; câncer gástrico; Linfoma MALT (linfoma de tecido linfoide associado à mucosa).
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium avium</i> <i>Mycobacterium kansasii</i>	Tuberculose

Quadro 2. Doenças associadas a bactérias patogênicas

2.2.1 Bactérias Gram-Positivas

S. aureus é uma bactéria comumente encontrada na pele e nas mucosas de humanos e animais (CASSAT; THOMSEN, 2021). Embora muitas pessoas sejam portadoras

assintomáticas dessa bactéria, *S. aureus* pode causar uma variedade de infecções quando invade no corpo e se prolifera (WERTHEIM et al., 2005). Pode estar envolvida em infecções respiratórias, incluindo pneumonia e infecção dos seios paranasais, especialmente em indivíduos imunocomprometidos (WERTHEIM et al., 2005). Além de infecções cutâneas, infecções sistêmicas, infecção das válvulas cardíacas, infecções alimentares, infecções do trato urinário (ITU) em indivíduos com fatores de risco, como portadores de cateteres urinários, infecções oculares, incluindo conjuntivite, infecções ósseas e articulares (ALALWAN et al., 2017; BHATTACHARYA et al., 2015; GOSS; MUHLEBACH, 2011; MUÑOZ-GALLEGO et al., 2020; PIMENTEL DE ARAUJO et al., 2021; TONG et al., 2015; WERTHEIM et al., 2005). Em condições raras e graves, quadros clínicos desencadeados pelas toxinas estafilocócicas que entram na corrente sanguínea podem gerar uma forte resposta inflamatória (OTTO; STEELE-MORTIMER; SUBTIL, 2014).

S. pneumoniae, conhecido como pneumococo, coloniza as vias respiratórias superiores. Enquanto a maioria das infecções por *S. pneumoniae* é assintomática ou resulta em infecções leves, essa bactéria causar doenças mais graves, incluindo pneumonia, bronquite, traqueite e outras infecções do trato respiratório superior, sinusite, otite média e meningite bacteriana (HAUSDORFF; HANAGE, 2016; LI et al., 2023; O'BRIEN et al., 2009; SUAYA et al., 2021; WEINBERGER et al., 2010; YANG et al., 2024; ZHAO et al., 2019).

S. mutans faz parte da microbiota oral humana. Embora desempenhe um papel natural na cavidade bucal, sendo principalmente conhecido por sua relação no desenvolvimento de cáries dentárias. Em certos casos, pode entrar na corrente sanguínea durante procedimentos dentários invasivos, levando ao risco de endocardite bacteriana, uma infecção das válvulas cardíacas. Embora menos comum, foi identificado em infecções respiratórias, sugerindo possíveis associações com regiões anatômicas além da cavidade oral (ABRANCHES et al., 2018; NIZAR et al., 2022; PLAINVERT et al., 2023; TAHMASEBI et al., 2023).

S. sobrinus similarmente ao *S. mutans*, em circunstâncias normais, é uma bactéria comensal encontrada na cavidade oral, sendo considerada parte da microbiota. No entanto, em certas situações, pode agir como um microrganismo oportunista, especialmente em indivíduos com sistema imunológico comprometido (BABAEKHOUE et al., 2021; VEENA; NAGARATHNA, 2020).

S. sanguinis é conhecido por ser uma das causas mais comuns de endocardite bacteriana, especialmente em indivíduos com predisposição a problemas cardíacos ou aqueles que passaram por procedimentos dentários invasivos. Em pacientes com sistema imunológico debilitado, seja devido a condições médicas subjacentes, tratamentos imunossupressores ou

outras razões, pode se tornar oportunista, causando infecções em diversas áreas, como pulmões, articulações ou tecidos moles. Além do que pode estar envolvido em infecções associadas a dispositivos médicos, como cateteres intravasculares ou outros dispositivos implantados, especialmente em ambientes hospitalares (BEIGHTON, 2005; LOCKHART et al., 2008; LOESCHE, 1986; NOBBS; JENKINSON; JAKUBOVICS, 2011; ROSADO; ROMANELLI; CAMARGOS, 2011).

2.2.2 Bactérias Gram-Negativas

P. aeruginosa é um patógeno associado a uma variedade de infecções em seres humanos. Ela é conhecida por sua versatilidade e resistência a antibióticos (REYNOLDS; KOLLEF, 2021). É uma das principais causas de infecções pulmonares em pessoas com fibrose cística e outras condições pulmonares crônicas. A bactéria pode se aproveitar de sistemas respiratórios comprometidos, causando pneumonia e bronquite (CAMPAGNA et al., 2022; IBRAHIM; JABBOUR; KANJ, 2020; SPERNOVASILIS; PSICHOGIOU; POULAKOU, 2021). Em ambientes hospitalares, pode causar infecções do trato urinário, especialmente em pacientes com cateteres urinários. Está associada a infecções cutâneas, incluindo feridas cirúrgicas, queimaduras e lesões traumáticas (BOUGLÉ et al., 2022; IBRAHIM; JABBOUR; KANJ, 2020; SAWA et al., 2020). Em pacientes imunocomprometidos ou com condições clínicas graves, pode causar sepse e bacteremia, representando uma ameaça potencialmente fatal. Em casos de lesões oculares ou em usuários de lentes de contato, pode causar infecções oculares, incluindo ceratite (GELLATLY; HANCOCK, 2013; LYCZAK; CANNON; PIER, 2000; MORADALI; GHODS; REHM, 2017).

K. pneumoniae é uma das principais causas de infecções hospitalares, podendo causar pneumonia, especialmente em pessoas com sistema imunológico comprometido, condições pulmonares crônicas ou em ambientes hospitalares (HU et al., 2021; MARTIN; BACHMAN, 2018). É uma das principais bactérias causadoras de infecções do trato urinário, especialmente em pacientes hospitalizados com cateteres urinários. Pode causar bacteremia, podendo levar a complicações graves. Em ambientes hospitalares, pode causar infecções em feridas cirúrgicas, úlceras de pressão e outros locais de lesão. Embora menos comum, pode estar associada a infecções no trato gastrointestinal, especialmente em pessoas imunocomprometidas (DEL PUENTE et al., 2019; MARTIN; BACHMAN, 2018; PACZOSA; MECSAS, 2016; PODSCHUN; ULLMANN, 1998).

H. pylori coloniza o estômago humano, e desempenha um papel crucial em diversas doenças gastrointestinais (LEJA et al., 2019). É uma das principais causas de úlceras pépticas,

incluindo úlceras gástricas e duodenais. A bactéria coloniza a mucosa do estômago, causando inflamação que pode levar ao desenvolvimento de úlceras. Além disso, é uma das principais causas de gastrite crônica, uma inflamação no revestimento estomacal. A infecção persistente pode contribuir para a progressão da gastrite, como está fortemente associada ao aumento do risco de câncer gástrico (CONGEDI; WILLIAMS; BALDOCK, 2022; SONNENBERG, 2022; SUKRI et al., 2020). A inflamação crônica e as alterações na mucosa gástrica podem contribuir para a carcinogênese. *H. pylori* está implicado no desenvolvimento do linfoma MALT, um tipo de linfoma não-Hodgkin que ocorre no trato gastrointestinal, especialmente no estômago (MALFERTHEINER et al., 2017).

2.2.3 Micobactérias

As micobactérias são um grupo diversificado de bactérias que inclui várias espécies capazes de causar doenças em humanos. Dentre as micobactérias patogênicas, *M. tuberculosis* é a mais proeminente e está associada à tuberculose, uma das principais causas de morbidade e mortalidade global (SHARMA; UPADHYAY, 2020). Enquanto *M. avium* e *M. kansasii* podem causar infecções em indivíduos imunocomprometidos, como aqueles portadores do HIV (CRISTANCHO-ROJAS et al., 2023; WHO, 2021b; ZUMLA; GEORGE; SHARMA, 2013).

2.3 Atividade Antimicrobiana de Bavachalcona

As chalconas são precursores centrais de flavonoides com o anel C, que é formado após modificações na ponte cetônica α , β -insaturada entre os anéis A e B (ROZMER; PERJÉSI, 2014). A maioria das chalconas naturais apresenta os grupos hidroxila e metoxila nos anéis aromáticos. As prenilas (isoprenila e geranila) são substituintes alílicos comuns que compõem a estrutura de chalconas, se apresentando como cadeias abertas e ciclos (CAESAR; CECH, 2016; CHEN et al., 2014). A cadeia lateral prenílica pode estar ligada aos anéis A e B por átomos de carbono e oxigênio, gerando C-prenilchalconas e O-prenilchalconas, respectivamente (CHEN et al., 2014; ROZMER; PERJÉSI, 2014).

As chalconas são substâncias de grande importância biológica, sendo encontradas em diversas espécies de plantas (CHAVAN et al., 2015). Durante as últimas décadas, numerosas investigações foram realizadas sobre as atividades farmacológicas de chalconas naturais e sintéticas.

A atividade antimicobacteriana de **BVC** ainda não foi relatada na literatura, mas **BVC** demonstrou ser ativa contra uma ampla variedade de bactérias bem como contra cepas resistentes a fármacos. Em particular, **BVC** mostrou-se altamente ativa contra várias cepas de

B. subtilis, *S. epidermidis*, *M. luteus*, com valores de CIM variando de 8 a 16 µg/mL (SUGAMOTO et al., 2011).

O efeito inibitório de agentes antibacterianos de **BVC** misturados com verniz fluoretado experimental (EFV) sobre *S. mutans* foi avaliado por SON e colaboradores. Dentre os compostos testados, **BVC** foi o mais eficaz contra *S. mutans*, indicando sua utilidade potencial com verniz fluoretado na prevenção de cárie dentária (SON et al., 2020).

Em 2019, foi relatado que a **BVC** e a isobavachalcona têm sido usadas em preparações para tratamento de diarreia, colite e colite pseudomembranosa causada por infecção por *Clostridium difficile* (LIU et al., 2019).

Os efeitos biológicos de **BVC** isolada de *P. corylifolia* na diferenciação de osteoclastos foram avaliados usando culturas primárias de células precursoras de osteoclastos, inibindo a formação de osteoclastos a partir do precursor células e foi considerado o principal componente ativo para promover a formação óssea (GE; CHENG; HAN, 2019).

BVC isolada de *Psoralea fructus*, mostrou potencial para inibir diferencialmente neuroinflamação, dano oxidativo e doença de Alzheimer de importante alvos proteicos relacionados à doença, como o peptídeo β -amiloide, β -secretase, glicogênio sintase quinase 3β e acetilcolinesterase (LEE; KIM; RYU, 2005). Além disso, **BVC** isolada de *Psoralea corylifolia*, demonstrou exibir um efeito inibitório significativo no BACE-1 *in vitro* (CHOI et al., 2008).

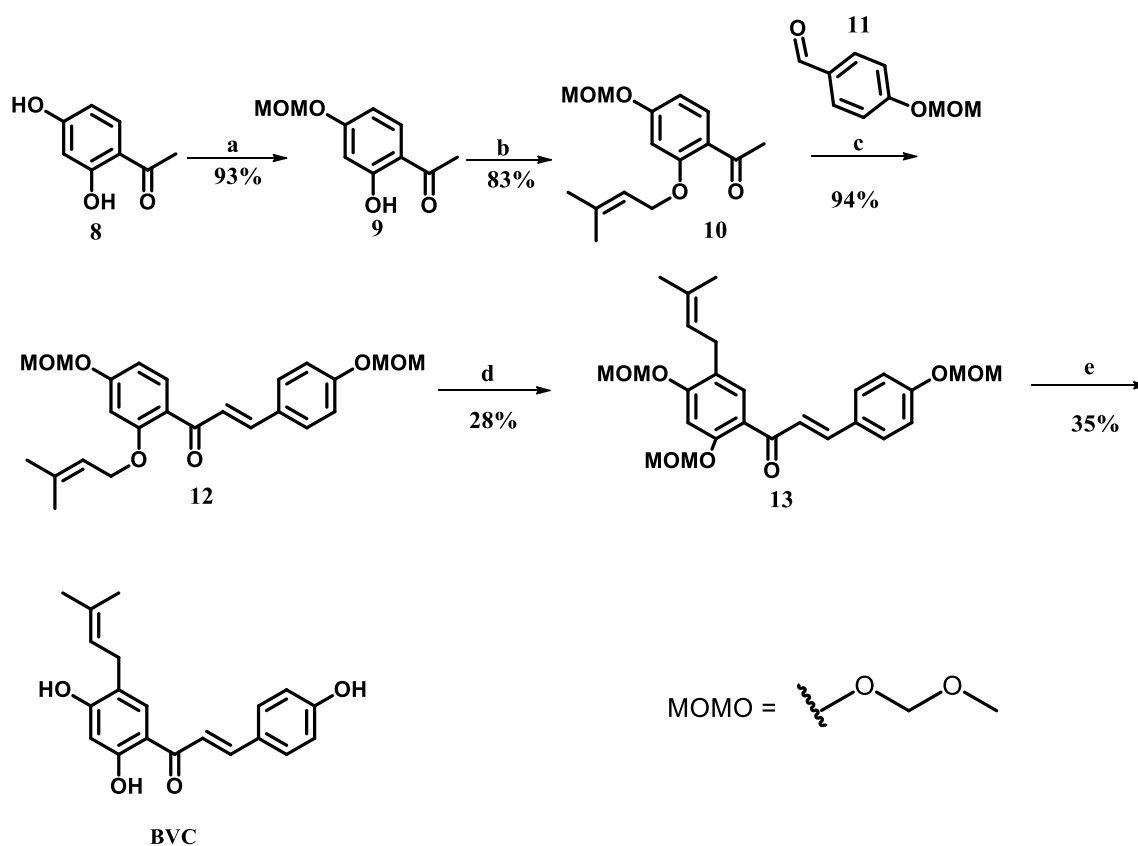
Em resumo, **BVC** demonstrou ter um potencial significativo como agente antibacteriano. Esses estudos sugerem que a **BVC** tem potencial para ser um agente para combater várias espécies bacterias Gram-positivas, incluindo patógenos resistentes aos fármacos convencionais. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar a eficácia e segurança da **BVC** em ensaios *in vivo*.

2.4 Síntese Total de Bavachalcona (BVC)

Wang e coautores descreveram pela primeira vez a síntese total de **BVC** utilizando iodação regioseletiva e acoplamento de Suzuki-Miyaura (Wang et al, 2015). Essa abordagem resultou em rendimento sintético global superior às rotas sintéticas não regioseletivas previamente descritas na literatura por outros autores (SUGAMOTO et al., 2011).

Na rota descrita por Sugamoto *et al*, **BVC** foi sintetizada em 5 etapas, com rendimento global de 18%. Na primeira etapa, a 2'-hidroxi-4'-metoximetoxiacetofenona (**9**) foi obtida a partir da reação de proteção da 2',4'-dihidroxiacetofenona (**8**) com o cloreto de metoximetila,

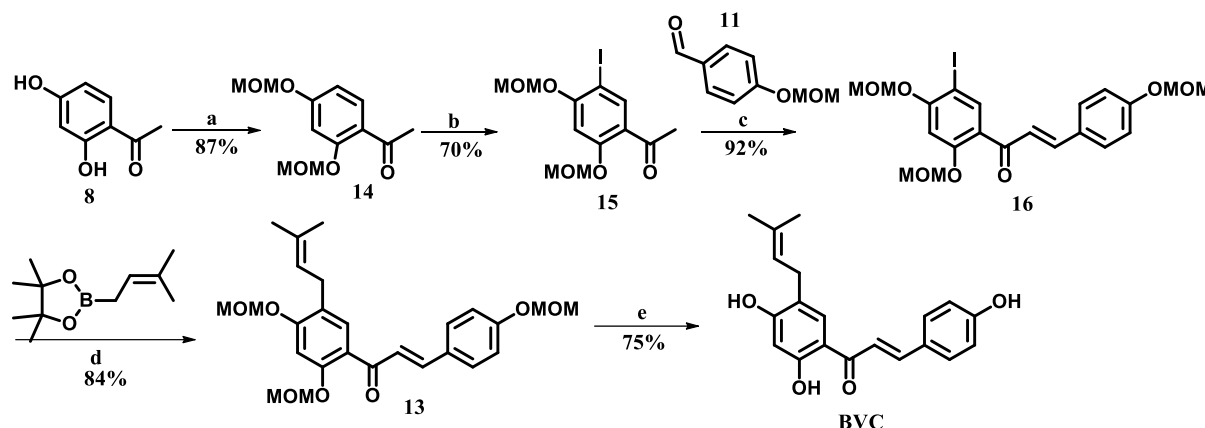
com rendimento de 93%. Na segunda etapa, a 4'-metoximetoxi-2'-preniloxi-acetofenona (**10**) foi obtida partir da *O*-prenilação da acetofenona **9**, com rendimento de 83%. Na terceira etapa, a acetofenona **10** foi submetida a condensação de Claisen-Schmidt sob catálise básica, com o 4-metoximetoxibenzaldeído (**11**), obtendo o intermediário chalcônico (**12**) com 94% de rendimento. O intermediário chalcônico (**12**) foi submetido a rearranjo sigmatrópico catalisado pela argila montmorillonita K10, obtendo o intermediário chalcônico C-5' prenilado (**13**) com rendimento de 28%. A etapa final foi realizada a remoção dos grupos protetores MOM do intermediário (**13**) em meio ácido, obtendo **BVC**, com rendimento de 35% (Esquema 1) (SUGAMOTO et al., 2011).



Esquema 1. Síntese total **BVC** por Sugamoto et al (2011): (a) MOMCl, K₂CO₃, Acetona, 0 °C → rt: 3h; (b) cloreto de isoprenila, acetona, 0 °C → rt: 24 h; (c) 4-metoximetoxibenzaldeído (**11**), 3 mol/L NaOH, EtOH, rt; 24 h; (d) Montmorillonita K10, CH₂Cl₂; 0 °C → rt: 30 min; (e) 3 mol/L HCl, MeOH, 0 °C; 30 min, 0 °C → rt.

Na rota descrita por Wang et al, **BVC** foi sintetizada em 5 etapas, com rendimento global de 35%. Na primeira etapa, a acetofenona **14** foi obtida a partir da reação de proteção da 2',4'-dihidroxiacetofenona (**8**) com o cloreto de metoximetila, com rendimento de 87%. A substância **15** foi submetida a iodação regioseletiva, utilizando *N*-iodosuccinamida (NIS) em DMF, obtendo-se **15** com rendimento de 70%. Na terceira etapa, **15** foi submetida a

condensação aldólica de Claisen-Schmidt, com aldeído **11**, obtendo o intermediário chalcônico **16** com 92% de rendimento. O composto **16** foi submetido a reação de acoplamento de Suzuki-Miyaura com o éster pinacol do ácido isoprenilborônico catalisado por $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, obtendo o intermediário chalcônico prenilado **13** com rendimento de 84%. A etapa final foi realizada a remoção dos grupos protetores MOM de **13** em meio ácido, obtendo **BVC**, com rendimento de 75% (Esquema 2) (WANG et al., 2014, 2015).



Esquema 2. Síntese total **BVC** por Wang et al (2015): (a) NaH , MOMCl , CH_2Cl_2 , 0°C , 2 h; (b) NIS , DMF , 70°C , 10 h (c) KOH , etanol, água, $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$; 12 h, (d) Cs_2CO_3 , $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, DMF , 70°C , 2 h (e) 2 mol/L HCl , MeOH , 6 h, $0^\circ\text{C} \rightarrow 50^\circ\text{C}$.

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Planejar, sintetizar, caracterizar e avaliar **BVC** e seus análogos como agentes antibacterianos (Figura 5).

3.2 Objetivos detalhados capítulo II

a) Síntese e atividade antibacteriana de **BVC** e dezesseis análogos contra micobactérias (*M. tuberculosis*, *M. avium* e *M. kansasii*), espécies Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. mutans*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *H. pylori* e *M. tuberculosis*;

b) Investigação do efeito sinérgico de **BVC** e análogos com Clorexidina e Tetraciclina;

c) Avaliação de **BVC** e análogos selecionados contra a inibição da formação de biofilme de *S. aureus* e *S. sanguinis*;

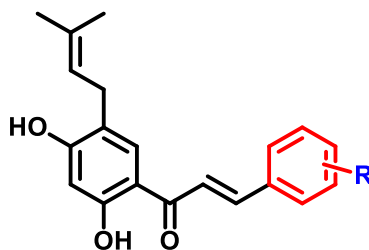
d) Investigação do efeito de **BVC** e análogos selecionados sobre a membrana de *S. aureus*;

e) Avaliação da toxicidade de **BVC** e análogos selecionados contra fibroblastos de pulmão humano;

f) Avaliação da toxicidade de **BVC** e análogos selecionados contra as larvas de *G. mellonella*;

g) Predição *in silico* das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness* de **BVC** e análogos selecionados.

BVC 1. R = 3-OH
BVC 2. R = 2-OH
BVC 3. R = 2,5-diOH
BVC 4. R = H
BVC 5. R = 4-OMe
BVC 6. R = 2-OMe
BVC 7. R = 4-Me
BVC 8. R = 3-Me



BVC. R = 4-OH

BVC 9. R = 2-Me
BVC 10. R = 4-F
BVC 11. R = 4-Cl
BVC 12. R = 4-*tert*-butila
BVC 13. R = 4-isopropila
BVC 14. R = 4-NO₂
BVC 15. R = 4-fenila
BVC 16. R = 4-etila

Figura 5. Planejamento molecular dos análogos de BVC, explorando o anel chalcônico B por meio de substituintes (R) eletrodoadores e eletroaceptores

3.3 Objetivos detalhados do Capítulo III

a) Apresentar referências e material suplementar

CAPÍTULO II

***Atividade antibacteriana e antimicobacteriana de
Bavachalcona e análogos.***

Capítulo II

RESUMO

A bavachalcona (**BVC**) é uma chalcona C-isoprenilada de ocorrência natural com atividade antibacteriana conhecida contra bactérias patogênicas humanas. Considerando as evidências das propriedades farmacológicas de **BVC**, 16 análogos de **BVC** com modificação no anel aromático B foram planejados e sintetizados. Dentre esses, onze análogos são chalconas de ocorrência natural conhecida e 8 são substâncias inéditas. As substâncias foram sintetizadas em cinco etapas, incluindo iodação regioseletiva, condensação aldólica de Claisen-Schmidt e acoplamento de Suzuki-Miyuara, obtendo rendimentos globais de 1 a 22%. Cinco compostos (**BVC**, **BVC 2**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) apresentaram valores de CIM entre 1,56 e 12,5 µg/mL contra bactérias Gram-positivas. **BVC** e seus análogos tiveram ação antibacteriana contra MSSA (CIM = 1,56 – 25,0 µg/mL), MRSA (CIM = 3,12 - 12,5 µg/mL), *S. sanguinis* (CIM = 6,25 - 12,5 µg/mL), *S. sobrinus* (CIM = 3,12–25 µg/mL), e *Streptococcus mutans* (CIM = 3,12 – 25 µg/mL). A atividade antimicobacteriana de **BVC** e análogos foi avaliada contra *M. tuberculosis* H37Rv, *M. avium* e *M. kansasii*. Oito compostos (**BVC**, **BVC 1**, **BVC 2**, **BVC 7**, **BVC 10**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) mostraram atividade com valores de CIM₉₀ variando de 2,56 a 18,64 µg/mL e foram selecionadas para avaliação antibacteriana associados a antibióticos, atividade antibiofilme, citotoxicidade e mecanismo de ação antibacteriana, discutindo a relação estrutura-atividade antimicobacteriana e as propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness*. No ensaio de atividade antibiofilme, **BVC** exibiu valores de CIMB₅₀ de 25 µg/mL contra *S. sanguinis*. Esses resultados corroboram **BVC** como uma estrutura promissora na descoberta de novos agentes capazes de combater bactérias patogênicas humanas.

Palavras-chave: Antibacteriano, Bactéria, Bavachalcona, Biofilme, Membrana.

1. Introdução

Ao longo da história, as bactérias têm sido agentes causadores de infecções que desafiam constantemente os sistemas de saúde, exigindo esforços contínuos para compreensão, prevenção e tratamentos eficazes. O amplo espectro de patógenos bacterianos apresenta capacidade de afetar diferentes partes do corpo humano, causando infecções respiratórias e gastrointestinais até complicações mais severas, como endocardite bacteriana (BEYER; PAULIN, 2020; C REYGAERT, 2018).

As bactérias têm demonstrado resistência a uma variedade de antibióticos, o que contribui para a dificuldade no tratamento de infecções associadas a esses agentes, representando uma preocupação crescente na prática clínica e na saúde pública. Nesse contexto, a Organização Mundial da Saúde (WHO) sugeriu uma lista de bactérias com a prioridade de atenção (WHO, 2017). Entre esses, destacam-se especialmente as cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina. Essas bactérias adquirem resistência aos antibióticos por meio de mecanismos genéticos que lhes conferem a capacidade de neutralizar ou evitar a ação dos agentes antimicrobianos (BHATTACHARYA et al., 2015; SUAYA et al., 2021). Além desses, a resistência a antibióticos por *Helicobacter pylori* é uma questão preocupante, especialmente a resistência à claritromicina e ao metronidazol que tem aumentado em todo o mundo, comprometendo diretamente a eficácia contra essa bactéria. *H. pylori*, que é conhecida por causar uma variedade de doenças gastrointestinais, incluindo úlceras estomacais e câncer de estômago (CONGEDI; WILLIAMS; BALDOCK, 2022; SONNENBERG, 2022; SUKRI et al., 2020).

A tuberculose (TB), embora não descrita na lista de prioridades da WHO, é uma doença bacteriana altamente contagiosa causada principalmente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, 2020), e representa um desafio significativo para a saúde global devido aos altos índices de resistência a antibióticos, especialmente a resistência aos fármacos de primeira linha, como a rifampicina e a isoniazida (CDC, 2024; GUILLÉN et al., 2023). Em 2022, 7,5 milhões de pessoas foram diagnosticadas com TB, sendo a segunda principal doença do mundo a causar morte após o coronavírus (COVID-19), com um número total de 1,3 milhões de mortes (WHO, 2023). A TB é mais prevalente em regiões com condições socioeconômicas precárias, alta densidade populacional e sistemas de saúde frágeis. Além disso, fatores como o HIV/AIDS, resistência aos fármacos e migração populacional contribuem para a disseminação da TB em escala global (GAO et al., 2021; GÓMEZ-GONZÁLEZ et al., 2021; RATNATUNGA et al., 2020; ZHANG et al., 2023).

Considerando que as doenças bacterianas em seres humanos representam uma categoria diversificada de enfermidades que abrange uma extensa variedade de sintomas e impactos na saúde pública, é importante adotar uma abordagem abrangente e coordenada para o seu controle, ressaltando, assim, a importância contínua da pesquisa e inovação neste campo (BEYER; PAULIN, 2020). Neste contexto, o estudo de chalconas e seus derivados como agentes terapêuticos contra a tuberculose ganha relevância, oferecendo novas perspectivas no desenvolvimento de tratamentos mais eficazes e acessíveis, uma vez que entre suas propriedades biológicas, destaca-se sua atividade contra *M. tuberculosis* (ANAGANI et al., 2020; MURADÁS et al., 2018; RAMESH et al., 2020; VENTURA et al., 2015a, 2015b).

Tendo em vista seu potencial terapêutico, nesse trabalho foram sintetizados bavachalcona (**BVC**) e dezesseis análogos (**BVC 1 – BVC 16**), os quais foram submetidos à avaliação contra células planctônicas de espécies Gram-positivas, Gram-negativas e *M. tuberculosis*. Com base nos critérios de RÍOS&RECIO (2005), selecionamos alguns compostos mais promissores (**BVC**, **BVC 2**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) para avançar com os ensaios biológicos. Investigamos a atividade antibacteriana contra biofilmes de *S. aureus* suscetível à meticilina (MSSA) e *S. sanguinis*. O efeito sinérgico de **BVC** e análogos com clorexidina e tetraciclina foi avaliada pelo método de *checkerboard*. Como também realizamos testes quanto aos seus efeitos na membrana de *S. aureus*, bem como quanto à sua toxicidade para fibroblastos pulmonares humanos e larva de *Galleria mellonella*.

2. Materiais e Métodos

2.1 Bavachalcona (BVC) e análogos (BVC 1-16).

A síntese regioseletiva de **BVC** e análogos foi realizada via iodação (WANG et al., 2014, 2015), condensação de Claisen-Schmidt e Acoplamento Suzuki-Miyaura (Miyaura, 1995), utilizando cinco etapas. Os reagentes e solventes foram adquiridos da Merck®. As reações foram acompanhadas por meio de cromatografia em camada delgada (CCD) em placas (Supelco®), as quais foram visualizadas sob lâmpada em comprimento de luz de 254 nm e 365 nm. A purificação dos intermediários e produtos finais foi conduzida por meio cromatografia em coluna de gel de sílica (230-400 mesh, Aldrich®), utilizando misturas de hexano e acetato de etila como eluentes. As estruturas dos compostos foram confirmadas por meio de análises de dados de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C e Espectrometria de Massas (EM). A pureza da **BVC** e análogos foi determinada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de Arranjo de Fotodiodos (CLAE-DAF). Os espectros, cromatogramas

e os pontos de fusão (m.p.) de **BVC** e análogos (**BVC 1– BVC 16**) foram incluídos no material suplementar (Capítulo III).

2.2 Procedimentos de síntese

Reação de iodação para obtenção de 2',4'-dihidroxi-5'-iodoacetofenona (**17**)

À uma mistura de 2',4'-dihidroxiacetofenona (**8**) (3 mmol) e ácido *p*-toluenosulfônico (3 mmol) em acetonitrila (10 mL), 3 mmol de *N*-iodosuccinimida (NIS) foram adicionados, lentamente, em pequenas alíquotas sob banho de gelo. A mistura reacional foi agitada durante 14 h à temperatura ambiente. Após esse período, foram adicionados 2 mL de uma solução saturada de Na₂S₂O₃ e o meio reacional foi vertido em gelo. Houve a formação de um precipitado branco, o qual foi filtrado sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando como fase móvel diclorometano:clorofórmio (1:1). A acetofenona **17** foi obtida com 40% de rendimento.

Reação de proteção para obtenção da 2',4'-bis(metoximetoxi)-5'-iodoacetofenona (**15**)

À uma mistura 2',4'-dihidroxi-5'-iodoacetofenona (**17**) (3 mmol) e K₂CO₃ anidro (6 mmol) em acetona (10 mL), foi adicionado o cloreto de metoximetila (MOMCl, 3,3 mmol) em alíquotas durante 30 min sob banho de gelo. A mistura reacional foi agitada durante 2 h à temperatura ambiente. O meio reacional foi extraído com acetato de etila (3 × 25 mL) e as fases orgânicas foram combinadas e lavadas com solução saturada de NaCl, secas com MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida obtendo **16** com 91% de rendimento.

Reação de proteção dos aldeídos hidroxilados (**B1**, **B2**, **B3** e **B4**)

À uma mistura do respectivo benzaldeído hidroxilado (3 mmol) e K₂CO₃ anidro (6 mmol) em acetona (10 mL) foi adicionado o cloreto de metoximetila (MOMCl, 3,3 mmol) foi adicionado em alíquotas durante 30 min. A mistura reacional foi agitada durante 2 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 × 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas com MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida, obtendo os respectivos benzaldeídos protegidos com o grupo MOM, **B1**, **B2**, **B3**, e **B4** com 41,8%, 50%, 65% e 53% de rendimento, respectivamente.

Procedimento geral de condensação aldólica de Claisen-Schmidt para a obtenção dos intermediários chalcônicos iodados protegidos (**C**, **C1** - **C16**)

Aos 5 mL de uma solução etanólica de **15** (0,4 mmol) e o benzaldeído correspondente (0,4 mmol), foi adicionado gota à gota e sob agitação, uma solução aquosa de KOH (60% m/v, 2 mL) sob banho de gelo. A mistura reacional foi agitada variando de 3 a 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3×25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas com MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. Os produtos brutos foram purificados por cromatografia em coluna de gel de sílica utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (4:1). As chalconas (**C**, **C1 a C16**) foram obtidas com rendimentos de 36 a 92%.

Obtenção dos intermediários chalcônicos prenilados (**CP**, **CP 1 a CP 16**)

À uma mistura contendo o intermediário chalcônico iodado (**C**, **C-1 a C16**) (0,3 mmol) e Cs_2CO_3 (0,6 mmol) em DMF seca sob banho de gelo e atmosfera de inerte de nitrogênio, foi adicionado $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,03 mmol) e o éster pinacol do ácido isoprenilborônico (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75 °C sob atmosfera de nitrogênio. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada sob pressão reduzida em uma pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado $3 \times$ com água destilada (10 mL), e a fase orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando hexano: acetato de etila (4:1). As chalconas **CP**, **CP 1 - CP 16** foram obtidas como um pó amarelo com rendimentos de 10 a 85%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC** e análogos (**BVC 1 - BVC 16**)

À uma solução das respectivas chalconas **CP**, **CP 1 a CP 16** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) sob banho de gelo. A reação foi mantida sob agitação e a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3×25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas com MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, utilizando hexano e acetato de etila (4:1), fornecendo **BVC** e seus análogos **BVC 1 – BVC 16** com rendimentos que variaram de 10 a 89% de rendimento.

2.3 Ensaios antimicobacterianos

A atividade antimicobacteriana dos compostos foi determinada contra *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) usando o método Resazurin Microtiter Assay (REMA) de

acordo com Palomino *et al* (PALOMINO *et al.*, 2002). O inóculo foi preparado em meio Middlebrook 7H9 e uma alíquota foi incubada a 37 °C por 7 dias a 120 rpm, que foi comparada com a escala de McFarland. A suspensão micobacteriana foi diluída para atingir $3,0 \times 10^5$ UFC/mL, que foi distribuída em placas de 96 poços. Soluções estoque dos compostos foram preparadas em DMSO (Synth, Diadema, Brasil) e diluídas em caldo Middlebrook 7H9 (Difco™, Detroit, MI, EUA) para atingir concentrações finais variando de 25 a 0,09 µg/mL. A rifampicina foi utilizada como medicamento antitubercular de referência. As placas foram incubadas a 37 °C com 5% de CO₂ durante sete dias. Em seguida, 30 µL de resazurina foram adicionados aos poços e após 24 horas as placas foram examinadas por espectrômetro de fluorescência em 530 e 590 nm. O valor da CIM₉₀ foi definido como a menor concentração do fármaco capaz de inibir 90% do crescimento micobacteriano, expressa em µg/mL. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Os valores de MIC de **BVC** e análogos contra *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium kansasii* foram determinados de acordo com o protocolo de Palomino e colaboradores, com pequenas modificações (ALVES *et al.*, 2020; PALOMINO *et al.*, 2002). Uma solução estoque de cada chalcona foi preparada em DMSO e diluída em caldo Middlebrook 7H9 para atingir concentrações finais que variam de 7,8 a 1000 µg/mL. A isoniazida foi dissolvida em DMSO e utilizada como controle positivo em concentrações que variam de 0,015 a 1,0 µg/mL. O inóculo foi preparado introduzindo uma gama de colônias crescidas em Ogawa-Kudoh em um tubo contendo esferas de vidro com 500 µL de água estéril. Uma alíquota de 200 µL foi transferida para um tubo contendo 2 mL de caldo 7H9, incubado a 37 °C por 7 dias e comparado com a escala de McFarland 1 ($3,0 \times 10^8$ células/mL). O inóculo foi suspenso em placas de 96 poços numa relação de 1:25 com caldo 7H9. Os controles de crescimento (sem antibiótico) e controle de esterilidade (sem inoculação) também foram incluídos. As placas de 96 poços foram incubadas a 37 °C por 7 dias. Após este período, 30 µL de solução aquosa de resazurina a 0,02% foi adicionada a cada poço da placa. O valor de MIC foi definido como a menor concentração do medicamento capaz de inibir o crescimento das micobactérias, expressa em µg/mL. O ensaio foi realizado em triplicata.

2.4 Ensaios antibacterianos

As cepas bacterianas foram adquiridas diretamente da *American Type Culture Collection* (ATCC) e foram mantidas na coleção de cultura do Laboratório de Testes

Antimicrobianos (LEA) da Universidade Federal de Uberlândia, estado de Minas Gerais, Brasil.

A atividade antibacteriana foi determinada contra *S. aureus* suscetível à meticilina (ATCC 6538), *S. aureus* resistente à meticilina (ATCC BAA44), *S. pneumoniae* (ATCC 23883), *S. sanguinis* (ATCC 10556), *S. sobrinus* (ATCC 33478), *S. mutans* (ATCC 25175), *K. pneumoniae* (ATCC 23883) e *P. aeruginosa* (ATCC 27853).

A CIM contra as espécies bacterianas Gram-positivas e Gram-negativas foram determinadas em triplicata usando o método de microdiluição em caldo em placas de 96 poços, utilizando resazurina como indicador colorimétrico da viabilidade celular (LEANDRO et al., 2014). As substâncias foram dissolvidas em DMSO a 1 mg/mL, e submetidas à diluição as concentrações finais que variaram de 400,0 a 0,195 µg/mL. A porcentagem final de DMSO foi de 5% (v/v) e essa solução, sendo empregada como controle negativo. O inóculo foi ajustado para cada microrganismo para alcançar uma suspensão celular de $5,0 \times 10^5$ unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL), como preconizado pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, com modificações no meio de cultura (CLSI, 2012). O controle de crescimento (poço inoculado) e o controle de esterilidade (poço não inoculado, livre de agente antimicrobiano) foram incluídos. Tetraciclina e clorexidina foram utilizadas como controles positivos e foram testadas em concentrações variando de 0,0115 µg/mL a 5,9 µg/mL e 0,115 a 59 µg/mL, respectivamente. As placas de 96 poços foram seladas com filme plástico e incubadas a 37 °C por 24 h. Após esse período, 30 µL de solução aquosa de resazurina (0,02%) foram adicionados às placas e foram mantidos por 15 minutos a 37 °C. O valor da CIM foi definido visualmente como a menor concentração capaz de inibir o crescimento do microrganismo.

2.5 Efeito sinérgico

O efeito sinérgico de **BVC** e **BVC 2** com clorexidina foi avaliado contra *S. sanguinis* (ATCC 10556). O efeito sinérgico de **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** com tetraciclina foi avaliado contra *S. aureus* (ATCC 6538). Para isso, foi utilizado o ensaio de *checkerboard* em microdiluição em caldo, segundo White e colaboradores, adaptado do procedimento padrão estabelecido pelo CLSI (CLSI, 2012; WHITE et al., 1996). A concentração inibitória fracionada (CIF) de **BVC** e seus análogos com os fármacos antibacterianos foi determinada utilizando meio de cultura Mueller-Hinton em placas de 96 poços, com uma suspensão final de inóculo de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 h. Após a incubação, uma solução aquosa de resazurina a 0,02% foi adicionada aos poços. O índice de concentração inibitória fracionada (ICIF) foi calculado utilizando a Equação 1:

$$\Sigma ICIF = CIFA + CIFB \quad (1)$$

Na qual a ICIF é a soma entre CIF(A) e CIF(B). CIF(A) refere-se à CIM de cada chalcona em combinação com o fármaco a droga, dividido pela CIM da chalcona sozinha. CIF (B) refere-se à CIM de cada chalcona em combinação com o fármaco, dividido pela CIM do fármaco sozinha. A combinação foi classificada como sinérgica ($ICIF \leq 0,5$), aditiva ($1 > ICIF > 0,5$), indiferente ($4 > ICIF > 1$) e antagonista ($ICIF \geq 4$) (LEWIS et al., 2002; WHITE et al., 1996). Os ensaios foram realizados em triplicata e em experimentos independentes.

2.6 Ensaios antibiofilme

2.6.1 Ensaios antibiofilme de **BVC**

A ação de **BVC** foi avaliada contra a formação de biofilme de *S. sanguinis* ATCC 10556. O ensaio foi realizado de acordo com a proposta de Agawi et al. (2021), Parai et al. (2020) e Saising et al. (2012), com modificações. Para avaliar a viabilidade do biofilme formado por *S. sanguinis* ATCC 10556, clorexidina foi utilizada como controle positivo e testada em concentrações que variaram de 0,115 a 59 µg/mL. As células bacterianas foram avaliadas na ausência dos compostos antibacterianos e foram utilizadas como controle negativo. As placas foram preparadas da mesma maneira que aquelas reservadas para a avaliação da biomassa pelo método cristal violeta e incubadas por 24 horas. Em seguida, todo o conteúdo dos poços foi aspirado delicadamente, os poços foram lavados com PBS para remover as células não aderentes. Posteriormente, 50 µL da solução de menadiona e 2,3-bis (2-metoxi-4-nitro-5-sulfenil) -2H-tetrazol-5-carboxanilida (MTT) foram adicionados com uma concentração final de 0,5 mg/mL e as placas foram incubadas no escuro por 2 horas a 37 °C. Em seguida, os cristais de formazana (produto da redução do MTT pelas células metabolicamente ativas presentes no biofilme) foram solubilizados adicionando 100 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) por 10 minutos, e 80 µL de cada poço foram transferidos para outra placa, sendo a leitura realizada em um espectrofotômetro com comprimento de onda a 490 nm.

2.6.2 Ensaios antibiofilme dos análogos de **BVC**

A atividade dos análogos de **BVC** selecionados (**BVC 2**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) contra a formação de biofilme de *S. aureus* ATCC 6538 e *S. sanguinis* ATCC 10556 foi avaliada usando a metodologia de microdiluição em caldo proposta pelo CLSI (CLSI, 2012). A concentração inibitória mínima de biofilme (CIMB₅₀) foi estabelecida como a concentração capaz de inibir ao menos 50% a formação de biofilme (WEI; CAMPAGNA; BOBEK, 2006). Os valores de CIMB₅₀ foram determinados usando dois protocolos, incluindo avaliação de

biomassa por leitura de densidade óptica (DO) e determinação de células viáveis de biofilme por contagem UFC/mL. Duas placas foram utilizadas para cada protocolo. Os ensaios foram realizados em triplicata e em três experimentos independentes. A concentração de inóculo e o tempo de incubação ideal para este ensaio foram determinados pela padronização da formação de biofilme (dados não apresentados). Em placas de 96 poços de fundo plano contendo caldo **BHI** suplementado com 2% glucose e diluições seriadas das amostras foram realizadas a partir da solução estoque (1600 µg/mL), obtendo concentração final entre 0,195 µg/mL e 400 µg/mL. A partir de uma cultura de 24 h em placas de ágar BHI, o inóculo de *S. aureus* ou *S. sanguinis* foi preparado em caldo BHI suplementado com glicose a 2%. As suspensões bacterianas foram diluídas até a concentração final de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL. As microplacas foram incubadas a 37 °C durante 24 h. Posteriormente, o conteúdo dos poços foi aspirado e células não aderidas foram removidas por lavagem com solução salina em tampão fosfato (PBS) (pH = 7,2). O biofilme formado foi fixado com metanol por 15 min, seco à temperatura ambiente e corado com solução cristal violeta (0,2%) por 20 min. Após a remoção do cristal e lavagem dos poços com o tampão PBS, ácido acético a 33% foi adicionado para solubilizar o cristal retido no biofilme (VIEIRA et al., 2018; WEI; CAMPAGNA; BOBEK, 2006). A absorbância dos poços foi determinada num espectrofotômetro a 595 nm. A determinação da CIMB₅₀ foi realizada utilizando a Equação 2:

$$\text{CIMB}_{50} = 1 - (\text{A}_{595} \text{ do teste} / \text{A}_{595} \text{ do controle não tratado}) \times 100 \quad (2)$$

Na qual, A₅₉₅ do teste corresponde à absorbância da amostra teste determinada por um espectrofotômetro a 595 nm e A₅₉₅ do controle não tratado corresponde à absorbância do controle negativo determinada por um espectrofotômetro a 595 nm.

Para a determinação de células viáveis, as placas foram preparadas seguindo a mesma metodologia descrita acima. Após o período de incubação, o conteúdo de cada poço foi aspirado e lavado com tampão PBS para remover células não aderidas. Em seguida, 200 µL de caldo BHI com 2% de glucose foram adicionados aos poços e a microplaca foi colocada em banho ultrassom por 15 min. O conteúdo dos poços foi homogeneizado e foram realizadas diluições decimais (100 a 10⁻⁷). Depois disso, alíquotas de 50 µL de cada diluição foram plaqueadas em placas de ágar BHI e incubadas a 37 °C por 24 h. Por fim, as colônias foram contadas e os resultados foram expressos em escala log₁₀ (UFC/mL). A tetraciclina foi utilizada como controle positivo para o inóculo de *S. aureus* e foi avaliada em concentrações variando de 0,0115 µg/mL a 5,9 µg/mL. A clorexidina foi utilizada como controle positivo para o inóculo de *S. sanguinis* e foi avaliada em concentrações variando de 0, 115 µg/mL a 59 µg/mL. As

células bacterianas foram avaliadas na ausência de compostos antibacterianos e foram utilizadas como controle negativo.

2.7 Ensaio de Rompimento de Membrana

Para ensaio de rompimento de membrana foi utilizada a cepa de *S. aureus* (ATCC 29213). As células foram cultivadas em meio TSA sólido ou em caldo TSA a 36 ± 1 °C, agitadas a 200 rpm. As células de *S. aureus* a 10^6 UFC mL⁻¹ foram expostas ao composto a uma concentração de 100 µg mL⁻¹ por 15 minutos em tubos de microcentrífuga de 1,5 mL contendo 100 µL de meio TSA. Em seguida, 900 µL de meio TSA foram adicionados a cada tubo para diluir o composto e interromper a reação (DILARRI et al., 2021). As células foram coradas com o *kit* Live/Dead BacLight (Thermo-Scientific L7012), que é composto por dois corantes de ácido nucleico, sendo o SYTO9 (cora todas as células - Azul) e o iodeto de propídio (PI) (penetra apenas em células com membranas danificadas - Vermelho) (SAVIETTO et al., 2018). As células coradas foram imobilizadas em lâminas cobertas com agarose, conforme descrito por MARTINS et al., (2010). O controle negativo foi constituído por células no meio sem contato com nenhum composto, na qual suas membranas citoplasmáticas apresentavam-se íntegras, e o controle positivo foram células de *S. aureus* expostas a nisina (SIGMA N5764) a uma concentração de 1,5 µg mL⁻¹ por 15 minutos de exposição (KRÓL et al., 2015). A análise microscópica foi realizada com um microscópio Olympus BX-61, equipado com uma câmera monocromática OrcaFlash-2.8, auxiliada pelo software CellSens versão 11.

2.8 Ensaios de toxicidade

2.8.1 Toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano

Nos experimentos de citotoxicidade *in vitro* foram utilizadas células de fibroblasto humano (MRC-5 ATCC CCL-171) de acordo com a metodologia descrita por Ahmed (ANSAR AHMED; GOGAL; WALSH, 1994), por meio do ensaio de microtitulação com resazurina (REMA). Essas células foram mantidas em uma estufa a 37 °C em atmosfera de 5% de CO₂ em meio de Eagle modificado de Dulbecco (DMEM; GibCo, Grand Island, NY, EUA), suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (GibCo™ da Life technologies), adicionado de 50 µg mL⁻¹ de penicilina e 50 µg mL⁻¹ de estreptomicina (Gibco™ da Life technologies) sendo cultivadas no Laboratório de Cultura de Células da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Amazonas.

Para os testes, as células foram transferidas para placas de 96 poços a uma suspensão celular de $0,5 \times 10^4$ células/poço (TPP, Suíça). A placa foi mantida em cultura por 24, 48 e 72

horas em um incubador de CO₂ (Modelo 4111 - Thermo Scientific - SOTELAB) a 37 °C com atmosfera de 5% de CO₂. Após os tempos mencionados, as amostras foram adicionadas a uma única concentração de 50 µg mL⁻¹ e a placa foi mantida em cultura por 24 h nas mesmas condições. O grupo de controle negativo recebeu apenas meio de cultura no poço e, como controle positivo foi utilizado doxorrubicina na concentração de 20 µg mL⁻¹. Após 24, 48 e 72 h de tratamento, 10 µL de solução de resazurina foram adicionados a cada poço da placa. Após 3 h de exposição à metabolização da resazurina, com remoção da estufa 30 min antes da conclusão, a fluorescência foi medida usando um leitor de microplacas Elisa (DTX-800 Beckman 30 Coulter) em 570 nm. Os dados foram analisados em relação ao controle usando o programa estatístico GraphPad Prisma versão 5.0. O cálculo foi realizado de acordo com a Equação 3.

$$\% \text{ Viabilidade celular} = Ft \times 100 \div \Delta Fb \quad (3)$$

Ft = (fluorescência celular + meio + substância + resazurina)

ΔFb = (fluorescência celular + meio + resazurina)

Diluições seriadas das amostras foram adicionadas a uma placa de 96 poços contendo meio DMEM, levando a concentrações finais variando de 1,56 a 100 µM. Resultados de porcentagem de viabilidade celular acima de 80% foram considerados aceitáveis para substâncias não citotóxicas.

2.8.2 Toxicidade contra larvas de *Galleria mellonella*

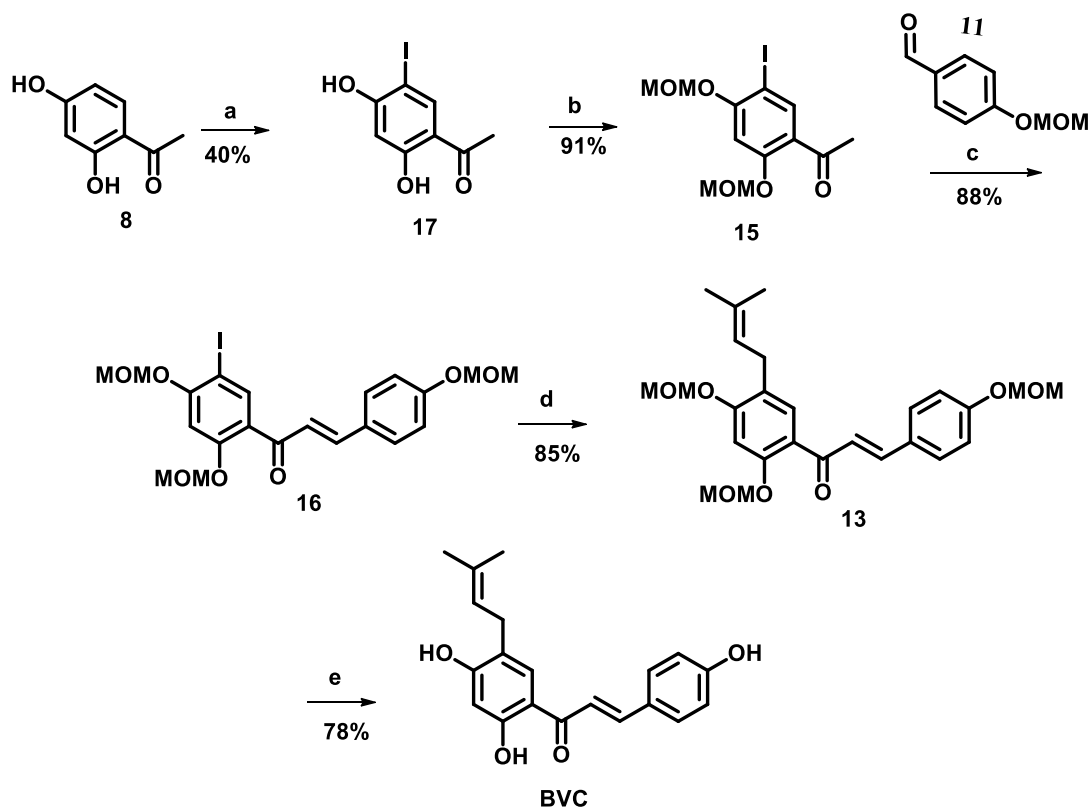
O ensaio contra larvas de *G. mellonella* foi realizado para avaliar os efeitos tóxicos agudos de **BVC**, **BVC 12** e **BVC 16**, seguindo os procedimentos descritos por Megaw e adaptados por Sardi (MEGAW et al., 2015; SARDI et al., 2017). Para o experimento, 10 larvas saudáveis de *G. mellonella* foram selecionadas aleatoriamente para cada teste de concentração, com peso variando entre 0,2 g e 0,3 g e sem sinais de melanização. As larvas foram resfriadas em gelo por 20 min e tiveram suas prólegas limpas com etanol a 70%. Quatro soluções dos compostos selecionados foram preparadas em DMSO com concentrações variando de 25 µg/mL a 100 µg/mL. Cinco microlitros da solução foram injetados no hemocelo de cada larva por meio da última prólega esquerda por meio de uma seringa Hamilton (Hamilton, Reno, NV) de 25 µL. Após a injeção, as larvas foram incubadas a 37 °C e a sua sobrevivência foi monitorizada em intervalos selecionados ao longo de 72 h. As larvas que não apresentaram movimento ao toque e com altos níveis de melanização foram consideradas mortas.

3. Resultados e Discussões

3.1 Síntese da Bavachalcona e Análogos (BVC 1 a BVC-16)

3.1.1 Síntese da Bavachalcona (BVC)

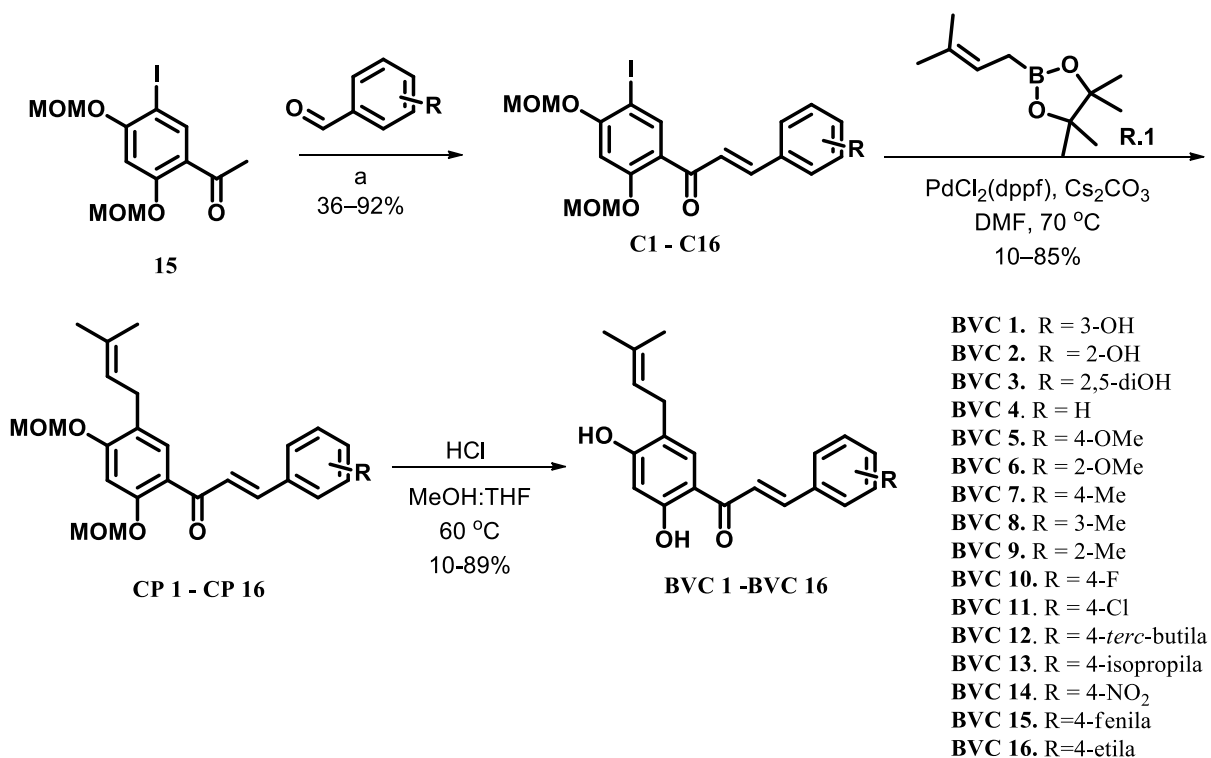
Na rota de síntese para a obtenção da **BVC** proposta neste trabalho, foi realizada pequenas modificações da abordagem de Wang et al. (2014). Primeiramente, a 2',4'-dihidroxiacetofenona (**8**) foi iodada, regioseletivamente, na posição C-5, obtendo-se o composto **17** com rendimento de 40%, o qual foi então *bis*-metoximetilado com MOMCl, obtendo a 2',4'-*bis*(metoximetoxi)-5'-iodo-resacetofenona (**15**) com rendimento de 91%. O intermediário acetofenônico **15** foi submetido a condensação aldólica de Claisen-Schmidt, obtendo-se o intermediário chalcônico **16** com rendimento de 88%. A chalcona **16** foi submetida a acoplamento de Suzuki-Miyaura, obtendo a chalcona C-prenilada **13** com 85% de rendimento. Após desproteção em meio ácido do intermediário **13**, a **BVC** foi obtida com 78% de rendimento. Utilizando essa rota, a **BVC** foi obtida com um rendimento global de 20% (Esquema 1).



Esquema 1. Síntese total de **BVC** : (a) NIS, *p*-TsOH, ACN, 0 °C → rt, 14 h; (b) MOMCl, K₂CO₃, Acetona, 0 °C → rt, 2h; (c) 4-metoximetoxibenzaldeído, KOH, etanol, água, 0 °C → rt; 4 h; (d) éster pinacol do ácido isoprenilborônico, Cs₂CO₃, PdCl₂(dppf), DMF, 70°C, 2 h; (e) HCl 1 mol L⁻¹, MeOH:THF (1:1), 55 °C, 6 h.

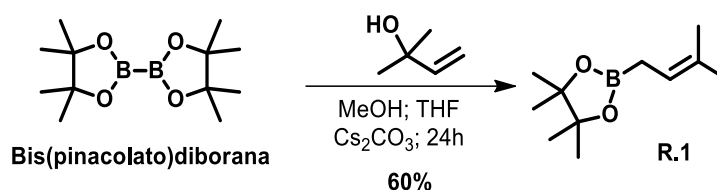
3.1.2 Síntese dos análogos **BVC 1 a BVC 16**

A condensação aldólica entre **15** com vários derivados de benzaldeído correspondentes, usando KOH e etanol, produziu intermediários chalcônicos iodados protegidos (**C1–C16**), com rendimentos de 36-92 % (Esquema 2). Reações de acoplamento de Suzuki-Miyaura foram realizadas entre chalconas e o éster pinacol do ácido isoprenilborônico (**R.1**), utilizando PdCl₂(dppf) como catalisador e Cs₂CO₃ como base em DMF a 70 °C (WANG et al., 2015). Nessa etapa, maioria das chalconas preniladas (**CP1–CP16**) foi obtida com rendimentos entre 10 a 85% após separações cromatográficas. A última etapa sintética envolveu a desproteção dos grupos hidroxila fenólicos dos análogos **CP1–CP16** em condições ácidas, produzindo as respectivas chalconas fenólicas preniladas (**BVC 1 – BVC 16**) com rendimentos variando de 10% a 89%.



Esquema 2. Rota sintética para chalconas (**BVC-1- BVC16**). a) condições reacionais para chalconas **C1-C16**: 60% KOH, EtOH, rt.

O reagente **R.1** está disponível comercialmente, no entanto custos elevados, encorajando-nos a prepará-lo, utilizando o protocolo relatado por Miralles (MIRALLES et al., 2016), com pequenas modificações, utilizando o bis(pinacolato)diborana e álcool 1,1-dimetilalílico (Esquema 3) (MIRALLES et al., 2016). O reagente R1 foi obtido com rendimento de 60%).



Esquema 3. Preparo de **R.1** (éster pinacol do ácido isoprenilborônico)

3.2 Atividade antimicobacteriana

A atividade antimicobacteriana das substâncias foi avaliada contra *M. tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294) em concentrações variando de 25 a 0,09 µg/mL. A CIM₉₀ foi a menor concentração que inibiu 90% ou mais do crescimento micobacteriano, usando resazurina como indicador de viabilidade. Os resultados foram apresentados na Tabela 1. Entre as 16 chalconas, doze inibiram o crescimento do *Mtb* com valores de CIM₉₀ variando de 2,56 a 25,0 µg/mL (Tabelas 1).

Tabela 1. Atividade contra *M. tuberculosis*, *M. avium* e *M. kansasii* de **BVC** e seus análogos (**BVC 1– BVC 16**).

	Cod.	R	<i>M. tuberculosis</i> CIM ₉₀ (µg/mL)	<i>M. avium</i> CIM (µg/mL)	<i>M. kansasii</i> CIM (µg/mL)
	BVC	4-OH	15,53	125	125
	BVC 1	3-OH	13,93	1000	1000
	BVC 2	2-OH	13,98	1000	500
	BVC 3	2,5-diOH	25	-	-
	BVC 4	4-H	25	-	-
	BVC 5	4-OMe	25	1000	1000
	BVC 6	3-OMe	25	-	-
	BVC 7	4-Me	13,97	125	125
	BVC 8	3-Me	25	-	-
	BVC 9	2-Me	25	-	-
	BVC 10	4-F	18,64	-	-
	BVC 11	4-Cl	25	-	-
	BVC 12	4- <i>terc</i> -butila	2,84	1000	500
	BVC 13	4-isopropila	25,00	1000	1000
	BVC 14	4-NO ₂	2,56	125	62,5
	BVC 15	4-fenila	25,00	-	-
	BVC 16	4-etila	11,99	1000	500
-	RMP	-	0,01	-	-
	INH	-	-	1,0	1,0

RMP = rifampicina ; INH = isoniazida

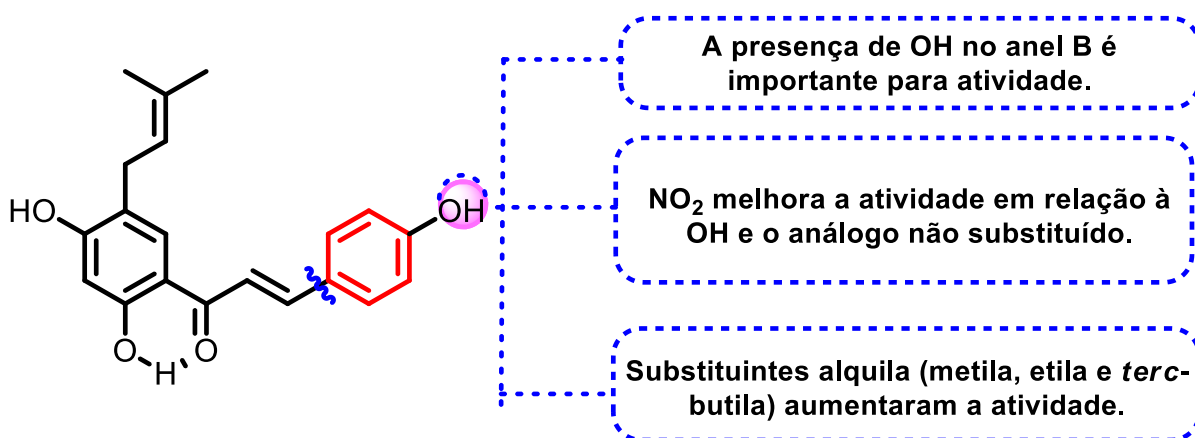
A atividade antimicobacteriana das substâncias frente as cepas de *M. avium* e *M. kansasii* foram avaliadas em concentrações variando de 1000 a 7,8 µg/mL. Os resultados foram apresentados na Tabela 1. Entre as 9 chalconas avaliadas, três inibiram o crescimento de *M. avium* e *M. kansasii* com valores de CIM variando de 62,5 a 125 µg/mL (Tabela 1).

As comparações entre as substâncias que apresentam o grupo hidroxila (**BVC**, **BVC 1** e **BVC 2**) com a substância **BVC 4**, que exibe um anel B não-substituído permitiram verificar os efeitos da presença e posição de hidroxila na atividade antimicobacteriana. A presença da hidroxila no anel B mostrou ser importante para a atividade, pois os análogos **BVC** ($\text{CIM}_{90} = 15,53 \mu\text{g/mL}$), **BVC 1** ($\text{CIM}_{90} = 13,93 \mu\text{g/mL}$) e **BVC 2** ($\text{CIM}_{90} = 13,98 \mu\text{g/mL}$) foram mais ativos que análogo que não possui hidroxila no anel B (**BVC 4**, $\text{CIM}_{90} = 25,0 \mu\text{g/mL}$). Por outro lado, os valores de CIM_{90} de **BVC**, **BVC 1** e **BVC 2** foram muito similares, sugerindo que a posição da hidroxila não foi determinante para a bioatividade.

A substituição do anel fenílico por outros grupos doadores de elétrons em *para*, como metila (**BVC 7**, $\text{CIM}_{90} = 13,97 \mu\text{g/mL}$), *terc*-butila (**BVC 12**, $\text{CIM}_{90} = 2,84 \mu\text{g/mL}$), etila (**BVC 16**, $\text{CIM}_{90} = 11,99 \mu\text{g/mL}$) gerou análogos mais ativos que **BVC 4** ($\text{CIM}_{90} = 25,0 \mu\text{g/mL}$), sugerindo que grupos alquila corroboram a atividade antimicobacteriana. Interessantemente, **BVC 13**, um análogo substituído por uma isopropila (uma alquila) em *para* mostrou uma $\text{CIM}_{90} = 25,0 \mu\text{g/mL}$.

O efeito de grupos retiradores de elétrons no anel B sobre a atividade antimicobacteriana não pode ser evidenciada, pois os análogos halogenados, fluorado (**BVC 10**, $\text{CIM}_{90} = 18,64 \mu\text{g/mL}$) e clorado (**BVC 11**, $\text{CIM}_{90} = 25,0 \mu\text{g/mL}$) foram fracamente ativos e inativo, respectivamente, enquanto o nitro- análogo (**BVC 11**, $\text{CIM}_{90} = 2,56 \mu\text{g/mL}$) foi mais ativa. Contudo, a atividade de **BVC 14** pode estar relacionada ao comportamento de grupo nitro como sítio metabofórico de redutases, as quais podem reduzi-lo ao grupo amino, gerando espécies radicalares tóxicas que corroboram o efeito antimicobacteriano (TENG; KIM, 2021).

Em resumo, a investigação de relação estrutura química e atividade anti-*Mtb* de **BVC** ainda não foi explorada na literatura, e esses dados contribuirão para o planejamento de novos análogos com atividade antimicobacteriana potencializada (Esquema 4).



Esquema 4. Relação estrutura-atividade antimicobacteriana de **BVC** e seus análogos.

3.3 Atividades antibacteriana

Para avaliar as atividades antibacteriana, **BVC** foi avaliada contra cinco espécies de Gram-positivas, três de Gram-negativas. Entre essas espécies, quatro microrganismos estão na lista de prioridades da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2017). **BVC** foi ativa contra *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. mutans* e *H. pylori*, exibindo valores de CIM variando de 0,97 a 50,0 µg/mL (Tabela 2).

Tabela 2. Atividade antibacteriana de **BVC** , seus análogos e controles positivos.

Espécies		CIM (µg/mL)					Tetraciclina	Clorexidina
		BVC	BVC1	BVC2	BVC3	BVC4		
Gram-positiva	MSSA	25,0	6,25	6,25	6,25	400	0,20	-
	MRSA	-	6,25	12,5	6,25	400	5,90	-
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	50,0	200	25	200	400	0,40	-
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	12,5	12,5	12,5	12,5	400	-	1,82
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	25,0	100	6,25	400	400	-	3,64
	<i>Streptococcus mutans</i>	25,0	3,12	12,5	3,12	400	-	0,91
Gram-negativa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	400	400	400	400	400	5,90	-
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	400	400	400	400	400	2,95	-
	<i>Helicobacter pylori</i>	0,97	12,50	15,62	50	400	1,47	-

Espécies		CIM (µg/mL)						
		BVC5	BVC6	BVC7	BVC8	BVC9	BVC10	BVC11
Gram-positiva	MSSA	400	400	25,0	400	400	400	400
	MRSA	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	400	400	25,0	400	400	50	200
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	400	400	25,0	400	400	200	200
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	400	400	25,0	400	400	400	400
	<i>Streptococcus mutans</i>	400	400	50,0	400	400	400	400
Gram-negativa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	400	400	400	400	400	400	400
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	400	400	400	400	400	400	400
	<i>Helicobacter pylori</i>	1000	400	1000	400	50	100	100

Espécies		CIM (µg/mL)				
		BVC12	BVC13	BVC14	BVC15	BVC16
Gram-positiva	MSSA	1,56	400	6,25	100	1,56
	MRSA	3,12	-	6,25	-	3,80
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	50	400	100	400	50
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	12,5	400	100	400	6,25
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	3,12	200	400	400	3,12
	<i>Streptococcus mutans</i>	25	400	400	400	25
Gram-negativa	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	400	400	400	400	400
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	400	400	400	400	400
	<i>Helicobacter pylori</i>	500	400	400	50	1000

Os análogos **BVC 1**, **BVC 2**, **BVC 3**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** foram ativos contra *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. sanguinis*, *S. sobrinus*, *S. mutans* e *H. pylori*, exibindo valores de CIM variando de 1,56 a 50,0 µg/mL. Entre eles, **BVC 1**, **BVC 2**, **BVC 3**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** demonstraram atividade significativa contra MSSA, com valores de CIM entre 1,56 µg/mL e 6,25 µg/mL. Esses compostos apresentaram atividade relevante contra MSSA com valores de CIM entre 3,12 µg/mL e 12,5 µg/mL. Contra *S. sanguinis* apresentaram valores de CIM entre 6,25 µg/mL e 12,5 µg/mL. Contra *S. mutans* exibiram valores de CIM entre 3,12 µg/mL e 100 µg/mL, e contra *S. mutans* exibiram valores de CIM entre 3,12 µg/mL e 25 µg/mL, sendo selecionados para ensaios de atividade anti-biofilme, efeito sinérgico com fármacos antibacterianos e de mecanismo de ação envolvendo rompimento de membrana.

BVC foi inativa contra *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* (CIM 400 µg/mL). No entanto, observa-se uma atividade relevante de **BVC** contra *H. pylori*, uma espécie Gram-negativa, com um valor de CIM de 0,97 µg/mL, apresentando uma atividade superior ao controle positivo, tetraciclina (CIM = 1,47 µg/mL).

Apesar dos análogos de **BVC** serem inativos contra as espécies Gram-negativas *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa*, observou-se a atividade antibacteriana dos análogos **BVC 1**, **BVC 2**, **BVC 3** e **BVC 9** contra *H. pylori*, com valores de CIM variando de 12,50 µg/mL a 50,00 µg/mL. Dessas substâncias, as mais ativas possuíam hidroxila no anel B (**BVC 1**, **BVC 2** e **BVC 3**). Diante disso, infere-se que o grupo hidroxila no anel B corrobora a atividade de **BVC** e seus análogos contra *H. pylori*.

A inatividade de **BVC** e análogos contra as espécies Gram-negativas *K. pneumoniae* e *P. aeruginosa* e atividade relevante contra cepas de *H. pylori* podem estar relacionadas com a presença de bombas de efluxo, uma vez que essas proteínas transmembranas são heterogêneas nos vários grupos bacterianos, e algumas bactérias manifestam fracamente esse mecanismo de resistência. Em contrapartida, existem grupos de bactérias Gram-negativas que podem desencadear tal resposta em grandes proporções, como é o caso de *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae* (OLIVEIRA; REYGAERT, 2024).

As bactérias Gram-negativas possuem uma série de mecanismos para prevenir a ação de muitos antimicrobianos utilizados na clínica. Um dos principais mecanismos de resistência são as bombas de efluxo, que interage com outros mecanismos de resistência, como alteração do alvo molecular do fármaco e da permeabilidade da membrana e enzimas de degradação, culminando na sua inativação e aumentando significativamente os níveis e perfis de resistência (LI; PLÉSIAT; NIKAIDO, 2015; OLIVEIRA; REYGAERT, 2024).

3.4 Efeito sinérgico de BVC e seus análogos com fármacos antibacterianos

Na terapia com fármacos anti-infecciosos, o efeito sinérgico é uma estratégia útil para combater infecções bacterianas, potencializando a eficácia antibacteriana, diminuindo os efeitos adversos e o surgimento de resistência (COTTAREL; WIERZBOWSKI, 2007; VAN VUUREN; VILJOEN, 2011). Nesse contexto, algumas chalconas contendo o grupo amino e hidroxila mostraram efeito sinérgico com vancomicina (GARCIA et al., 2021; TRAN et al., 2012). Considerando a alta suscetibilidade de *S. sanguinis* à **BVC** e **BVC 2**, essa espécie bacteriana foi selecionada. **BVC** e **BVC 2** foram combinadas com clorexidina e o efeito sinérgico foi avaliado pelo método de *checkerboard* (Tabela 3). O efeito entre **BVC** e clorexidina exibiu valores de ICIF de 2,5, indicando um efeito indiferente.

Tabela 3. Efeito sinérgico de **BVC** e **BVC 2** e Clorexidina

S. sanguinis ATCC 10556						
Amostra	Resultados - µg/mL				ICIF	Tipo de efeito
	CIM sozinho (a)		CIM combinação (b)			
	(1)	(2)	(3)	(4)		
BVC	12,5	0,46	25	0,46	2,5	Indiferente
BVC 2	12,5	1.84	12,5	1.84	2	Indiferente

CIM da amostra avaliada frente a bactéria sozinho (1); CIM da clorexidina sozinha (2); CIM da amostra avaliada frente a bactéria em combinação com a clorexidina (3); CIM da clorexidina sozinha (4).

Considerando a alta suscetibilidade de *S. aureus* à **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**, essa espécie foi empregada no ensaio de *checkerboard*. Avaliou-se o efeito sinérgico dos análogos selecionados de **BVC** com tetraciclina contra *S. aureus* (Tabela 4). O efeito entre os análogos de **BVC** e tetraciclina exibiu valores de ICIF de 2 e 3, indicando um efeito indiferente (LEWIS et al., 2002).

Tabela 4. Efeito sinérgico de análogos de BVC e tetraciclina.

S. aureus ATCC 6538						
Amostra	Resultados - µg/mL				ICIF	Tipo de efeito
	CIM sozinho (a)		CIM combinação (b)			
	(1)	(2)	(3)	(4)		
BVC 12	1,56	0,18	3,12	0,18	3	Indiferente
BVC 14	6,25	0,18	6,25	0,18	2	Indiferente
BVC 16	1,56	0,18	3,12	0,18	3	Indiferente

CIM da amostra avaliada frente a bactéria sozinho (1); CIM da tetraciclina sozinha (2); CIM da amostra avaliada frente a bactéria em combinação com a tetraciclina (3); CIM da tetraciclina sozinha (4).

3.5 Ensaio de atividade antibiofilme

A atividade antibiofilme de **BVC** e **BVC 2** foi avaliada em concentrações variando de 0,195 a 400 µg/mL e clorexidina foi utilizada como controle positivo com concentrações variando de 0,115 a 59 µg/mL. No ensaio com **BVC**, o composto exibiu atividade antibiofilme

com valores de CIMB₅₀ de 25 µg/mL contra *S. sanguinis* (Figura 1) e a clorexidina apresentou valor de CIMB₅₀ de 14,73 µg/mL. Dessa forma, em comparação com o controle positivo, **BVC** apresentou atividade antibiofilme relevante, uma vez que, sua concentração foi $1,7 \times$ maior que a da clorexidina. O análogo **BVC 2** exibiu atividade antibiofilme com valores de CIMB₅₀ de 50 µg/mL contra *S. sanguinis* e clorexidina apresentou valor de CIMB₅₀ de 0,470 µg/mL. Dessa forma, em comparação com clorexidina, **BVC 2** não apresentou atividade antibiofilme relevante, uma vez que, sua concentração é $100 \times$ maior que a da clorexidina.

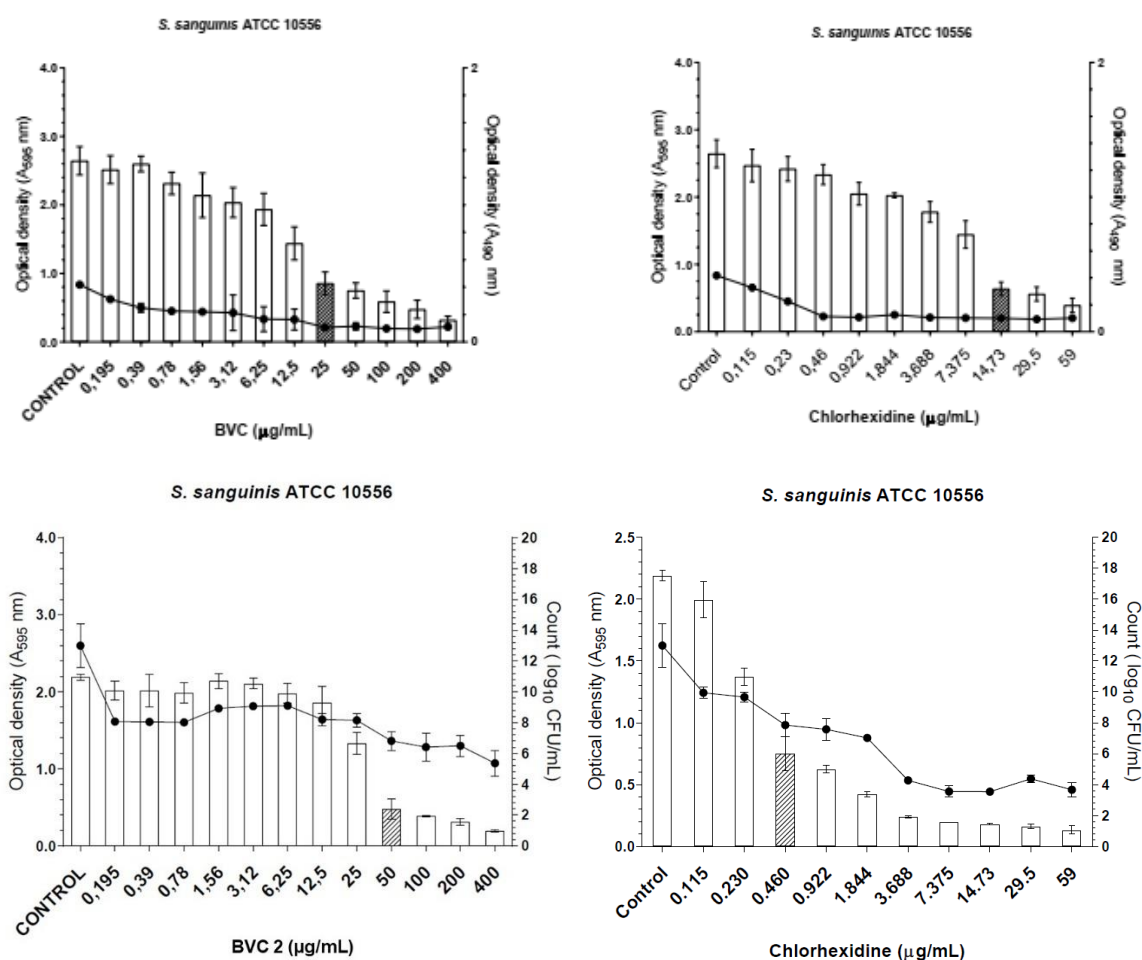


Figura 1. Efeito de **BVC** e **BVC 2** na formação de biofilme de *S. sanguinis* (ATCC 10556). As barras pontilhadas representam os valores de CIMB₅₀. As linhas representam a densidade ótica (A₅₉₅ nm).

A atividade antibiofilme dos análogos **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** contra *S. aureus* em concentrações variando de 0,195 a 400 µg/mL e tetraciclina em concentrações variando de 0,0115 a 5,9 µg/mL (controle positivo). Em comparação à tetraciclina (CIMB₅₀ = 0,046 µg/mL), os compostos foram fracamente ativos, uma vez que os valores de CIMB₅₀ foram 400 µg/mL (**BVC 12** e **BVC 14**) e 200 µg/mL (**BVC 16**) (Figura 2).

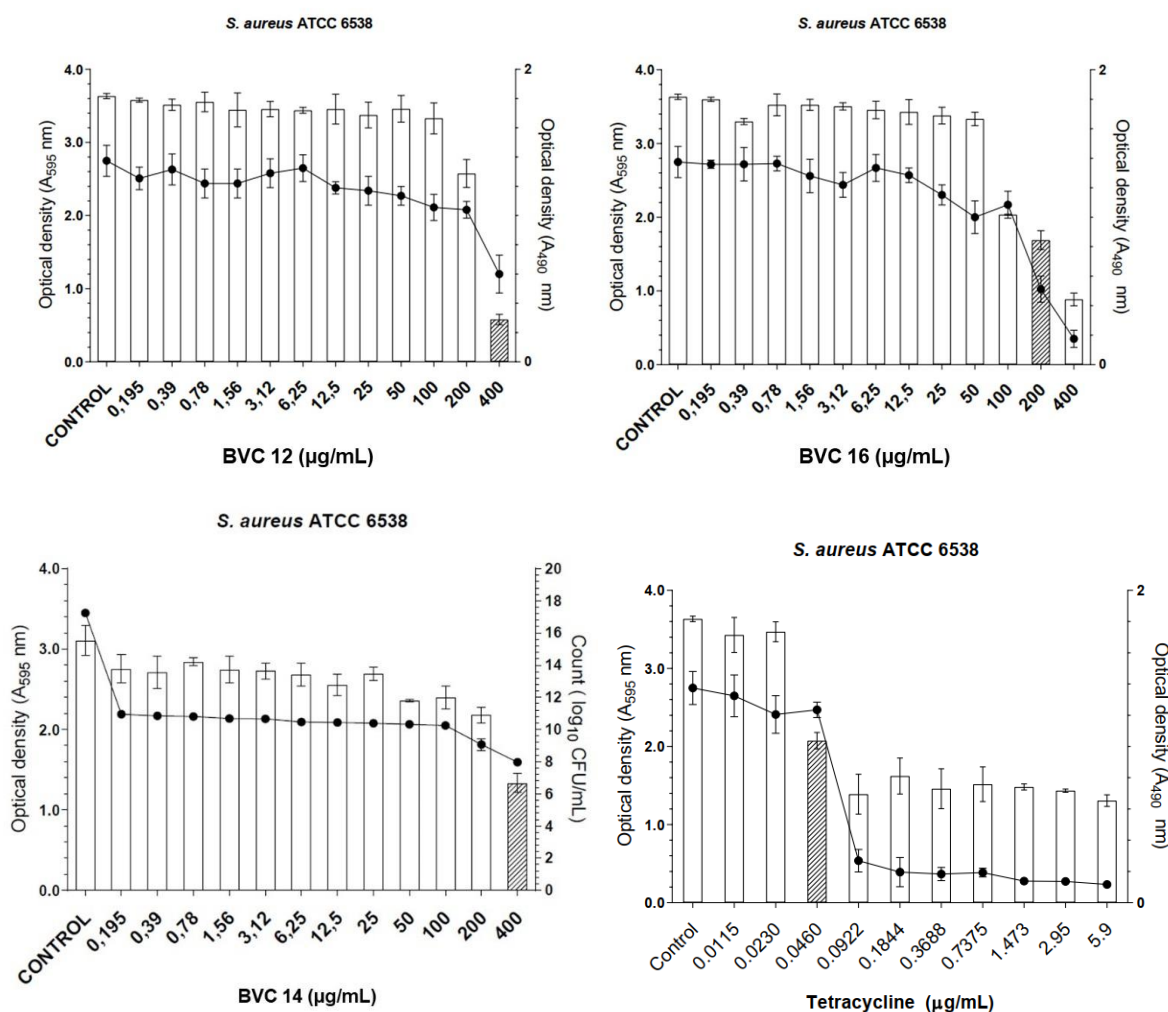


Figura 2. Efeito de **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** (na formação de biofilme de *S. aureus* (ATCC 6538)). As barras pontilhadas representam os valores de CIMB₅₀. As linhas representam a densidade ótica (A_{595} nm).

Biofilmes microbianos são comunidades de células microbianas agregadas e incorporadas em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS). Os biofilmes são recalcitrantes a ambientes extremos e podem proteger microrganismos da radiação ultravioleta (UV), temperaturas extremas, pH extremo, alta salinidade, alta pressão, à baixa concentração de nutrientes, antibióticos, atuando como barreiras físicas e químicas altamente eficientes (YIN et al., 2019).

3.6 Ensaio de rompimento de membrana

Para investigar a ação de **BVC**, **BVC 12** e **BVC 16** sobre a membrana de *S. aureus*, as células bacterianas foram tratadas com cada substância por 15 minutos, bem como com nisina (controle positivo), um antibiótico que tem como alvo a membrana produzindo poros (WIEDEMANN; BENZ; SAHL, 2004). Dois corantes fluorescentes, iodeto de propídio (PI) e

SYTO9, foram adicionados, os quais coram as células com membranas desestruturadas (em vermelho) e membranas intactas (em azul) (NAVARRO et al., 2020).

As porcentagens de células com membranas danificadas foram quantificadas a partir de contagem por imagens microscópicas (Figura 3). As imagens representativas de microscopia de fluorescência do controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO), controle positivo (nisina a 5,0 µg/mL) e **BVC** foram apresentadas na Figura 4. As culturas tratadas com 1% de DMSO apresentaram aproximadamente 9% das células com membranas permeabilizadas. O tratamento com nisina demonstrou que 96% das células danificadas e foram coradas de vermelho. O tratamento com **BVC** apresentou porcentagens de danos de 66%, sendo coradas de pink.

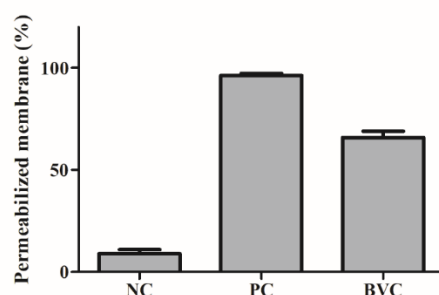


Figura 3. Porcentagem de células de *S. aureus* com membranas rompidas. BVC: células tratadas com **BVC**; PC: células tratadas com nisina (controle positivo) e NC: células tratadas com 1% de DMSO (controle negativo).

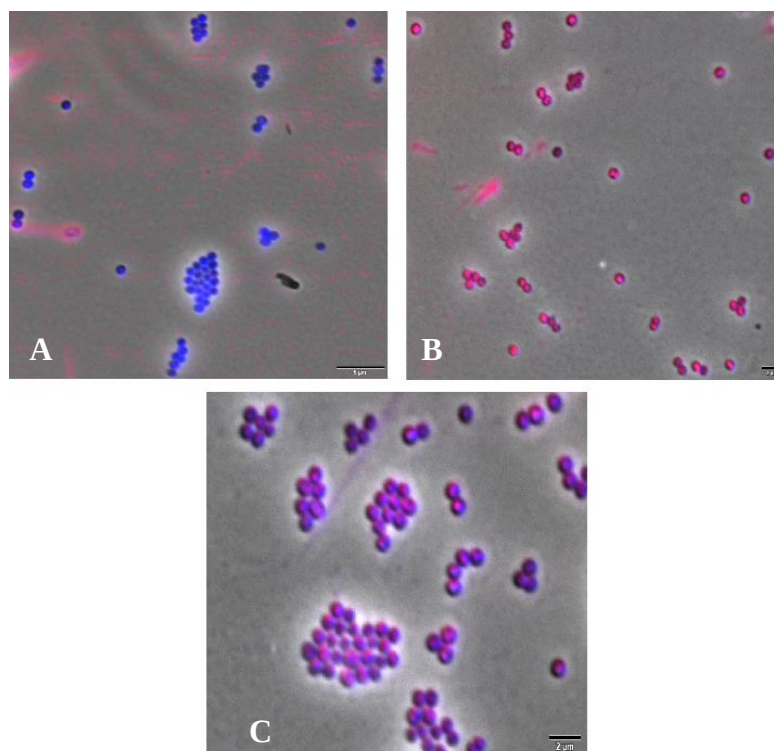


Figura 4. Microscopia de fluorescência de *S. aureus*. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células tratadas com nisina a 5,0 µg/mL). (C) células tratadas com BVC 100 µg/mL em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100 ×, barra de escala 2 µm (A e B) e 5 µm (C).

As porcentagens de células com membranas permeabilizadas do controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO), controle positivo (nisina a 5,0 µg/mL) e **BVC 12** e **BVC 14** foram apresentadas na Figura 5. As imagens representativas de microscopia de fluorescência do controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO), controle positivo (nisina a 5,0 µg/mL) foram apresentadas na Figura 6.

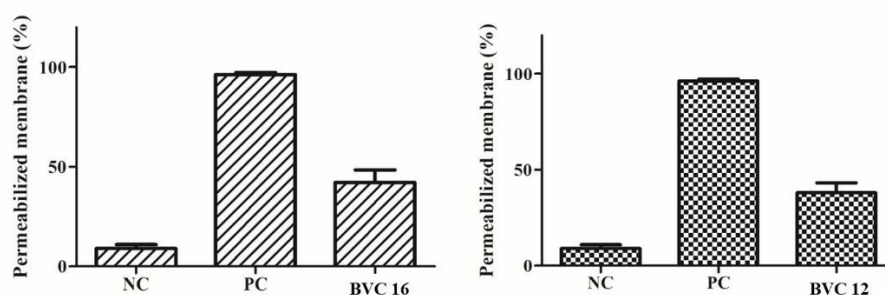


Figura 5. Porcentagem de células de *S. aureus* com membranas rompidas. BVC-4etila e BVC-Terc: células tratadas com **BVC 16** e **BVC 12**, respectivamente; PC: células tratadas com nisina (controle positivo) e NC: células tratadas com 1% de DMSO (controle negativo).

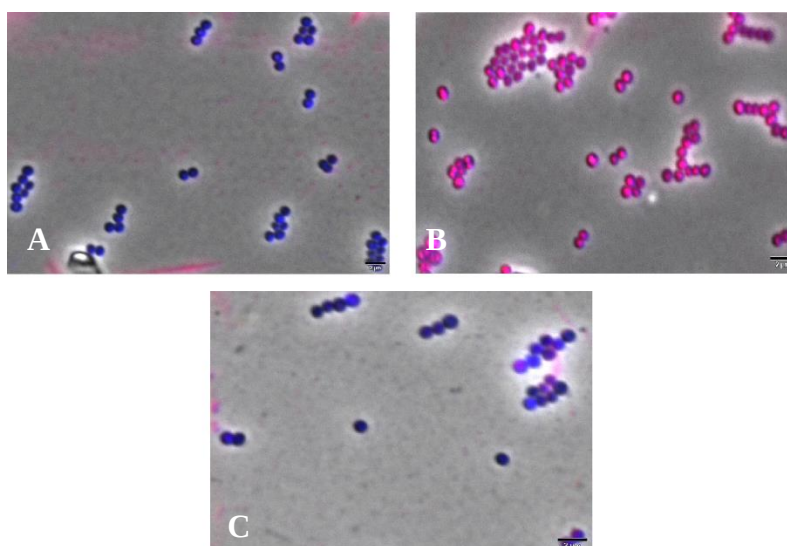


Figura 6. Microscopia de fluorescência de *S. aureus* corado com iodeto de propídio e SYTO9. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células

tratadas com nisina a 5,0 $\mu\text{g/mL}$). (C) células tratadas com **BVC 16** 100 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100 $\times$, barra de escala 2 μm .

As imagens representativas de microscopia de fluorescência do controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO), controle positivo (nisina a 5,0 $\mu\text{g/mL}$) e **BVC 12** foram apresentadas na Figura 7.

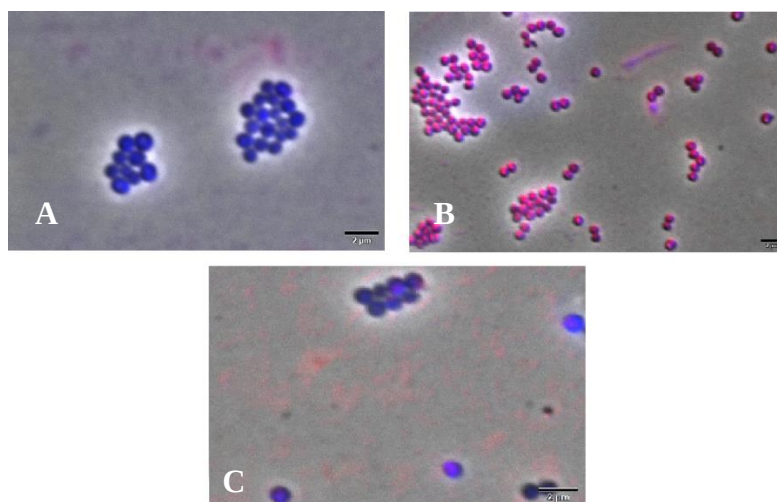


Figura 7. Microscopia de fluorescência de *S. aureus* corado com iodeto de propídio e SYTO9. (A) controle negativo (células tratadas com 1% de DMSO); (B) controle positivo (células tratadas com nisina a 5,0 $\mu\text{g/mL}$). (C) células tratadas com **BVC 12** 100 $\mu\text{g/mL}$ em DMSO por 15 minutos. Ampliação de 100x, barra de escala 2 μm .

O tratamento com **BVC 12** e **BVC 16** apresentaram efeitos contra a membrana citoplasmática próximo a 50% na concentração de 100 $\mu\text{g/mL}$. Dessa forma, **BVC 16** e **BVC 12** devam estar atuando em outras regiões celulares. Dessa forma, são necessários estudos para que se tenha a conclusão do mecanismo de ação desses análogos.

Nossas descobertas são corroboradas por outros estudos, que relataram que o modo de ação antibacteriano de chalconas hidroxiladas, os quais estão relacionados ao rompimento das membranas bacterianas (ASSIS et al., 2022; DZOYEM et al., 2013). Assis e colaboradores, relataram que isobavachalcona (**IBC**), uma chalcona regioisomérica de **BVC**, foi testada quanto à sua capacidade de rompimento de membrana em células de *B. subtilis* e foi capaz de causar danos (ASSIS et al., 2022). Dzoym e colaboradores relataram que **IBC** foi capaz de causar danos na membrana do MSSA, evidenciado por experimentos com corante diS-C3-(5), levando à inibição da biossíntese macromolecular (DZOYEM et al., 2013).

3.7 Ensaio de toxicidade

3.7.1 Toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano

A toxicidade de **BVC** e análogos selecionados (**BVC 2**, **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16**) foram testadas contra fibroblastos pulmonares humanos (linhagem celular MRC-5). Resultados de porcentagem de viabilidade celular acima de 80% foram considerados aceitáveis para substâncias não citotóxicas.

BVC não foi capaz de reduzir a viabilidade das células MRC-5 em concentrações de até 6,25 μM (2,03 $\mu\text{g/mL}$), sendo tóxica em concentrações mais elevadas (Figura 8). Esta concentração é menor do que o valor de CIM_{90} obtido no ensaio com *M. tuberculosis* (15,53 $\mu\text{g/mL}$).

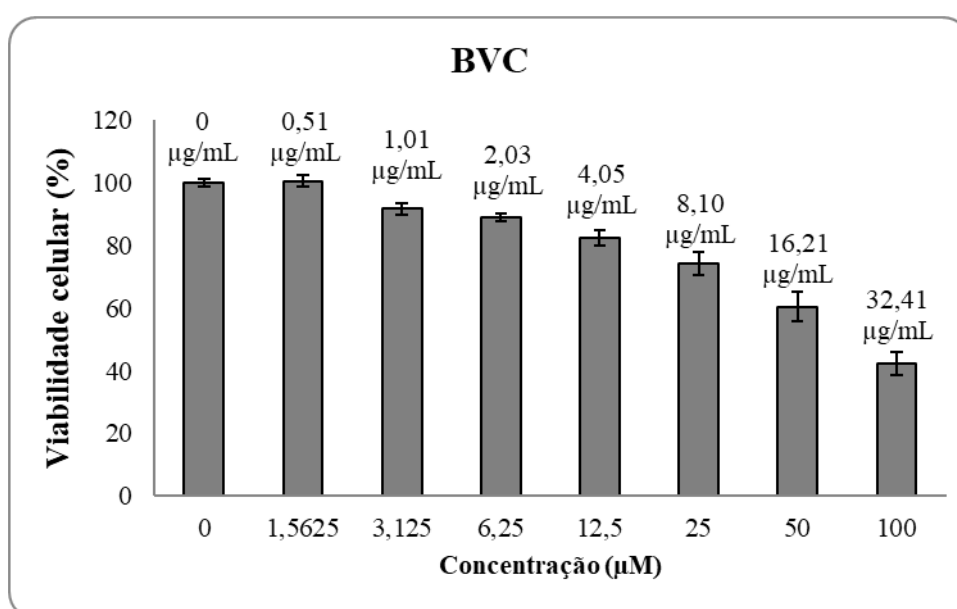


Figura 8. Efeito de **BVC** na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias ± 4 .

O análogo **BVC 2** foi incapaz de reduzir a viabilidade das células MRC-5 em concentrações de até 3,125 μM (1,01 $\mu\text{g/mL}$) (Figura 9). Esta concentração foi menor do que o valor de CIM_{90} obtido no ensaio com *M. tuberculosis* (13,98 $\mu\text{g/mL}$).

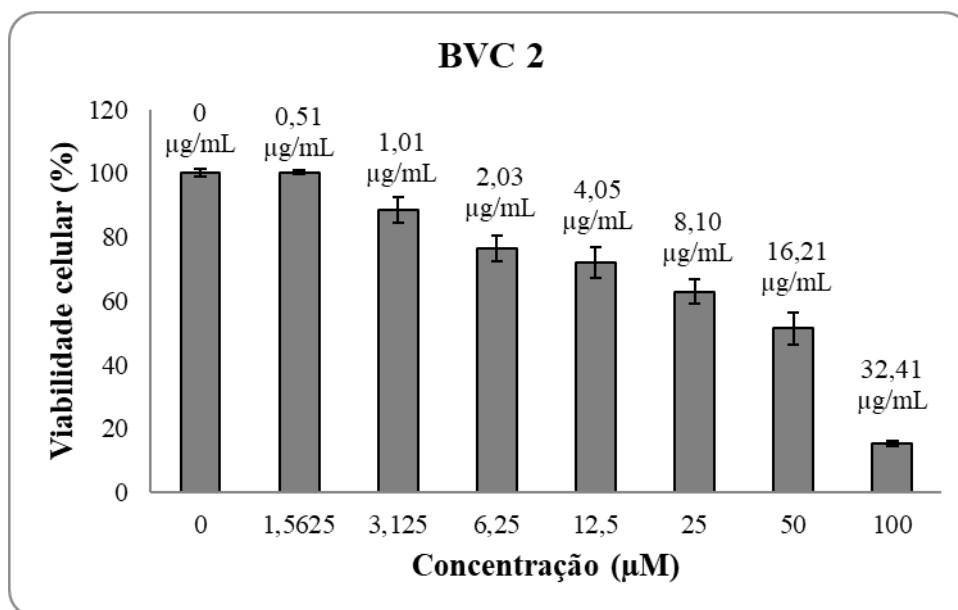


Figura 9. Efeito de **BVC 2** na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias $\pm$ 4.

O análogo **BVC 12** não foi capaz de reduzir a viabilidade das células MRC-5 em concentrações de até 6,25 μ M (2,28 μ g/mL) (Figura 10). A concentração apresentada é menor do que o valor de CIM₉₀ obtido no ensaio com *M. tuberculosis* (2,84 μ g/mL).

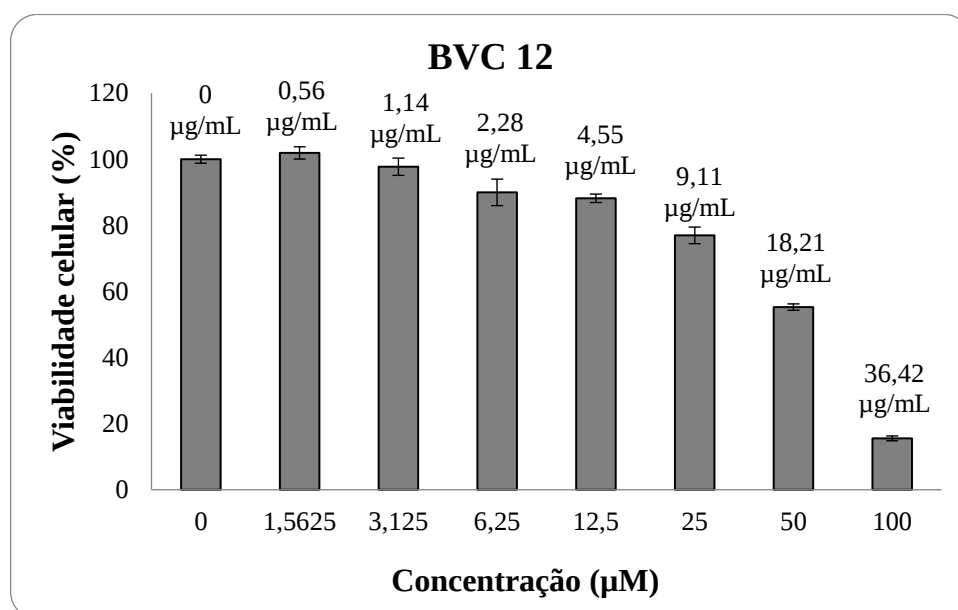


Figura 10. Efeito de **BVC 12** na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias $\pm$ 4.

O análogo **BVC 14** não foi capaz de reduzir a viabilidade das células MRC-5 em concentrações de até 100 μ M (35,32 μ g/mL) (Figura 11). Esta concentração é maior do que o valor de CIM₉₀ obtido no ensaio com *M. tuberculosis* (2,56 μ g/mL).

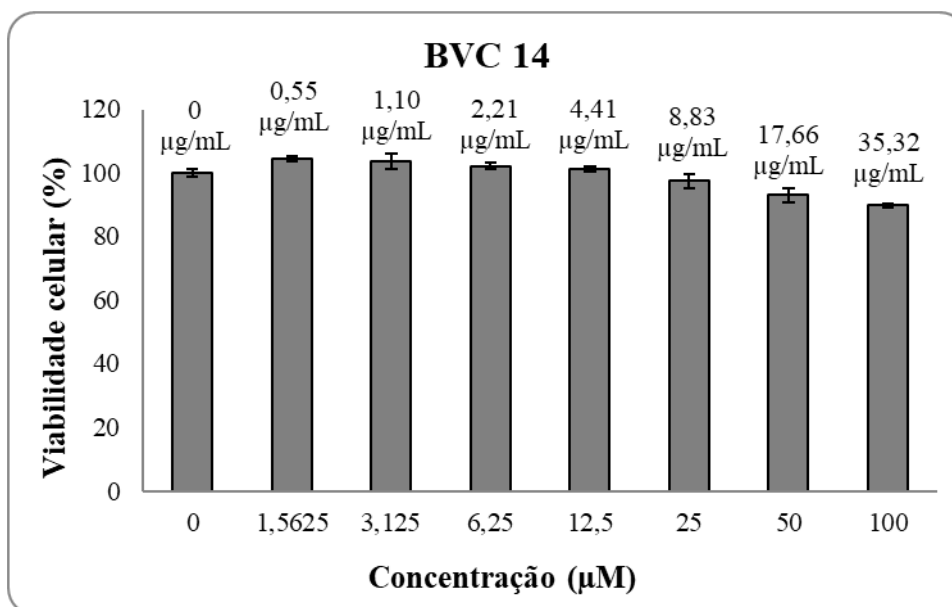


Figura 11. Efeito de BVC 14 na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias $\pm$ 4.

O análogo **BVC 16** não foi capaz de reduzir a viabilidade das células MRC-5 em concentrações de até 100 μ M (33,62 μ g/mL) (Figura 12). Esta concentração é maior do que o valor de CIM₉₀ obtido no ensaio com *M. tuberculosis* (11,99 μ g/mL).

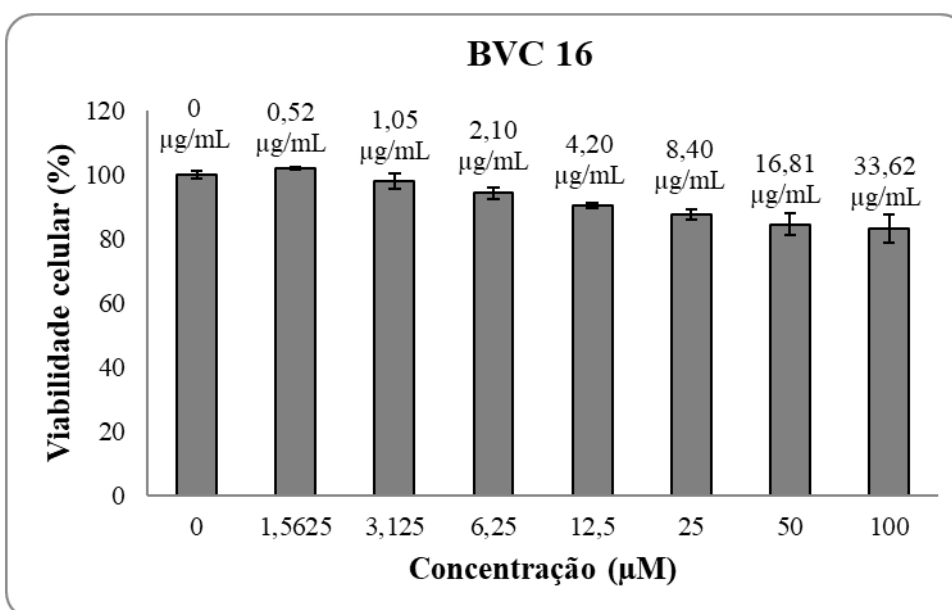


Figura 12. Efeito de **BVC 16** na viabilidade de células de fibroblastos pulmonares humanos. Os resultados são expressos como médias $\pm$ 4.

De acordo com o exposto, as concentrações apresentadas de **BVC**, **BVC 2** e **BVC 12** são menores que os valores de CIM₉₀ obtidos nos ensaios com *M. tuberculosis*, portanto, são consideradas tóxicas para as células de pulmão humano.

No entanto, os análogos **BVC 14** e **BVC 16** apresentaram valores de toxicidade maiores que os valores de CIM obtidos nos ensaios com *M. tuberculosis*, portanto, são consideradas atóxicas (ou pouco tóxicas) para as células de pulmão humano nessas concentrações.

A toxicidade é uma propriedade importante em compostos antimicrobianos, pois substâncias tóxicas podem afetar as células do hospedeiro. Esses resultados sugerem que **BVC**, **BVC 2** e **BVC 12** não são relativamente seguras para células de pulmão humano, pelo menos em concentrações testadas nestes estudos. **BVC 14** e **BVC 16** são relativamente seguros para células de pulmão humano. No entanto, é importante destacar que mais estudos são necessários para avaliar a segurança desses análogos em diferentes tipos celulares e em condições *in vivo*.

3.7.2 Toxicidade contra *Galleria mellonella*

A toxicidade do **BVC** foi testada contra as larvas de *G. mellonella*, não sendo capaz de ter efeito letal nas concentrações testadas, com uma sobrevida de 90% (Figura 13).

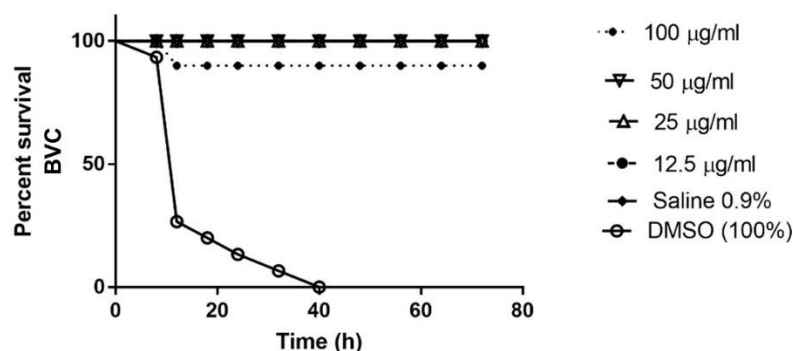


Figura 13. Efeito letal de **BVC** contra as larvas de *Galleria mellonella*

A toxicidade de **BVC 12** foi testada contra *G. mellonella*, não sendo capaz de causar morte das larvas a 100 µg/mL após 80 h (Figura 14). **BVC16** não apresentou efeito letal, com uma sobrevida de 90%. Assim, **BVC** e os análogos **BVC 12** e **BVC 16** testados não são considerados tóxicos quando testados em *G. mellonella*.

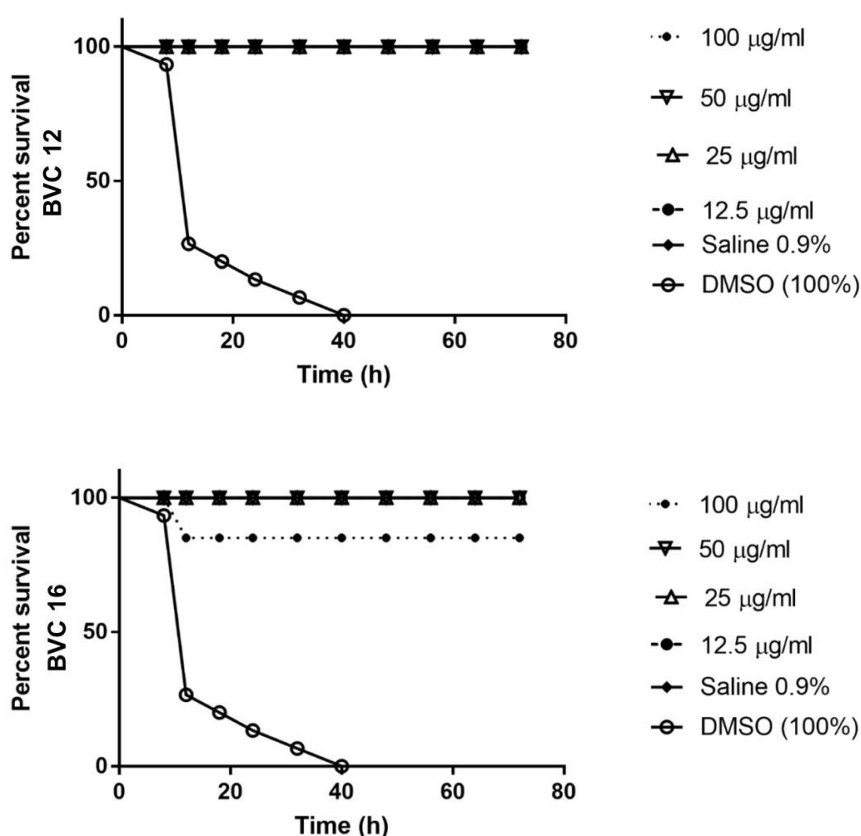


Figura 14. Efeito letal de **BVC 12** e **BVC 16** contra as larvas de *Galleria mellonella*

Selecionamos *G. mellonella* para avaliar a toxicidade de **BVC** e análogos, pois se trata de um organismo modelo alternativo ao uso de mamíferos, sendo empregado para investigar a toxicidade de substâncias. Esse modelo invertebrado permite a avaliação preliminar da toxicidade sistêmica de substâncias devido às similaridades fisiológicas de *G. mellonella* com o dos mamíferos (BROWNE; HEELAN; KAVANAGH, 2013; KAVANAGH; SHEEHAN, 2018).

3.8 Investigação *in silico* das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness*

A investigação *in silico* das propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness* é uma abordagem computacional que permitem prever e analisar o comportamento de substâncias no contexto de absorção, distribuição, metabolismo e excreção (ADME). Nesse contexto, abordagens computacionais podem prever propriedades físico-químicas e farmacocinéticas que classificam o composto quanto suas características *druglikeness*. Utilizando o SwissADME, uma ferramenta gratuita da web, (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017), aplicou-se cinco filtros usados por companhias farmacêuticas para qualificar suas

quimiotecas de fármacos e outras substâncias bioativas: i) Lipinski (Pfizer) (LIPINSKI, 2004), Ghose Amgen (GHOSE; VISWANADHAN; WENDOLOSKI, 1999), Veber (GSK) (VEBER et al., 2002), Egan (Pharmacia) (EGAN; MERZ; BALDWIN, 2000) e Muegge (Bayer) (MUEGGE; HEALD; BRITTELLI, 2001). Os resultados foram resumidos na tabela 5.

As análises de propriedades físico-químicas incluíram a massa molecular (MW), o número de átomos (NA), o número de ligações rotacionáveis (NROT), o número de doadores de ligações de hidrogênio (HBD), o número de aceptores de ligações de hidrogênio (HBA), a refração molar (MR) e a área de superfície polar topológica (TPSA). Lipinski sugere que compostos com características de fármaco devem ter $MW \leq 500$ Da, $HBD \leq 5$ e $HBA \leq 10$. Além disso, Ghose sugere $MW = 160$ a 480 Da, $NA = 20$ a 70 e $MR = 40$ - 130 . Muegge preconizou que o MW deve estar entre 200 e 600 Da, $HBD \leq 5$, $HBA \leq 10$ e, adicionalmente, as moléculas devem conter de 1 a 7 anéis aromáticos. Egan sugere $MW = 400$ a 500 Da. Veber sugere MW entre 400 e 550 . Todas as chalconas antibacterianas e antimicobacterianas não violaram nenhum dos parâmetros estabelecidos.

TPSA e NROTB são dois parâmetros usados para prever a absorção de fármacos, incluindo a absorção intestinal, biodisponibilidade, permeabilidade e penetração na barreira hematoencefálica (BBB) (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). TPSA considera a soma das superfícies de átomos polares como O e N em uma molécula, enquanto NROTB é um parâmetro que mede o grau de flexibilidade molecular. De acordo com a abordagem computacional, Egan considera que moléculas pequenas com boa biodisponibilidade oral têm um valor de $TPSA \leq 131,6 \text{ \AA}^2$. Veber e colaboradores, com base em estudo em ratos, estabeleceram que $TPSA \leq 140 \text{ \AA}^2$ e $NROTB \leq 10$ são valores ótimos para uma biodisponibilidade satisfatória de candidatos a fármacos pela via oral (VEBER et al., 2002). Os valores de TPSA e NROTB exibidos pelas chalconas bioativas sugerem um bom potencial teórico de biodisponibilidade por via oral (Tabela 5).

Tabela 5. Propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikeness* de BVC e análogos selecionados.

		BVC	BVC2	BVC12	BVC14	BVC16
Parâmetros físico-químicos	MW(g/mol)	324.4	324.4	364.48	353.4	336.42
	NROT	5	5	6	6	6
	HBA	4	4	3	5	3
	HBD	3	3	2	2	2
	TPSA ($\text{\AA}^2$)	77.76	77.76	57.53	103.35	57.53
	MR	96.04	96.04	103,79	102.84	103.79

	log S ^a	-4.47	-4.47	-7,24	-4,41	-5.83
	log P ^b	3.75	3.83	5.41	3,44	4.85
Parâmetros farmacocinéticos	Absorção GI	alta	alta	alta	alta	alta
	BBB	não	não	não	não	não
Druglikeness	Lipinski	0	0	0	0	0
	Ghose	0	0	0	0	0
	Veber	0	0	0	0	0
	Egan	0	0	0	0	0
	Muegge	0	0	0	0	0

MW= peso molecular; HBD = número de doadores de hidrogênio; HBA = número de aceptores de hidrogênio; TPSA = área de superfície polar topológica; NROTB = número de ligações rotacionáveis; Log P = lipofilicidade; GI = gastrointestinal; BBB = barreira hematoencefálica; Log S = solubilidade. ^aLog S = 0,5 -log P-0,01×(MP-25)(RAN; JAIN; YALKOWSKY, 2001); ^bDeterminado por coeficiente de partição (*n*-octanol/water), Método HPLC(OECD, 1989a)

O coeficiente de partição *n*-octanol e água (log *P*_{o/w}) é uma medida crucial na área farmacêutica devido à sua capacidade de prever e influenciar várias propriedades físico-químicas e biológicas dos fármacos. como solubilidade, biodisponibilidade e transporte através de membranas biológicas (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017). Uma variedade de métodos pode estimar os valores de log *P* com resultados satisfatórios. Determinou-se experimentalmente os valores de log *P* pelo método cromatográfico de acordo com os procedimentos descritos pelas Diretrizes da OECD para o Teste de Produtos Químicos (OECD, 1989b). Ghose sugere um log *P* variando de -0,4 a 5,6; Lipinski log *P* ≤ 5; Muegge log *P* = -2 a 5, e Egan log *P* ≤ 5,88. Descobrimos que as chalconas antimicobacterianas (**BVC**, **BVC 2**, **BVC 14** e **BVC16**) apresentaram valores de log *P* variando de 3,44 a 4,85. No entanto, a chalcona **BVC 12** viola ao critério de Lipinski e Muegge, pois apresentou log *P* 5(Tabela 5).

Substâncias com lipofilicidade adequada têm maior probabilidade de atravessar membranas biológicas, como a mucosa gastrointestinal, o que facilita sua absorção, atingindo concentrações adequadas na corrente sanguínea. Assim como a solubilidade aquosa é importante para a dissolução da substância no fluido gastrointestinal, permitindo que ela seja absorvida de maneira eficiente (DELANEY, 2004). Assim, a solubilidade aquosa foi predita pela Equação Geral de Solubilidade (GSE) (4).(RAN; JAIN; YALKOWSKY, 2001).

$$\log S = 0,5 - \log P - 0,01(MP - 25) \quad (4)$$

log *S* é o logaritmo da solubilidade aquosa (*S*; unidades referidas a mol/L), log

P é o logaritmo do coeficiente de partição *n*-octanol/água e MP (°C) é o ponto de fusão.

De acordo com a faixa de $\log S$, os compostos foram classificados como insolúveis ($\log S < -10$), pouco solúveis ($\log S = -10$ a -6), moderadamente solúveis ($\log S = -6$ a -4), solúveis ($\log S = -4$ a -2), muito solúveis ($\log S = -2$ a 0) e altamente solúveis ($\log S > 0$) (JORGENSEN; DUFFY, 2002). Os resultados foram resumidos na tabela 5. Para a aplicação da GSE, utilizou-se o $\log P$ experimental (tabela 5) e o ponto de fusão experimental (MP) (material suplementar). As chalconas antimicobacterianas foram classificadas como solúveis em água, pouco solúveis ou moderadamente solúveis, exibindo valores de $\log S$ variando de $-7,24$ a $-4,41$, que são as faixas de $\log S$ desejadas para compostos bioativos (JORGENSEN; DUFFY, 2002).

4. Conclusões

BVC e dezesseis análogos com modificações no anel B foram planejados e sintetizados de modo conciso e capaz de ofertar quantidades apreciáveis para os bioensaios. Ensaios biológicos demonstraram que **BVC** e seus análogos possuem atividade antibacteriana contra espécies Gram-positivas, incluindo MSSA, MRSA, *S. sanguinis*, *S. sobrinus* e *S. mutans*. **BVC** e sete análogos mostraram atividade antimicobacteriana contra *M. tuberculosis* H37Rv. **BVC 12**, **BVC 14** e **BVC 16** demonstraram baixa toxicidade contra fibroblastos de pulmão humano e larvas de *G. mellonella*. Dados de relação entre estrutura e atividade antibacteriana e antimicobacteriana sugeriram que a presença de hidroxilas no anel B foi essencial para a bioatividade. As chalconas antimicobacterianas mais promissoras demonstraram um perfil *in silico* promissor, incluindo propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e *druglikenes* adequadas.

Capítulo III

Referências e Material Suplementar

REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, J. et al. Biology of Oral Streptococci. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 5, 7 set. 2018.
- ALALWAN, H. et al. The Anti-Adhesive Effect of Curcumin on Candida albicans Biofilms on Denture Materials. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. APR, p. 659, 20 abr. 2017.
- ALVES, J. A. et al. Investigation of Copaifera genus as a new source of antimycobacterial agents. **Future Science OA**, v. 6, n. 7, 1 ago. 2020.
- ANAGANI, B. et al. Identification and validation of the mode of action of the chalcone anti-mycobacterial compounds. **The Cell Surface**, v. 6, p. 100041, 1 dez. 2020.
- ANSAR AHMED, S.; GOGAL, R. M.; WALSH, J. E. A new rapid and simple non-radioactive assay to monitor and determine the proliferation of lymphocytes: an alternative to [3H]thymidine incorporation assay. **Journal of immunological methods**, v. 170, n. 2, p. 211–224, 15 abr. 1994.
- ARCHER, N. K. et al. Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. **Virulence**, v. 2, n. 5, p. 445–459, 2011.
- ASSIS, L. R. DE et al. Antibacterial Activity of Isobavachalcone (IBC) Is Associated with Membrane Disruption. **Membranes**, v. 12, n. 3, 1 mar. 2022.
- BABAEKHOU, L. et al. Streptococcus mutans and Streptococcus sobrinus distribution in the saliva and plaque of Iranian population: Higher prevalence of S. mutans serotypes f and k. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 19, n. 2, p. 193–200, 1 maio 2021.
- BEIGHTON, D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 33, n. 4, p. 248–255, 1 ago. 2005.
- BEYER, P.; PAULIN, S. The Antibacterial Research and Development Pipeline Needs Urgent Solutions. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 6, p. 1289–1291, 12 jun. 2020.
- BHALLA, V. K.; NAYAK, U. R.; DEV, S. Some new flavonoids from psoralea corylifolia. **Tetrahedron Letters**, v. 9, n. 20, p. 2401–2406, 1968.
- BHATTACHARYA, M. et al. Prevention and treatment of Staphylococcus aureus biofilms. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 13, n. 12, p. 1499, 2 dez. 2015.
- BLOEMBERG, G. V. et al. Acquired Resistance to Bedaquiline and Delamanid in Therapy for Tuberculosis. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1505196>, v. 373, n. 20, p. 1986–1988, 12 nov. 2015.
- BOUGLÉ, A. et al. Comparison of 8 versus 15 days of antibiotic therapy for Pseudomonas aeruginosa ventilator-associated pneumonia in adults: a randomized, controlled, open-label trial. **Intensive care medicine**, v. 48, n. 7, p. 841–849, 1 jul. 2022.
- BROWNE, N.; HEELAN, M.; KAVANAGH, K. An analysis of the structural and functional similarities of insect hemocytes and mammalian phagocytes. **Virulence**, v. 4, n. 7, p. 597–603, 2013.
- C REYGAERT, W. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018.
- CAESAR, L. K.; CECH, N. B. A Review of the Medicinal Uses and Pharmacology of Ashitaba. **Planta medica**, v. 82, n. 14, p. 1236–1245, 9 jun. 2016.
- CAMPAGNA, G. et al. [Italian Cystic Fibrosis Registry (ICFR). Report 2019-2020]. **Epidemiologia e prevenzione**, v. 46, n. 4 Suppl 2, p. 1–42, 2022.

CASSAT, J. E.; THOMSEN, I. Staphylococcus aureus infections in children. **Current opinion in infectious diseases**, v. 34, n. 5, p. 510–518, 1 out. 2021.

CDC. **About Antibiotic Resistance | CDC**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>. Acesso em: 19 jan. 2024.

CHAVAN, B. B. et al. Synthesis and Medicinal Significance of Chalcones-A Review. 2015.

CHEN, X. et al. A systematic review on biological activities of prenylated flavonoids. **Pharmaceutical biology**, v. 52, n. 5, p. 655–660, 2014.

CHIANG, C. C. et al. A Novel Dimeric Coumarin Analog and Antimycobacterial Constituents from *Fatoua pilosa*. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n. 7, p. 1728–1736, 1 jul. 2010.

CHOI, Y. H. et al. In vitro BACE-1 inhibitory phenolic components from the seeds of *Psoralea corylifolia*. **Planta medica**, v. 74, n. 11, p. 1405–1408, set. 2008.

CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. v. 32, 2012.

CONGEDI, J.; WILLIAMS, C.; BALDOCK, K. L. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Australia: a scoping review. **PeerJ**, v. 10, 31 maio 2022.

COTTAREL, G.; WIERZBOWSKI, J. Combination drugs, an emerging option for antibacterial therapy. **Trends in Biotechnology**, v. 25, n. 12, p. 547–555, 1 dez. 2007.

CRISTANCHO-ROJAS, C. et al. Epidemiology of *Mycobacterium abscessus*. **Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 2023.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports** 2017 7:1, v. 7, n. 1, p. 1–13, 3 mar. 2017.

DANG, G. et al. Characterization of Rv0888, a Novel Extracellular Nuclease from *Mycobacterium tuberculosis*. **Scientific Reports** 2016 6:1, v. 6, n. 1, p. 1–11, 8 jan. 2016.

DAS, B. et al. Eugenol Provokes ROS-Mediated Membrane Damage-Associated Antibacterial Activity Against Clinically Isolated Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains. **Infectious diseases**, v. 9, p. IDRT.S31741, jan. 2016.

DEL PUENTE, F. et al. Epidemiology and outcome of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* (KPC-KP) infections in cardiac surgery patients: a brief narrative review. **Journal of chemotherapy (Florence, Italy)**, v. 31, n. 7–8, p. 359–366, 17 nov. 2019.

DELANEY, J. S. ESOL: Estimating aqueous solubility directly from molecular structure. **Journal of Chemical Information and Computer Sciences**, v. 44, n. 3, p. 1000–1005, maio 2004.

DILARRI, G. et al. Evaluating the potential of electrolysed water for the disinfection of citrus fruit in packinghouses. **Journal of the science of food and agriculture**, v. 101, n. 6, p. 2584–2591, 1 abr. 2021.

DZOYEM, J. P. et al. Antimicrobial Action Mechanism of Flavonoids from *Dorstenia* Species. **drug discoveries & therapeutics**, v. 7, n. 2, p. 66–72, 2013.

EGAN, W. J.; MERZ, K. M.; BALDWIN, J. J. Prediction of drug absorption using multivariate statistics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n. 21, p. 3867–3877, 19 out. 2000.

- GAO, Y. et al. Association between tuberculosis and COVID-19 severity and mortality: A rapid systematic review and meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n. 1, p. 194–196, 1 jan. 2021.
- GARCIA, M. A. R. et al. Design, synthesis and antibacterial activity of chalcones against MSSA and MRSA planktonic cells and biofilms. **Bioorganic Chemistry**, v. 116, 1 nov. 2021.
- GE, L.; CHENG, K.; HAN, J. A Network Pharmacology Approach for Uncovering the Osteogenic Mechanisms of *Psoralea corylifolia* Linn. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, v. 2019, 2019.
- GELLATLY, S. L.; HANCOCK, R. E. W. *Pseudomonas aeruginosa* : new insights into pathogenesis and host defenses. **Pathogens and Disease**, v. 67, n. 3, p. 159–173, 1 abr. 2013.
- GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55–68, 1999.
- GÓMEZ-GONZÁLEZ, P. J. et al. Genetic diversity of candidate loci linked to *Mycobacterium tuberculosis* resistance to bedaquiline, delamanid and pretomanid. **Scientific Reports 2021 11:1**, v. 11, n. 1, p. 1–13, 30 set. 2021.
- GOSS, C. H.; MUHLEBACH, M. S. Review: *Staphylococcus aureus* and MRSA in cystic fibrosis. **Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society**, v. 10, n. 5, p. 298–306, set. 2011.
- GUILLÉN, S. M. et al. Tuberculosis in Spain: An opinion paper. **Revista Española de Quimioterapia**, v. 36, n. 6, p. 562, 1 dez. 2023.
- GUO, Y. et al. Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in *Staphylococcus aureus*. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 10, 17 mar. 2020.
- HAUSDORFF, W. P.; HANAGE, W. P. Interim results of an ecological experiment — Conjugate vaccination against the pneumococcus and serotype replacement. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 12, n. 2, p. 358, 1 fev. 2016.
- HU, Y. et al. *Klebsiella pneumoniae*: Prevalence, Reservoirs, Antimicrobial Resistance, Pathogenicity, and Infection: A Hitherto Unrecognized Zoonotic Bacterium. **Foodborne pathogens and disease**, v. 18, n. 2, p. 63–84, 1 fev. 2021.
- IBRAHIM, D.; JABBOUR, J. F.; KANJ, S. S. Current choices of antibiotic treatment for *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Current opinion in infectious diseases**, v. 33, n. 6, p. 464–473, 1 dez. 2020.
- JIM O'NEILL. TACKLING DRUG-RESISTANT INFECTIONS GLOBALLY: FINAL REPORT AND RECOMMENDATIONS THE REVIEW ON ANTIMICROBIAL RESISTANCE CHAIRED BY JIM O'NEILL. 2016.
- JORGENSEN, W. L.; DUFFY, E. M. Prediction of drug solubility from structure. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, n. 3, p. 355–366, 31 mar. 2002.
- KAVANAGH, K.; SHEEHAN, G. The Use of *Galleria mellonella* Larvae to Identify Novel Antimicrobial Agents against Fungal Species of Medical Interest. **Journal of Fungi**, v. 4, n. 3, 1 set. 2018.

- KRÓL, E. et al. Antibacterial activity of alkyl gallates is a combination of direct targeting of FtsZ and permeabilization of bacterial membranes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. APR, p. 138204, 29 abr. 2015.
- KUETE, V. et al. Evaluation of flavonoids from *Dorstenia barteri* for their antimycobacterial, antigonorrheal and anti-reverse transcriptase activities. **Acta Tropica**, v. 116, n. 1, p. 100–104, 1 out. 2010.
- LEANDRO, L. F. et al. Antibacterial activity of *Pinus elliottii* and its major compound, dehydroabietic acid, against multidrug-resistant strains. **Journal of medical microbiology**, v. 63, n. Pt 12, p. 1649–1653, 1 dez. 2014.
- LEE, M. H.; KIM, J. Y.; RYU, J. H. Prenylflavones from *Psoralea corylifolia* inhibit nitric oxide synthase expression through the inhibition of I-kappaB-alpha degradation in activated microglial cells. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 28, n. 12, p. 2253–2257, 2005.
- LEJA, M. et al. Review: Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. **Helicobacter**, v. 24 Suppl 1, n. S1, 1 set. 2019.
- LEWIS, R. E. et al. Comparison of Etest, checkerboard dilution and time–kill studies for the detection of synergy or antagonism between antifungal agents tested against *Candida* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 49, n. 2, p. 345–351, 1 fev. 2002.
- LI, X. Z.; PLÉSIAT, P.; NIKAIDO, H. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. **Clinical microbiology reviews**, v. 28, n. 2, p. 337–418, 2015.
- LI, L. et al. Epidemiological characteristics and antibiotic resistance mechanisms of *Streptococcus pneumoniae*: An updated review. **Microbiological research**, v. 266, 1 jan. 2023.
- LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, n. 4, p. 337–341, 1 dez. 2004.
- LIU, X. et al. “**Application of bavachalcone and isobavachalcone in preparing drug for treating diarrhea, colitis and/or pseudomembranous colitis caused by *Clostridium difficile* infection**” **Reference Detail | CAS SciFinder**”. Disponível em: <https://scifinder-n.cas.org/searchDetail/reference/65c8bca8829f5e45bdac3bed/referenceDetails>. Acesso em: 10 fev. 2024.
- LOCKHART, P. B. et al. Bacteremia Associated With Toothbrushing and Dental Extraction. **Circulation**, v. 117, n. 24, p. 3118–3125, 17 jun. 2008.
- LOESCHE, W. J. **Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay**. Disponível em: <https://www.scrip.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=145322>. Acesso em: 16 jan. 2024.
- LYCZAK, J. B.; CANNON, C. L.; PIER, G. B. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. **Microbes and Infection**, v. 2, n. 9, p. 1051–1060, 1 jul. 2000.
- MALFERTHEINER, P. et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report. **Gut**, v. 66, n. 1, p. 6–30, 1 jan. 2017.
- MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. Colonization, infection, and the accessory genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. JAN, p. 314961, 22 jan. 2018.
- MARTINS, P. M. M. et al. Subcellular localization of proteins labeled with GFP in *Xanthomonas citri* ssp. *citri*: targeting the division septum. **FEMS microbiology letters**, v. 310, n. 1, p. 76–83, set. 2010.

- MEGAW, J. et al. *Galleria mellonella* as a novel *in vivo* model for assessment of the toxicity of 1-alkyl-3-methylimidazolium chloride ionic liquids. **Chemosphere**, v. 139, p. 197–201, 1 nov. 2015.
- MEIER, D. et al. The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. **Bioorganic & medicinal chemistry**, v. 27, n. 23, 1 dez. 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. BRASIL, M. DA S. MANUAL DE RECOMENDAÇÕES PARA O CONTROLE DA TUBERCULOSE NO BRASIL V E N D A P R O I B I D A. 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. BRASIL BRASIL, M. DA S. **Tuberculose | Biblioteca Virtual em Saúde MS**. Disponível em: <https://bvsmms.saude.gov.br/tuberculose-21/>. Acesso em: 9 fev. 2024.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. BRASIL BRASIL, M. DA S. **Tratamento e prevenção — Ministério da Saúde**. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/tuberculose/tratamento-e-prevencao>. Acesso em: 19 jan. 2024.
- MIRALLES, N. et al. Transition-Metal-Free Borylation of Allylic and Propargylic Alcohols. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)**, v. 55, n. 13, p. 4303, 3 mar. 2016.
- MORADALI, M. F.; GHODS, S.; REHM, B. H. A. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: A paradigm for adaptation, survival, and persistence. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, n. FEB, p. 249785, 15 fev. 2017.
- MOREIRA OSÓRIO, T. et al. Antibacterial activity of chalcones, hydrazones and oxadiazoles against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Bioorganic & medicinal chemistry letters**, v. 22, n. 1, p. 225–230, 1 jan. 2012.
- MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **Journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 12, p. 1841–1846, 7 jun. 2001.
- MUÑOZ-GALLEGO, I. et al. *Staphylococcus aureus* native arthritis over 10 years. **Medecine et maladies infectieuses**, v. 50, n. 3, p. 257–262, 1 maio 2020.
- MURADÁS, T. C. et al. Pre-clinical evaluation of quinoxaline-derived chalcones in tuberculosis. **PLOS ONE**, v. 13, n. 8, p. e0202568, 1 ago. 2018.
- NAVARRO, M. O. P. et al. Determining the Targets of Fluopsin C Action on Gram-Negative and Gram-Positive Bacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, p. 533045, 4 jun. 2020.
- NIZAR, A. et al. *Streptococcus mutans* carriage in the saliva of mothers and its association with dental caries and *Streptococcus mutans* carriage in the saliva of children between 6 and 30 months old in a low-income setting in Karachi, Pakistan. **Clinical and experimental dental research**, v. 8, n. 6, p. 1523–1532, 1 dez. 2022.
- NOBBS, A. H.; JENKINSON, H. F.; JAKUBOVICS, N. S. Stick to Your Gums: Mechanisms of Oral Microbial Adherence. **Journal of Dental Research**, v. 90, n. 11, p. 1271, nov. 2011.
- O'BRIEN, K. L. et al. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. **The Lancet**, v. 374, n. 9693, p. 893–902, 2009.
- OECD. GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 122 Partition Coefficient (n-Octanol/Water), pH-Metric Method for Ionisable Substances. **OECD**, 1989a.
- OECD. **OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 122 Partition Coefficient (n-Octanol/Water), pH-Metric Method for**

Ionisable Substances. Disponível em: <https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/2731134.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2024b.

OLIVEIRA, J.; REYGAERT, W. Gram-Negative Bacteria. **Infection Management for Geriatrics in Long-Term Care Facilities**, Second Edition, p. 427–443, 1 jan. 2024.

OPAS. **Resistência antimicrobiana - OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde.** Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>. Acesso em: 19 jan. 2024.

OTTO, M. Staphylococcal Biofilms. **Microbiology spectrum**, v. 6, n. 4, 27 jul. 2018.

OTTO, M.; STEELE-MORTIMER, O.; SUBTIL, A. Staphylococcus aureus toxins This review comes from a themed issue on Host-microbe interactions: bacteria Edited by. **Current Opinion in Microbiology**, v. 17, p. 32–37, 2014.

PACZOSA, M. K.; MECSAS, J. Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 80, n. 3, p. 629–661, set. 2016.

PALOMINO, J. C. et al. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 46, n. 8, p. 2720–2722, 2002.

PIMENTEL DE ARAUJO, F. et al. Staphylococcus aureus clones causing osteomyelitis: a literature review (2000–2020). **Journal of global antimicrobial resistance**, v. 26, p. 29–36, 1 set. 2021.

PLAINVERT, C. et al. Microbiological Epidemiology of Invasive Infections Due to Non-Beta-Hemolytic Streptococci, France, 2021. **Microbiology spectrum**, v. 11, n. 3, 15 jun. 2023.

PODSCHUN, R.; ULLMANN, U. Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 4, p. 589–603, 1998.

POLAQUINI, C. R. et al. Antibacterial activity of 3,3'-dihydroxycurcumin (DHC) is associated with membrane perturbation. **Bioorganic Chemistry**, v. 90, 1 set. 2019.

RAMESH, D. et al. Indole chalcones: Design, synthesis, *in vitro* and *in silico* evaluation against Mycobacterium tuberculosis. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 198, p. 112358, 15 jul. 2020.

RAN, Y.; JAIN, N.; YALKOWSKY, S. H. Prediction of aqueous solubility of organic compounds by the general solubility equation (GSE). **Journal of chemical information and computer sciences**, v. 41, n. 5, p. 1208–1217, 2001.

RATNATUNGA, C. N. et al. The Rise of Non-Tuberculosis Mycobacterial Lung Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 507325, 3 mar. 2020.

REYNOLDS, D.; KOLLEF, M. The Epidemiology and Pathogenesis and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections: An Update. **Drugs**, v. 81, n. 18, p. 2117–2131, 1 dez. 2021.

RÍOS, J. L.; RECIO, M. C. Medicinal plants and antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 100, n. 1–2, p. 80–84, 22 ago. 2005.

ROSADO, V.; ROMANELLI, R. M. D. C.; CAMARGOS, P. A. M. Fatores de risco e medidas preventivas das infecções associadas a cateteres venosos centrais. **Jornal de Pediatria**, v. 87, n. 6, p. 469–477, nov. 2011.

ROZMER, Z.; PERJÉSI, P. Naturally occurring chalcones and their biological activities. **Phytochemistry Reviews**, v. 15, n. 1, p. 87–120, 1 fev. 2014.

- SARDI, J. DE C. O. et al. Antibacterial activity of diacetylcurcumin against *Staphylococcus aureus* results in decreased biofilm and cellular adhesion. **Journal of medical microbiology**, v. 66, n. 6, p. 816–824, 1 jun. 2017.
- SAVIETTO, A. et al. Antibacterial activity of monoacetylated alkyl gallates against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. **Archives of microbiology**, v. 200, n. 6, p. 929–937, 1 ago. 2018.
- SAWA, T. et al. Molecular epidemiology of clinically high-risk *Pseudomonas aeruginosa* strains: Practical overview. **Microbiology and immunology**, v. 64, n. 5, p. 331–344, 1 maio 2020.
- SEUNG, K. J.; KESHAVJEE, S.; RICH, M. L. Multidrug-Resistant Tuberculosis and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, v. 5, n. 9, 1 set. 2015.
- SHARMA, S.; UPADHYAY, V. Epidemiology, diagnosis & treatment of non-tuberculous mycobacterial diseases. **The Indian journal of medical research**, v. 152, n. 3, p. 185–226, 1 set. 2020.
- SON, J. L. et al. Inhibitory effects on *Streptococcus mutans* of antibacterial agents mixed with experimental fluoride varnish. **Dental Materials Journal**, v. 39, n. 4, p. 690–695, 30 jul. 2020.
- SONG, M. et al. Plant Natural Flavonoids Against Multidrug Resistant Pathogens. **Advanced Science**, v. 8, n. 15, p. 2100749, 1 ago. 2021.
- SONNENBERG, A. Epidemiology of *Helicobacter pylori*. **Alimentary pharmacology & therapeutics**, v. 55 Suppl 1, n. S1, p. S1–S13, 1 jan. 2022.
- SPERNOVASILIS, N.; PSICHOGIOU, M.; POULAKOU, G. Skin manifestations of *Pseudomonas aeruginosa* infections. **Current opinion in infectious diseases**, v. 34, n. 2, p. 72–79, 2021.
- SUAYA, J. A. et al. Identification of *Streptococcus pneumoniae* in hospital-acquired pneumonia in adults. **The Journal of hospital infection**, v. 108, p. 146–157, 1 fev. 2021.
- SUGAMOTO, K. et al. Synthesis and antibacterial activity of chalcones bearing prenyl or geranyl groups from *Angelica keiskei*. **Tetrahedron**, v. 67, n. 29, p. 5346–5359, 22 jul. 2011.
- SUKRI, A. et al. Epidemiology and role of *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric cancer carcinogenesis. **APMIS : acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica**, v. 128, n. 2, p. 150–161, 1 fev. 2020.
- TAHMASEBI, E. et al. Current Infections of the Orofacial Region: Treatment, Diagnosis, and Epidemiology. **Life (Basel, Switzerland)**, v. 13, n. 2, 1 fev. 2023.
- TENG, P. Y.; KIM, W. K. Roles of Nitrocompounds in Inhibition of Foodborne Bacteria, Parasites, and Methane Production in Economic Animals. **Animals 2021, Vol. 11, Page 923**, v. 11, n. 4, p. 923, 24 mar. 2021.
- TONG, S. Y. C. et al. *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 3, p. 603–661, 2015.
- TRAN, T.-D. et al. Synthesis and Antibacterial Activity of Some Heterocyclic Chalcone Analogues Alone and in Combination with Antibiotics. **Molecules**, v. 17, n. 6, p. 6684, 1 jun. 2012.
- VAN VUUREN, S.; VILJOEN, A. Plant-based antimicrobial studies--methods and approaches to study the interaction between natural products. **Planta medica**, v. 77, n. 11, p. 1168–1182, 2011.
- VEBER, D. F. et al. Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates. **Journal of medicinal chemistry**, v. 45, n. 12, p. 2615–2623, 6 jun. 2002.

VEENA, R.; NAGARATHNA, C. Correlation of streptococcus mutans and streptococcus sobrinus colonization with and without caries experience in preschool children. **Indian Journal of Dental Research**, v. 31, n. 1, p. 73–79, 1 jan. 2020.

VENTOLA, C. L. **The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats - PubMed**.

Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25859123/>. Acesso em: 19 jan. 2024.

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, 1 maio 2015a.

VENTURA, T. L. B. et al. Antimycobacterial and Anti-Inflammatory Activities of Substituted Chalcones Focusing on an Anti-Tuberculosis Dual Treatment Approach. **Molecules** **2015**, Vol. **20**, Pages **8072–8093**, v. 20, n. 5, p. 8072–8093, 5 maio 2015b.

VIEIRA, R. G. L. et al. *In vitro* studies of the antibacterial activity of Copaifera spp. oleoresins, sodium hypochlorite, and peracetic acid against clinical and environmental isolates recovered from a hemodialysis unit. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 7, n. 1, p. 14, 24 jan. 2018.

WALLER, D.; SAMPSON, A. P. Medical pharmacology & therapeutics. **Elsevier**, p. 729, 2018.

WANG, H. et al. Concise synthesis of prenylated and geranylated chalcone natural products by regiospecific iodination and Suzuki coupling reactions. **Tetrahedron Letters**, v. 4, n. 55, p. 897–899, 22 jan. 2014.

WANG, H. M. et al. Synthesis and anti-cancer activity evaluation of novel prenylated and geranylated chalcone natural products and their analogs. **European journal of medicinal chemistry**, v. 92, p. 439–448, 6 mar. 2015.

WASSILEW, N. et al. Pulmonary Disease Caused by Non-Tuberculous Mycobacteria. **Respiration; international review of thoracic diseases**, v. 91, n. 5, p. 386–402, 8 jun. 2016.

WEI, G. X.; CAMPAGNA, A. N.; BOBEK, L. A. Effect of MUC7 peptides on the growth of bacteria and on Streptococcus mutans biofilm. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 57, n. 6, p. 1100–1109, jun. 2006.

WEINBERGER, D. M. et al. Association of Serotype with Risk of Death Due to Pneumococcal Pneumonia: A Meta-Analysis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 6, p. 692–699, 15 set. 2010.

WERTHEIM, H. F. L. et al. The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 5, n. 12, p. 751–762, 1 dez. 2005.

WHITE, R. L. et al. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 40, n. 8, p. 1914, 1996.

WHO. **Publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed**. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Acesso em: 17 jan. 2024.

WHO. **Antimicrobial resistance**. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 17 jan. 2024a.

WHO. **Global tuberculosis report 2023**. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240083851>. Acesso em: 19 jan. 2024a.

WHO. Global tuberculosis report 2023. 2023b.

WHO, W. H. O. Global tuberculosis report 2021: TB deaths and incidence. **Global tuberculosis report**, p. 13–14, 2021b.

WIEDEMANN, I.; BENZ, R.; SAHL, H. G. Lipid II-Mediated Pore Formation by the Peptide Antibiotic Nisin: a Black Lipid Membrane Study. **Journal of Bacteriology**, v. 186, n. 10, p. 3259, maio 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis report 2021: TB deaths and incidence. **Global tuberculosis report**, p. 13–14, 2021.

XU, Q. X. et al. Multi-Target Anti-Alzheimer Activities of Four Prenylated Compounds from *Psoralea Fructus*. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 23, n. 3, 2018.

YANG, S. et al. Disease-Associated *Streptococcus pneumoniae* Genetic Variation. **Emerging infectious diseases**, v. 30, n. 1, jan. 2024.

YIN, S. et al. Antibacterial prenylflavone derivatives from *Psoralea corylifolia*, and their structure-activity relationship study. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 16, p. 4387–4392, 15 ago. 2004.

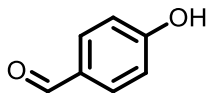
YIN, W. et al. Biofilms: The Microbial “Protective Clothing” in Extreme Environments. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 14, 2 jul. 2019.

YINGQING, R.; JAIN, N.; YALKIWSKU, S. H. Prediction of Aqueous Solubility of Organic Compounds by Topological Descriptors. **QSAR & Combinatorial Science**, v. 22, n. 8, p. 821–829, nov. 2003.

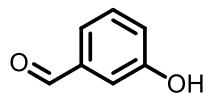
ZHANG, F. et al. New Insights into Biomarkers for Evaluating Therapy Efficacy in Pulmonary Tuberculosis: A Narrative Review. **Infectious diseases and therapy**, v. 12, n. 12, p. 2665–2689, 1 dez. 2023.

ZHAO, W. et al. Epidemiology Characteristics of *Streptococcus pneumoniae* From Children With Pneumonia in Shanghai: A Retrospective Study. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 9, n. JUL, 2019.

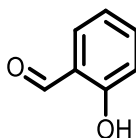
ZUMLA, A.; GEORGE, A.; SHARMA, V. WHO’s 2013 global report on tuberculosis: Successes, threats, and opportunities. **The Lancet**, v. 382, n. 9907, p. 1765–1767, 30 nov. 2013.

MATERIAL SUPLEMENTAR**Procedimentos de síntese de BVC e análogos (BVC 1-16)****B1 - 4-hydroxybenzaldehyde**Reação de proteção do 4-hidroxibenzaldeído(B1)

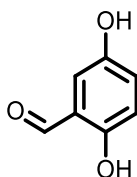
O 4-hidroxibenzaldeído (4 mmol) e K₂CO₃ anidro (8 mmol) foram adicionados em acetona (10 mL). O cloreto de metoximetila (MOMCl, 4,8 mmol) foi adicionado em porções durante 30 min. A mistura reacional foi agitada durante 2 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida, com 41,8% de rendimento.

Reação de proteção do 3-hidroxibenzaldeído(B2)**B2 - 3-hydroxybenzaldehyde**

O 3-hidroxibenzaldeído (4 mmol) e K₂CO₃ anidro (8 mmol) foram adicionados em acetona (10 mL). O cloreto de metoximetila (MOMCl, 4,8 mmol) foi adicionado em porções durante 30 min. A mistura reacional foi agitada durante 1 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida, com 50% de rendimento.

**B3 - 2-hydroxybenzaldehyde**Reação de proteção do 2-hidroxibenzaldeído(B3)

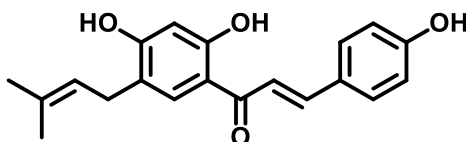
O 2-hidroxibenzaldeído (4 mmol) e K₂CO₃ anidro (8 mmol) foram adicionados em acetona (10 mL). O cloreto de metoximetila (MOMCl, 4,8 mmol) foi adicionado em porções durante 30 min. A mistura reacional foi agitada durante 2 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida com 65% de rendimento.



B4 – 2,5-dihydroxybenzaldehyde

Reação de proteção do 2,5-dihidroxibenzaldeído(B4)

A 2,5-dihidroxibenzaldeído (2,5 mmol) e K₂CO₃ anidro (10 mmol) foram adicionados em acetona (10 mL). O cloreto de metoximetila (MOMCl, 7,5 mmol) foi adicionado em porções durante 30 min. A mistura reacional foi agitada durante 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida com 53% de rendimento.



BVC: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e **B1** (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando

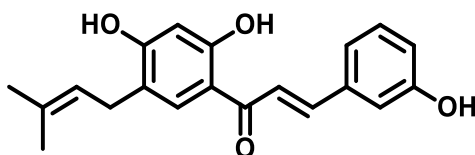
hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona **C** foi obtida com rendimento de 88%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP**)

À uma mistura da contendo a chalconas iodada **C** (0,3 mmol) e Cs_2CO_3 (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N_2 , foi adicionado $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,03 mmol) e o reagente **R1** (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N_2 . Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 85%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC**

À uma solução da chalcona **CP** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 78% de rendimento.



BVC 1: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C1**)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e **B2** (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação

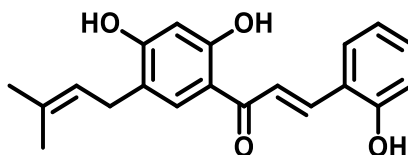
foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 76%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP1)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C1** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP1** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 72%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 1

À uma solução da chalcona **CP 1** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 63% de rendimento.



BVC 2: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C2)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e **B3** (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação

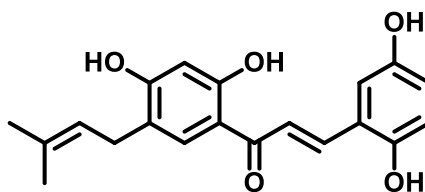
foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 68%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP2)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C2** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 3 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP2** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 43%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 2

À uma solução da chalcona **CP 2** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 28% de rendimento.



BVC 3:(E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2,5-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C3)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e **B4** (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v,

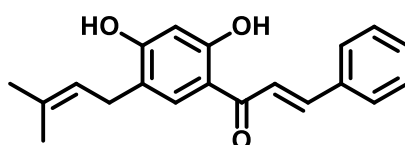
2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 89%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP3)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C3** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 3 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP3** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 14%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 3

À uma solução da chalcona **CP 3** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 18% de rendimento.



BVC 4: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C4)

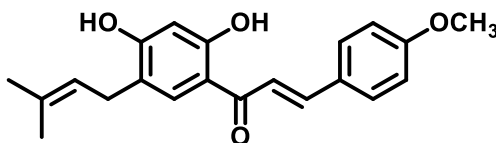
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,64 mmol) e o benzaldeído (1,97 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 2 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 49%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP4**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C4** (1,92 mmol) e Cs₂CO₃ (3,84 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,19 mmol) e o reagente R1 (3,85 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP4** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 22%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 4**

À uma solução da chalcona **CP 4** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 10% de rendimento.



BVC 5: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C5)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 4-metoxibenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 81,73%.

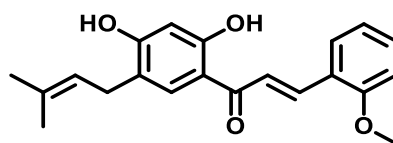
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP5)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C5** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP5** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 38%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 5

À uma solução da chalcona **CP 5** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e

evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 88% de rendimento.



BVC 6: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C6)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 2-metoxibenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 65%.

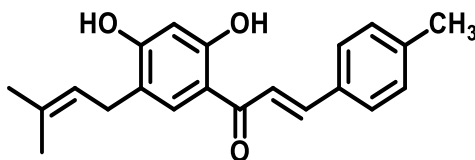
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP6)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C6** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 1 hora a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP6** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 25%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 6

À uma solução da chalcona **CP 6** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e

evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 21% de rendimento.



BVC 7: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(p-tolyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C7)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 4-metilbenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 1 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 82%.

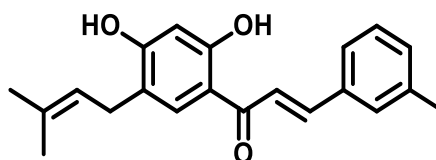
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP7)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C7** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,7 mmol). A mistura foi agitada durante 2.5 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP7** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 76%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 7

À uma solução da chalcona **CP 7** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 2 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas

combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 89% de rendimento.



BVC 8: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(m-tolyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (C8)

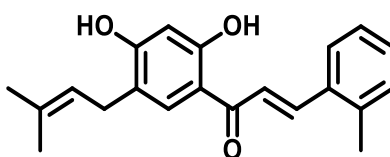
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 3-metilbenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 22%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (CP8)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C8** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 1 hora a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP8** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 16%.

Reação de desproteção para obtenção da BVC 8

À uma solução da chalcona **CP 8** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 19% de rendimento.



BVC 9: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(o-tolyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C9**)

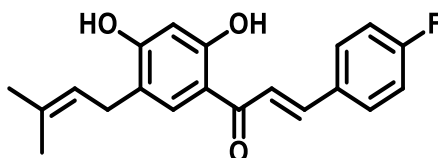
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 2-metilbenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 55%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP9**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C9** (0,3 mmol) e Cs₂CO₃ (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP9** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 11%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 9**

À uma solução da chalcona **CP 9** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 18% de rendimento.



BVC 10: (*E*)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-fluorophenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C10**)

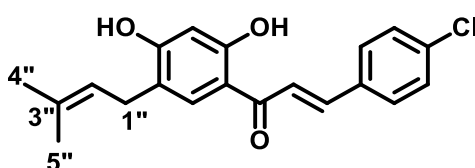
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,5 mmol) e o 4-fluorbenzaldeído (1,6 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (7:3). A chalcona foi obtida com rendimento de 60%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP10**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C10** (1,563 mmol) e Cs₂CO₃ (3,12 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,156 mmol) e o reagente R1 (3,12 mmol). A mistura foi agitada durante 30 minutos a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (7:3). A chalcona **CP10** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 22%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 10**

À uma solução da chalcona **CP 10** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 13% de rendimento.



BVC 11: (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C11**)

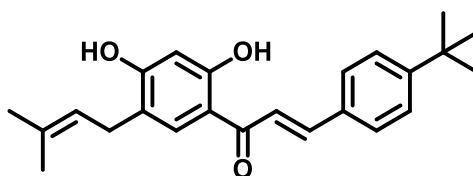
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,5 mmol) e o 4-clorobenzaldeído (1,5 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 90%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP11**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C11** (1,5 mmol) e Cs₂CO₃ (3 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,15 mmol) e o reagente R1 (3,0 mmol). A mistura foi agitada durante 2 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP11** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 22%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 11**

À uma solução da chalcona **CP 11** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 15% de rendimento.



BVC 12: (E)-3-(4-(tert-butyl)phenyl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C12**)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,4 mmol) e o 4-tercbutilbenzaldeído (0,4 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 4 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 90%.

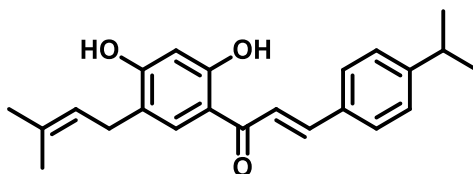
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP12**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C12** (0,9 mmol) e Cs₂CO₃ (1,96 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,09 mmol) e o reagente R1 (1,96 mmol). A mistura foi agitada durante 45 minutos a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando

hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP12** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 92%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 12**

À uma solução da chalcona **CP 12** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 9:1) com 85% de rendimento.



BVC 13: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-isopropylphenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C13**)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,19 mmol) e o 4-isopropilbenzaldeído (1,19 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 2.5 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 35%.

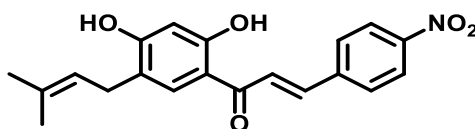
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP13**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C13** (0,9 mmol) e Cs₂CO₃ (1,8 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,09 mmol) e o reagente R1 (1,8 mmol). A mistura foi agitada durante 1.5 horas a 75°C sob atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de

pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP13** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 13,6%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 13**

À uma solução da chalcona **CP 13** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 52,64% de rendimento.



BVC 14: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-nitrophenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C14**)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,13 mmol) e o 4-nitrobenzaldeído (1,36 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 1 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 37%.

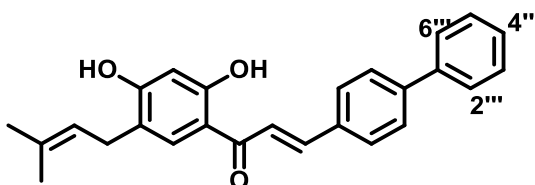
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP14**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C14** (0,69 mmol) e Cs₂CO₃ (1,38 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N₂, foi adicionado PdCl₂(dppf) (0,07 mmol) e o reagente R1 (1,4 mmol). A mistura foi agitada durante 40 minutos a 75°C sob

atmosfera de N₂. Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP4** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 38%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 14**

À uma solução da chalcona **CP 14** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 5 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetona = 8:2) com 30% de rendimento.



BVC 15: (E)-3-([1,1'-biphenyl]-4-yl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schmidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C15**)

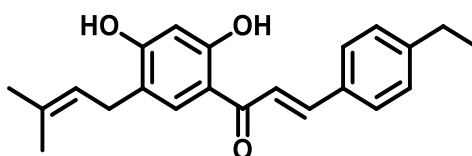
À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (1,5 mmol) e o 4-bifenilcarbaldeído (1,8 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO₄, filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 55,3%.

Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP15**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C15** (1 mmol) e Cs_2CO_3 (2 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N_2 , foi adicionado $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,1 mmol) e o reagente R1 (3,0 mmol). A mistura foi agitada durante 50 minutos a 75°C sob atmosfera de N_2 . Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila (8:2). A chalcona **CP15** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 41,8%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 15**

À uma solução da chalcona **CP 15** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 7:3) com 17,8% de rendimento.



BVC 16: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-ethylphenyl)prop-2-en-1-one Procedimento de Condensação Aldólica de Claisen Schimidt para a obtenção do intermediário iodado protegido (**C16**)

À uma solução etanólica (5 mL) de Acetofenona iodada e protegida (**16**) (0,5 mmol) e o 4-etilbenzaldeído (0,6 mmol), foi adicionado gota a gota sob agitação uma solução aquosa de KOH (60% p/v, 2 mL) a 0°C. A mistura reacional foi agitada por 3 h à temperatura ambiente. O meio de reação foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano:acetato de etila como fase móvel (8:2). A chalcona foi obtida com rendimento de 77%.

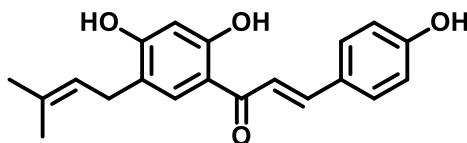
Obtenção do intermediário Chalcônico Prenilado (**CP16**)

À uma mistura contendo a chalcona iodada **C16** (0,3 mmol) e Cs_2CO_3 (0,6 mmol) em N,N-dimetilformamida seca a 0°C sob atmosfera de N_2 , foi adicionado $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ (0,03 mmol) e o reagente R1 (0,6 mmol). A mistura foi agitada durante 1 hora a 75°C sob atmosfera de N_2 . Ao término da reação, a mistura reacional foi filtrada à vácuo através de pastilha de celite com auxílio de acetato de etila. O filtrado foi lavado 3x com água 10 mL de água destilada, e a camada orgânica foi seca com sulfato de magnésio e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel utilizando hexano: acetato de etila (8:2). A chalcona **CP16** foi obtida como um pó amarelo com rendimento de 36%.

Reação de desproteção para obtenção da **BVC 16**

À uma solução da chalcona **CP 16** em 3 mL de MeOH:THF (1:1) foram adicionados 2 mL de solução aquosa de HCl (1 mol/L) a 0°C. A reação foi agitada a 55 °C por 6 h e vertida em gelo triturado. O material foi extraído com acetato de etila (3 x 25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram lavadas com solução saturada de NaCl, secas sobre MgSO_4 , filtradas e evaporadas sob pressão reduzida. O produto foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano:acetato de etila = 8:2) com 74% de rendimento.

Espectros de RMN, cromatogramas de HPLC e pontos de fusão (m.p.) de BVC e análogos (BVC 1-16)



BVC: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 46%. HPLC purity: 97%; m.p. literature: 300-303 °C , m.p. found: 311-316 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.71 (s, H-5''), 1.73 (s, H-4''), 3.29 (d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 5.33 (t, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 6.40 (s, H-3'), 6.93 (d, $J = 8.6$ Hz, H-3 and H-5), 7.70 (d, $J = 8.6$ Hz, H-2 and H-6), 7.73 (d, $J = 15.4$ Hz, H- α), 7.81 (d, $J = 15.4$ Hz, H- β), 7.95 (s, H-6'), 9.17 (brs, 4-OH), 9.73 (brs, 4'-OH), 13.5 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.91 (C-5''), 25.87 (C-1''), 28.80 (C-4''), 103.5 (C-3'), 114.3 (C-5'), 116.8 (C-3 and C-5), 118.5 (C- α), 121.3 (C-1'), 123.9 (C-2''), 127.6 (C-1), 131.7 (C-2 and C-6), 132.3 (C-6'), 132.4 (C-3''), 144.9 (C- α), 161.0 (C-4), 163.5 (C-2), 165.9 (C-4'), 192.7 (C- β).

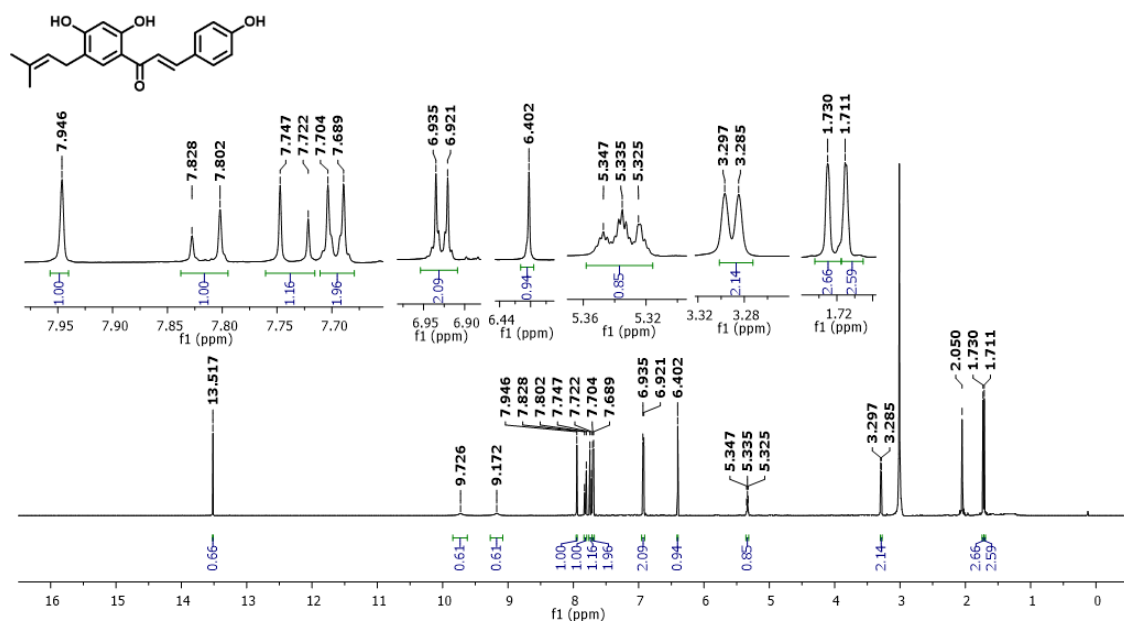


Figura 1. Espectro RMN 1H de BVC (acetona- d_6 ; 600 MHz)

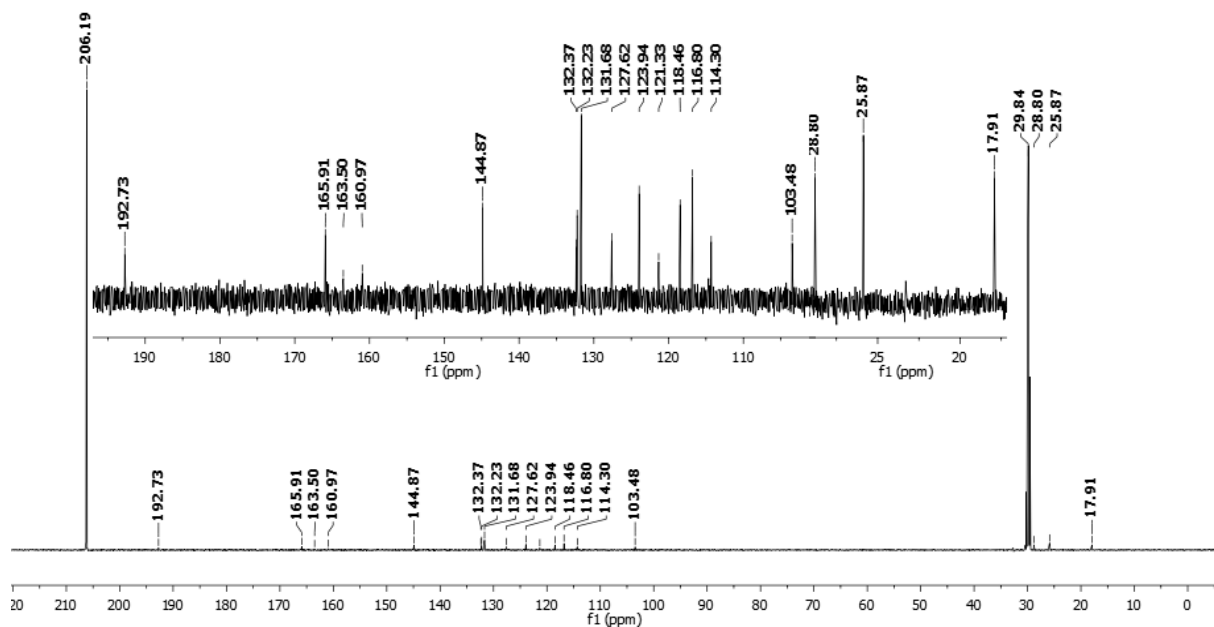


Figura 2. Espectro RMN 13C de BVC (acetona-d₆; 150 MHz)

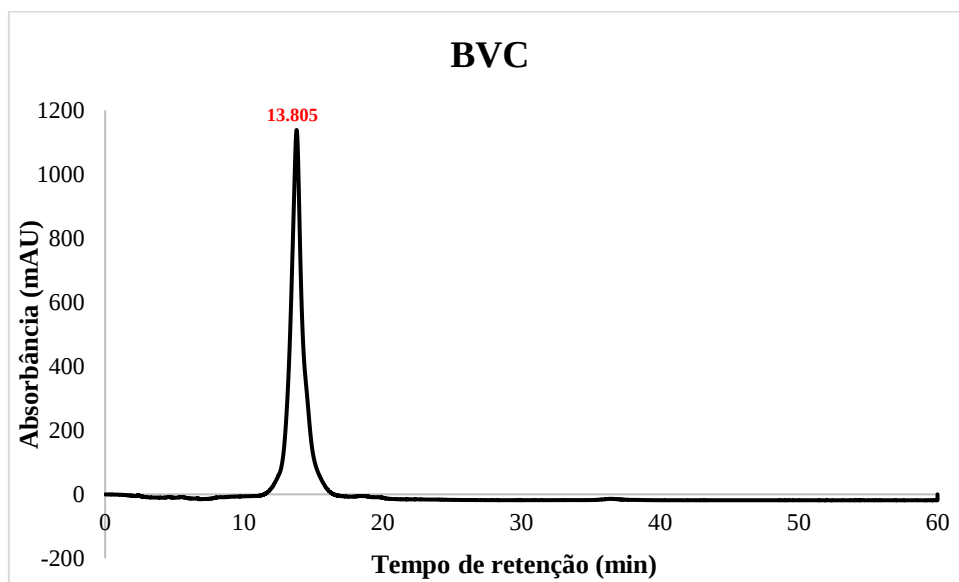


Figura 3. HPLC Cromatograma do composto BVC. Metanol:Água (75:25), 254 nm.

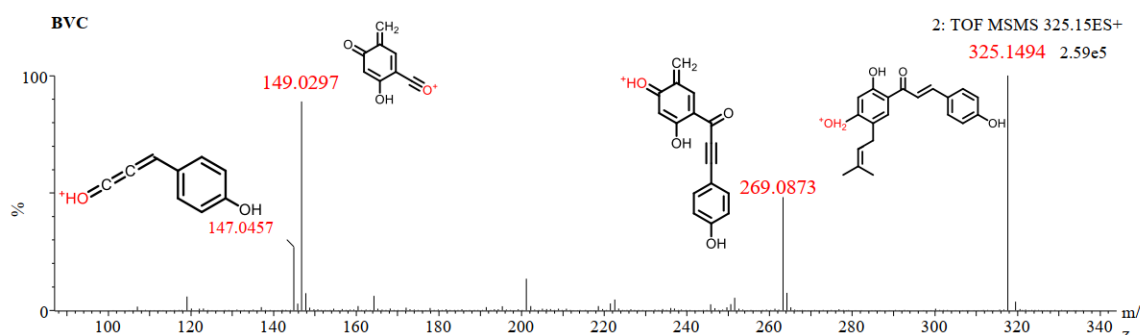
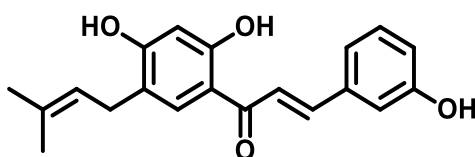


Figura 4. Espectro de massas BVC



BVC **1:** **(E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one**

Yellow powder; yield 46%. HPLC purity: 98%; m.p. literature: 300-303 °C , m.p. found: 311-316 °C.

¹H NMR (600 MHz, acetone-*d*₆): δ 1.71 (s, H-5''), 1.74 (s, H-4''), 3.31 (d, *J* = 7.2 Hz, H-1''), 5.34 (t, *J* = 7.2 Hz, H-2''), 6.41 (s, H-3'), 6.94–6.96 (m, H-4), 7.25 (s, H-2), 7.28–7.31 (m, H-5), 7.28–7.31 (m, H-6), 7.78 (d, *J* = 15.4 Hz, H-α), 7.84 (d, *J* = 15.4 Hz, H-β), 7.98 (s, H-6), 8.59 (sl, 3-OH), 9.59 (sl, 4'-OH), 13.3 (s, 2'-OH).

¹³C NMR (150 MHz, Acetone): δ 17.92 (C-4''), 25.87 (C-1''), 28.78 (C-5''), 103.5 (C-3'), 114.3 (C-1'), 116.0 (C-2), 118.6 (C-4), 121.1 (C-6), 121.6 (C-5'), 121.8 (C-β), 123.9 (C-2''), 130.9 (C-5), 132.4 (C-3''), 132.5 (C-6'), 137.4 (C-1), 144.7 (C-β), 158.7 (C-3), 158.8 (C-2'), 166.0 (C-4'), 192.7 (C-β').

20230309_1H_MariaBeatriz
 Prof. Luis Octavio, amostra Maria Beatriz, BVC-3OH-1 (10 mg) em acetone-d6
 25.0 C

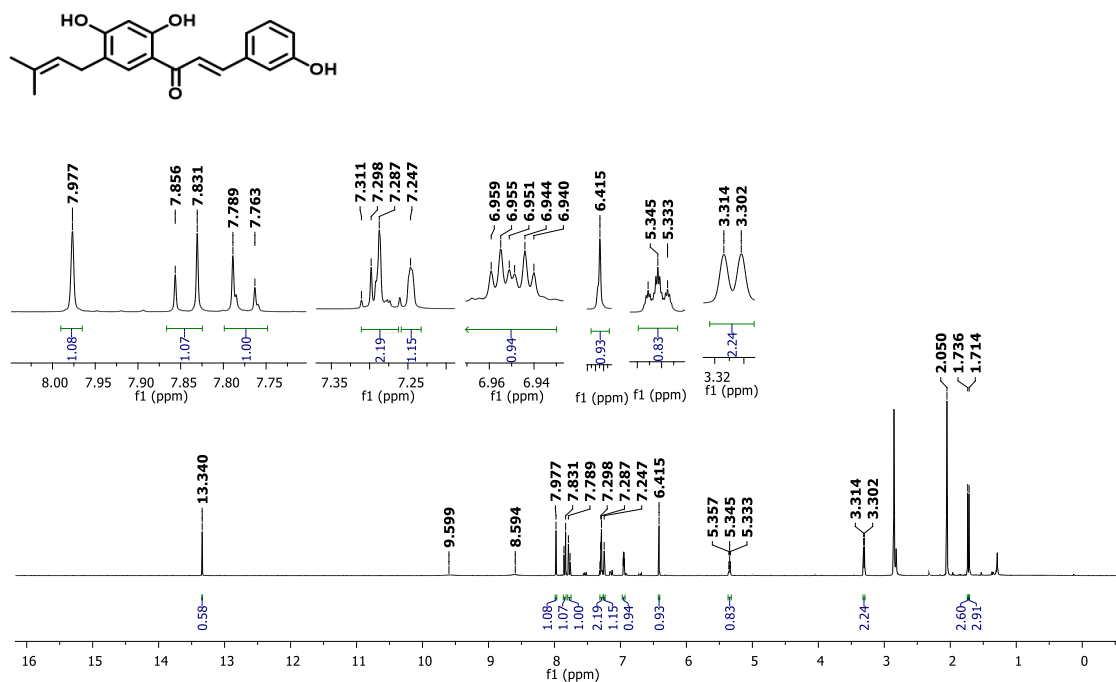


Figura 5. Espectro RMN 1H de BVC 1 (Acetona-d₆; 600 MHz)

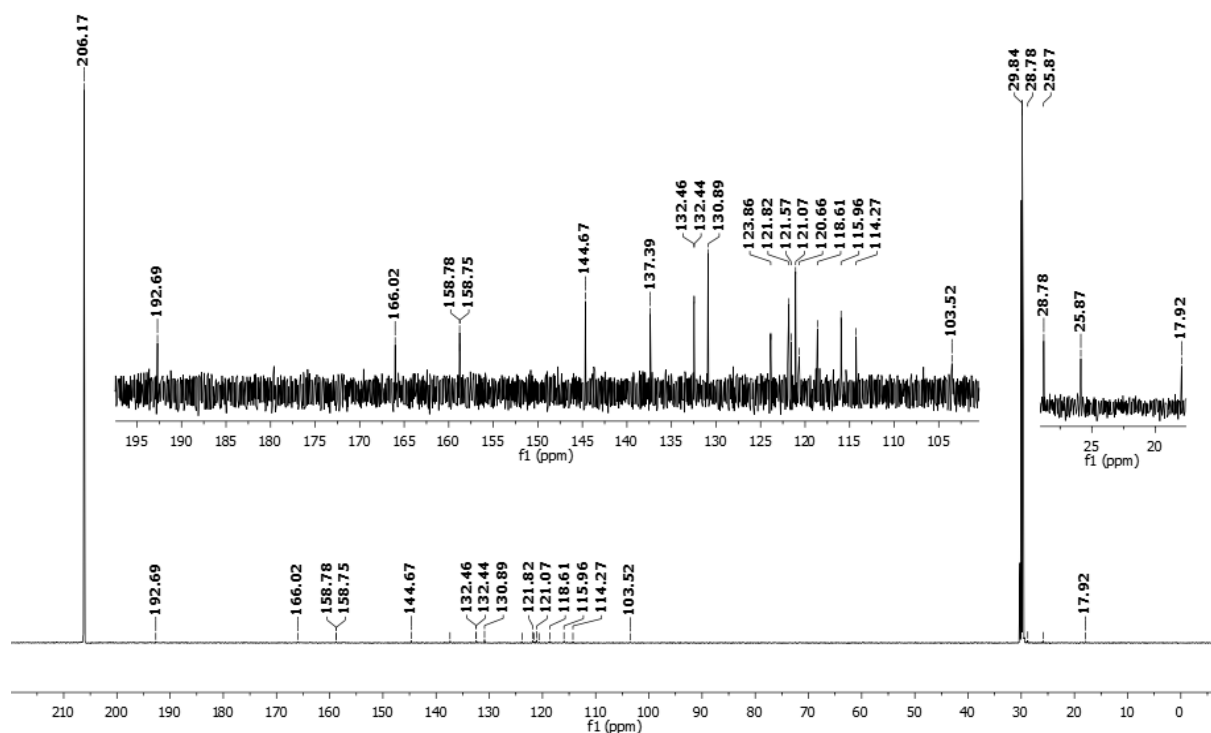


Figura 6. Espectro RMN 13C de BVC 1 (Acetona-d₆; 150 MHz)

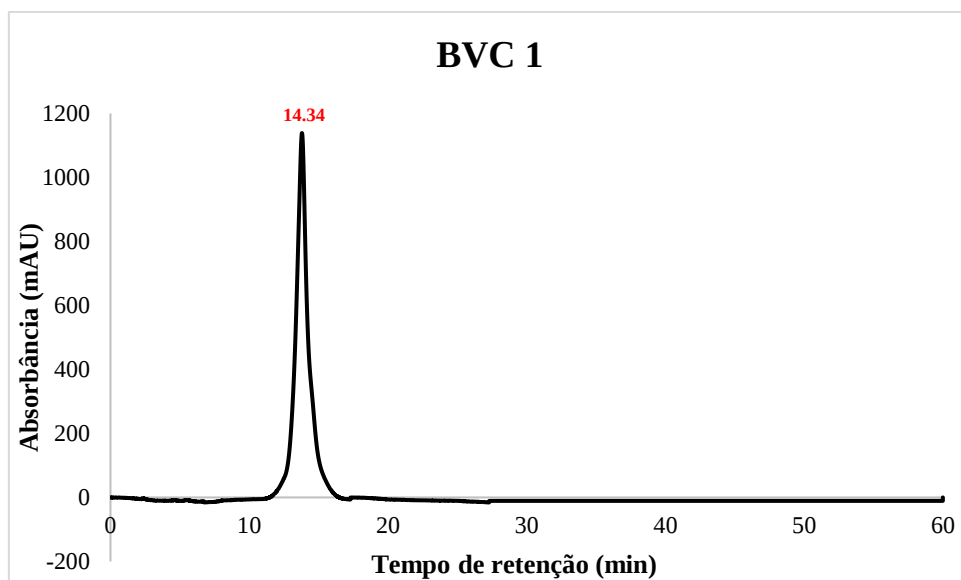


Figura 7. HPLC Cromatograma do composto BVC 1. Metanol:Água (75:25), 254 nm.

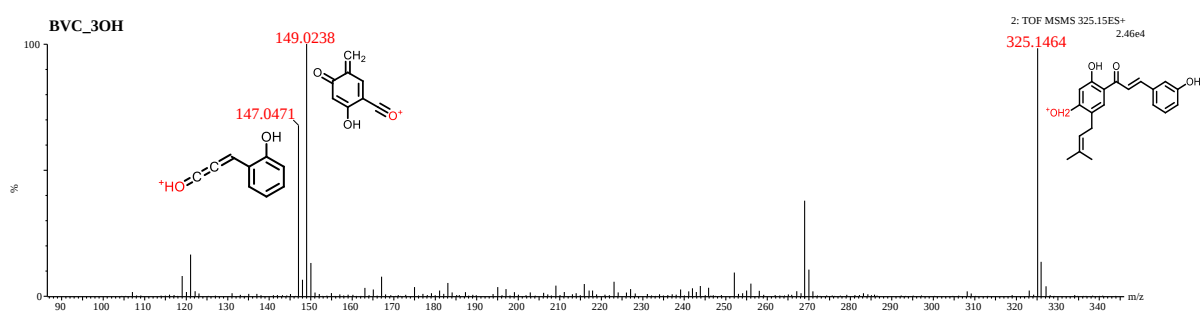
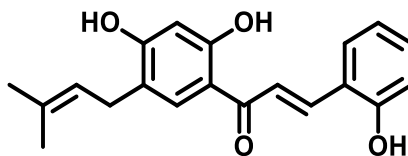


Figura 8. Espectro de massas BVC-1



BVC 2: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 26%. HPLC purity: 97%; m.p. literature: 301-304 °C , m.p. found: 314-320 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.71 (s, H-5''), 1.74 (s, H-4''), 3.31 (d, J = 7.2 Hz, H-1''), 5.31 (t, J = 7.2 Hz, H-2''), 6.62 (s, H-3'), 6.93 (ddd, J = 0.9, 7.1 and 7.8 Hz, H-5), 7.02 (dd, J = 0.9 and 8.2 Hz, H-3), 7.29 (ddd, J = 1.5, 7.1 and 8.2 Hz, H-4), 7.77 (dd, J = 1.5 and 7.8 Hz, H-6), 7.94 (s, H-6'), 7.99 (d, J = 15.6 Hz, H- α), 8.24 (d, J = 15.6 Hz, H- β), 13.4 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.89 (C-5''), 25.87 (C-1''), 29.07 (C-4''), 102.7 (C-3'), 115.0 (C-1'), 117.2 (C-5'), 120.8 (C-3), 121.1 (C-5), 122.7 (C- α), 122.8 (C-1), 123.6 (C-2''), 130.3 (C-6), 131.5 (C-4), 132.8 (C-3''), 132.9 (C-6'), 140.9 (C- β), 158.2 (C-2), 162.3 (C-2'), 165.8 (C-4'), 193.5 (C- β).

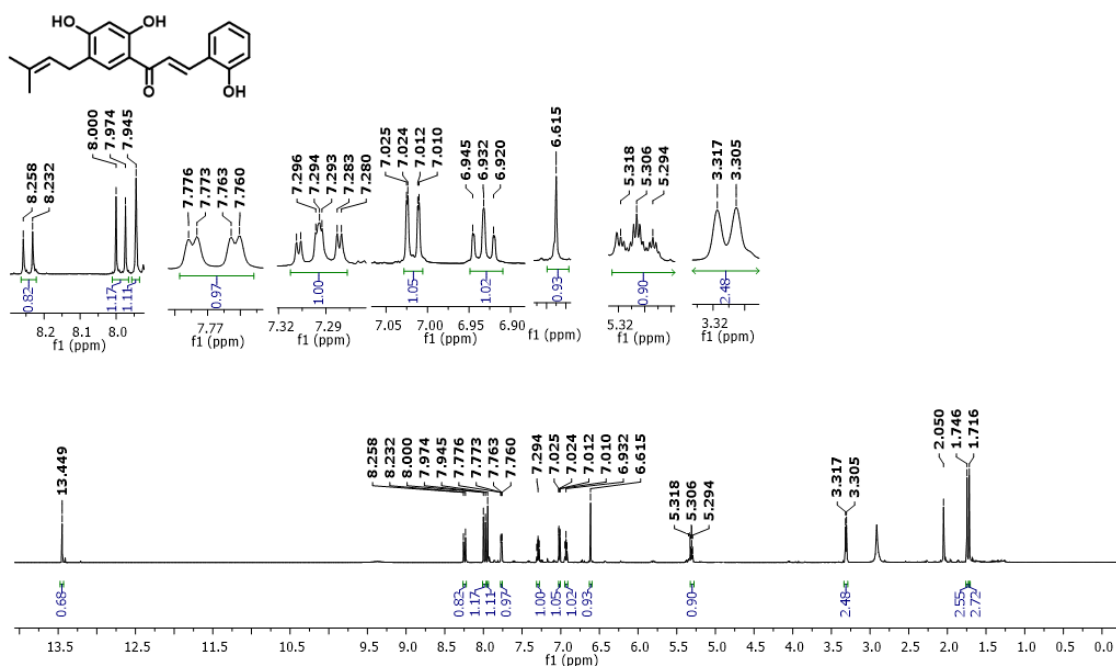


Figura 9. Espectro RMN ^1H de BVC 2 (acetona- d_6 ; 600 MHz)

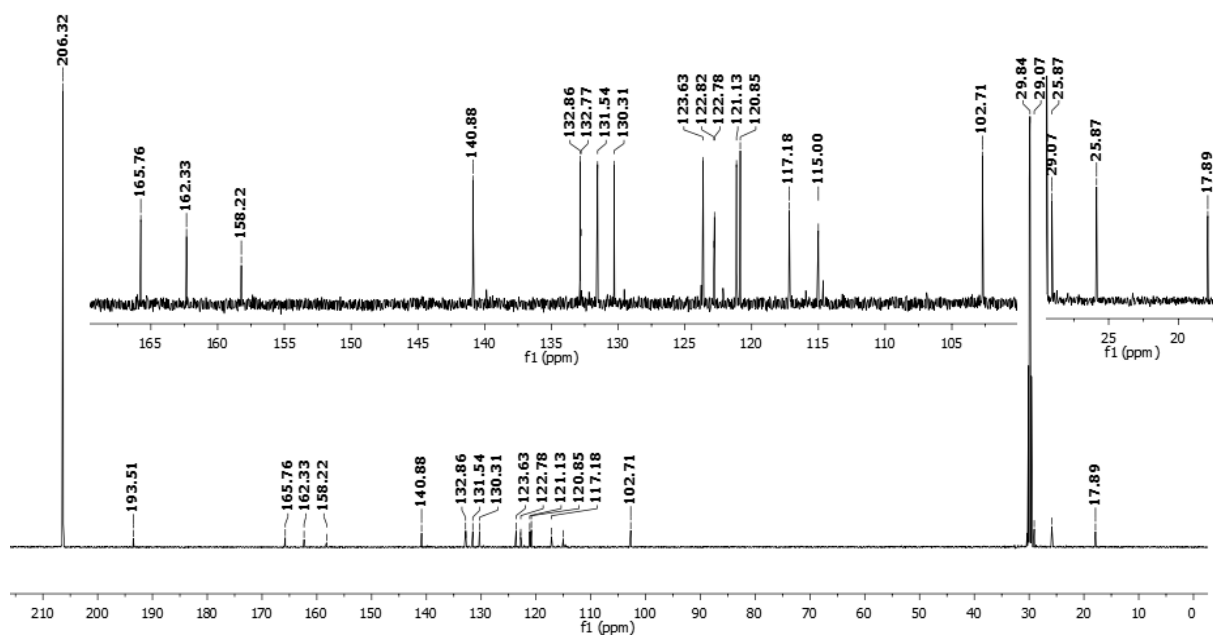


Figura 10. Espectro RMN ^{13}C de BVC 2 (acetona- d_6 ; 150 MHz)

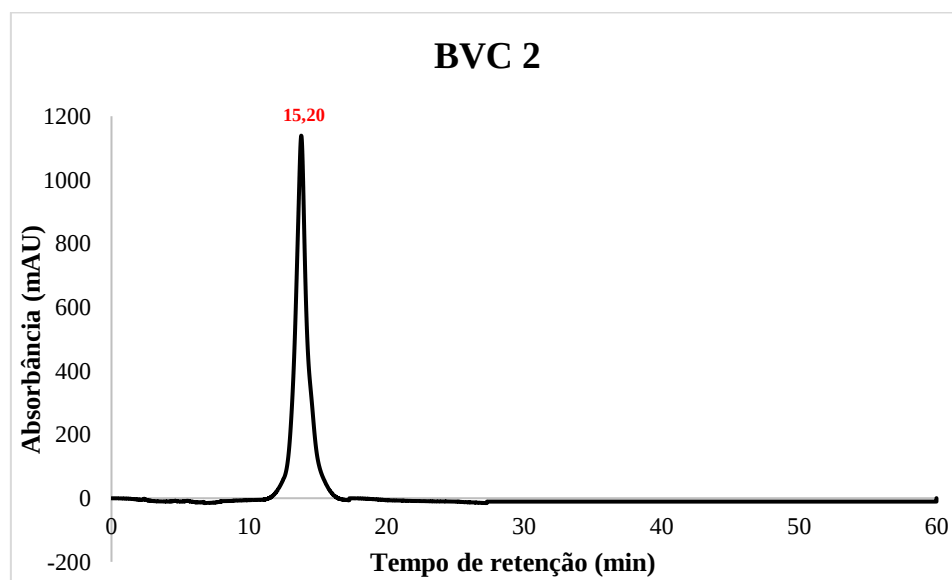


Figura 11. HPLC Cromatograma do composto BVC 2. Metanol:Água (75:25), 254 nm

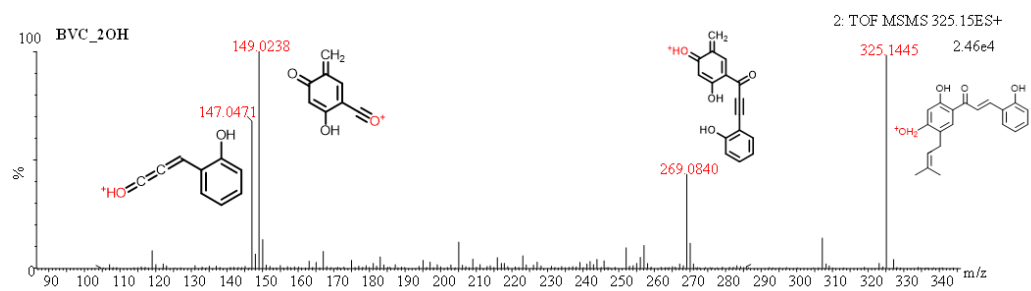
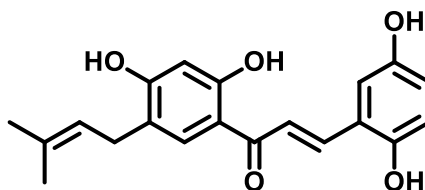


Figura 12. Espectro de massas BVC 2



BVC 3: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2,5-dihydroxyphenyl)prop-2-en-1-one

Orange powder; yield 45%. HPLC purity: 96%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 397-405 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.74 (s, H-5''), 1.74 (s, H-4''), 3.31 (d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 5.3 (t, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 6.43 (s, H-3'), 6.83 (dd, $J = 2.9$ and 8.7 Hz, H-4), 6.87 (d, $J = 8.7$ Hz, H-3), 7.19 (d, $J = 2.9$ Hz, H-6), 7.89 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.90 (s, H-6'), 8.17 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 13.5 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.91 (C-4''), 25.88 (C-1''), 28.60 (C-5''), 103.5 (C-3'), 114.4 (C-1'), 115.3 (C-2), 117.9 (C-5'), 120.2 (C-4), 121.2 (C-3), 121.3 (C- α), 123.3 (C-2''), 123.7 (C-1), 132.1 (C-3''), 132.7 (C-6'), 140.5 (C- β), 151.4 (C-5), 163.5 (C-2), 163.6 (C-2'), 165.9 (C-4'), 193.1 (C- β).

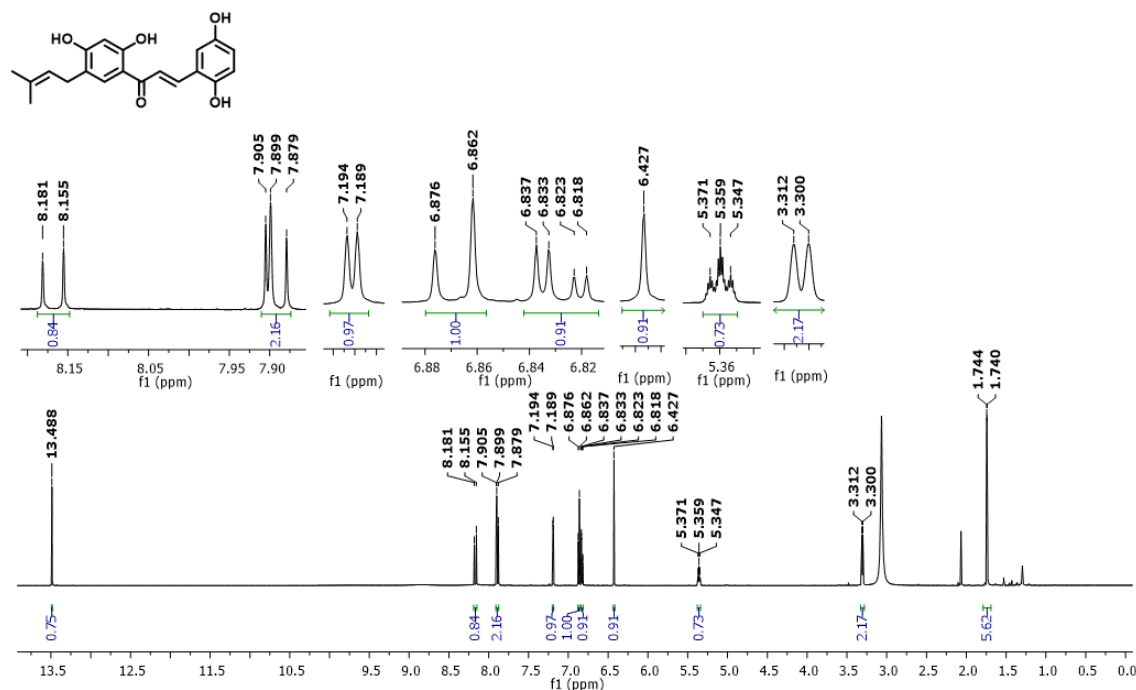


Figura 13. Espectro RMN BVC 3 (acetona- d_6 ; 600 MHz)

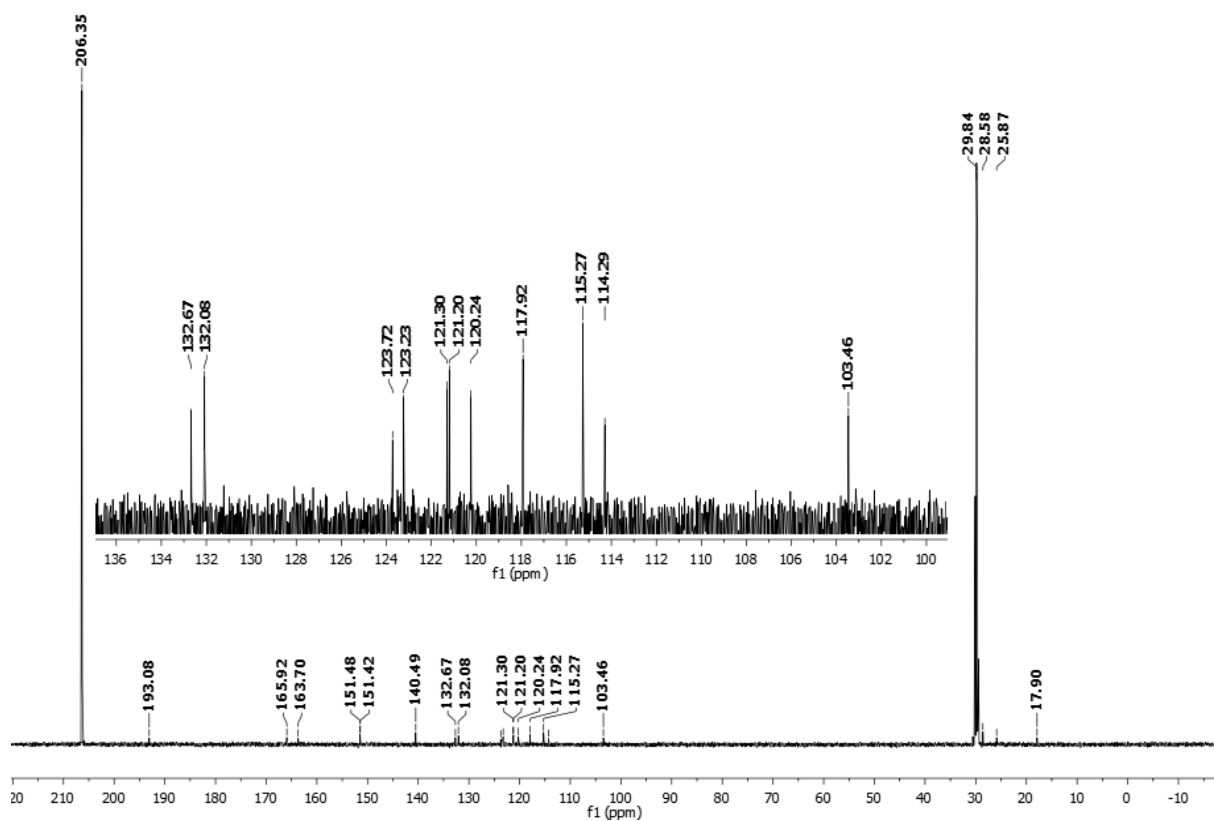


Figura 14. Espectro RMN ¹³C de BVC 3 (acetone-d₆; 150 MHz)

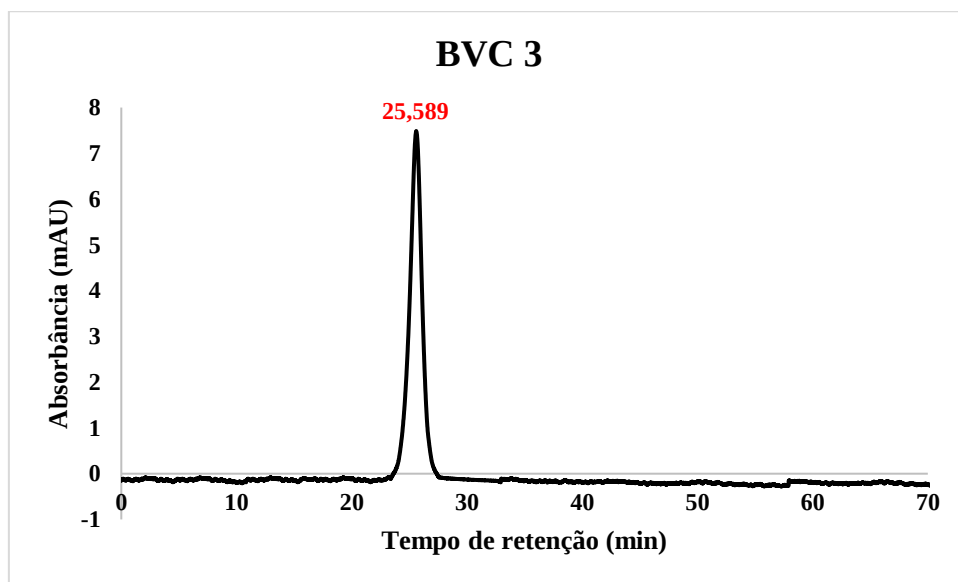


Figura 15. HPLC Cromatograma do composto BVC 3. Metanol:Água (75:25), 254 nm

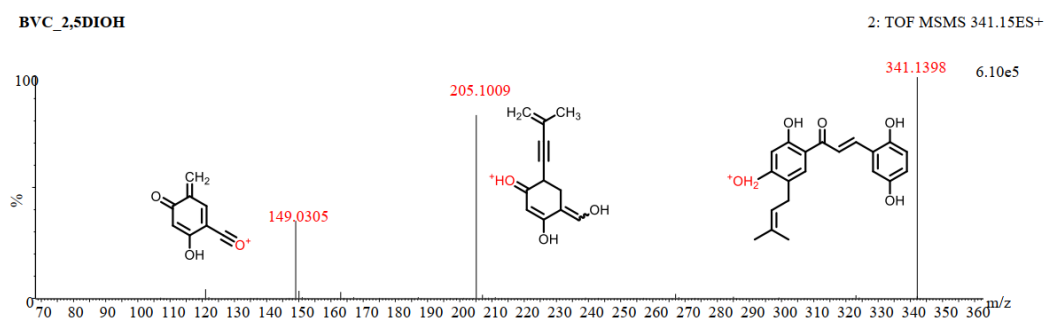
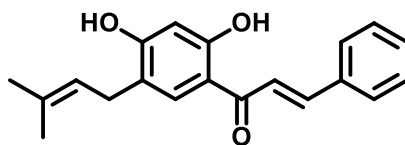


Figura 16. Espectro de massas BVC 3



BVC 4: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-phenylprop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 38%, overall yield: 14 %. HPLC purity: X. m.p found: X.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.64 (s, H-5''), 1.78 (s, H-4''), 3.38 (d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 5.27 (t, $J = 7.3$ Hz, H-2''), 6.55 (d, $J = 8.9$ Hz, H-5'), 7.45–7.49 (m, 3H, H-3–5), 7.86 (dd, $J = 2.0$ and 7.5 Hz, H-2 and H-6), 7.88 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.96 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 8.03 (d, $J = 8.9$ Hz, H-6'), 9.48 (brs, 4'-OH), 13.9 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.98 (C-5''), 22.34 (C-1''), 25.95 (C-4''), 108.3 (C-5'), 114.4 (C-1'), 116.2 (C-3'), 121.9 (C- α), 123.3 (C-2''), 129.7 (C-2 and C-6), 129.9 (C-3 and C-5), 130.6 (C-6'), 131.4 (C-3''), 131.6 (C-4), 136.0 (C-1), 144.6 (C- β), 163.1 (C-2'), 165.3 (C-4'), 193.0 (C- β').

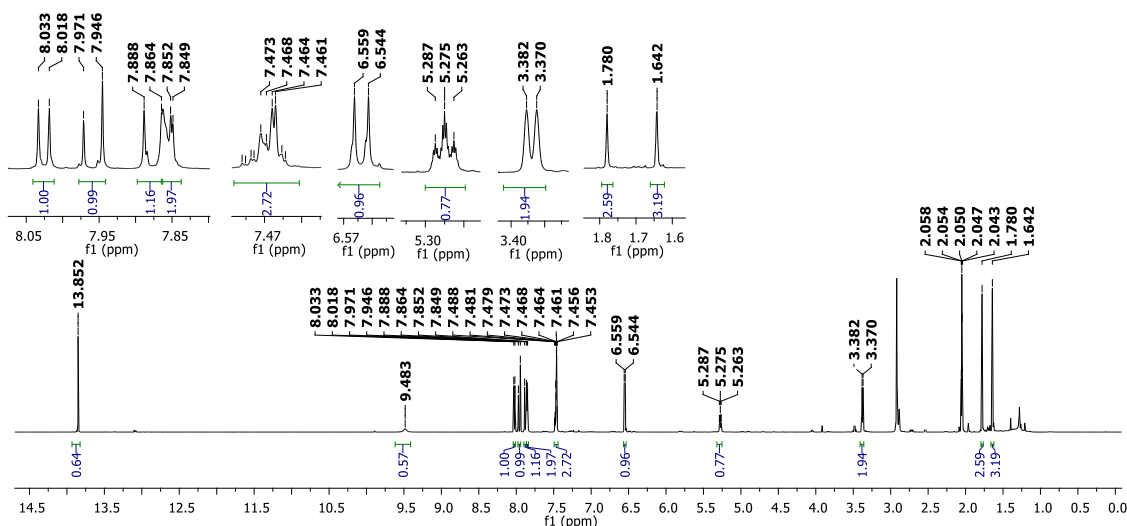


Figura 17. Espectro RMN ^1H de BVC 4 (Acetona- d_6 ; 600MHz)

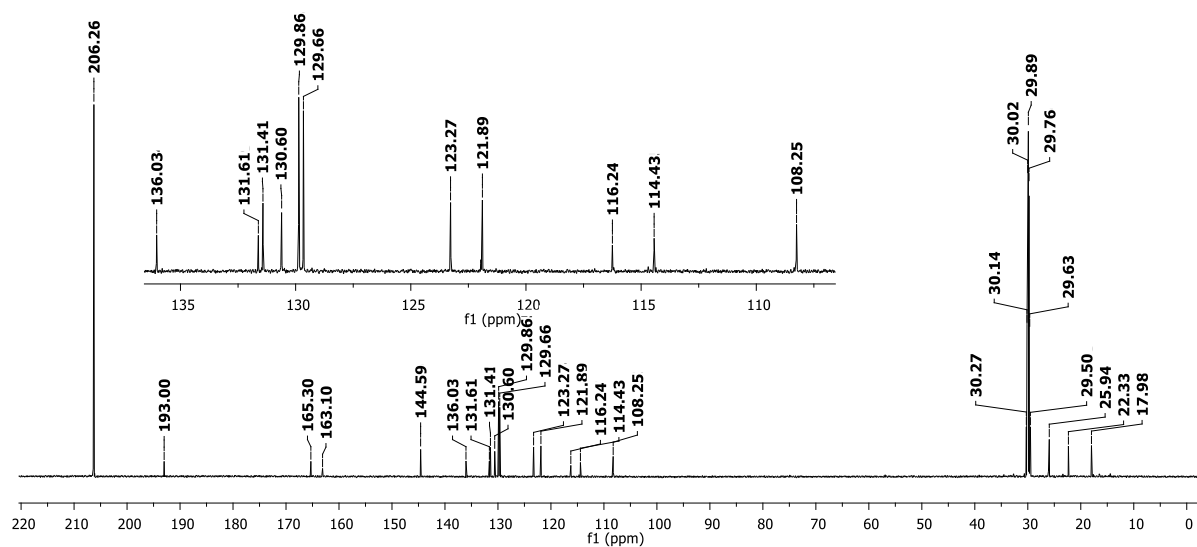


Figura 18. Espectro RMN ^{13}C de BVC 4(Acetona- d_6 ;150 MHz)

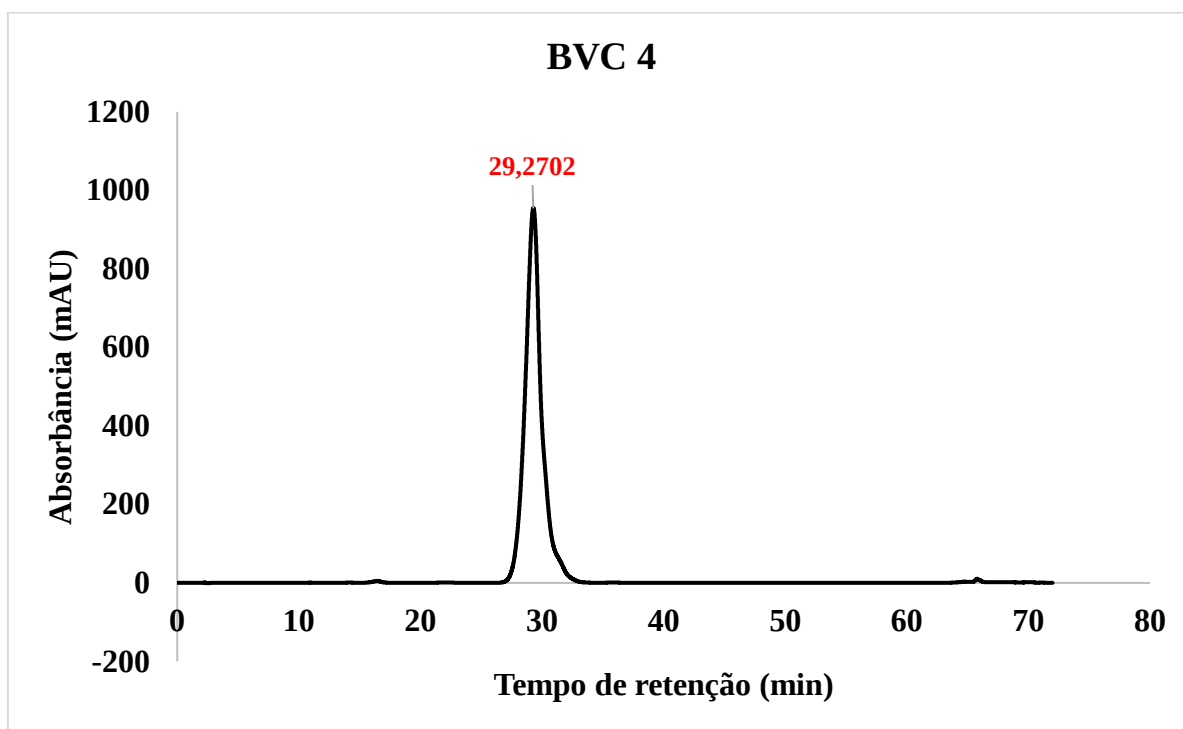
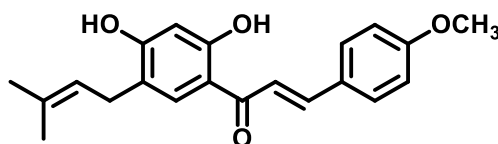


Figura 19. HPLC Cromatograma do composto BVC 4. Metanol:Água (75:25), 254 nm.



BVC 5: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 48%. HPLC purity: 98%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 339-343 °C

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.73 (s, H-5''), 1.75 (s, H-4''), 3.31 (d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 3.89 (s, 4-OCH₃), 5.36 (t, $J = 7.1$ Hz, H-2''), 6.42 (s, H-3'), 7.04 (d, $J = 8.8$ Hz, H-3 and H-5), 7.79 (d, $J = 8.8$ Hz, H-2 and H-6), 7.79 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.85 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 7.99 (s, H-6'), 13.5 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.92 (C-5''), 25.87 (C-1''), 28.80 (C-4''), 55.83 (4-OCH₃), 103.5 (C-3'), 114.3 (C-5'), 114.6 (C-1'), 115.3 (C-3 and C-5), 119.2 (C- α), 123.9 (C-2''), 128.6 (C-1), 131.4 (C-2 and C-6), 132.3 (C-6'), 132.3 (C-3''), 144.5 (C- α), 162.8 (C-4), 162.8 (C-2), 165.9 (C-4'), 192.7 (C- β).

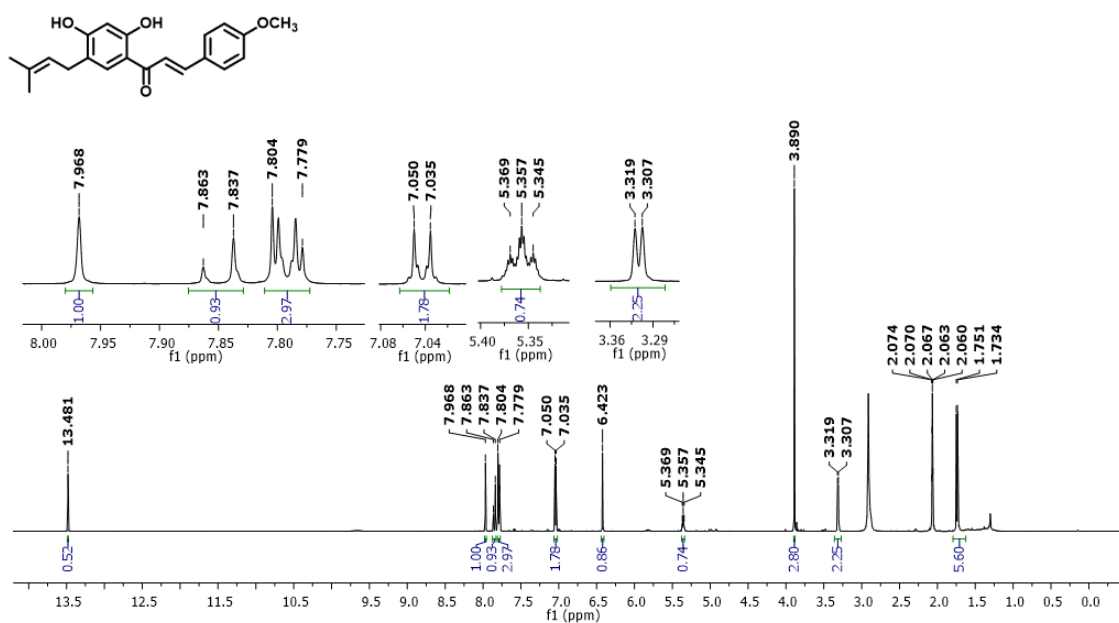


Figura 20. Espectro RMN ^1H de BVC 5 (acetona- d_6 ; 600 MHz)

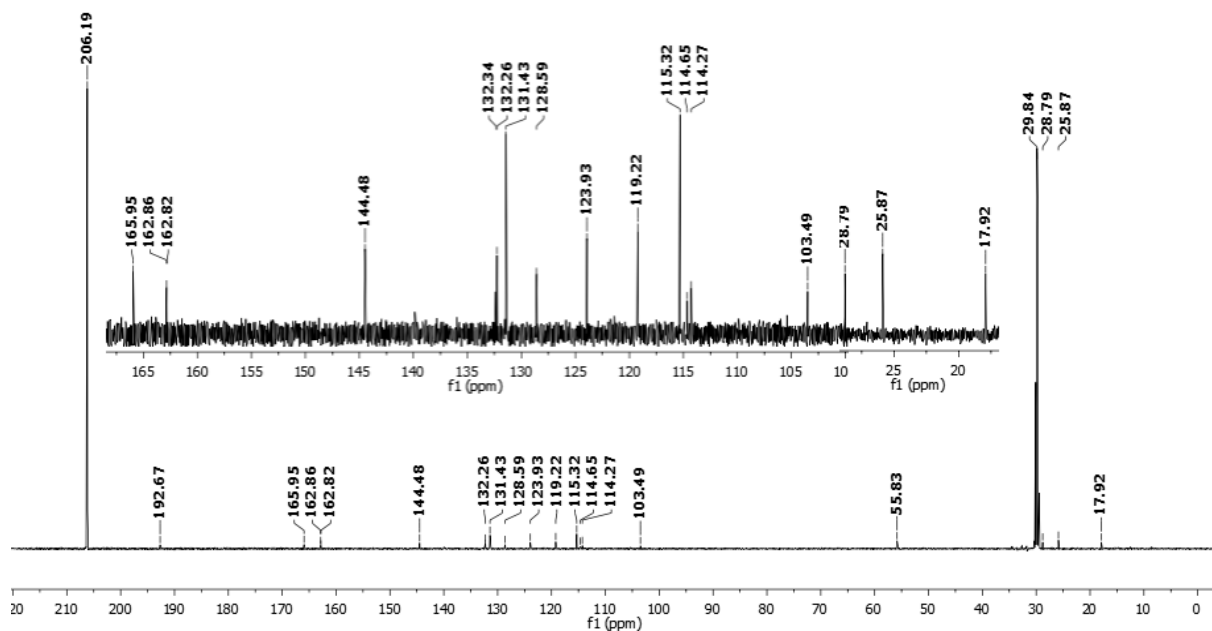


Figura 21. Espectro RMN 13C de BVC 5 (acetona-d₆; 150 MHz)

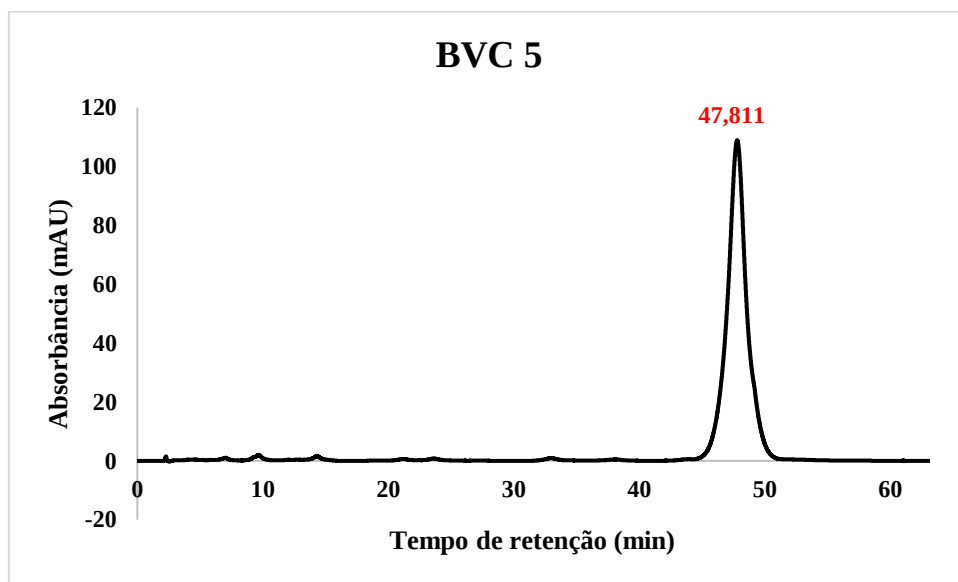


Figura 22. HPLC Cromatograma do composto BVC 5. Metanol:Água (75:25), 254 nm.

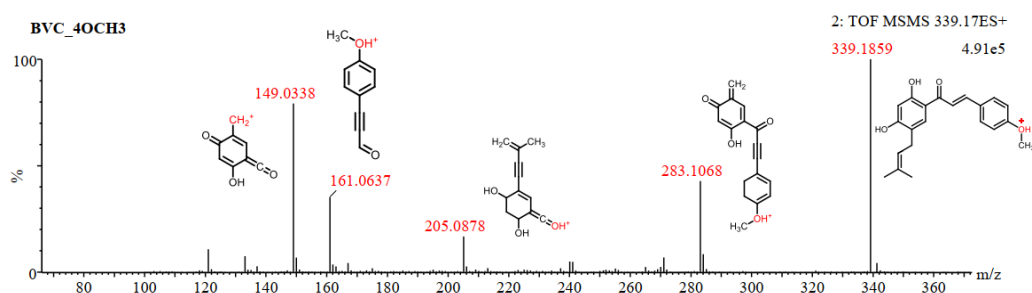
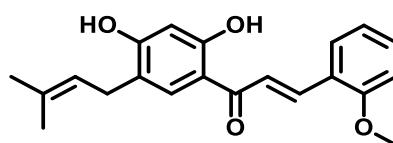


Figura 23. Espectro de Massas BVC 5.



BVC 6: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(2-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 48%. HPLC purity: 99%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 339-343 °C

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.73 (s, H-5''), 1.73 (s, H-4''), 3.30 (d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 3.97 (s, 2-OCH₃), 5.36 (t, $J = 7.3$ Hz, H-2''), 6.42 (s, H-3'), 7.02 (ddd, $J = 1.0$, 7.7 and 7.34 Hz, H-5), 7.12 (dd, $J = 1.0$ and 8.34 Hz, H-3), 7.44 (ddd, $J = 1.3$, 7.34 and 8.34, H-4), 7.81 (dd, $J = 1.3$ and 7.7 Hz, H-6), 7.92 (d, $J = 15.6$ Hz, H- α), 8.18 (d, $J = 15.6$ Hz, H- β), 7.90 (s, H-6), 9.65 (sl, 4'-OH), 13.4 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, Acetone): δ 17.89 (C-4''), 25.91 (C-1''), 28.60 (C-5''), 56.13 (4-OCH₃), 103.5 (C-3'), 112.4 (C-3), 114.3 (C-1), 121.4 (C-5'), 121.6 (C-5), 121.9 (C- α), 123.7 (C-2''), 124.5 (C-1), 130.0 (C-6), 132.1 (C-4), 132.6 (C-3''), 132.9 (C-6'), 139.7 (C- β), 159.8 (C-2), 163.7 (C-2'), 166.0 (C-4'), 193.0 (C- β').

20230209_LuisOctavio_1H_MariaBeatriz
 Prof. Luis Octavio, amostra Maria Beatriz, BVC-2OCH3 (10 mg) em Acetone-d6
 25.0 C

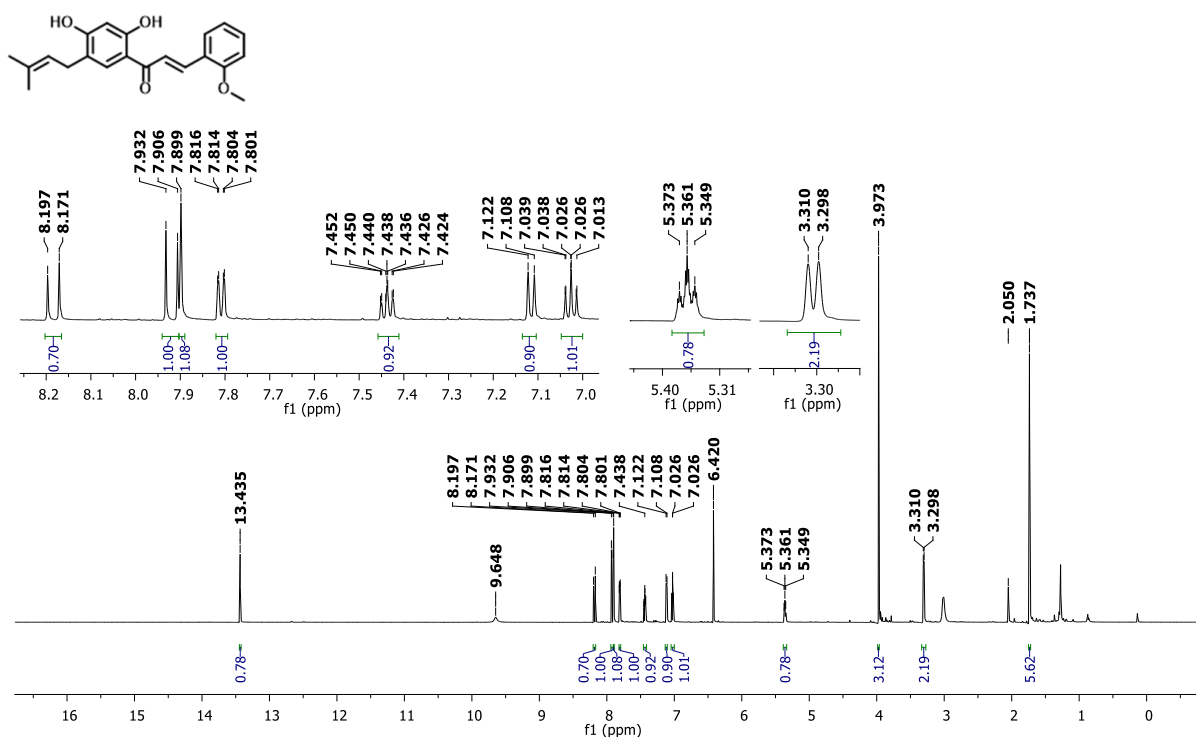


Figura 24. Espectro RMN ¹H de BVC 6 (acetona-d₆; 600 MHz)

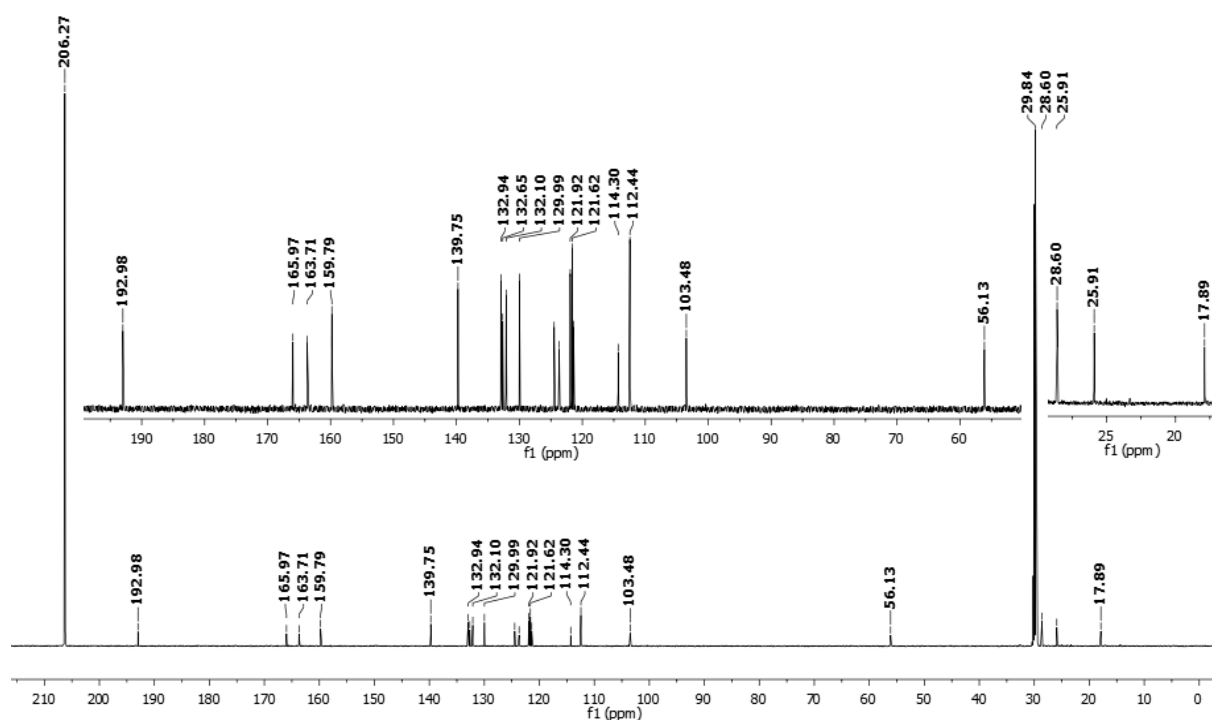


Figura 25. Espectro RMN ¹³C de BVC 6 (acetona-d₆; 150 MHz)

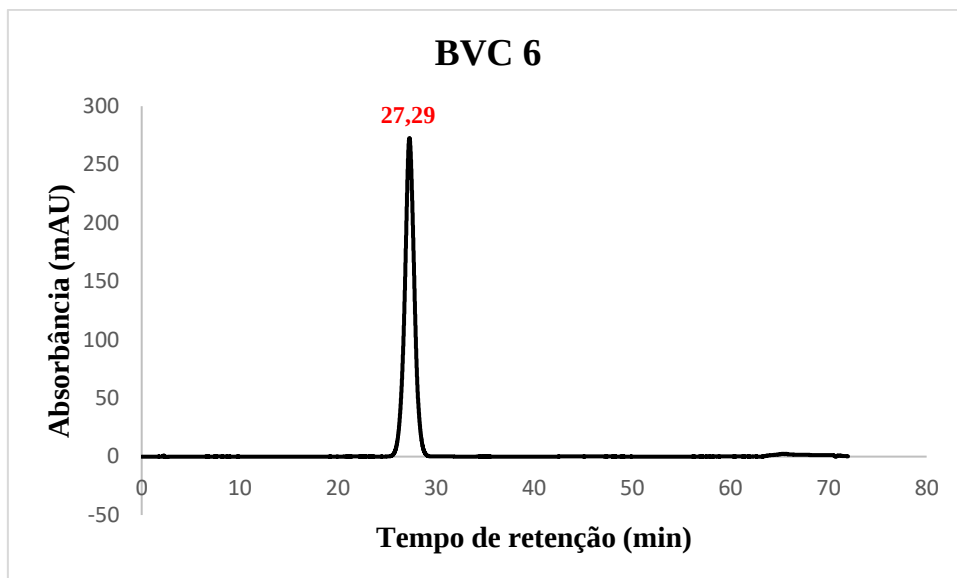


Figura 26. HPLC Cromatograma do composto BVC 6. Metanol:Água (75:25), 254 nm.

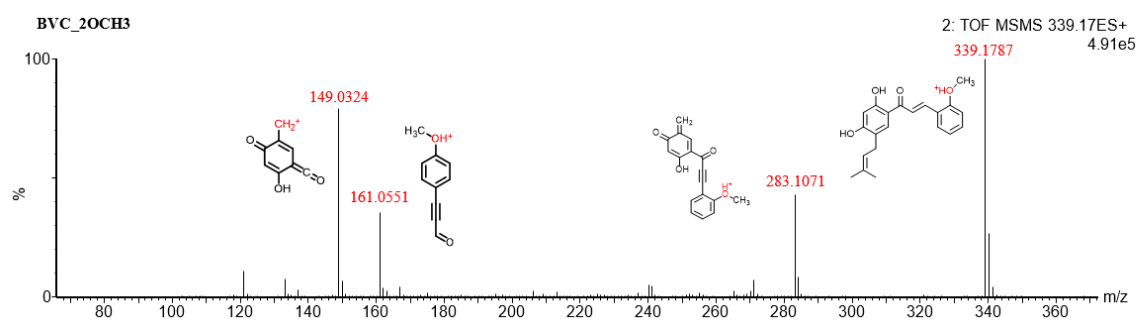
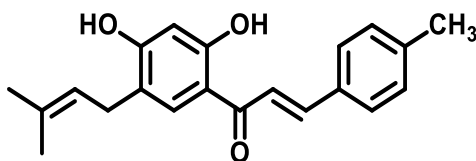


Figura 27. Espectro de massas de BVC 6



BVC 7: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(p-tolyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 51%. HPLC purity: 97%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 259-264 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.71 (s, H-5''), 1.73 (s, H-4''), 2.38 (s, 4-CH₃), 3.30 (d, J = 7.1 Hz, H-1''), 5.34 (t, J = 7.1 Hz, H-2''), 6.41 (s, H-3'), 7.29 (d, J = 7.9 Hz, H-3 and H-5), 7.71 (d, J = 7.9 Hz, H-2 and H-6), 7.83 (d, J = 15.5 Hz, H- α), 7.87 (d, J = 15.5 Hz, H- β), 8.0 (s, H-6'), 9.64 (brs, 4'-OH), 13.4 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.92 (C-5''), 21.47 (4-CH₃), 25.89 (C-1''), 28.78 (C-4''), 103.5 (C-3'), 114.6 (C-1'), 120.8 (C-5'), 121.5 (C-2''), 123.9 (C- α), 129.5 (C-3 and C-5), 130.5 (C-2 and C-6), 132.1 (C-6'), 132.4 (C-1), 133.3 (C-3''), 144.6 (C- β), 163.8 (C-2'), 166.0 (C-4'), 192.7 (C- β').

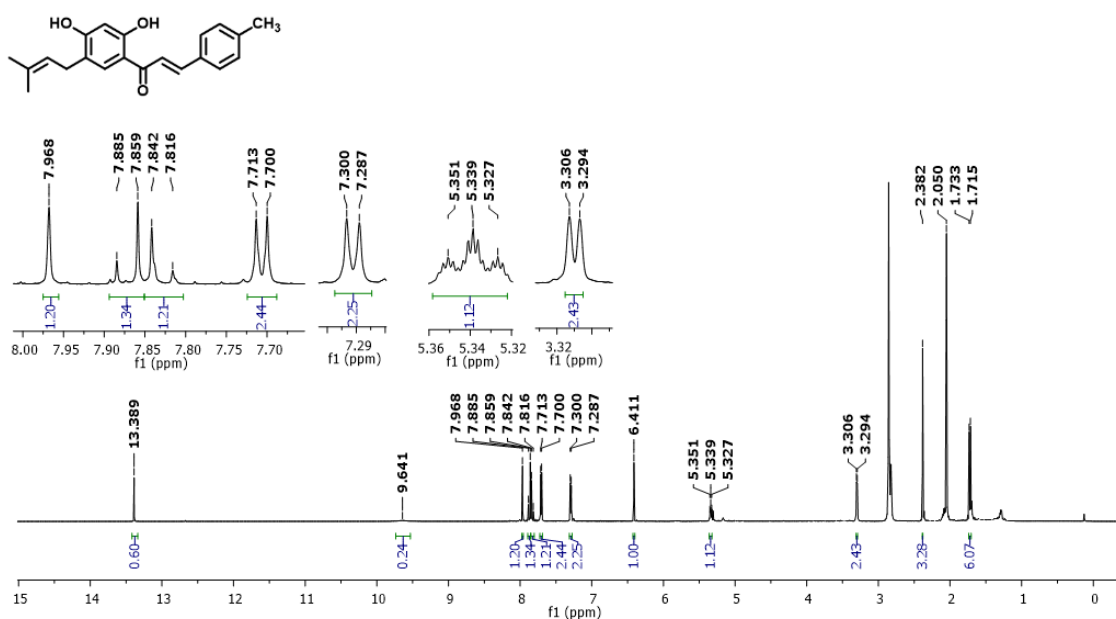


Figura 28. Espectro RMN ^1H de BVC 7 (acetona- d_6 ; 600 MHz)

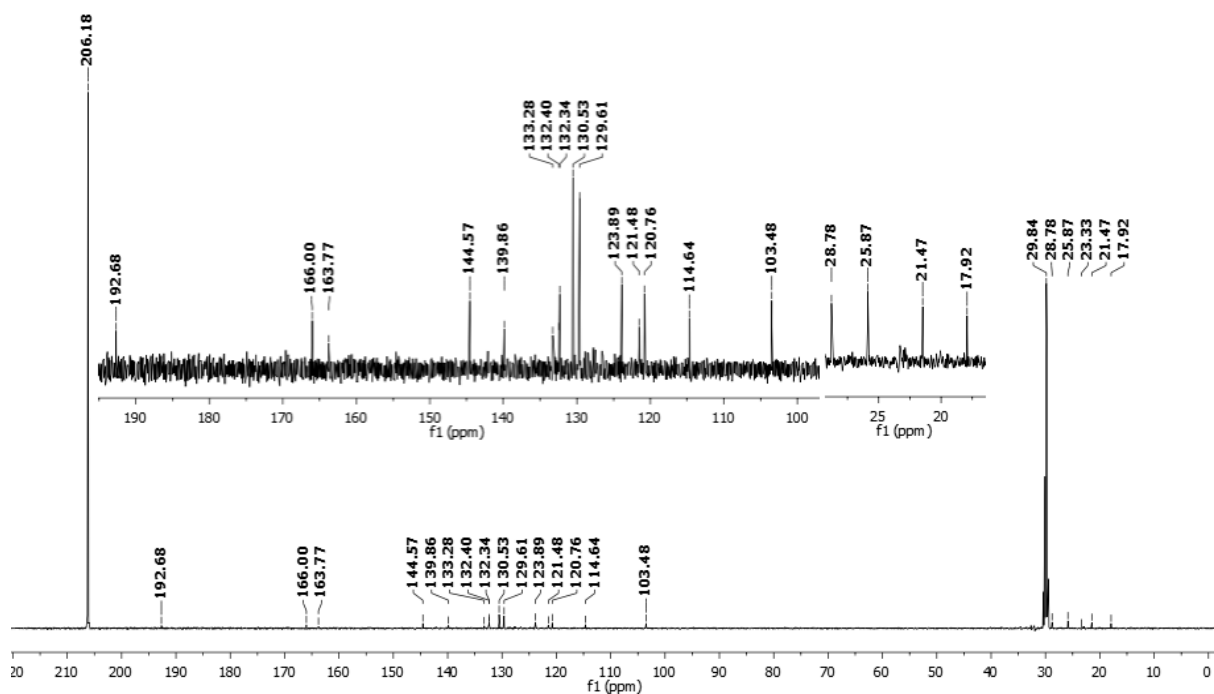


Figura 29. Espectro RMN 13C de BVC 7 (acetona-d₆; 150 MHz)

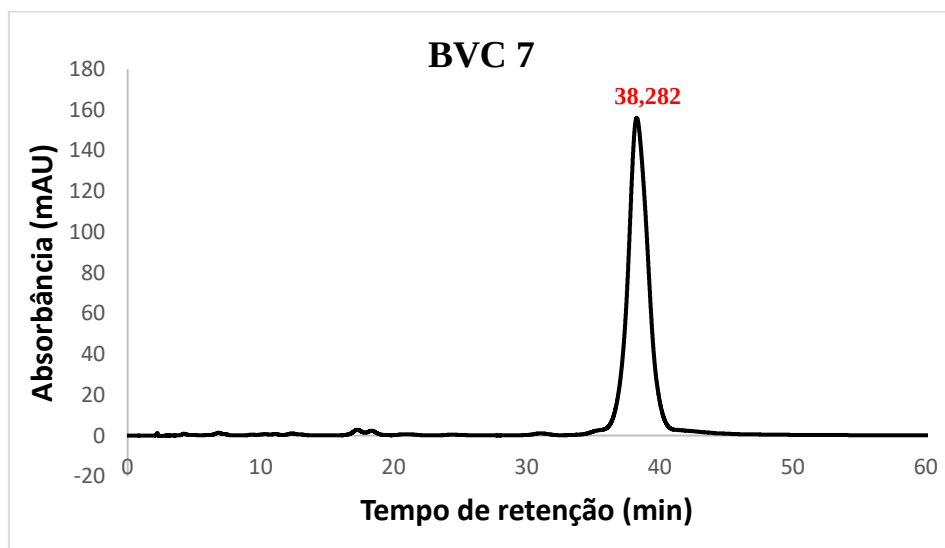


Figura 30. HPLC Cromatograma do composto BVC 7. Metanol:Água (8:2), 254 nm.

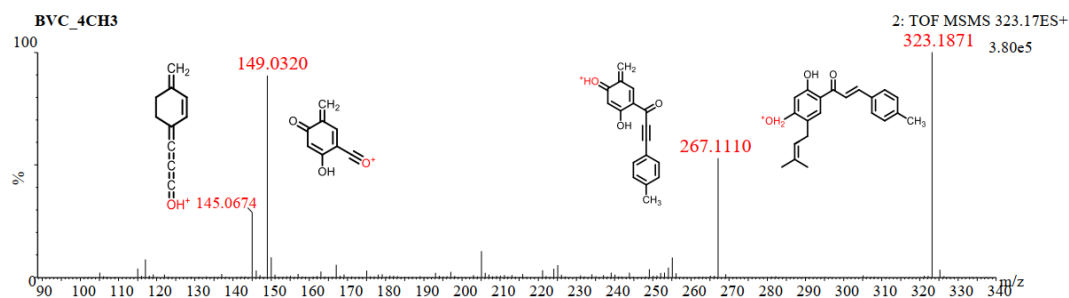
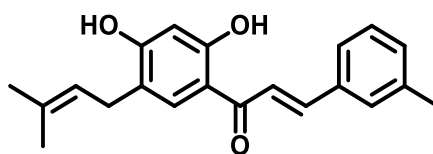


Figura 31. Espectro de Massas BVC 7



BVC 8: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(m-tolyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 78%. HPLC purity: 96%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 259-264 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.72 (s, H-5''), 1.73 (s, H-4''), 3.29 (d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 2.38 (s, 3-CH₃), 5.34 (t, $J = 7.20$ Hz, H-2''), 6.42 (s, H-3'), 7.28 (d, $J = 7.5$ Hz, H-4), 7.35 (dd, $J = 7.6$ and 7.8 Hz, H-5), 7.60 (d, $J = 7.8$ Hz, H-6), 7.62 (s, H-2), 7.81 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.89 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 7.95 (s, H-6), 9.81 (sl, 4'-OH), 13.3 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, Acetone): δ 17.91 (C-4''), 21.28 (4-CH₃), 25.85 (C-1''), 28.76 (C-5''), 103.5 (C-3'), 114.2 (C-1'), 121.5 (C-5'), 121.6 (C- α), 123.8 (C-2''), 126.8 (C-2), 129.8 (C-4), 130.1 (C-6), 132.2 (C-5), 132.4 (C-3''), 132.5 (C-6'), 135.9 (C-1), 139.5 (C-3), 144.6 (C- β), 163.9 (C-2'), 166.0 (C-4'), 192.7 (C- β).

20230209_LuisOctavio_1H_MariaBeatriz
 Prof. Luis Octavio, amostra Maria Beatriz, BVC-3CH3 (5 mg) em Acetona-d6
 25.0 C

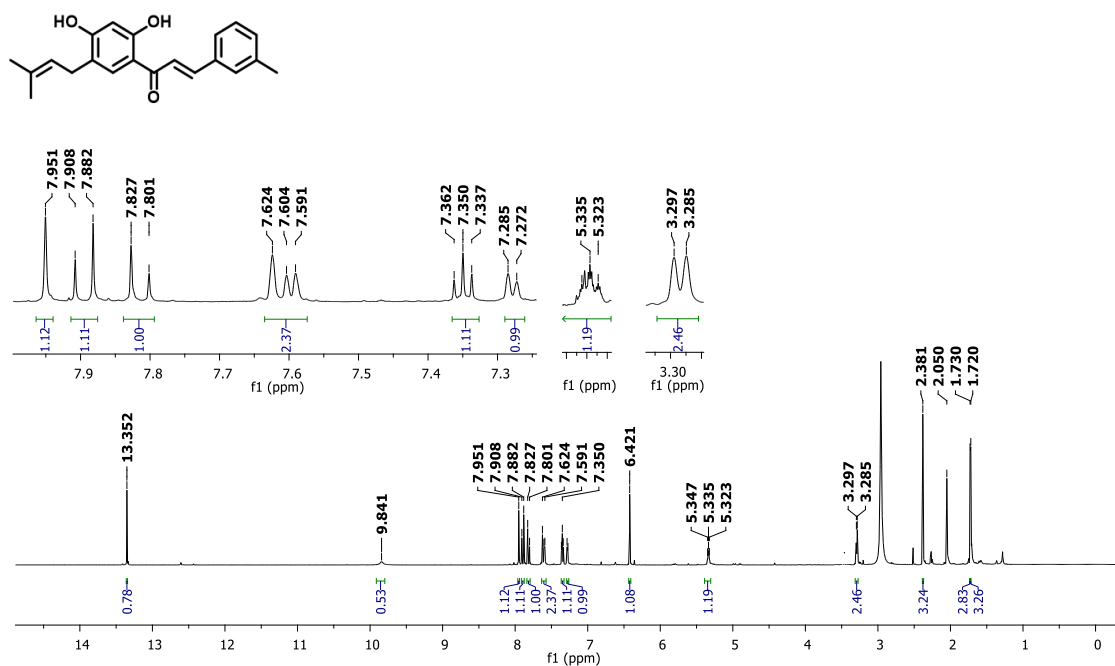


Figura 32. Espectro RMN ¹H de BVC 8 (acetona-d₆; 600 MHz)

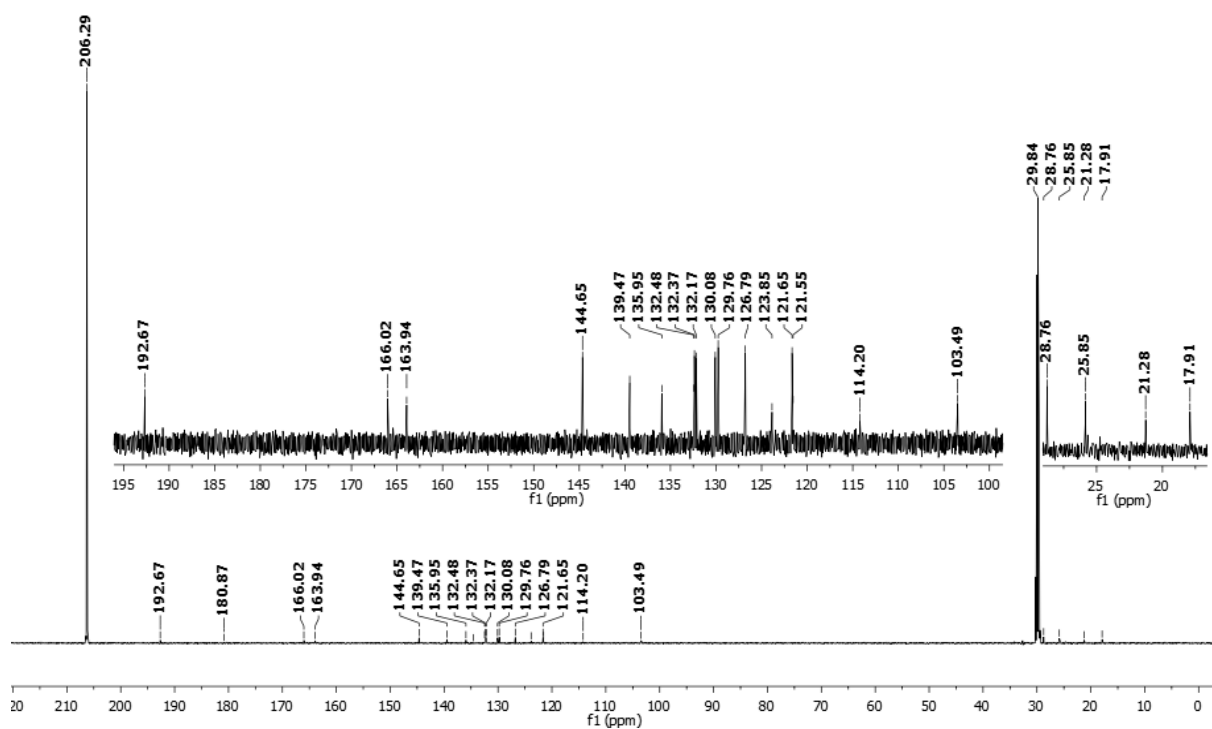


Figura 33. Espectro RMN ¹³C de BVC 8 (acetona-d₆; 150 MHz)

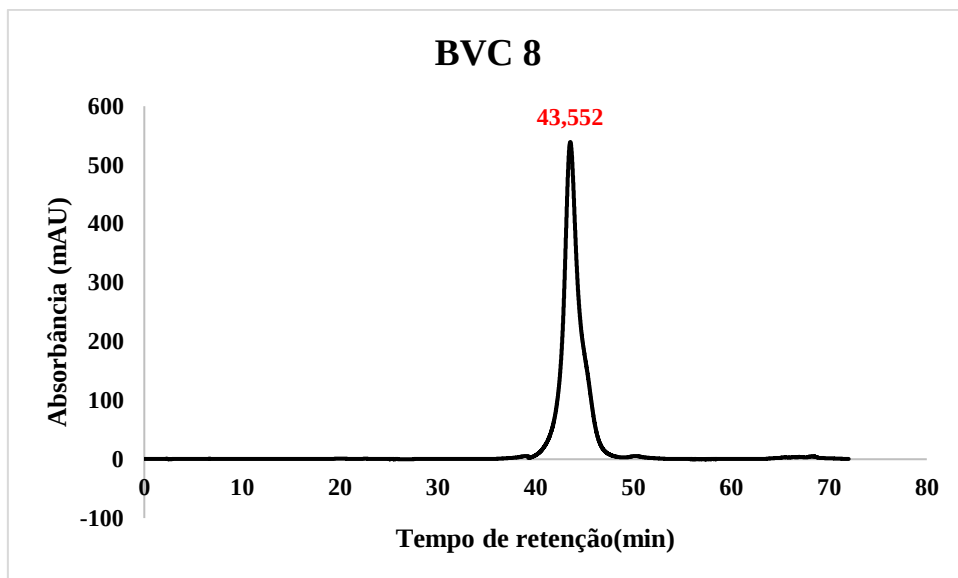


Figura 34.HPLC Cromatograma do composto BVC 8. Metanol:Água (8:2), 254 nm.

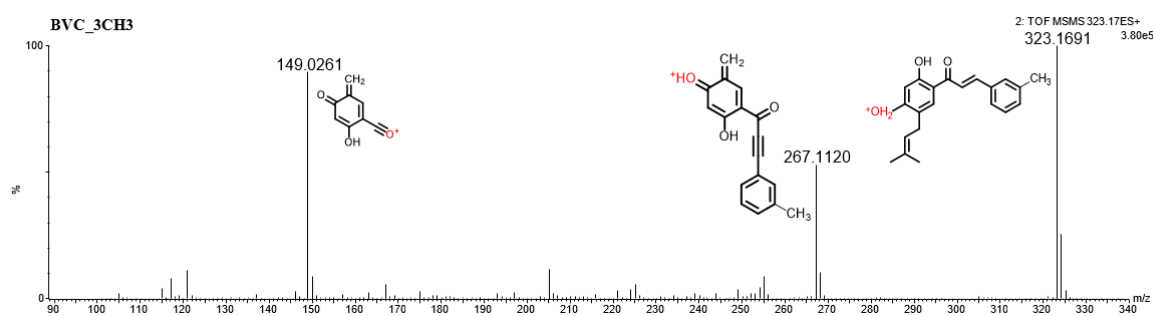
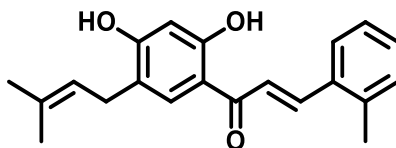


Figura 35. Espectro de massas BVC 8



BVC 9: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(o-tolyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 45%. HPLC purity: 99%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 259-264 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.71 (s, H-5''), 1.72 (s, H-4''), 3.30 (d, $J = 7.3$ Hz, H-1''), 2.49 (s, 2-CH $_3$), 5.34 (t, $J = 7.3$ Hz, H-2''), 6.43 (s, H-3'), 7.28–7.31 (m, H-3), 7.28–7.31 (m, H-5), 7.34–7.37 (m, H-4), 7.85 (d, $J = 7.8$, H-6), 7.78 (d, $J = 15.3$ Hz, H- α), 8.15 (d, $J = 15.3$ Hz, H- β), 7.96 (s, H-6), 9.81 (sl, 4'-OH), 13.3 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, Acetone): δ 17.88 (C-4''), 19.80 (4-CH $_3$), 25.85 (C-1''), 28.70 (C-5''), 103.5 (C-3'), 114.1 (C-1'), 121.6 (C-5'), 122.8 (C- α), 123.8 (C-2''), 127.3 (C-5), 127.6 (C-6), 131.1 (C-4), 131.7 (C-3), 132.3 (C-3''), 132.5 (C-6'), 134.7 (C-1), 139.0 (C-2), 141.8 (C- β), 164.0 (C-2'), 166.0 (C-4'), 192.6 (C- β').

20230209_LuisOctavio_1H_MariaBeatriz
Prof. Luis Octavio, amostra Maria Beatriz, BVC-2CH3 (5 mg) em Acetone- d_6
25.0 C

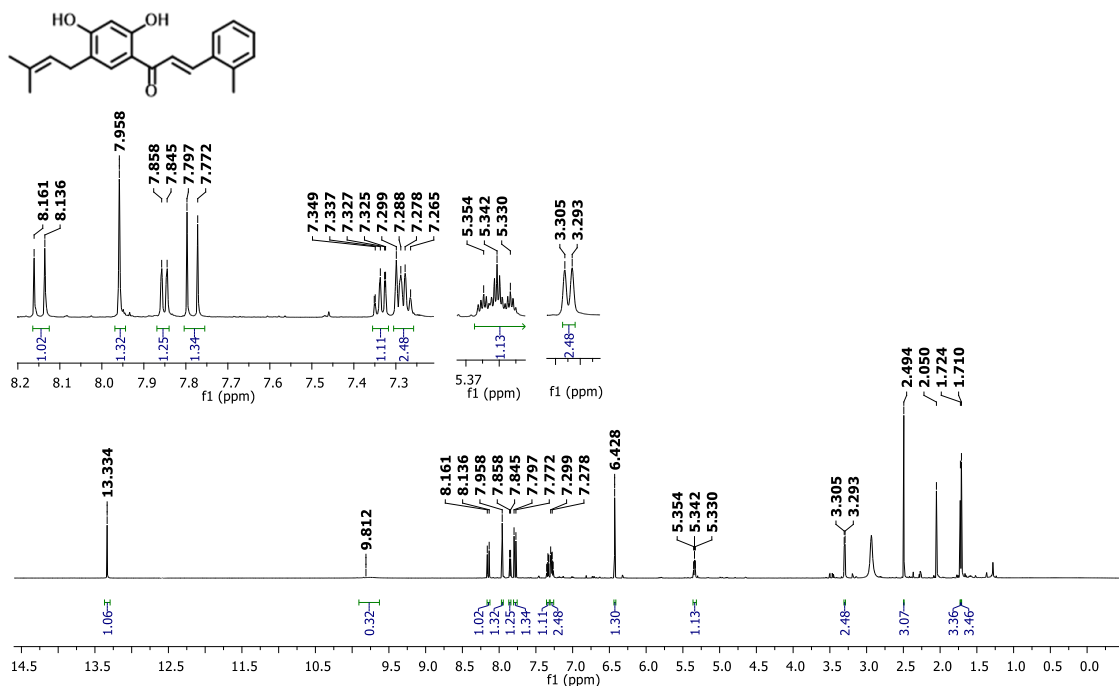


Figura 36. Espectro RMN ^1H de BVC 9 (acetona- d_6 ; 600 MHz)

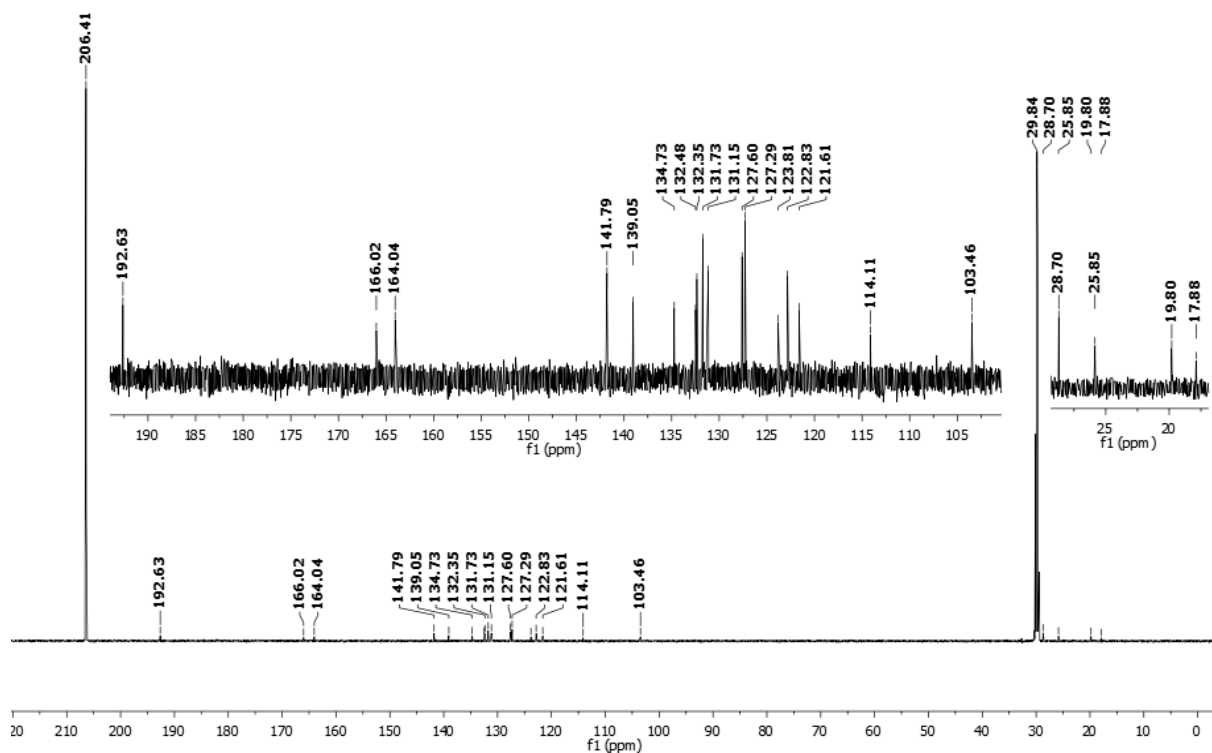


Figura 37. Espectro RMN ¹³C de BVC 9 (acetona-d₆; 150 MHz)

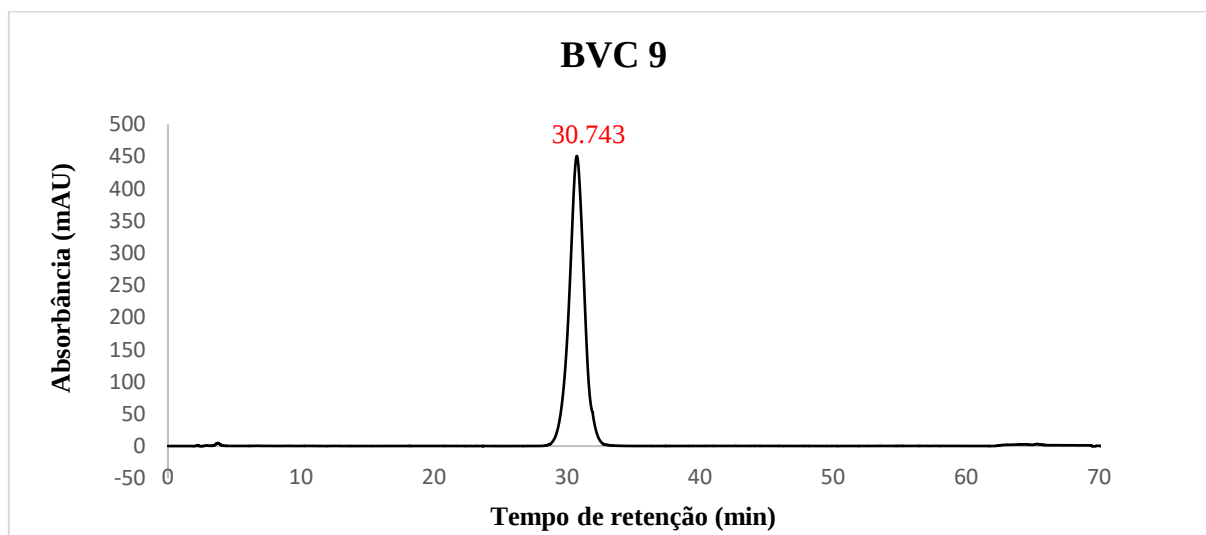


Figura 38. HPLC Cromatograma do composto BVC 9. Metanol:Água (8:2), 254 nm.

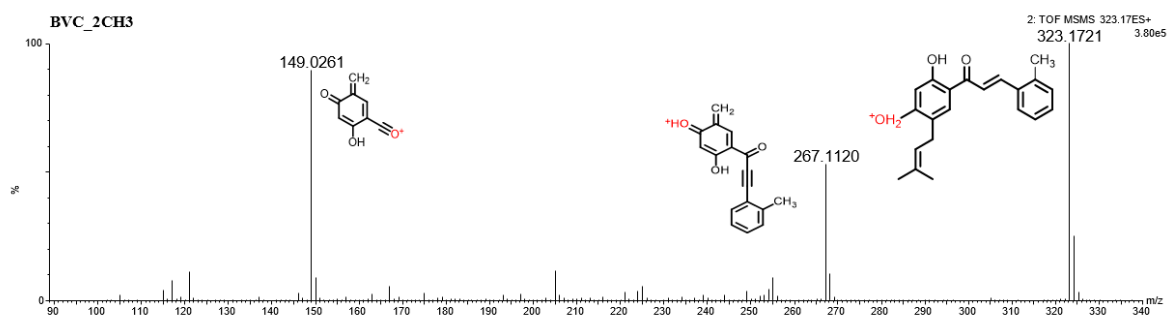
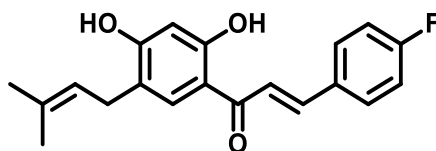


Figura 39. Espectro de massas de BVC 9



BVC 10: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-fluorophenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 26%. HPLC purity: 99%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 269-272 °C. ^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.70 (s, H-5''), 1.75 (s, H-4''), 3.31 (d, $J = 7.2$ Hz, H-1''), 5.29 (t, $J = 7.2$ Hz, H-2''), 6.62 (s, H-3'), 7.25 (dd, $J = 8.8$ and 8.8 Hz, H-3 and H-5), 7.86 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.90 (dd, $J = 5.5$ and 8.8 Hz, H-2 and H-6), 7.92 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 8.03 (s, H-6'), 13.3 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 18.12 (C-5''), 25.96 (C-1''), 29.84 (C-4''), 104.2 (C-3'), 114.4 (C-1'), 116.3 (d, $J = 22$ Hz, C-3 and C-5), 119.1 (C-5'), 120.3 (C- α), 121.8 (C-2''), 130.6 (d, $J = 8.6$ Hz, C-2 and C-6), 131.3 (C-6'), 135.4 (C-3''), 135.6 (C-1), 143.1 (C- β), 162.0 (C-2'), 164.3 (d, $J = 252$ Hz, C-4), 165.1 (C-4'), 191.7 (C- β').

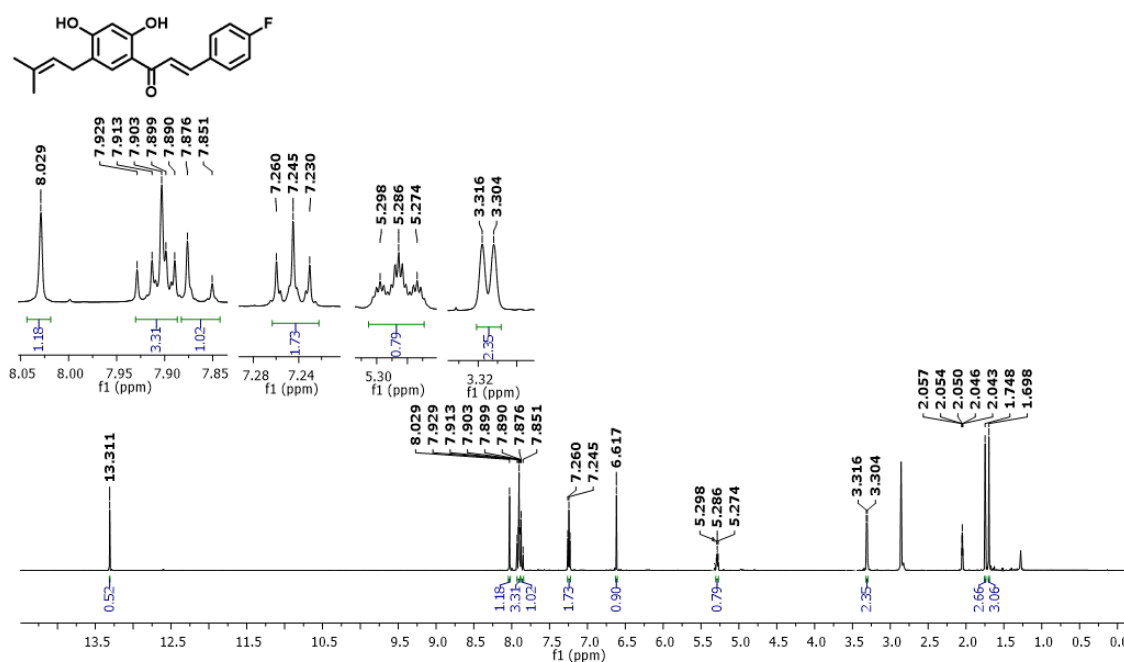


Figura 40. Espectro RMN ^1H de BVC 10 (CDCl_3 , 600 MHz)

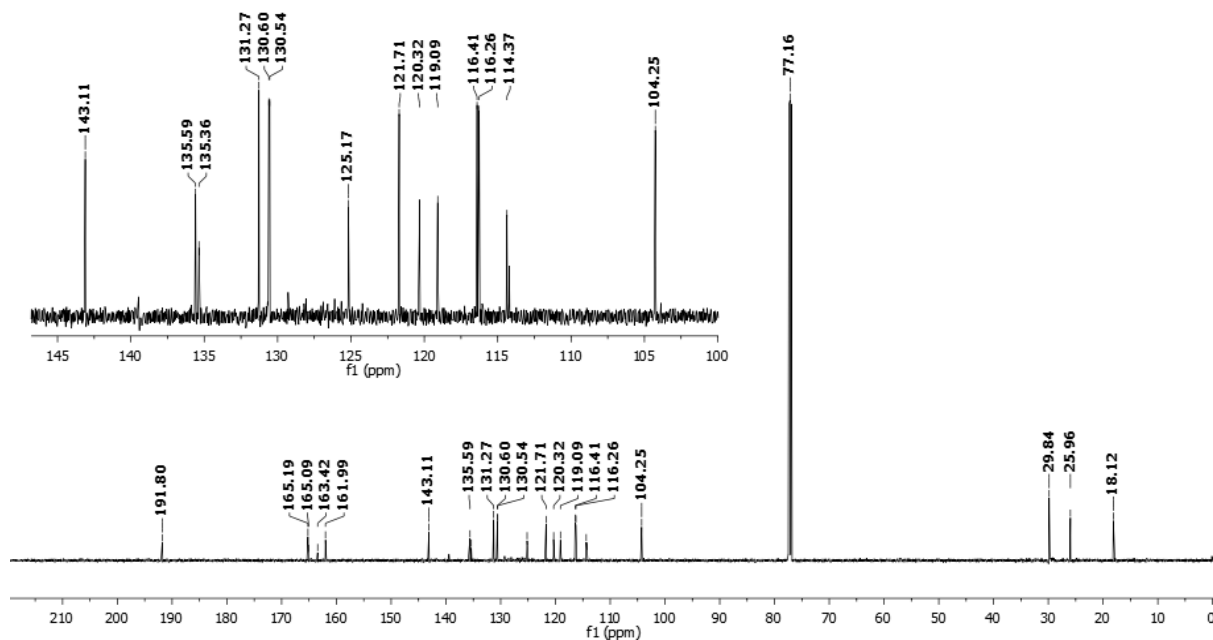


Figura 41. Espectro RMN ¹³C de BVC 10 (CDCl₃, 150 MHz)

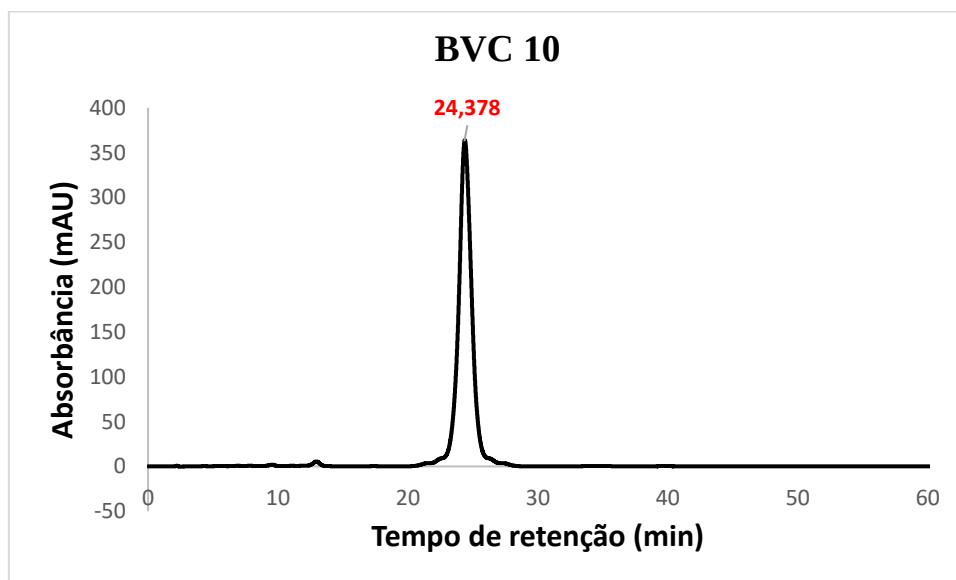


Figura 42. HPLC Cromatograma do composto BVC 10. Metanol:Água (80:20), 254 nm.

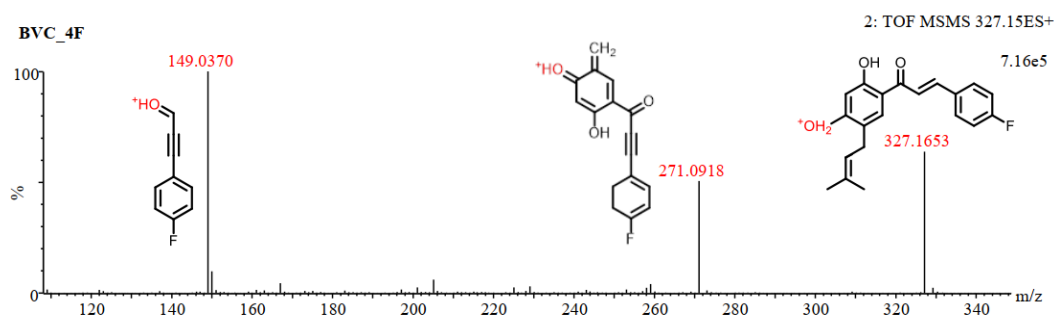
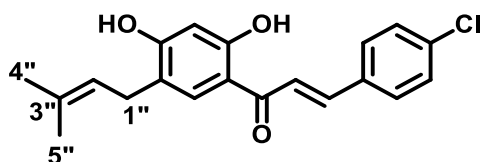


Figura 43. Espectro de Massas BVC 10.



BVC 11: (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 33%. HPLC purity: 97 %; literature: 278,8-280,0 m.p: 298-303°C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.70 (s, H-5''), 1.74 (s, H-4''), 3.31 (d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 5.28 (t, $J = 7.1$ Hz, H-2''), 6.16 (s, H-3'), 7.50 (d, $J = 8.3$ Hz, H-2 and H-6), 7.84 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.84 (d, $J = 8.3$ Hz, H-3 and H-5), 7.97 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 8.0 (s, H-6'), 13.3 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 18.11 (C-5''), 25.95 (C-1''), 29.84 (C-4''), 104.2 (C-3'), 114.3 (C-1'), 119.3 (C-5'), 121.7 (C-2''), 121.1 (C- α), 129.4 (C-3 and C-5), 129.8 (C-2 and C-6), 131.2 (C-6'), 133.5 (C-3''), 135.5 (C-1), 136.6 (C-4), 142.9 (C- β), 162.1 (C-2'), 165.2 (C-4'), 191.7 (C- β).

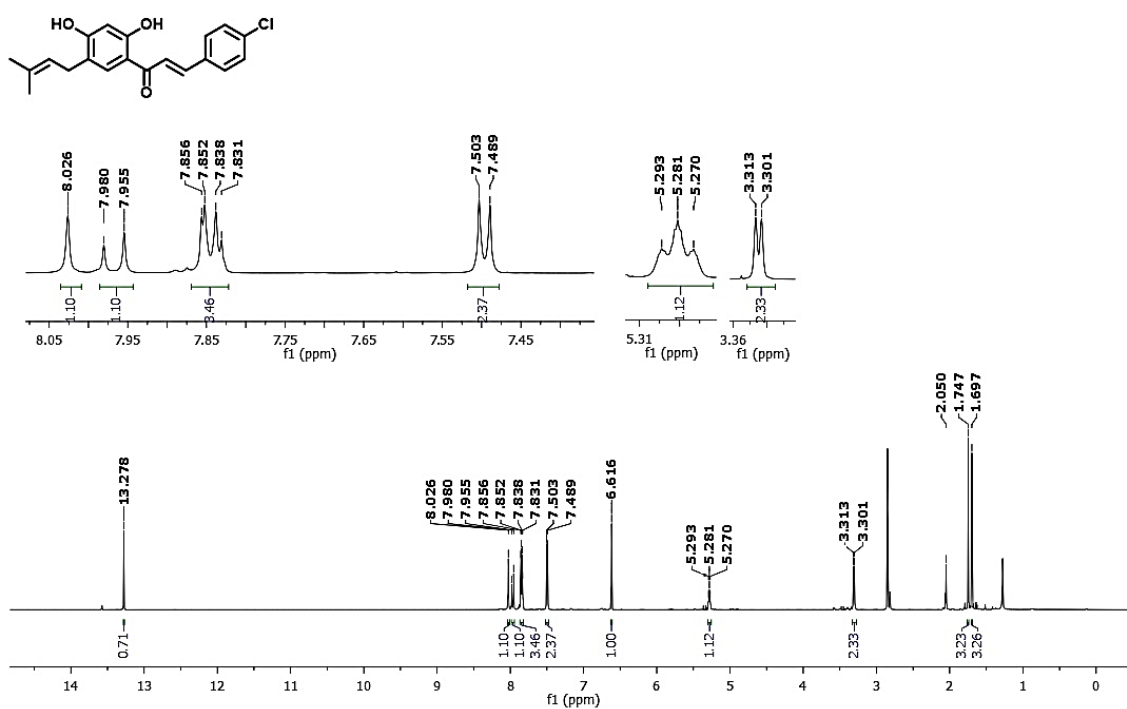


Figura 44. Espectro RMN ¹H de BVC 11 (acetona-d₆; 600 MHz)

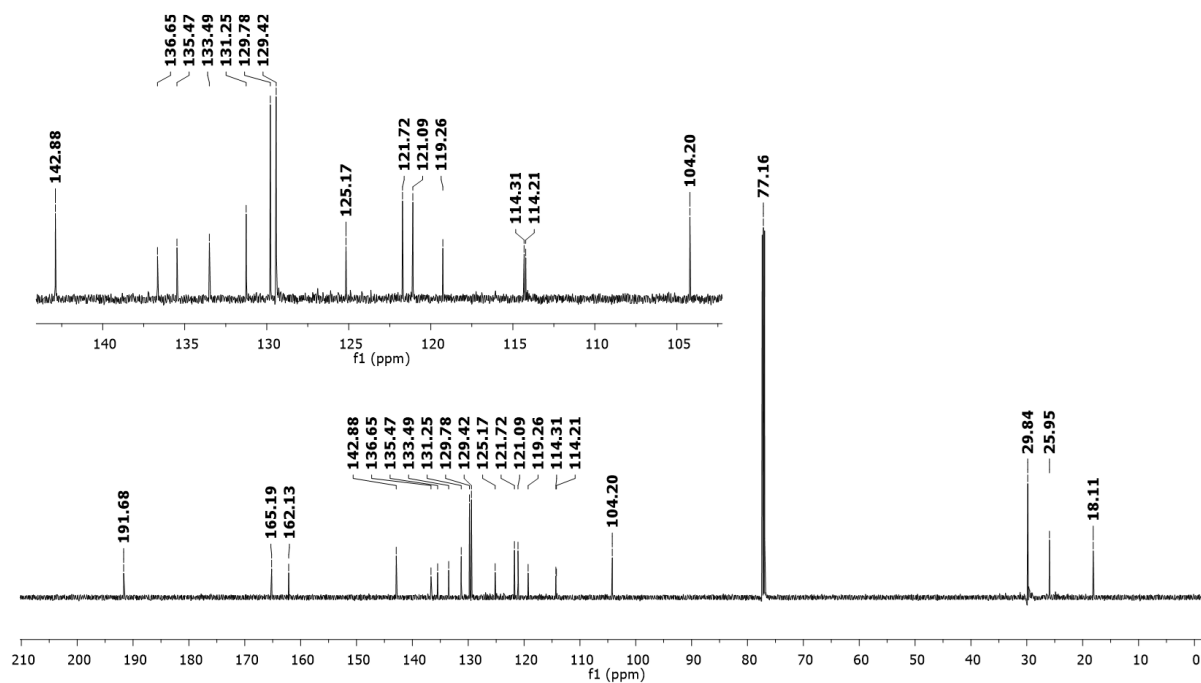


Figura 45. Espectro RMN ¹³C de BVC 11 (CDCl₃; 150 MHz)

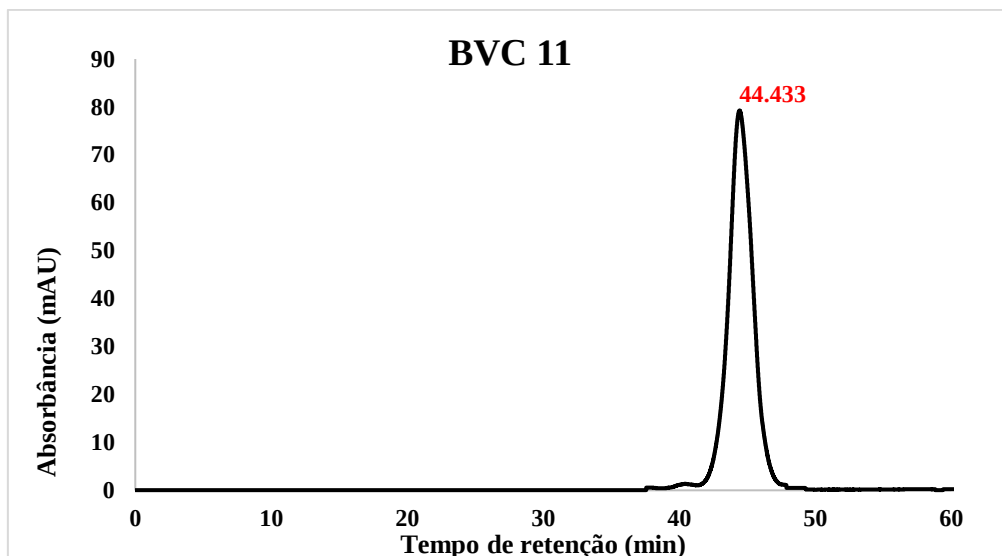


Figura 46. HPLC Cromatograma do composto BVC 11. Metanol:Água (80:20), 254 nm.

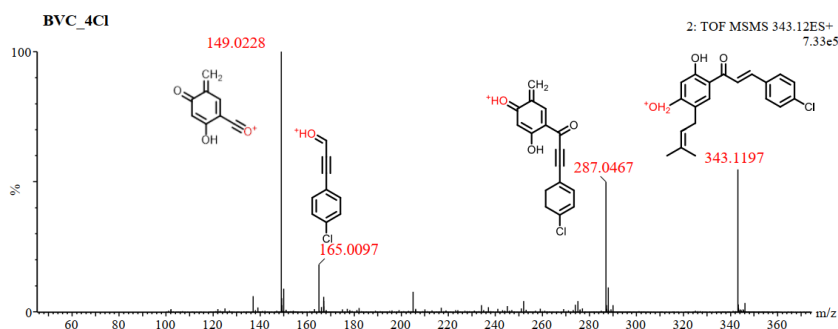
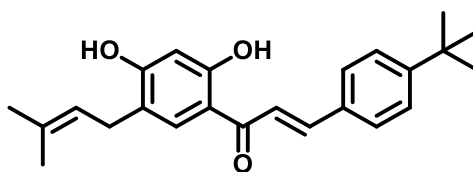


Figura 47. Espectro de Massas BVC 11



BVC 12: (E)-3-(4-(tert-butyl)phenyl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 67%. HPLC purity: 98%; m.p. literature: inedited , m.p. found: 316-319 °C.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃): δ 1.35 (s, 9H, 4-tercbutil), 1.80 (s, H-5''), 1.81 (s, h-4''), 3.35 (d, *J* = 7.1 Hz, H-1''), 5.33 (t, *J* = 7.1 Hz, H-2''), 6.15 (brs, 4'-OH), 6.42 (s, H-3'), 7.46 (d, *J* = 8.4 Hz, H-3 and H-5), 7.53 (d, *J* = 15.4 Hz, H-α), 7.60 (d, *J* = 8.4 Hz, H-2 and H-6), 7.63 (s, H-6'), 7.87 (d, *J* = 15.4 Hz, H-β), 13.2 (s, 2'-OH).

¹³C NMR (150 MHz, CDCl₃): δ 18.33 (C-4''), 24.13 (3C, terc-butil), 26.17 (C-1''), 30.06 (C-5''), 34.53 (1C, terc-butil), 104.4 (C-3'), 114.7 (C-1'), 119.2 (C-5'), 119.9 (C-α), 122.0 (C-2''),

127.5 (C-2 and C-6), 129.0 (C-3 and C-5), 131.5 (C-6'), 133.9 (C-3''), 135.7 (C-1), 144.8 (C- β), 152.5 (C-4), 162.0 (C-2'), 165.3 (C-4'), 192.4 (C- β').

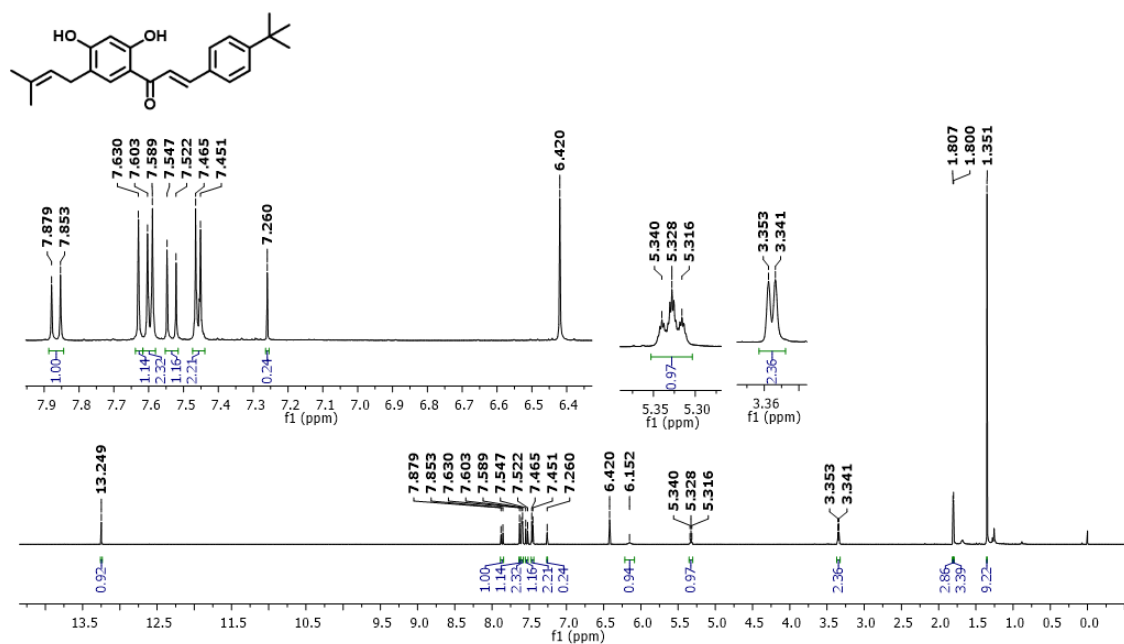


Figura 48. Espectro RMN ¹H de BVC 12 (CDCl₃; 600 MHz)

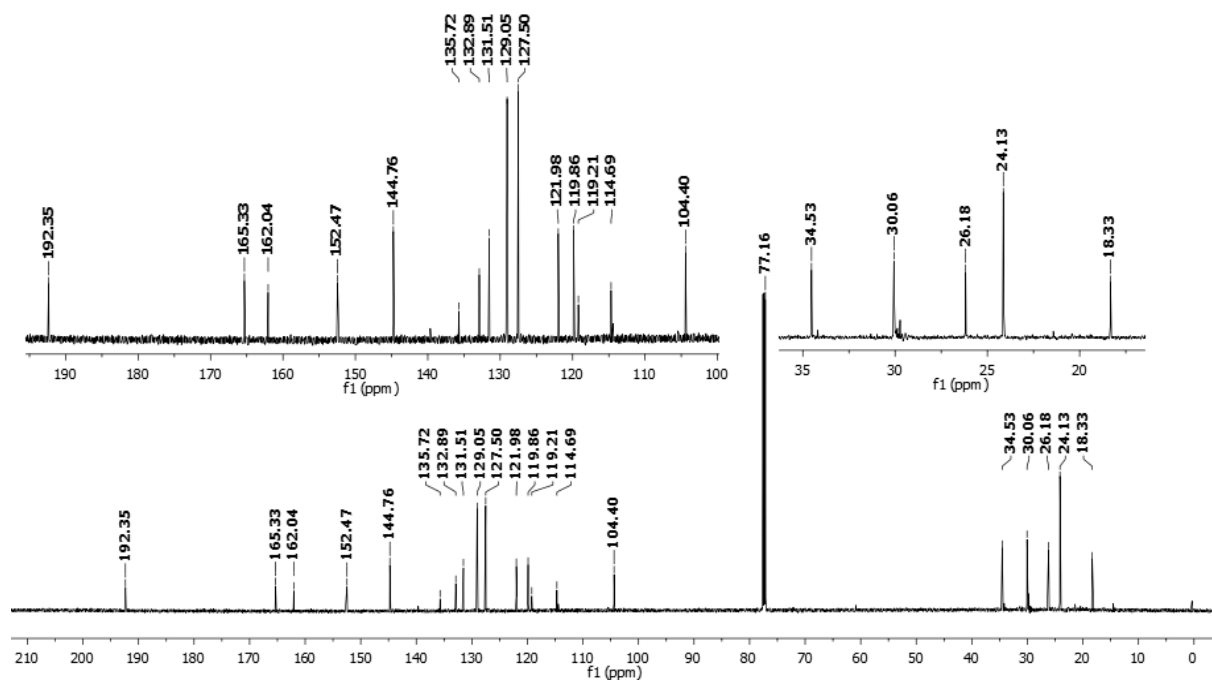


Figura 49. Espectro RMN ¹³C de BVC 12 (CDCl₃; 150 MHz)

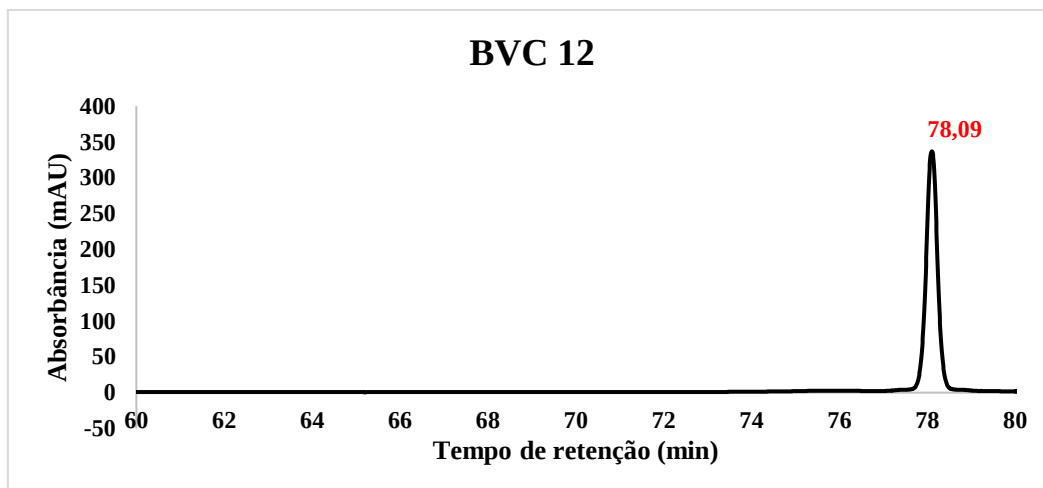


Figura 50. HPLC Cromatograma do composto BVC 12. Metanol:Água (80:20), 254 nm.

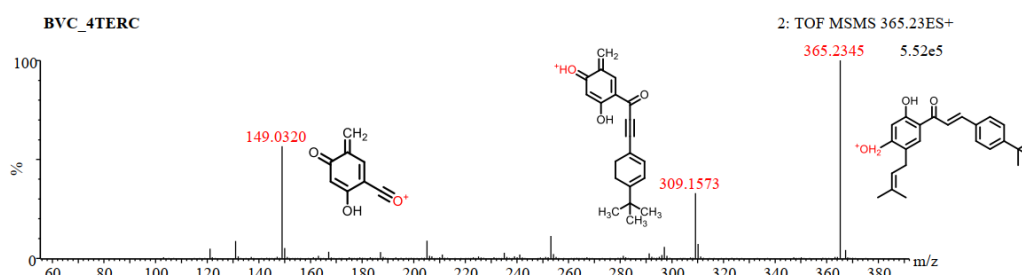
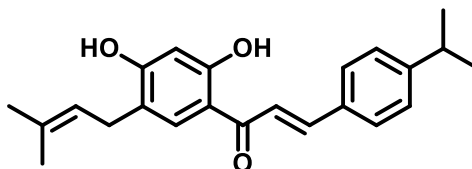


Figura 51. Espectro de Massas BVC 12



BVC 13: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-isopropylphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 50%. HPLC purity 37%; m.p. literature: inedited , m.p. found: 277-285 °C.

^1H NMR (600 MHz, CDCl_3): δ 1.28 (d, $J = 7.0$ Hz, 6H, 4-isopropil), 1.80 (s, H-5''), 1.81 (s, H-4''), 2.96 (sept, $J = 7.0$ Hz, 1H, 4-isopropil), 3.35 (d, $J = 7.1$ Hz, H-1''), 5.33 (t, $J = 7.1$ Hz, H-2''), 6.42 (s, H-3'), 7.30 (d, $J = 8.1$ Hz, H-3 and H-5), 7.53 (d, $J = 15.5$ Hz, H- α), 7.59 (d, $J = 8.1$ Hz, H-2 and H-6), 7.63 (s, H-6'), 7.86 (d, $J = 15.5$ Hz, H- β), 13.2 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, CDCl_3): δ 18.12 (C-5''), 23.92 (2C, isopropil), 25.97 (C-1''), 29.85 (C-4''), 34.32 (1C, isopropil), 104.2 (C-3'), 114.5 (C-5'), 119.0 (C-1'), 119.7 (C- α), 121.8 (C-2''), 127.3 (C-3 and C-5), 128.8 (C-2 and C-6), 131.3 (C-6'), 132.7 (C-3''), 135.5 (C-1), 144.5 (C- β), 152.3 (C-4), 161.8 (C-2'), 165.1 (C-4'), 192.1 (C- β).

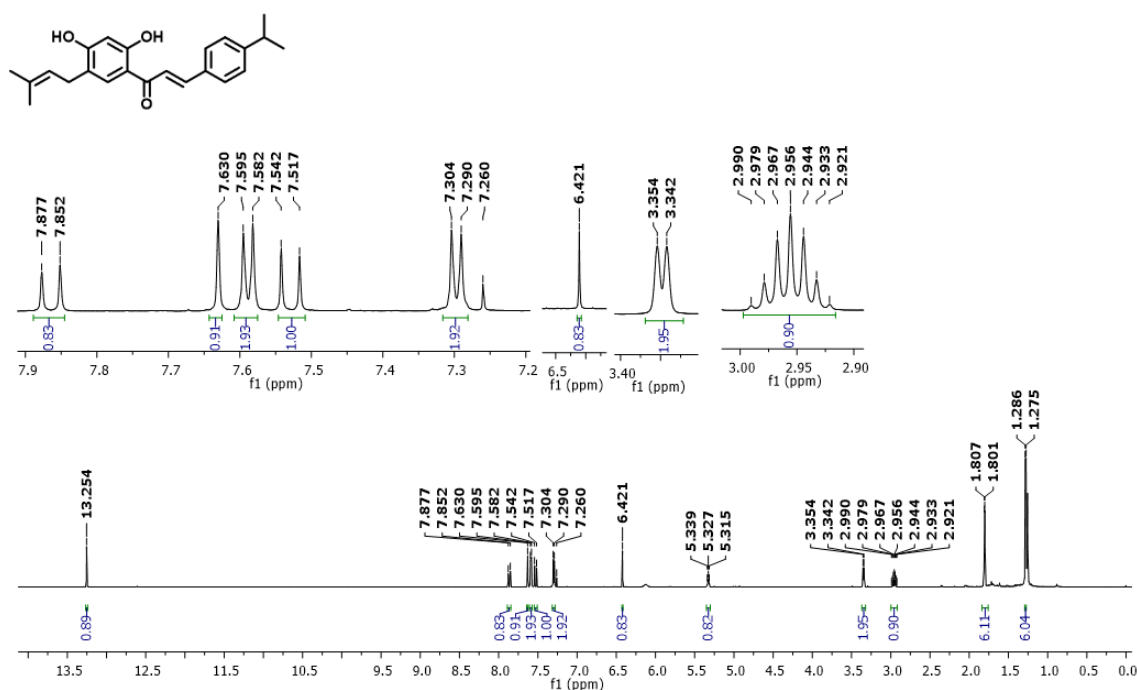


Figura 52. Espectro RMN ¹H de BVC 13 (CDCl₃; 600 MHz)

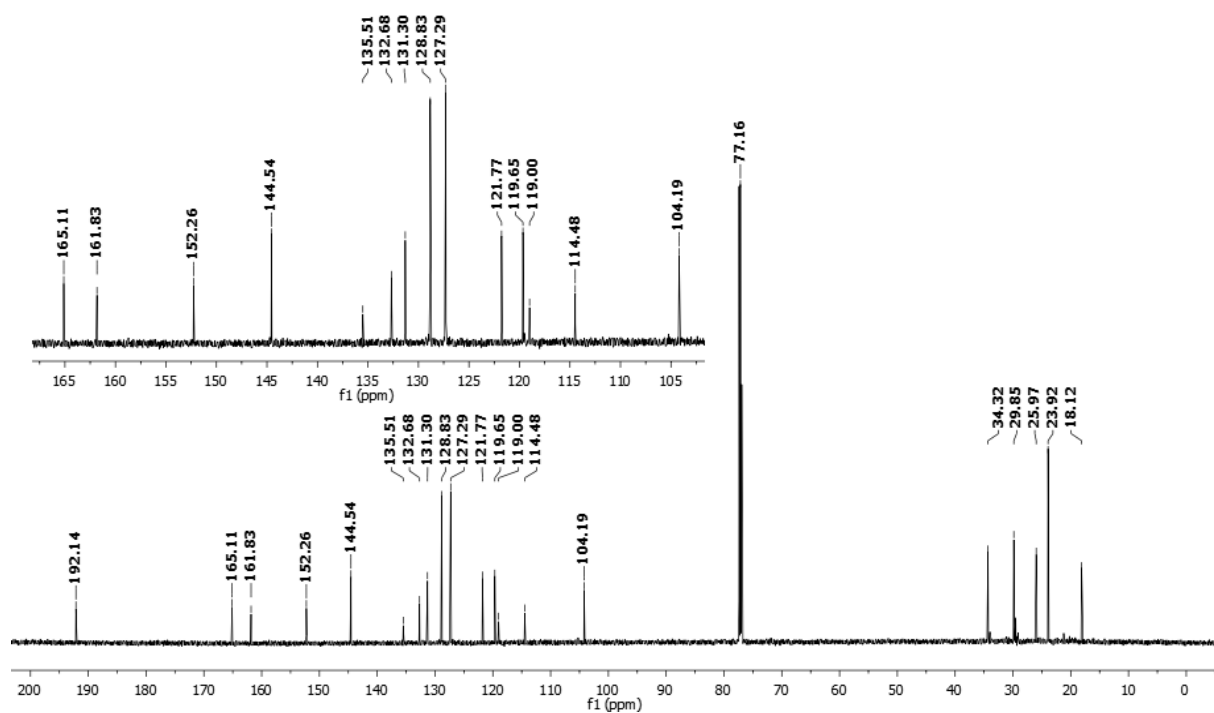


Figura 53. Espectro RMN ¹³C de BVC 13 (CDCl₃; 150 MHz)

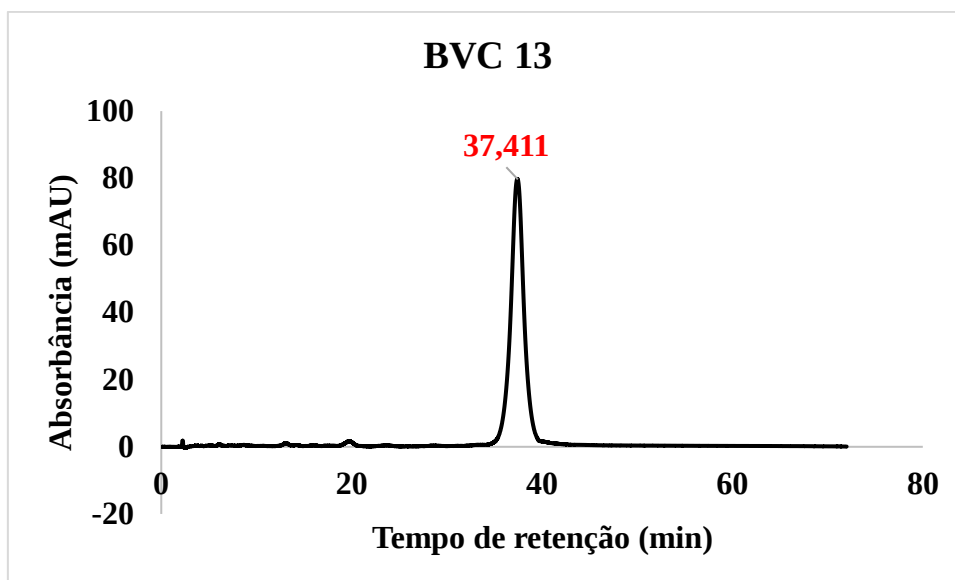
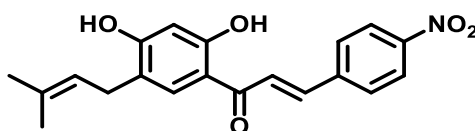


Figura 54. HPLC Cromatograma do composto BVC 13. Metanol:Água (80:20), 254 nm.



BVC 14: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-nitrophenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 30%. HPLC purity: 97%; m.p. literature: inedited , m.p. found: 379-381 °C.

¹H NMR (600 MHz, acetone-*d*₆): 1.71 (s, H-5''), 1.73 (s, H-4''), 3.30 (d, *J* = 7.1 Hz, H-1''), 5.32 (t, *J* = 7.1 Hz, H-2''), 6.43 (s, H-3'), 7.91 (d, *J* = 15.5 Hz, H-α), 8.03 (s, H-6'), 8.09 (d, *J* = 8.7 Hz, H-2 and H-6), 8.13 (d, *J* = 15.5 Hz, H-β), 8.31 (d, *J* = 8.7 Hz, H-3 and H-5), 9.72 (brs, 4'-OH), 13.2 (s, 2'-OH).

¹³C NMR (150 MHz, acetone-*d*₆): δ 17.93 (C-5''), 25.86 (C-1''), 28.86 (C-4''), 103.5 (C-3'), 114.2 (C-5'), 122.9 (C-1'), 123.8 (C-2''), 124.8 (C-2 and C-6), 126.1 (C-α), 130.4 (C-3 and C-5), 132.4 (C-3''), 131.6 (C-6'), 141.4 (C-β), 142.3 (C-1), 149.5 (C-4), 164.4 (C-2'), 166.2 (C-4'), 192.0 (C-β').

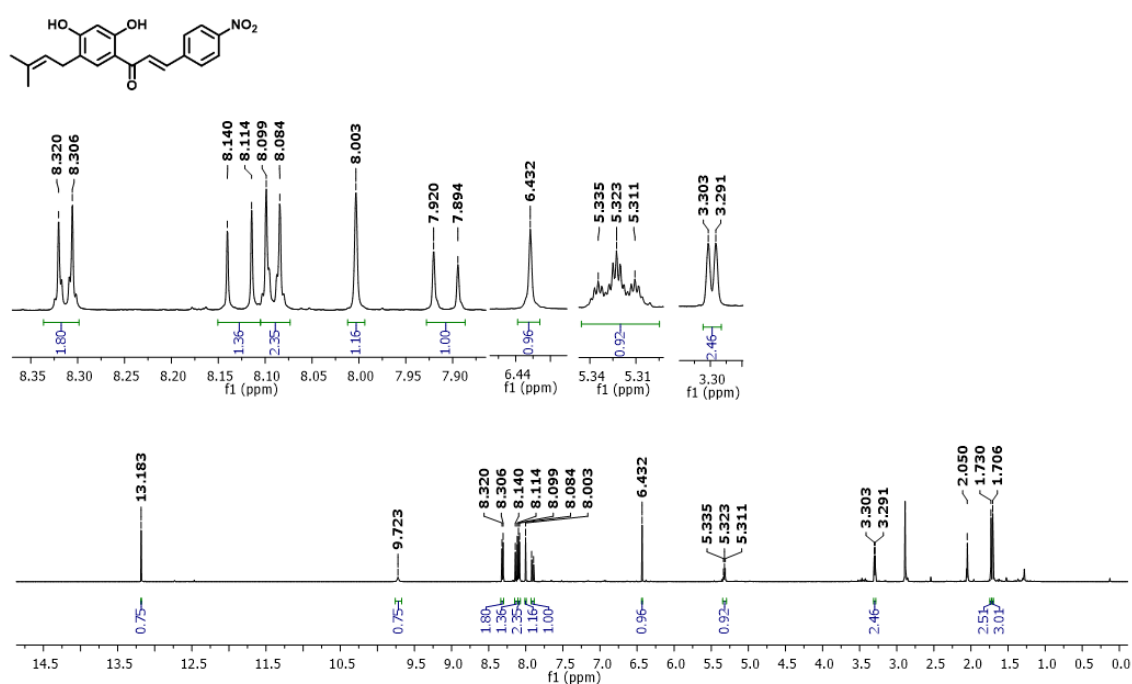


Figura 55. Espectro RMN ¹H de BVC 14 (acetona-d₆; 600 MHz)

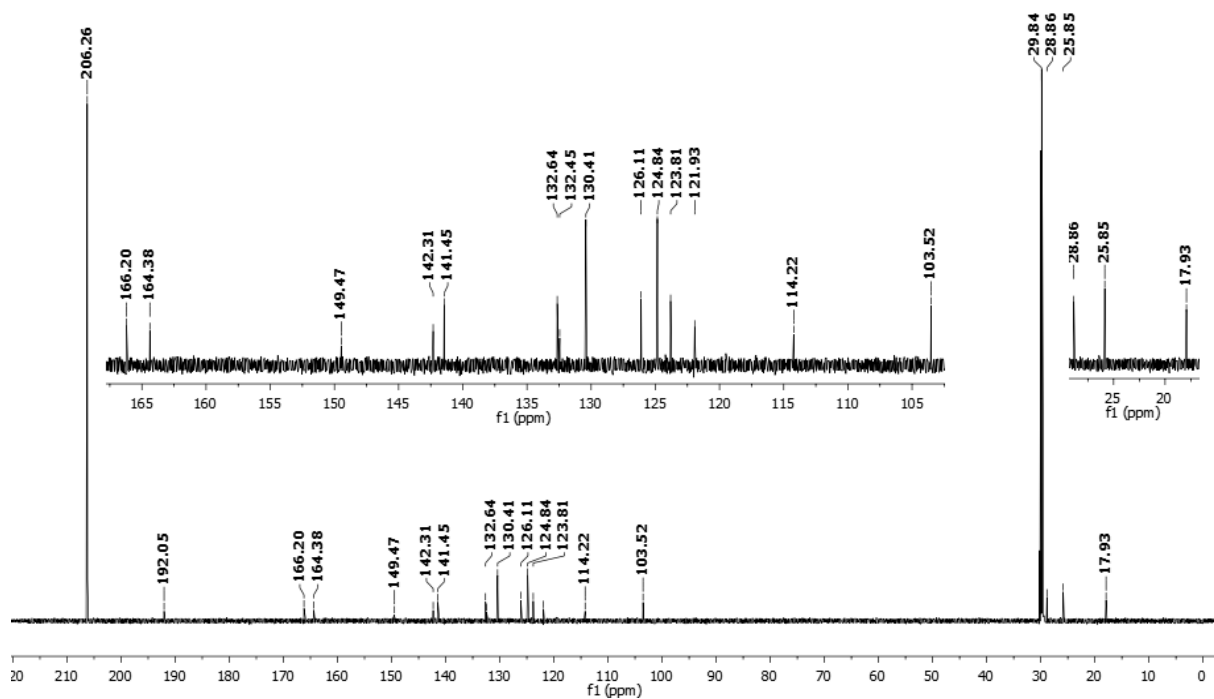


Figura 56. Espectro RMN ¹³C de BVC 14 (acetona-d₆; 150 MHz)

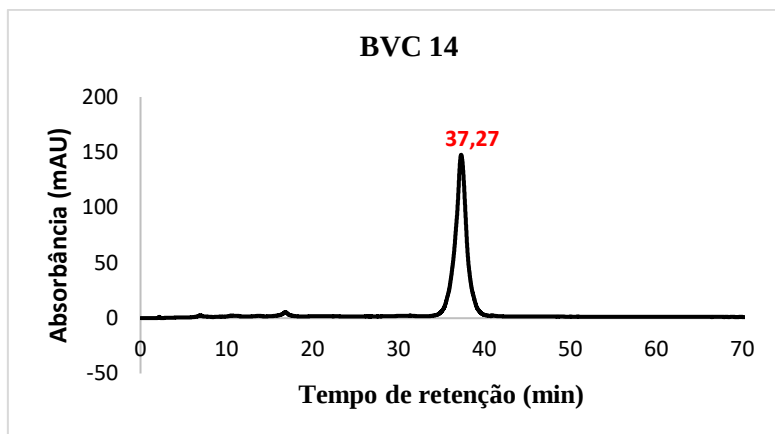


Figura 57. HPLC Cromatograma do composto BVC 14. Metanol:Água (75:25), 254 nm.

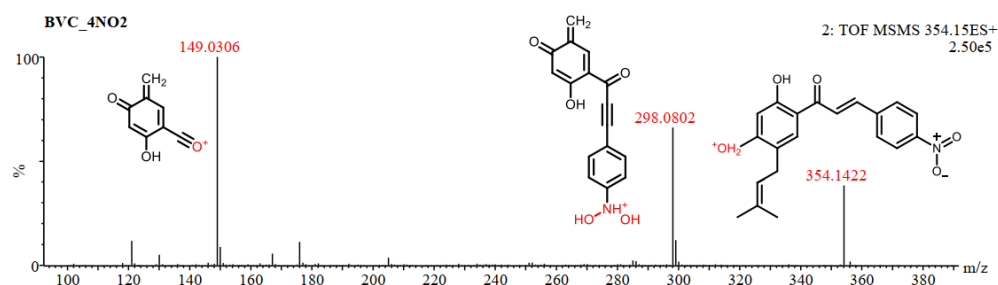
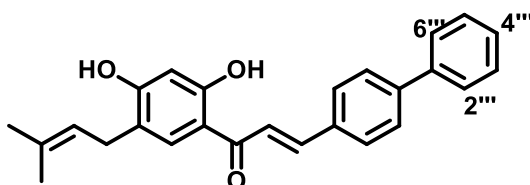


Figura 58. Espectro de Massas BVC 14



BVC 15: (E)-3-([1,1'-biphenyl]-4-yl)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)prop-2-en-1-one

Orange powder; yield 75%. HPLC purity: 99%; m.p. literature: inedited , m.p. found: 362-364 °C.

^1H NMR (600 MHz, acetone- d_6): δ 1.72 (s, H-5''), 1.74 (s, H-4''), 3.31 (d, J = 7.1 Hz, H-1''), 5.35 (t, J = 7.1 Hz, H-2''), 6.43 (s, H-3'), 7.40 (dd, J = 1.2 and 7.5 Hz, H-4'''), 7.49 (dd, J = 7.5 and 8.0 Hz, H-3''' and H-5'''), 7.74 (dd, J = 1.2 and 8.0 Hz, H-2''' and H-6'''), 7.78 (d, J = 8.4 Hz, H-3 and H-5), 7.91 (d, J = 15.5 Hz, H- α), 7.92 (d, J = 8.4 Hz, H-2 and H-6), 7.98 (d, J = 15.4 Hz, H- β), 8.00 (s, H-6'), 9.70 (brs, 4'-OH), 13.4 (s, 2'-OH).

^{13}C NMR (150 MHz, acetone- d_6): δ 17.93 (C-5''), 25.82 (C-1''), 25.88 (C-4''), 103.5 (C-3'), 114.3 (C-1'), 121.6 (C-5'), 121.8 (C- α), 123.9 (C-2''), 132.4 (C-3''), 127.8 (C-2''' and C-6'''), 128.2 (C-2 and C-6), 128.8 (C-4'''), 29.9 (C-5''' and C-6'''), 130.2 (C-3 and C-5), 132.4 (C-6'), 135.1 (C-1), 140.8 (C-4), 143.9 (C-1'''), 144.0 (C- β), 163.9 (C-2'), 166.1 (C-4'), 192.6 (C- β).

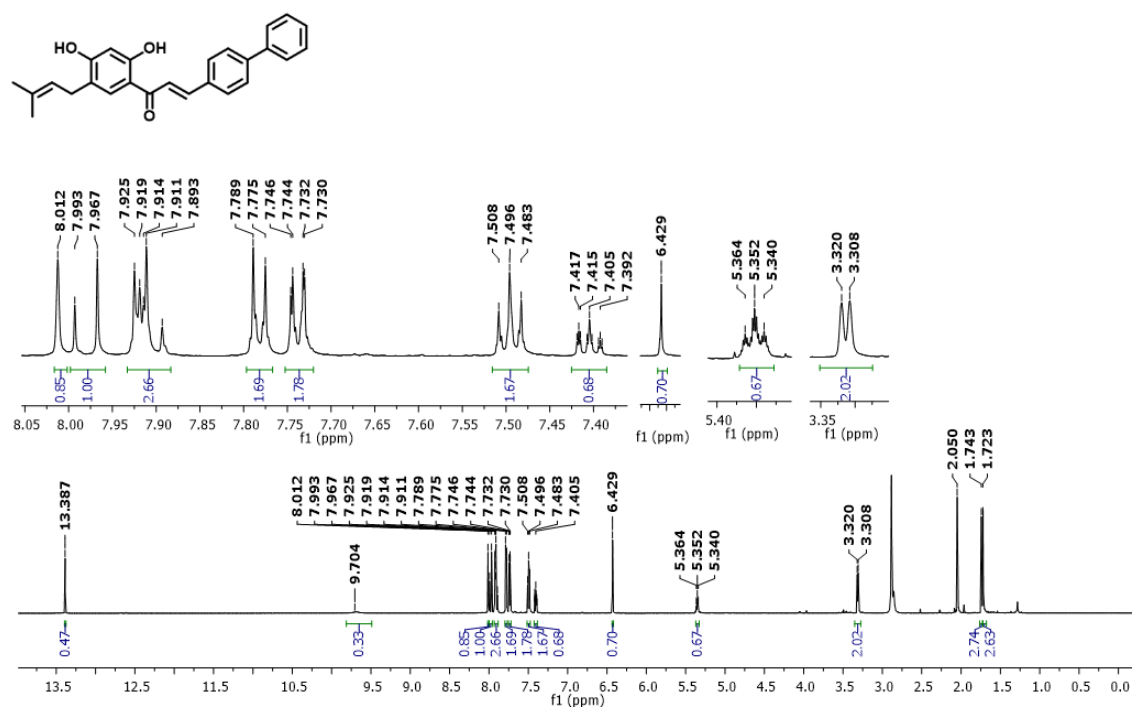


Figura 59. Espectro RMN ¹H de BVC 15 (acetona-d₆; 600 MHz)

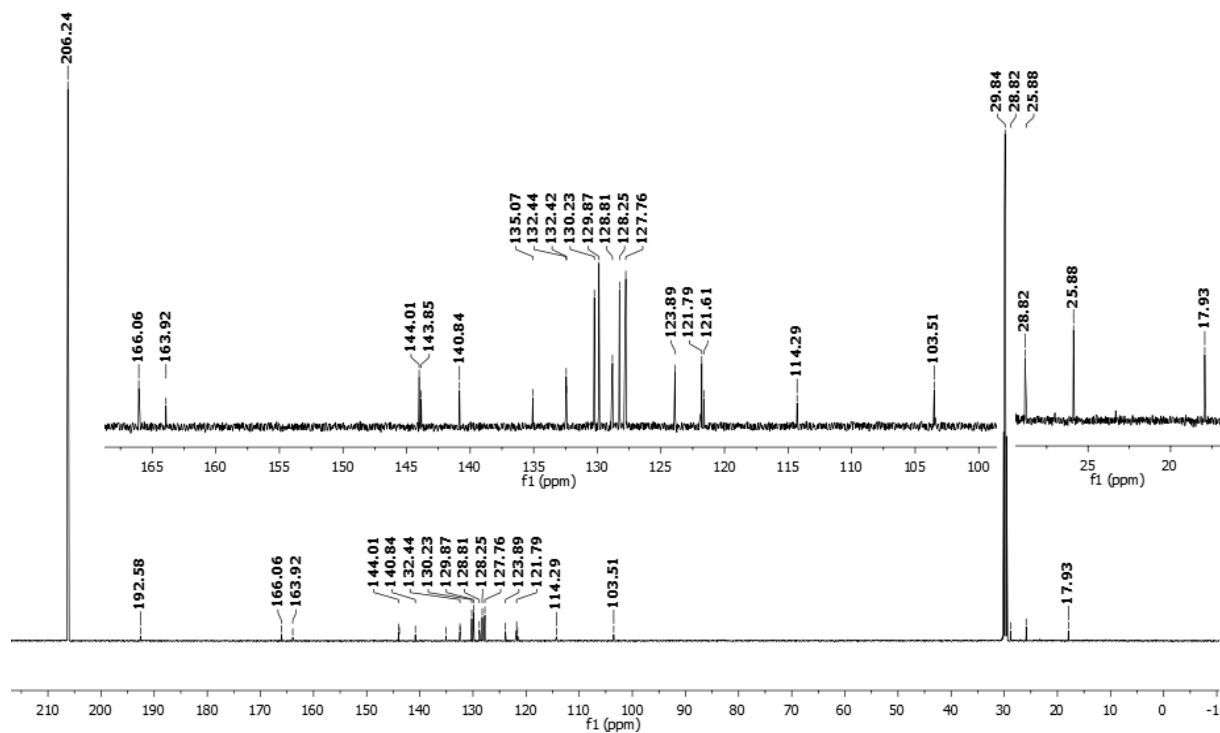


Figura 60. Espectro RMN ¹³C de BVC 15 (acetona-d₆; 150 MHz)

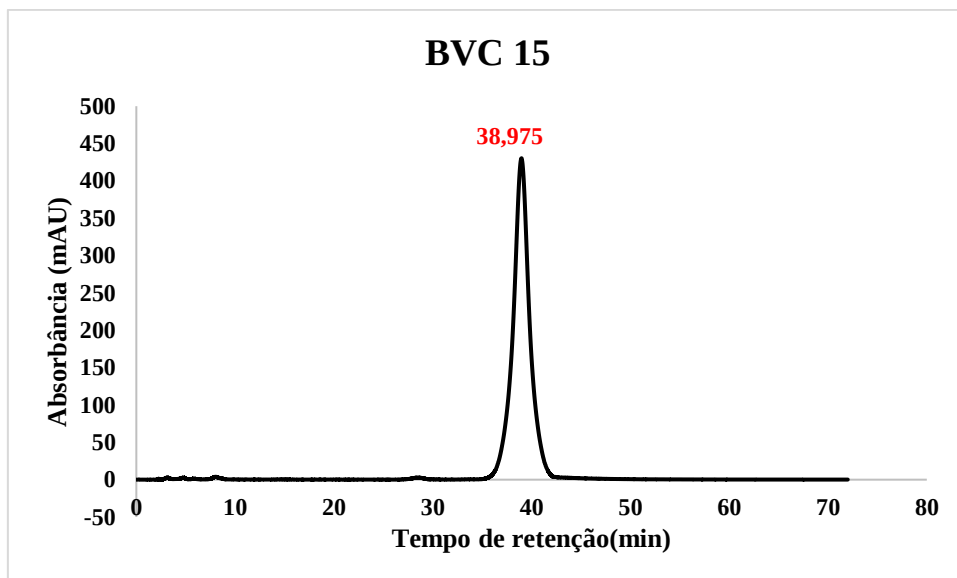


Figura 61. HPLC Cromatograma do composto BVC 15. Metanol:Água (80:20), 254 nm.

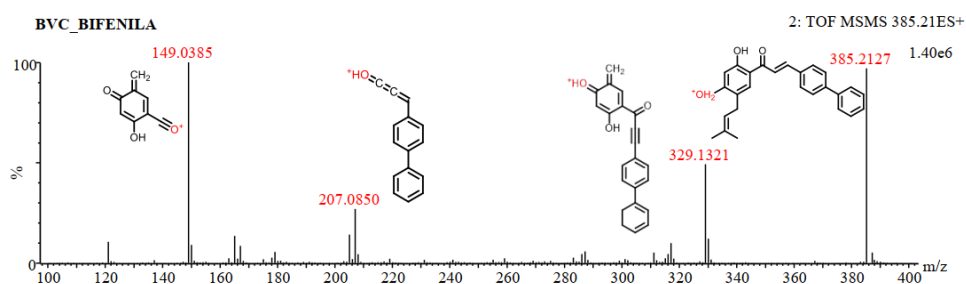
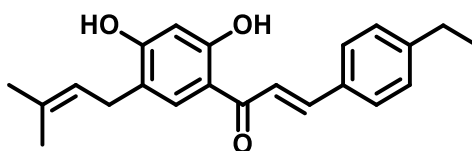


Figura 62. Espectro de Massas BVC 15



BVC 16: (E)-1-(2,4-dihydroxy-5-(3-methylbut-2-en-1-yl)phenyl)-3-(4-ethylphenyl)prop-2-en-1-one

Yellow powder; yield 60%. HPLC purity: 99%; m.p. literature: inedited, m.p. found: 291-296 °C. **¹H NMR (600 MHz, CDCl₃):** δ 1.27 (t, *J* = 7.6 Hz, 3H, 4-etil), 1.80 (s, 6H, H-4'' and H-5''), 2.70 (q, *J* = 7.6 Hz, 2H, 4-etil), 3.35 (d, *J* = 7.1 Hz, H-1''), 5.32 (t, *J* = 7.1 Hz, H-2''), 5.95 (brs, 4'-OH), 6.41 (s, H-3'), 7.27 (d, *J* = 8.1 Hz, H-3 and H-5), 7.53 (d, *J* = 15.4 Hz, H-α), 7.58 (d, *J* = 8.1 Hz, H-2 and H-6), 7.63 (s, H-6'), 7.86 (d, *J* = 15.4 Hz, H-β), 13.2 (s, 2'-OH).

¹³C NMR (150 MHz, acetone-*d*₆): δ 15.80 (4-CH₂CH₃), 17.91 (C-4''), 25.86 (C-5''), 28.77 (4-CH₂CH₃); 103.5 (C-3'), 114.3 (C-1'), 120.9 (C-α), 121.5 (C-5'), 123.9 (C-2''), 129.4 (C-3 and C-5), 129.7 (C-2 and C-6), 132.4 (C-3''), 132.5 (C-6'), 133.5 (C-1), 144.6 (C-β), 148.2 (C-4), 163.8 (C-2'), 166.0 (C-4'), 192.7 (C-β').

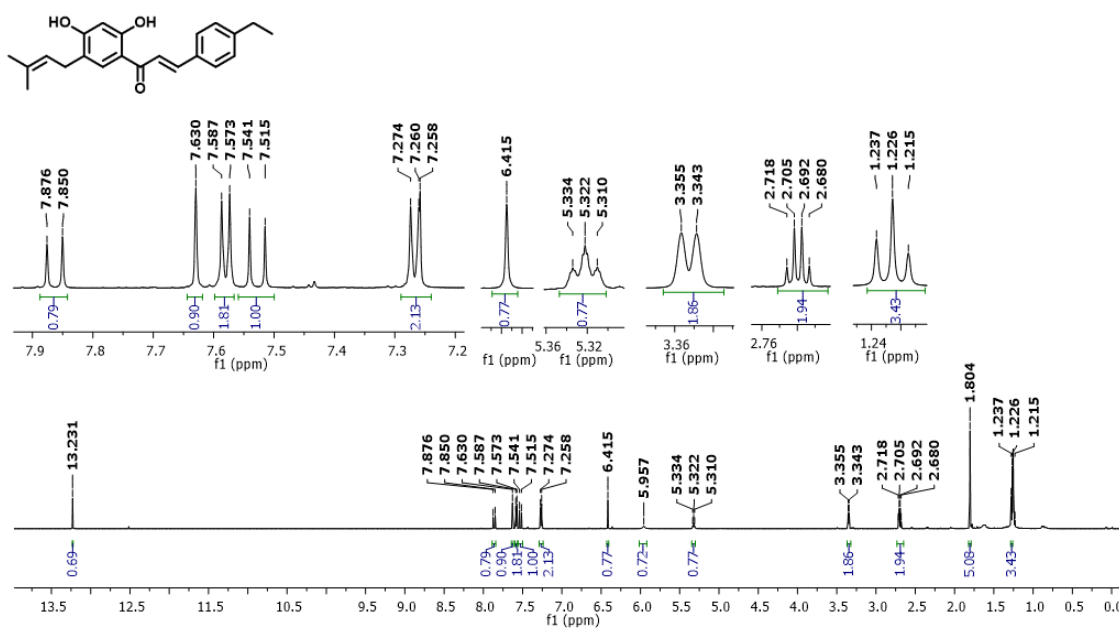


Figura 63. Espectro RMN 1H de BVC 16 (CDCl₃; 600 MHz)

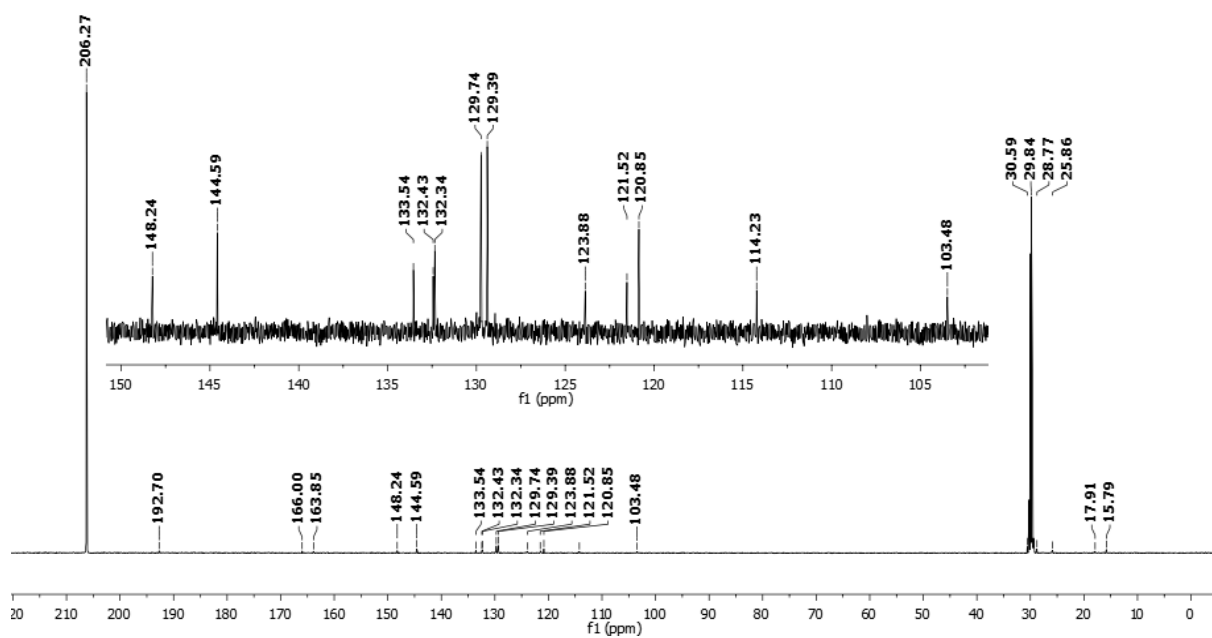


Figura 64. Espectro RMN 13C de BVC 16 (CDCl₃; 150 MHz)

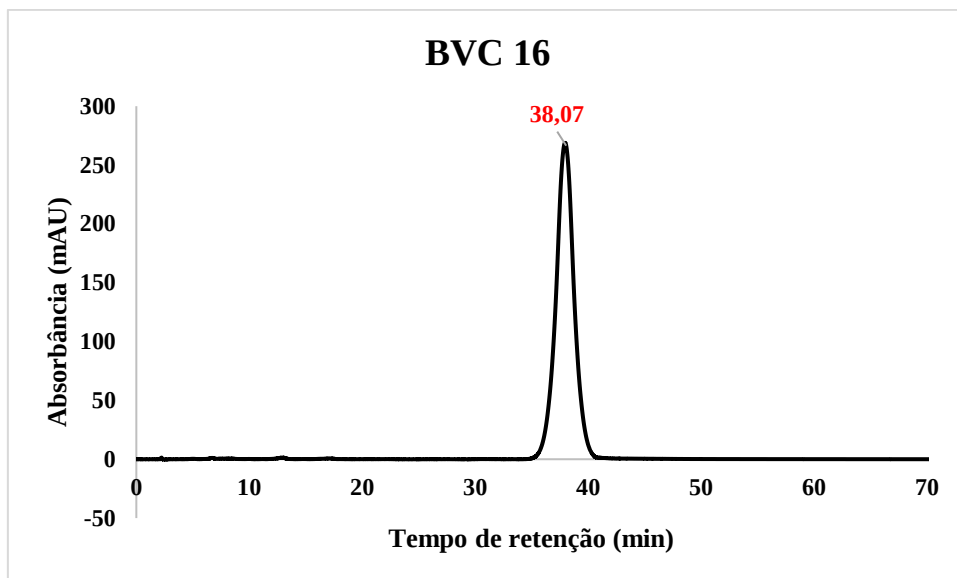


Figura 65. HPLC Cromatograma do composto BVC 16. Metanol:Água (80:20), 254 nm.

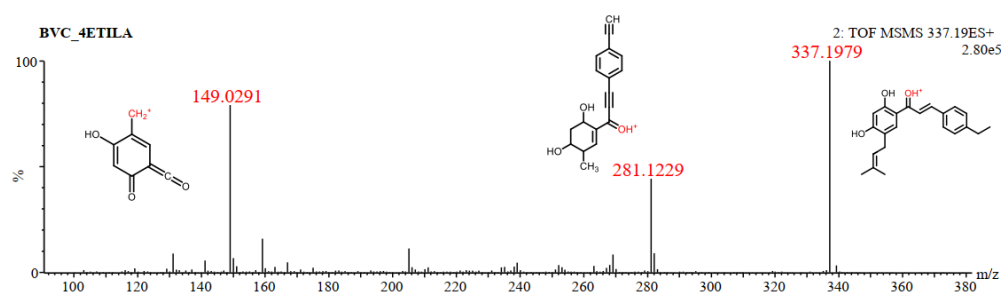


Figura 66. Espectro de Massas BVC 16



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de São José do Rio Preto



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE MARIA BEATRIZ SILVA COSTA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS, LETRAS E CIÊNCIAS EXATAS - CÂMPUS DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO.

Aos 21 dias do mês de fevereiro do ano de 2024, às 14:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de MARIA BEATRIZ SILVA COSTA, intitulada **Síntese e Atividades Antibacteriana e Antimicobacteriana de Bavachalcona e Análogos**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. LUIS OCTÁVIO REGASINI (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Química e Ciências Ambientais / UNESP/Câmpus de São José do Rio Preto, Profa. Dra. CAMILA MARTINS DE OLIVEIRA (Participação Virtual) do(a) Universidade Federal de Rondonópolis - UFR - Rondonópolis, Prof. Dr. CARLOS HENRIQUE GOMES MARTINS (Participação Virtual) do(a) Departamento de Microbiologia / Universidade Federal de Uberlândia, Profa. Dra. JANAINA DE CÁSSIA ORLANDI SARDI (Participação Virtual) do(a) Universidade de Guarulhos, Prof. Dr. GUILHERME DILARRI (Participação Virtual) do(a) Departamento de Engenharia de Pesca e Ciências Biológicas / Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final **APROVADO**. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 LUIS OCTAVIO REGASINI
 Data: 20/02/2024 14:54:38-0100
 Verifique em <https://validar.jti.gov.br>

Prof. Dr. LUIS OCTÁVIO REGASINI

Novo título: “Síntese, atividade antibacteriana, antimicobacteriana e toxicidade de bavachalcona e análogos”

DADOS CURRICULARES

FORMAÇÃO ACADÊMICA

Doutorado em Microbiologia (2020)

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, São Paulo, Brasil.

Título: Síntese, Atividades Antibacteriana, Antimicobacteriana e Toxicidade de Bavachalcona e Análogos.

Orientador: Prof. Dr. Luis Octávio Regasini.

Mestrado em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos (2018–2020)

Universidade Federal do Amazonas, UFAM, Itacoatiara, Brasil.

Título: Quimiodiversidade de fungos endofíticos associado a estresse oxidativo em larvas de *Aedes aegypti*

Orientadora: Prof. Dra. Camila Martins de Oliveira

Graduação em Química Industrial (2014–2017)

Universidade Federal do Amazonas

PRODUÇÕES BIBLIOGRÁFICAS

Artigos completos publicados em periódicos

Costa, M. B. S.; Oliveira, C. O. Endophytic Fungi in the Fight Against Neglected Tropical Diseases. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 20, p. 1683, 2020.

Costa, M.B.S.; Simões, R. C.; Silva, M. J. A.; Oliveira, A. C.; Acho, L.D.; Lima, E.S.; Tadei, W.P.; Teles, H.L.; Oliveira, C.M. Oxidative stress induction by crude extract of *Xylaria* sp. triggers lethality in the larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**, v. 55, (e0373-2021), 2022.

Assis, L.R.; Theodoro, R. S; **Costa, M. B. S.;** Nascentes, J. A. A.; Rocha, M. D.; Bessa, M. A. S.; Menezes, R. P.; Dilarri, G.; Hypolito, G. B.; Santos, V. R. ; Duque, C.; Ferreira, H.; Martins, C. H. G.; Regasini, L. O. Antibacterial Activity of Isobavachalcone (IBC) is Associated with Membrane Disruption. **Membranes**, v. 12, p. 269, 2022.

Silva, S.S.; **Costa, M.B.S.;** Souza, A. Q. L.; Carneiro, W. S. S.; Oliveira, C.M. Isolation and identification of endophytic fungi of *Passovia stelis* (Loranthaceae). **Braz. Ap. Sci. Rev.**, v. 4, n. 3, p. 1262, 2020.