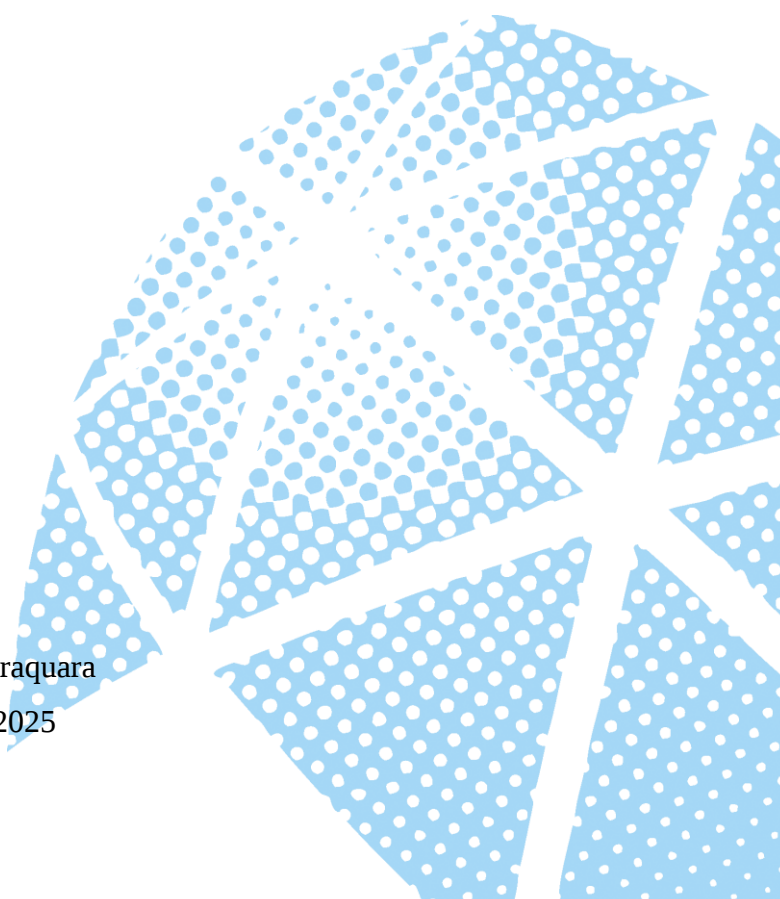


UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA – UNESP
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Campus de Araraquara

ANY CAROLINE XAVIER

**POTENCIAL ANTIMICOBACTERIANO DE CHALCONAS CONTENDO NÚCLEO
BENZOFUROXANO:**
uma abordagem sintética e biológica

Araraquara
2025



ANY CAROLINE XAVIER

**POTENCIAL ANTIMICOBACTERIANO DE CHALCONAS CONTENDO NÚCLEO
BENZOFUROXANO:**

uma abordagem sintética e biológica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Ciências Farmacêuticas,
Araraquara para obtenção do título de
Bacharela em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos

Araraquara

2025

X3p

Xavier, Any Caroline.

Potencial antimicobacteriano de chalconas contendo núcleo benzofuroxano: uma abordagem sintética e biológica / Any Caroline Xavier. – Araraquara, 2026.
106 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação – Farmácia) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara.

Orientador: Jean Leandro dos Santos.

1. Chalcona. 2. Benzofuroxano. 3. Tuberculose. 4. Bioisosterismo. 5. Otimização molecular. 6. Química farmacêutica. I. Santos, Jean Leandro dos, orient. II. Título.

ANY CAROLINE XAVIER

**POTENCIAL ANTIMICOBACTERIANO DE CHALCONAS CONTENDO NÚCLEO
BENZOFUROXANO:**

uma abordagem sintética e biológica

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Araraquara, para obtenção do título de Bacharela em Farmácia.

Data da defesa: 01 / 12 / 2025

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Campus de Araraquara

Ma. Andressa Francielli Bonjorno
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Me. Vinicius Oliveira Chesna
UNESP – Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre acreditaram em mim e foram meu
alicerce em todos os momentos.

Em especial ao meu pai, que mesmo não estando mais presente, continua sendo uma
inspiração constante na minha vida.

Aos meus amigos, pelo apoio, companheirismo e por tornarem essa caminhada mais leve.
E a mim mesma, pela dedicação, esforço e por nunca desistir, mesmo diante dos desafios.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao Prof. Dr. Jean Leandro dos Santos pela oportunidade e confiança a mim concedidos para o desenvolvimento do presente projeto.

Ao Dr. João Lucas Bruno Prates, por todo suporte e orientação na condução, análise de dados e redação de materiais relacionados a este trabalho.

A todos os docente e pós-graduandos do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos (Lapdesf), pelo apoio adicional na condução experimental e técnica.

Aos docentes e corpo técnico do Instituto de Química – Campus Araraquara, e do Laboratório de Pesquisa de Novos Fármacos Contra Tuberculose da UNESP – Campus Araraquara, pelo apoio na condução de experimentos relacionados ao projeto.

À Pro Reitoria de Pesquisa (PROPe) pelo incentivo financeiro à pesquisa fornecido no ano de 2022.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, concedido por meio do Processo nº 2022/15005-7, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Aos meus colegas de laboratório pelo suporte e orientação durante a condução dos experimentos e relatórios, especialmente a Bianca.

Aos meus amigos por todo apoio, incentivo e compreensão durante todo o curso de graduação, especialmente à Fernanda, ao Vinícius e à Tarcila, aos quais posso sem dúvida chamar de família.

À minha mãe Luzia, meu pai Manuel e minha irmã Ana Laura por serem minha base e meu suporte durante toda a caminhada acadêmica. Graças a eles, eu pude me tornar quem sou e conquistar tudo tenho hoje.

RESUMO

A tuberculose (TB) é uma doença infecciosa causada pela *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb), que em 2024, provocou 1,23 milhões de óbitos, ficando em segundo lugar em comparação a COVID-19. Atualmente, o tratamento disponível, envolve uma combinação complexa de fármacos que apresentam diversas limitações no tratamento da TB. Neste cenário, o grupo do Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos - UNESP (Lapdesf), cuja uma das linhas de pesquisa é o planejamento e síntese de novos agentes anti-Mtb, no ano de 2016, sintetizou o composto BZ8, o qual mostrou-se potente, tanto para cepas sensíveis de Mtb, como para as multirresistentes. No entanto, a instabilidade do sistema *N*-acilhidrazona presente no BZ8 em meio ácido revelou-se um grande obstáculo para sua administração oral. Assim, o presente trabalho propôs a investigação do isosterismo entre o sistema *N*-acilhidrazona pela cetona α,β -insaturada presente nas chalconas a fim de investigar a atividade anti-Mtb resultante dessa modificação estrutural. Nesta pesquisa, foram desenvolvidas e avaliadas duas rotas sintéticas para a obtenção de chalconas, com rendimentos moderados e boa eficiência na formação dos produtos. Ao todo, 11 chalconas inéditas foram sintetizadas, das quais quatro foram funcionalizadas com o núcleo benzofuroxano. Todos os compostos foram caracterizados por técnicas espectroscópicas, incluindo RMN de ^1H e ^{13}C , HMBC, HSQC e IV, permitindo a confirmação estrutural e o avanço nas etapas de síntese. Na avaliação biológica frente ao Mtb (cepa H₃₇Rv), os compostos P1 e P12 apresentaram atividade promissora, com CIM₉₀ de 5,23 $\mu\text{g/mL}$ e 3,85 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Os resultados obtidos apontam o potencial das chalconas como candidatas a novos agentes antituberculares.

Palavras-chave: Chalconas; benzofuxano; tuberculose; bioisosterismo; otimização molecular.

ABSTRACT

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) which, in 2024, resulted in 1.23 million deaths, ranking second only to COVID-19. Currently, the available treatment involves a complex combination of drugs that present several limitations in TB therapy. In this context, the Laboratory of Research and Development of Drugs at UNESP (Lapdesf), one of whose research lines focuses on the design and synthesis of new anti-Mtb agents, synthesized in 2016 the compound BZ8, which proved to be potent against both drug-susceptible and MDR-TB strains. However, the instability of the *N*-acylhydrazone system present in BZ8 under acidic conditions proved to be a major obstacle to its oral administration. Thus, the present work proposed the investigation of isosterism by replacing the *N*-acylhydrazone system with an α,β -unsaturated ketone moiety present in chalcones, in order to evaluate the anti-Mtb activity resulting from this structural modification. In this study, two synthetic routes were developed and evaluated for the preparation of chalcones, affording moderate yields and good efficiency in product formation. In total, 11 novel chalcones were synthesized, four of which were functionalized with a benzofuroxan core. All compounds were characterized by spectroscopic techniques, including ^1H and ^{13}C NMR, HMBC, HSQC, and IR, allowing structural confirmation and progression through the synthetic steps. In the biological evaluation against Mtb (H₃₇Rv strain), compounds P1 and P12 exhibited promising activity, with MIC₉₀ values of 5.23 $\mu\text{g/mL}$ and 3.85 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Overall, the results indicate the potential of chalcones as candidates for the development of new antitubercular agents.

Keywords: Chalcones; benzofuroxan; tuberculosis; bioisosterism; molecular optimization.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOEt	Acetado de etila
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
Eq.	Equivalente
EtOH	Etanol
FM	Fase móvel
HEX	Hexano
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, do inglês: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HMBC	Espectroscopia de Correlação de Ligação Múltipla Heteronuclear (HMBC, do inglês: <i>Heteronuclear Multiple-Bond Correlatinon Spectroscopy</i>)
HSQC	Coerência quântica única heteronuclear (HSQC, do inglês: <i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>)
IV	Espectroscopia de Infravermelho
J774A.1	Macrófago de tumor ascítico de camundongos
LJ	Meio sólido seletivo Lowenstein-Jensen
Lapdesf	Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento de Fármacos - UNESP
MDR-TB	Tuberculose Multirresistente (MDR-TB, do inglês: <i>Multidrug-Resistant Tuberculosis</i>)
MeOH	Metanol
MRC-5	Fibroblasto Humano Normal
Mtb	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
OADC	Suplemento para meio de cultura contendo: ácido oleico, albumina, dextrose e catalase
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato (PBS, do inglês <i>Phosphate-Buffered Saline</i>)
OMS	Organização Mundial da Saúde
REMA	Ensaio de microtitulação com resazurina (REMA, do inglês <i>Resazurin Microtiter Assay</i>)
RMN	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

RPM	Rotações por minuto
SFB	Soro Fetal Bovino
SI	Índice de Seletividade
TB	Tuberculose
THF	Tetrahidrofurano
XDR-TB	Tuberculose extensivamente resistente (XDR-TB, do inglês: <i>Extensively Drug-Resistant Tuberculosis</i>)

LISTA DE SÍMBOLOS

μg	Micrograma
CIM_{90}	Concentração Inibitória Mínima
μM	Micro molar
NaOH	Hidróxido de sódio
NaN_3	Azida de sódio
$^{\circ}\text{C}$	Graus célsius
Na_2SO_4	Sulfato de sódio
Cs_2CO_3	Carbonato de Césio
mL	Mililitro
mmol	Milimolar
μL	Microlitro
mg	Miligrama
h	Hora
$\text{\AA}$	Angstrom
μm	Micrometros
mL	Mililitro
Min.	Minuto
nm	Nanometro
$\text{DMSO-}d_6$	Dimetilsulfóxido Deuterado
KBr	Brometo de potássio
CO_2	Dióxido de carbono
CI_{50}	Concentração inibitória
CIM_{90}	Concentração Inibitória Mínima
ppm	Partes por milhão
J	Constante de acoplamento
δ	Deslocamento químico
Hz	Hertz
m	Multipleto
t	Tripleto
d	Dupleto
dd	Duplo dupleto
s	Singleto

ddt	Duplo dubleto tripleto
NH ₂	Amina
NO ₂	Nitro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	PATOGÊNESE.....	13
1.2	EPIDEMIOLOGIA	14
1.3	TRATAMENTO	15
1.4	DESAFIOS	16
1.5	AVANÇOS RECENTES E PERSPECTIVAS.....	17
2	OBJETIVOS	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1	PLANEJAMENTO E SELEÇÃO DA ROTA SINTÉTICA	19
3.2	SÍNTESE DOS COMPOSTOS	21
3.2.1	Síntese das chalconas.....	21
3.2.2	Síntese do benzofuroxano	22
3.2.3	Síntese acoplamento de Suzuki.....	23
3.3	MÉTODOS ANALÍTICOS: IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL	24
3.3.1	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	24
3.3.2	Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	24
3.3.3	Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	25
3.3.4	Faixa de Fusão	25
3.4	ENSAIOS BIOLÓGICOS	25
3.4.1	Cultivo de cepas de Mtb	25
3.4.1.1	<i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM₉₀).....</i>	<i>26</i>
3.4.2	Cultivo celular.....	27
3.4.2.1	<i>Índice de citotoxicidade (IC)</i>	<i>27</i>

3.4.3	Índice de seletividade (IS)	28
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	ENSAIOS BIOLÓGICOS	37
5	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS	41
	ANEXOS A – DADOS DOS EXPERIMENTOS DE RMN.....	46
	ANEXO B – DADOS DOS EXPERIMENTOS DE IV	94

1 INTRODUÇÃO

A TB é uma doença infecciosa cujo principal agente etiológico humano é o bacilo Mtb. A infecção pelo Mtb geralmente se manifesta de duas formas principais, sendo, ou uma doença que afeta majoritariamente os pulmões (TB pulmonar), ou em casos mais severos uma doença que se espalha para outros órgãos e sistemas (TB extrapulmonar). Sua transmissão ocorre por meio da inalação de gotículas contendo o Mtb, expelidas por indivíduos infectados e com a forma pulmonar ativa da doença, que em contato com novos hospedeiros, dá início a infecção e têm o potencial de causar a TB, a depender da competência do sistema imunológico do indivíduo (WHO, 2025; Dheda, Barry e Maartens, 2016; Lemos e Lins, 2023). Dados mais recentes mostram que cerca de 90 % dos indivíduos infectados com o Mtb evoluem para a fase latente, onde podem chegar a permanecer assintomáticos por muitos anos. Porém, quando há um comprometimento relevante do sistema imunológico do indivíduo, por causas multifatoriais, há maior chance de reversão desse quadro de latência e evolução para a forma ativa da doença (Nunes-Alves *et al.*, 2014).

Há indícios que os primeiros casos TB remontam ao período neolítico, e desde então essa doença têm causado milhões de mortes ao redor do globo. Em uma revisão feita por Tiemersma E. W. *et al.* (2011), estimou-se que as taxas de óbitos por TB em pacientes HIV-negativos chegavam aos 70 % para ambos os sexos, em eras pré-tratamento. Atualmente, essa taxa de óbito na ausência de tratamento chega próximo aos 50 %.

1.1 PATOGÊNESE

A patogênese da infecção por Mtb inicia-se com a deposição dos bacilos nos alvéolos pulmonares do novo hospedeiro, onde são fagocitados pelos macrófagos residentes, que constituem a primeira linha de defesa frente à infecção inicial. Em seguida, esses macrófagos migram para o interstício pulmonar, possibilitando o acesso do Mtb a outras células imunes residentes do pulmão, as quais também podem ser infectadas. Diversos estudos indicam que esse estágio inicial da infecção é determinante para a progressão da doença. Uma vez internalizado nos fagossomos das células hospedeiras, sobretudo nos macrófagos, o Mtb emprega múltiplos mecanismos para impedir a maturação dessa organela, mantendo um ambiente intracelular favorável à sua sobrevivência e replicação (Warner *et al.*, 2025).

Em uma etapa posterior e com o desenvolvimento da resposta imune adaptativa, ocorre o recrutamento de novos leucócitos, especialmente linfócitos T, que desencadeiam uma

resposta imunológica mais efetiva dos macrófagos e a formação do granuloma, estrutura fundamental para a contenção da infecção e a prevenção da disseminação bacteriana (Chandra, Grigsby, Philips, 2022).

Caso o hospedeiro desenvolva uma resposta imune adaptativa eficaz, a infecção pode ser contida no interior do granuloma, o qual pode evoluir para a cura, caracterizada pela calcificação das lesões, ou permanecer em estado latente, com bacilos viáveis, porém não replicantes, mantidos em condição quiescente. Por outro lado, quando a resposta imune adaptativa é insuficiente, o *Mtb* continua a se replicar no granuloma inicialmente formado, promovendo o recrutamento contínuo de novas células do sistema imune em um ciclo inflamatório persistente que culmina na necrose liquefativa do tecido, conhecida como necrose caseosa. Com a progressão do processo, ocorre o rompimento da estrutura granulomatosa, permitindo a disseminação do bacilo para outras regiões do pulmão ou, em casos mais graves, para outros órgãos e tecidos.

Nesse contexto, a coinfeção entre TB e HIV constitui um dos principais cenários associados a maior risco de desenvolvimento de TB ativa, disseminação extrapulmonar e micobacteremia, especialmente em indivíduos com AIDS avançada. Esse aumento da suscetibilidade está diretamente relacionado à depleção progressiva dos linfócitos T CD4⁺ causada pelo HIV, comprometendo a resposta imune celular essencial para o controle da infecção pelo *Mtb*. Além disso, evidências indicam que a infecção por *Mtb* em pacientes vivendo com HIV pode acelerar a progressão da infecção viral, promovendo aumento da replicação e da diversificação genética do HIV, o que pode contribuir para maior persistência viral e potencial desenvolvimento de resistência aos antirretrovirais (Bell e Noursadeghi, 2018).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a TB permanece entre as doenças que mais causam complicações à saúde e figura como uma das principais causas de morte por um único agente infeccioso em nível global. Em 2021, estimativas indicaram que a TB ocupou a segunda posição entre as causas de morte por agente infeccioso único, ficando atrás apenas da COVID-19. Em relação à incidência mundial, em 2024 observou-se uma redução discreta de aproximadamente 1 % no número de novos casos, totalizando cerca de 10,7 milhões, representando a primeira queda desde 2020. No mesmo ano, foram registrados 1,23 milhão de óbitos atribuídos à TB, dos quais aproximadamente 150 mil ocorreram em decorrência da coinfeção TB-HIV. Apesar dos números ainda alarmantes, os dados de 2024 indicam uma

melhora progressiva nas estimativas globais quando comparados aos anos de 2023 e 2022, períodos em que o total de óbitos foi estimado entre 1,27 milhão e 1,32 milhão, respectivamente (WHO, 2025).

No Brasil, a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente levantou que em 2020, o número de novos casos de TB teve uma redução de 11,15 % em relação ao ano anterior (de 78.423 para 69.681 casos), denotando impacto claro da pandemia de COVID-19, no diagnóstico, notificação, e consequentemente, no tratamento da doença. Como um possível reflexo da redução da detecção de pessoas com TB em decorrência da pandemia, e com a retomada das ações de controle da doença no país, em 2023 o Brasil registrou o maior número de novos casos dos últimos 10 anos, com total de 84.994 novas infecções. Já em relação ao número de óbitos, comparado a 2019, o aumento observado em 2020 foi de 0,8 %, e o de 2021 foi 11,9 % totalizando 4.569 e 5.120 óbitos, respectivamente. Em 2023, o total de óbitos alcançou a marca de 6.025, representando um aumento de aproximadamente 32,9 % em comparação a anos pré-pandêmicos. Na série histórica, os aumentos mencionados interromperam uma tendência de queda que vinha sendo observada no país a mais de duas décadas — sendo 2002 o último ano em que o número de mortes por TB havia superado 5.000. Além disso, dentre os óbitos com TB mencionada como causa, destacam-se os ocorridos em pacientes com coinfeção por HIV, cujos total foi de 1.894 óbitos em 2023 (Brasil, 2025).

1.3 TRATAMENTO

O protocolo de tratamento específico da TB varia de acordo com as diretrizes dos países e a sensibilidade do bacilo, e geralmente envolve uma combinação de dois ou mais medicamentos anti-TB, os quais são classificados como fármacos de primeira e segunda escolha. Os fármacos de primeira escolha abrangem a isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida, enquanto os fármacos de segunda escolha abrangem a *D*-cicloserina, ácido *para*-aminossalicílico, fluoroquinolonas, bedaquilina, linezolida, delamanida, entre outros. (Martínez-Campreciós, Espinosa-Pereiro, Sánchez-Montalvá, 2024; WHO, 2020, 2025; Zumla *et al.*, 2015)

No Brasil, o Ministério da Saúde estabeleceu que para adultos e adolescentes o protocolo terapêutico para TB pulmonar recém diagnosticada e não rifampicina/isoniazida resistente, envolve a combinação de isoniazida, rifampicina, etambutol e pirazinamida por dois meses, seguidos de quatro meses de manutenção com rifampicina e isoniazida (Brasil, 2019). Esse

regime é descrito com cerca de 85 % de taxa de cura em pacientes sem coinfeção por HIV. Apesar disso, o Boletim Epidemiológico do Brasil de 2025 aponta uma queda progressiva na taxa de cura da TB a partir de 2016, com 66,0 % dos casos apresentando desfecho de cura no ano de 2023, configurando o menor percentual observado nesse período (Brasil, 2025).

Por outro lado, quando envolve formas resistentes do bacilo como é o caso da TB multirresistente (MDR-TB) ou da TB extensivamente resistente (XDR-TB), a taxa de cura diminui significativamente comparado a forma não resistente, sendo ainda substancialmente menor para XDR-TB, em comparação às outras formas. A classificação em MDR-TB ou XDR-TB segue um critério fundamentado na resistência do bacilo, no qual as cepas causadoras da MDR-TB são definidas como resistentes a isoniazida e rifampicina, e as XDR-TB, definidas como resistentes a rifampicina, qualquer fluoroquinolona e a bedaquilina ou linezolida (WHO, 2020, 2025)

O tratamento das formas resistentes não está completamente claro e não é específico, devendo ser adequado conforme a sensibilidade do bacilo em questão e geralmente combinado a uma extensão do período de tratamento (mínimo de 18 meses). Apesar disso, alguns protocolos terapêuticos preconizam o uso de bedaquilina, linezolida e delamanida, classificados como principais fármacos de segunda escolha, associados com outros fármacos como, as fluoroquinolonas, pretomanida, *D*-cicloserina, derivados nitroimidazóis, entre outros (WHO, 2025; Martínez-Camprecíos, Espinosa-Pereiro, Sánchez-Montalvá, 2024)

A seleção dos fármacos para a composição do tratamento da MDR-TB ou XDR-TB vai variar de acordo com o tipo de resistência do bacilo (mono ou multirresistência) e a duração do tratamento, com a evolução clínica do indivíduo (resultados de baciloscopia negativa) (Brasil, 2019; Carneiro, 2013). Todavia, apesar das possibilidades, os fármacos comumente empregados para o tratamento da MDR-TB e XDR-TB, apresentam menor efetividade, maior custo, demandam alongamento do período terapêutico e ainda são mais tóxicos do que os fármacos de primeira escolha (dos Santos *et al.*, 2012; Lapausa, Pareja e Asensio, 2013).

1.4 DESAFIOS

São diversos os fatores que globalmente representam barreiras importantes para a eliminação da TB e que implicam na elevada taxa de óbito. Dentre eles, além do surgimento de cepas resistentes aos fármacos, tratamento de longa duração e interações medicamentosas, a presença de coinfeções, falta de acesso ao diagnóstico e aos medicamentos, falta de intervenção governamental, falta de investimento em pesquisas, e aspectos bio-psico-sociais,

como a pobreza, preconceito e medo, são os principais desafios vigentes para o “*ending the global TB epidemic*” (Fernandes *et. al.*, 2015; Gonsalves da Gama *et. al.*, 2019; Yem, 2002; Pooranagangadevi e Padmapriyadarsini, 2022). Outro agravante nesse cenário foi a pandemia de COVID-19, que prejudicou e muito o acesso ao diagnóstico e tratamento da TB em 2020 e 2021, impactando diretamente em um aumento das estimativas para número de mortos pela doença. Essa somatória de fatores reforçam as complexidades do gerenciamento e tratamento da TB ao redor do mundo (Alene, Wangdi e Clements, 2020).

1.5 AVANÇOS RECENTES E PERSPECTIVAS

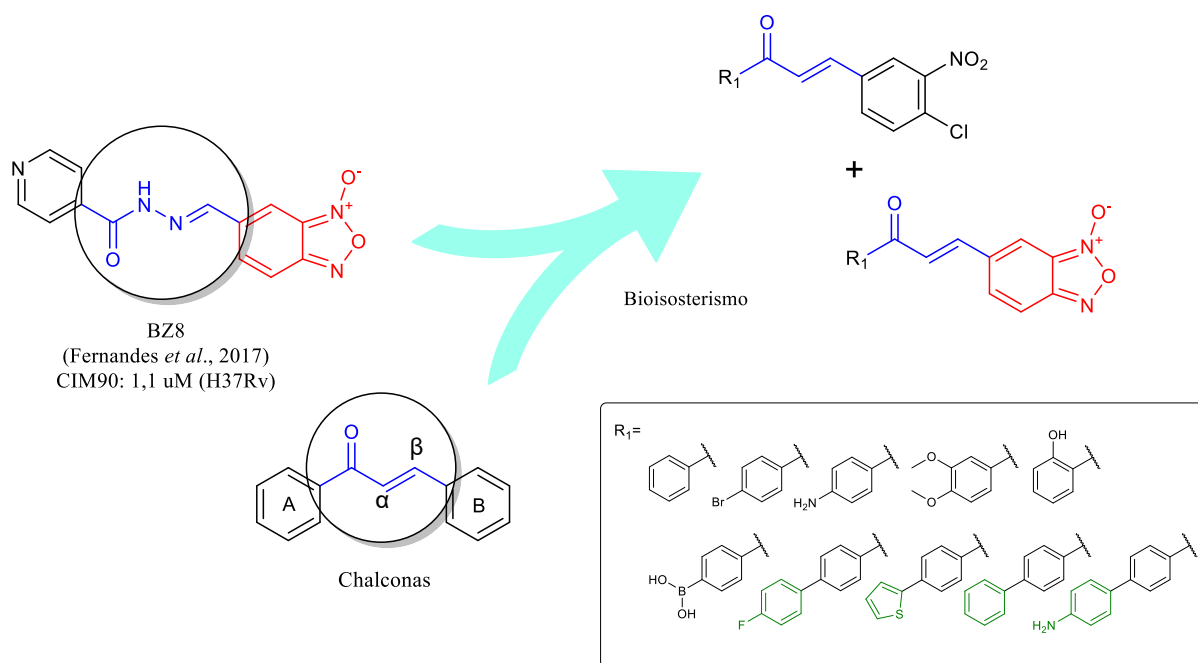
A busca por novos compostos com fins farmacológicos para tratar a TB, principalmente as formas resistentes é urgente. Em vista das problemáticas apontadas acima, o grupo de pesquisa Lapdesf, tem trabalhado no planejamento e síntese de novos agentes anti-TB. Em um dos projetos desenvolvidos pelo grupo, foi obtido o composto BZ8, o qual mostrou-se potente tanto frente a cepas sensíveis de Mtb, como frente as multirresistentes, além de levar a esterilização de pulmões de camundongos infectados com Mtb. Por esse motivo, o BZ8 passou a fazer parte do portfólio de candidatos a fármacos promissores do grupo *TB Alliance* (Fernandes *et al.*, 2017). Contudo, apesar dos resultados iniciais promissores, a instabilidade em condições ácidas do sistema *N*-acilhidrazona presente no BZ8, foi um grande inconveniente para uso oral e por isso, no presente trabalho usou-se do bioisosterismo para tentar solucionar esse problema. Dessa forma, a *N*-acilhidrazona presente no BZ8 foi substituída por um sistema cetona α,β -insaturado, característico das chalconas (Rodríguez-Silva *et al.*, 2022).

Entre os *scaffolds* explorados no planejamento molecular deste projeto, destaca-se o benzofuroxano — um grupo funcional heterocíclico pertencente à classe dos *N*-óxidos — presente na estrutura do BZ8 e amplamente descrito na literatura por suas atividades biológicas promissoras contra o Mtb (Khanam *et al.*, 2015). A atividade antimicobacteriana é uma das aplicações mais relevantes atribuídas a esse grupo funcional, cujos resultados experimentais vêm consolidando o benzofuroxano como um potencial novo *scaffold* para o desenvolvimento de agentes antituberculares (Fernandes, Pavan e dos Santos, 2018; Fernandes *et al.*, 2021).

As chalconas, por sua vez, são moléculas precursoras dos flavonoides e isoflavonoides, formadas por dois anéis aromáticos ligados entre si por uma ponte de carbonos contendo uma ligação dupla entre os carbonos alfa e beta de uma carbonila (**Figura 1**). Devido ao sistema α,β -insaturado, as chalconas podem atuar como aceptores de Michael mais ou menos reativos

a depender da posição e características dos substituintes e, a partir disso formar, ligações covalentes com outros compostos (Klein, 2016.). Como demonstrado por Rammohan (2020) e Rodríguez-Silva *et al.* (2022), as chalconas têm se destacado por sua atividade relevante frente a uma ampla gama de doenças e patógenos, configurando-se, portanto, como um *scaffold* promissor para modificações estruturais. No entanto, embora suas características químicas possam favorecer a ação terapêutica em diferentes contextos clínicos, essa mesma reatividade também exige atenção, pois pode estar associada a potenciais mecanismos de toxicidade em sistemas biológicos.

Figura 1 – Alteração bioisostérica da função *N*-acilhidrazona do composto BZ8 para a função carbonila α,β -insaturada (chalcona).



Fonte: Adaptado de: Fernandes, *et al.* 2017, e Rammonhan, *et al.*, 2020.

Outro ponto que corrobora para a condução do presente trabalho é que além da semelhança estrutural com a *N*-acilhidrazona, as chalconas já vem sendo descritas na literatura com efeito antimicobacteriano bem estabelecido, e por isso a modificação estrutural planejada tem o potencial de levar ao aumento da atividade anti-Mtb, bem como melhorar aspectos negativos de instabilidade do BZ8. Ao mesmo tempo, a manutenção do anel benzofuroxano nas estruturas planejadas torna-se mais um contribuinte para o potencial desses compostos como candidatos à fármacos antimicobacterianos.

Em suma, dado o estado epidemiológico atual da TB, a existência de cepas resistentes e de coinfeções, longos períodos de tratamento, a toxicidade dos medicamentos disponíveis, bem como outros desafios para o “*ending the global TB epidemic*”, que se faz necessário a busca por novas moléculas candidatas a fármacos antituberculares. Apoiado por descobertas recentes e dados robustos da literatura que o presente trabalho se propõe, por meio da síntese de novas chalconas acopladas a benzofuroxanos, a buscar novos agentes anti-TB com o objetivo de melhorar aspectos moleculares negativos do BZ8 e trazer a luz alternativas mais efetivas contra as cepas resistentes.

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Sintetizar e avaliar biologicamente chalconas funcionalizadas com núcleo benzofuroxano, com foco na investigação de sua capacidade de inibir a atividade de cepas de Mtb.

Objetivos específicos

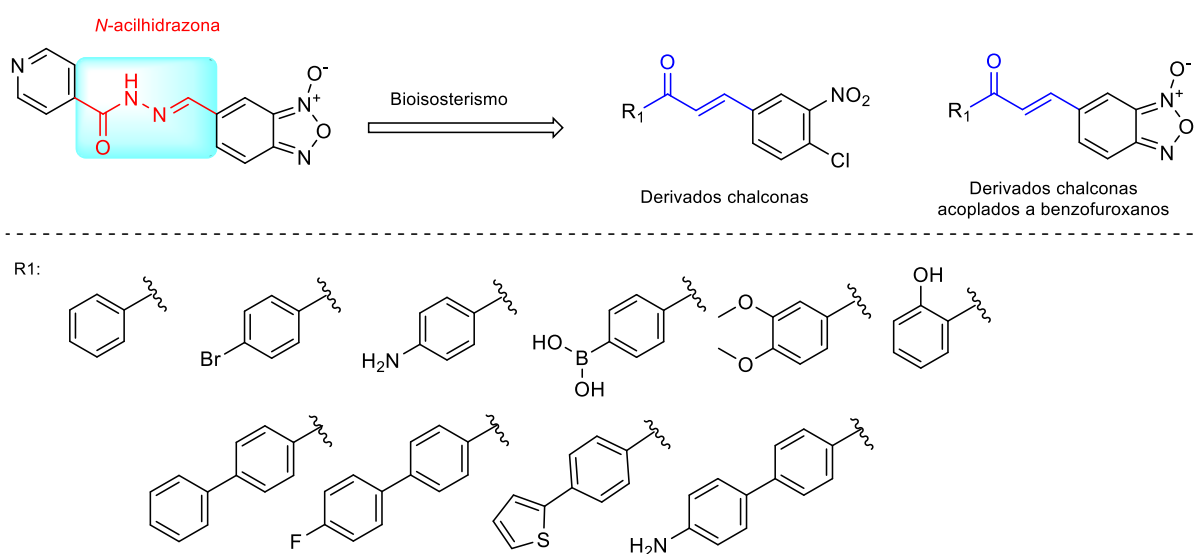
- Realizar a síntese de derivados de chalconas, incluindo compostos funcionais com potencial atividade antimicrobiana.
- Purificar os compostos obtidos por meio de técnicas cromatográficas adequadas, visando a obtenção de substâncias com alto grau de pureza.
- Caracterizar estruturalmente os compostos intermediários e finais utilizando técnicas espectroscópicas, como RMN (^1H e ^{13}C) e IV.
- Avaliar a atividade antimicrobiana dos compostos sintetizados por meio de ensaios de inibição frente a cepas de Mtb.
- Determinar o perfil de citotoxicidade dos compostos ativos em linhagens celulares não tumorais, com posterior cálculo do índice de seletividade (IS).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PLANEJAMENTO E SELEÇÃO DA ROTA SINTÉTICA

Com base na técnica do bioisosterismo foi realizado a troca do grupamento *N*-acilhidrazona pela cetona α,β -insaturada (chalcona) e os compostos planejados contemplaram chalconas acopladas e não acopladas a benzofuroxano (**Figura 2**). O esquema proposto inicialmente previu a obtenção de chalconas por meio de rotas convergentes, que utilizaram, principalmente, como reagente de partida um aldeído e uma acetofenona (**Figura 3**).

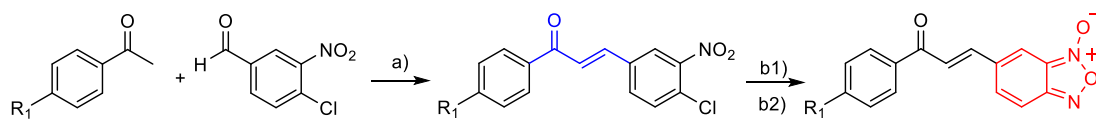
Figura 2 – Planejamento dos compostos por bioisosterismo.



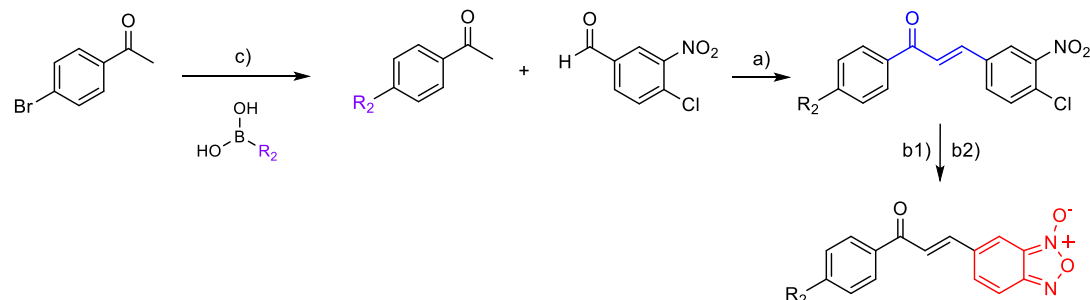
Em uma etapa adicional, foi proposto a inserção de aromáticos substituídos, por acoplamento de Suzuki, para a obtenção de intermediários bifenilados. Estes por sua vez, foram submetidos sequencialmente a condensação e ciclocondensação térmica para formação de chalconas acopladas a benzofuroxano (**Figura 3**).

Figura 3 – Metodologia sintética otimizada para obtenção da série de chalconas contendo a função *N*-óxido (benzofuroxano).

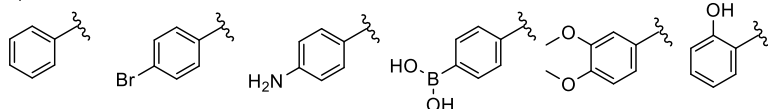
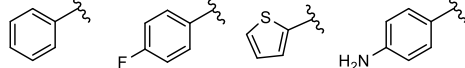
Rota sintética A



Rota sintética B



a) EtOH, NaOH 10%; b) b1. NaN₃, DMSO, 75°C; b2. Tolueno, refluxo, 110°C; c) 1,4-dioxano, Cs₂CO₃, tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0), refluxo, 110°C.

R₁:R₂:

Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2 SINTESE DOS COMPOSTOS

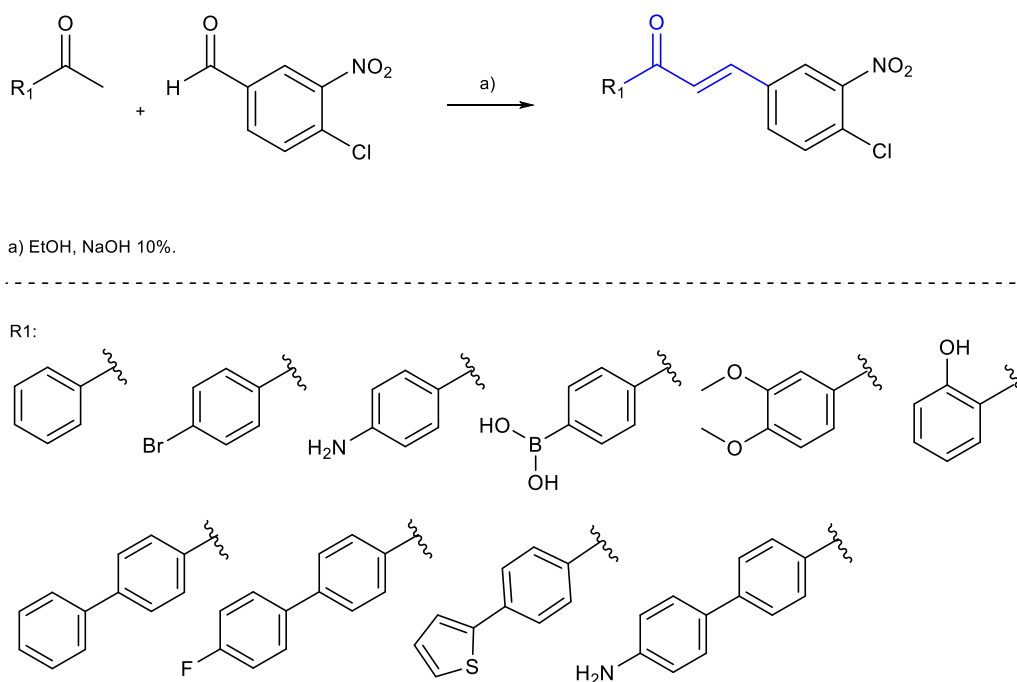
3.2.1 Síntese das chalconas

A síntese dos compostos iniciou-se pela rota sintética A, utilizando como reagentes as respectivas acetofenonas (acetofenona, 4-bromoacetofenona, 4-aminoacetofenona e 1-(3,4-dimetoxifenil)etanona) e o 4-cloro3-nitrobenzaldeído (**Figura 4**).

Em um balão de 50 mL adicionou-se acetofenona (3 mmol (350,0 µL); 1,0 Eq.) e NaOH (3 mmol (120,0 mg); 1,0 Eq.) em 15 mL de EtOH. A reação foi mantida sob agitação constante por 15 minutos e em seguida foi adicionado o 4-cloro3-nitrobenzaldeído (3 mmol (556,6 mg); 1,0 Eq.). A reação foi mantida sob agitação constante e em temperatura ambiente de 2 a 24 h. Em seguida, o precipitado formado foi filtrado sob pressão reduzida, lavado com água destilada gelada e seco em temperatura ambiente. Em reações em que havia a necessidade, a mistura

reacional foi acidificada até pH = 7,0, posteriormente o balão permaneceu em banho de gelo e foi armazenado sob refrigeração a 4 °C por 24 h. O precipitado formado foi imediatamente filtrado. Os produtos impuros foram purificados por cromatografia de coluna utilizando sílica gel (poros de 60 Å, partículas 40-60 µm), com Hex/AcOEt 8:2 ou Hex/THF 8:2.

Figura 4 – Esquema reacional da etapa de condensação de Claisen-Schmidt – formação das chalconas.



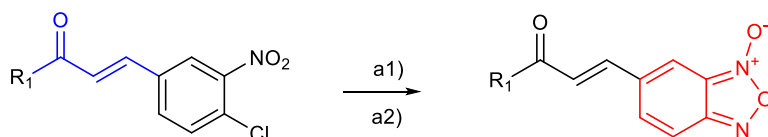
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.2 Síntese do benzofuroxano

Na primeira etapa, adicionou-se em um balão de 10 mL, contendo 4 mL de dimetilsulfóxido (DMSO), o derivado chalcona P1 (1 mmol (287,7 mg); 1 Eq.), seguido da adição de azida de sódio (1 mmol (65,0 mg); 1 Eq.), cuidadosamente para que a temperatura do meio não ultrapassasse os 80 °C. Ao término da adição, a reação foi mantida sob agitação constante e temperatura de 75 °C por 1 h (**Figura 5**). Logo em seguida, o balão contendo o meio reacional foi colocado em banho de gelo, e na sequência foi submetido a extração com AcOEt e água (4 x 20 mL). A fase orgânica foi coletada, seca com Na₂SO₄ anidro, filtrada e o solvente removido sob pressão reduzida. Em seguida, o produto foi transferido para um balão de 10 mL e dissolvido com 4 mL de tolueno anidro, ficando em refluxo por 90 min., a 110 °C,

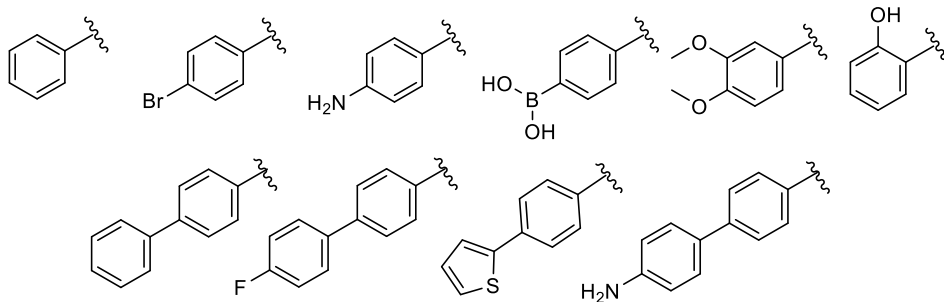
com agitação constante. Após o tempo reacional, o solvente foi removido sob pressão reduzida e a mistura reacional foi purificada por cromatografia em coluna utilizando sílica gel (poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com Hex/AcOEt 8/2 + 2% de MeOH.

Figura 5 – Esquema reacional da etapa de ciclocondensação térmica.



a) a1. NaN₃, DMSO, 75°C; a2. Tolueno, refluxo, 110°C.

R1:



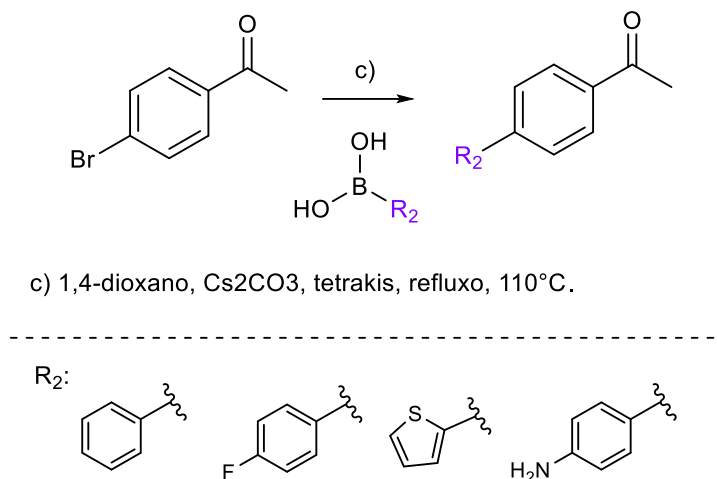
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2.3 Síntese acoplamento de Suzuki

Dentre os agentes acoplantes utilizados têm-se o ácido 4-fluorofenilborônico, ácido tiofeno2-borônico, ácido 4-aminofenilborônico pinacol éster e ácido fenilborônico. Em um balão de 25 mL, adicionou-se a 4-bromoacetofenona (0,5 mmol (99,5 mg); 1 Eq.), com o ácido borônico ou ester de ácido borônico (0,65 mmol; 1,3 Eq.), carbonato de cério (1,3 mmol (423,6 mg); 2,6 Eq.) e tetrakis(trifenilfosfina)paládio(0) (0,035 mmol (40,4 mg); 0,075 Eq.), em 10 mL de 1,4-dioxano e 1 mL de água. O meio reacional foi mantido sob agitação constante por 24 h, a temperatura de 110 °C (**Figura 6**). Após o tempo de reação, o meio foi filtrado em celite e lavado com MeOH, na qual o solvente resultante foi removido sob pressão reduzida. O conteúdo seco foi extraído com porções de AcOEt e água (4 x 50 mL), sendo a fase orgânica coletada, seca com Na₂SO₄ anidro e filtrada. O AcOEt excedente foi removido sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia de coluna utilizando sílica gel (poros de 60 Å e partículas de 40-60 µm), com Hex/AcOEt 9:1 ou Hex/AcOEt/THF 7:2:1. As etapas

posteriores de condensação de Claisen-Schmidt e posterior ciclocondensação térmica seguiram conforme descrito previamente.

Figura 6 – Esquema reacional da etapa de acoplamento Suzuki.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS: IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL

3.3.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Placas cromatográficas de alumínio (AL TLC) de sílica gel 60 F₂₅₄ Merck® ou Sigma® foram utilizadas para acompanhamento reacional, avaliação da formação dos produtos e subprodutos e, durante a separação dos compostos em coluna cromatográfica. A visualização das placas foi realizada através da exposição à luz ultravioleta (254 e 365 nm), em câmara apropriada.

3.3.2 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

Os experimentos de RMN unidimensionais e bidimensionais foram conduzidos no Instituto de Química (UNESP - Araraquara), nas amostras solubilizadas em DMSO-*d*₆. Os espectros de RMN unidimensionais para ¹H foram obtidos no equipamento Bruker Fourier 300, enquanto os espectros para ¹³C e os bidimensionais HMBC e HSBC, foram realizados no equipamento Bruker® modelo Ascend® 600.

3.3.3 Espectroscopia de infravermelho (IV)

Para obtenção dos espectros de IV, foram feitas pastilhas de KBr para cada um dos compostos obtidos. Os espectros de absorção IV das pastilhas formuladas com as amostras foram obtidos no equipamento Shimadzu® modelo IR Prestige-21 Corporation, com leituras na região de 4.000 a 400 cm^{-1} .

3.3.4 Faixa de fusão

A determinação da faixa de fusão para cada chalcona e benzofuroxano obtido, foi realizada no equipamento SMP3 da Bibby Stuart Scientific®. Cada amostra, foi colocada em 3 capilares de vidro de fundo selado e todos foram introduzidos no equipamento em temperatura ambiente (25 °C a 30 °C). Foi programado para que o aumento da temperatura do equipamento fosse de 10 °C por min. A faixa de fusão foi determinada como sendo o intervalo de temperatura em que foi observado o derretimento do primeiro e do último cristal do composto, respectivamente.

3.4 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios *in vitro* foram realizados conforme o protocolo descrito a seguir, em colaboração com o Laboratório de Pesquisa de Novos Fármacos Contra a Tuberculose, sob coordenação do Prof. Dr. Fernando R. Pavan. As análises experimentais foram conduzidas pelo Me. Christian S. Carnero Canales.

3.4.1 Cultivo de cepas de Mtb

Nos ensaios com micobactérias, foi utilizada a cepa de referência Mtb H₃₇Rv. Para o cultivo, criotubos contendo a cepa H₃₇Rv foram descongelados e seu conteúdo foi semeado em tubos inclinados contendo meio sólido seletivo Lowenstein-Jensen (LJ). Os tubos foram incubados em estufa a 37 °C por aproximadamente 21 dias, até o crescimento de colônias visíveis. Posteriormente, colônias isoladas foram transferidas para meio líquido Middlebrook 7H9 suplementado com 10 % de OADC (suplemento para meio de cultura contendo: ácido oleico, albumina, dextrose e catalase), sendo incubadas em agitador orbital (shaker) a 37 °C por 7 dias.

3.4.1.1 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM₉₀)

O ensaio de atividade antimicrobiana foi conduzido conforme a metodologia de microdiluição em placas de 96 poços, utilizando a resazurina como indicador de viabilidade celular REMA, conforme descrito por Palomino *et al.* (2002).

Inicialmente, foram adicionados 100 µL de meio de cultura Middlebrook 7H9, suplementado com 10 % de OADC, nos poços das colunas 1 a 11 da placa. Em seguida, 100 µL de uma solução dos compostos de interesse (P1, P9, P10 e P12), previamente solubilizados em DMSO, foram adicionados nos poços da coluna 2 (um composto por linha). Após homogeneização, procedeu-se à diluição seriada bidirecional ao longo das colunas, transferindo-se 100 µL da solução da coluna 2 para a coluna 3, e assim sucessivamente até a coluna 10, com homogeneização entre cada transferência. Os 100 µL finais da diluição (provenientes da coluna 10) foram transferidos para os poços correspondentes da coluna 1, configurando o controle de esterilidade do composto.

As suspensões microbianas utilizadas nos ensaios foram preparadas a partir de culturas ativas, diluídas em meio de cultura apropriado até atingirem densidades celulares específicas. Para as cepas de Mtb H₃₇Rv, foi utilizada uma suspensão correspondente 1,0 na escala de McFarland. Posteriormente, a suspensão foi diluída na proporção de 1:100 em meio de cultura e, então, 100 µL da suspensão diluída foram adicionados aos poços das colunas 2 a 11 da placa de 96 poços previamente preparada com os compostos a serem analisados.

Os devidos controles experimentais foram incluídos no ensaio. Em uma das linhas da placa foi realizado o controle do solvente, com a adição da mesma concentração de DMSO utilizada na solubilização dos compostos, partindo de 2,5 % e efetuando-se diluição seriada pela metade nos poços subsequentes à direita, a fim de avaliar seu possível efeito intrínseco sobre o microrganismo testado. Os poços da coluna 11 foram adicionados apenas a suspensão microbiana e o meio de cultura, constituindo o controle positivo de crescimento. E, por fim, os poços da coluna 12 receberam 200 µL do meio de cultura estéril, configurando o controle negativo do crescimento microbiano.

As placas de 96 poços foram incubadas sob condições apropriadas de temperatura (37 °C) por um período de 7 dias. Após o período de incubação, foram adicionados 30 µL de uma solução de resazurina a 0,01 % (m/v) a cada poço, seguida de uma nova incubação de 24 h.

A leitura foi realizada em leitor de microplacas Cytation 3 (BioTek®), utilizando comprimento de onda de excitação em 530 nm e de emissão em 590 nm. A concentração inibitória mínima (CIM) foi definida como a menor concentração do composto capaz de inibir ≥ 90 % do crescimento microbiano em comparação ao controle positivo, conforme determinado pela intensidade do sinal de fluorescência.

3.4.2 Cultivo celular

Os testes envolvendo células utilizaram 2 linhagens celulares: macrófagos de tumor ascítico de camundongos J774A.1 e fibroblasto pulmonar humano normal MRC-5. Ambas as linhagens foram mantidas em garrafas de cultivo celular seguindo as condições específicas conforme suas necessidades metabólicas.

Considerando que o Mtb é um patógeno primordialmente pulmonar e que os macrófagos alveolares atuam como células hospedeiras centrais na patogênese da TB, a seleção das linhagens MRC-5 e J774A.1 mostra-se coerente com uma triagem *in vitro* direcionada à avaliação da potencial citotoxicidade de novos candidatos a fármacos anti-Mtb. Por esse motivo, essas linhagens foram escolhidas para a condução dos ensaios de citotoxicidade no presente trabalho.

Os macrófagos J774A.1 foram mantidos em meio RPMI suplementado com 10 % de soro fetal bovino (SFB), 1 % de antibióticos e antimicóticos. Os fibroblastos MRC-5 foram cultivados em meio DMEM com baixa concentração de glicose suplementados com 10 % de SFB e 1 % de antibióticos e antimicóticos.

A troca de meios de cultivo para as linhagens J774A.1 e fibroblastos foi realizada a cada três dias, havendo uma previa lavagem das garrafas com tampão fosfato (PBS) pH = 7,4, visando a remoção de metabólitos residuais, seguida de uma reposição do meio de cultura. As garrafas foram mantidas em estufa a 37 °C, em atmosfera umidificada com saturação de CO₂ de 5 %, até atingirem uma confluência celular de 70 % para serem utilizadas nos experimentos.

3.4.2.1 Índice de citotoxicidade (IC)

Para esse ensaio, a cultura de fibroblasto pulmonar humano normal MRC-5, mantida em garrafas de cultivo, tiveram seu meio de cultura removido e foram lavadas com PBS, visando a remoção de resquícios de SFB, que poderiam inibir a ação da enzima tripsina. As

células foram desprendidas da garrafa por tripsinização. Por outro lado, os macrófagos J774A.1, foram removidos por ação mecânica usando um *scraper*.

Para as células tratadas com tripsina, adicionou-se um volume três vezes maior ao adicionado de tripsina de meio de cultura contendo SFB, de forma a inativar essa enzima. As suspensões celulares foram centrifugadas 3000 RPM por 5 min., o sobrenadante foi descartado e o pellet celular foi ressuspenso em 2 mL de meio de cultura fresco correspondente a linhagem celular utilizada.

Em seguida, as células foram quantificadas realizando a contagem em câmara de Neubauer. Com essa determinação calculava-se a diluição adequada para a obtenção de 1×10^3 células por poço. Após o plaqueamento as placas foram incubadas em estufa a 37 °C com saturação de CO₂ de 5 %, por 24 h para permitir a aderência celular.

Após o período de incubação, confirmava-se a aderência celular utilizando um microscópio invertido. Com essa confirmação, o meio de cultura era cuidadosamente retirado da placa e substituído por um novo meio contendo diferentes concentrações dos compostos de interesse (P1, P9, P10 e P12). Nesse experimento foram utilizados os controles de viabilidade celular (controle positivo de crescimento), de esterilidade do meio de cultura (controle negativo de crescimento) e de esterilidade do composto.

Por fim, a placa teste foi incubada por 24 h em estufa, e, ao final desse período, adicionou-se 30 µL de resazurina a 0,01 (m/v) em cada poço. A leitura da viabilidade celular foi realizada após 6 h, utilizando leitor de microplacas (Cytation 3, BioTek®) utilizando comprimento de onda de excitação em 530 nm e de emissão em 590 nm. O IC₅₀ foi definido como a maior concentração de cada molécula onde 50 % das células permaneceram viáveis, em comparação ao controle positivo, conforme determinado pela intensidade do sinal de fluorescência.

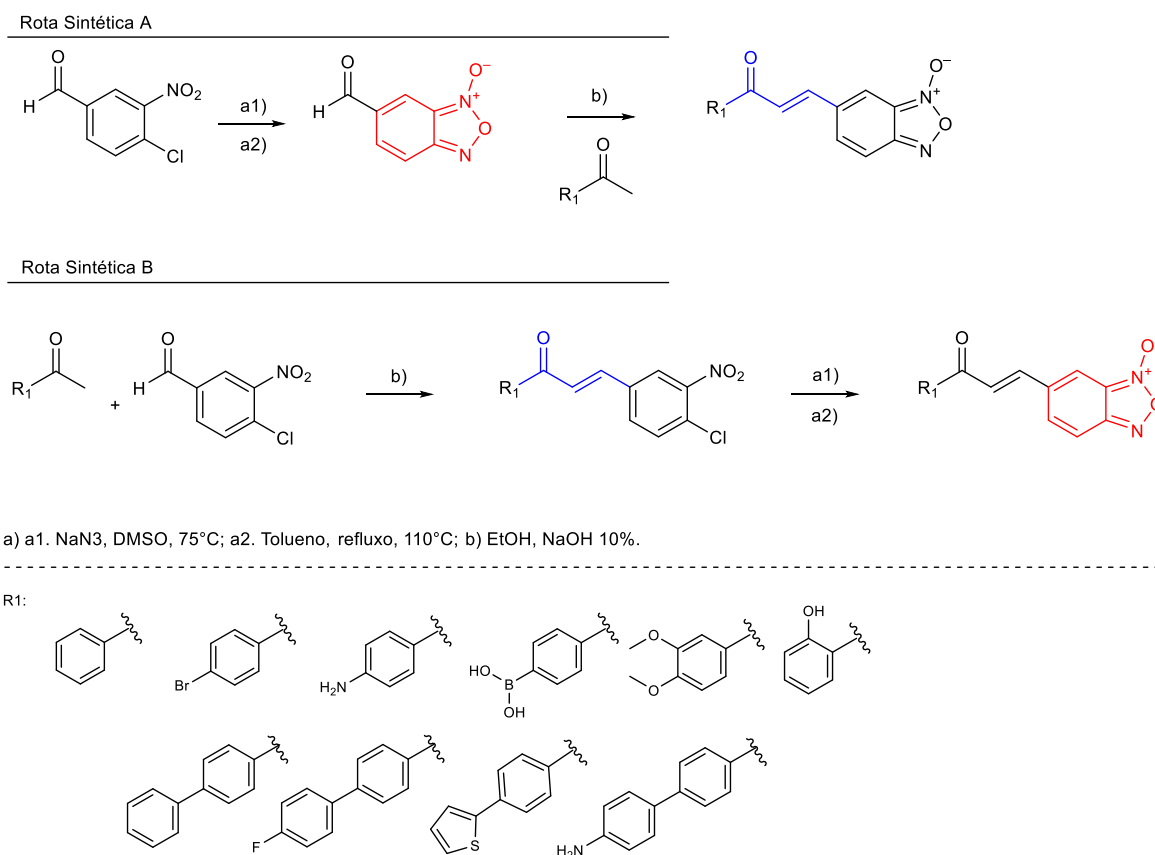
3.4.3 Índice de seletividade (IS)

O IS nada mais é do que um valor numérico atribuído a uma molécula com potencial farmacológico, que representa a razão entre a dose necessária para causar efeito citotóxico (CI₅₀) e a dose necessária para obtenção do efeito desejado (CIM₉₀) ($IS = CI_{50} / CIM_{90}$), conforme descrito por Orme (2001). Também de acordo com esse autor, moléculas com IS maior ou igual a 10 costumam ser classificadas como promissoras, em triagens pré-clínicas de potenciais compostos para o tratamento da TB.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de investigar qual rota sintética forneceria o composto final com maior rendimento e com menores impurezas foram testadas inicialmente as rotas “A” e “B”, como exemplificado na **Figura 7**.

Figura 7 – Avaliação e seleção da melhor rota sintética para obtenção das chalconas e benzofuroxanos.

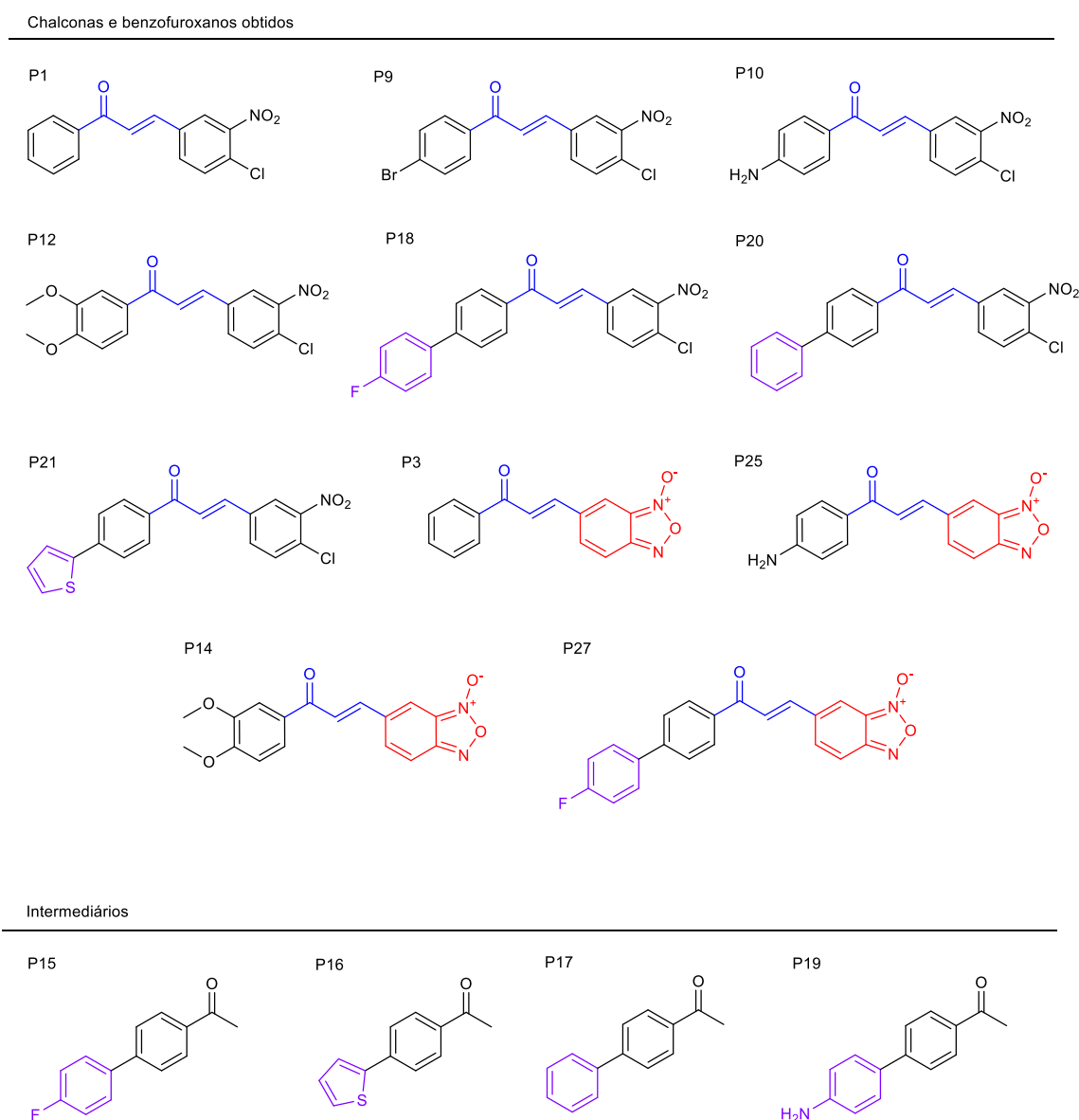


Fonte: Elaborado pelo autor.

Após alguns testes, e como reforçado por Castro *et al.*, 2009, a até então denominada rota sintética “A” não se mostrou eficiente para a obtenção de chalconas acopladas a benzofuroxanos, e por esse motivo foi descartada como uma via sintética viável para esse projeto. Assim, partindo desse conhecimento, foram definidas como rotas viáveis as que começassem pela reação de condensação de Claisen-Schmidt e posterior ciclocondensação térmica do benzofuroxano como demonstrado na **Figura 3**.

Foram obtidos quatro intermediários (**P15**, **P16**, **P17** e **P19**), sete derivados chalconas (**P1**, **P9**, **P10**, **P12**, **P18**, **P20** e **P21**) e quatro derivados chalcona acoplado ao benzofuroxano (**P3**, **P14**, **P25** e **P27**), totalizando 15 compostos, os quais foram caracterizados por Ressonância Magnética Nuclear (RMN) com os experimentos ^1H , ^{13}C , HMBC e HSQC, e infravermelho (IV) (**Figura 8**).

Figura 8 - Chalconas e benzofuroxanos sintetizados.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Dentre as chalconas e benzofuroxanos sintetizadas, os rendimentos variam de 6 % a 80 %, enquanto para os produtos de Suzuki (intermediários) os rendimentos foram de 66 % (P15),

30 % (P16), 58 % (P17) e 98 % (P19). A faixa de fusão e os respectivos rendimentos estão evidenciados na **Tabela 5**.

De modo geral as chalconas apresentaram rendimentos entre 80 % e 40 % com colorações que variaram de creme a amarelo intenso. Apesar dos rendimentos bons para os compostos α,β -insaturados não acoplados a benzofuroxano, a purificação destes foi complexa devido à baixa solubilidade dos mesmos em solventes orgânicos e em água, sendo inclusive um fator que impediu o isolamento e subsequente caracterização de alguns dos compostos inicialmente planejados. A dificuldade na obtenção e isolamento foi particularmente evidente para as chalconas produtos dos reagentes ácido (4-acetilfenil)borônico, 1-(2-hidroxifenil)etan-1-ona e 1-(4'-amino-[1,1'-bifenil]-4-il)etan-1-ona.

Já as chalconas previamente purificadas e submetidas a ciclo condensação térmica, alcançaram rendimentos entre 6 % e 30 %, com exceção do P14, para o qual o rendimento foi de 50 %. Para estes compostos em específico, foi observado que o fechamento do anel furoxano contribuiu ainda mais para redução da solubilidade, o que por sua vez, dificultou mais a purificação e refletiu nos menores rendimentos destes compostos. Métodos alternativos de separação, como a recristalização, foram testados para as chalconas acopladas e não acopladas aos benzofuroxanos, porém apesar das tentativas não houve sucesso para a maioria dos casos.

Por outro lado, os intermediários da reação de Suzuki, foram obtidos com bons rendimentos e sem grandes entraves para a purificação.

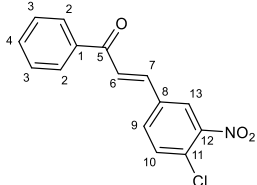
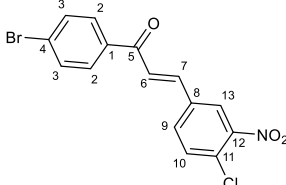
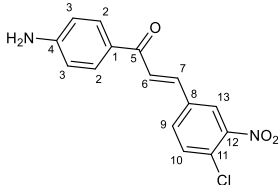
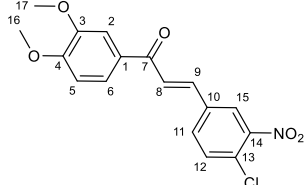
A caracterização estrutural das moléculas sintetizadas foi realizada por meio de análises de RMN (^1H e ^{13}C), incluindo experimentos bidimensionais (HMBC e HSQC), e complementadas pela interpretação dos espectros de IV. A análise dos dados foi fundamentada nas referências clássicas de Silverstein *et al.* (2007) e Pavia *et al.* (2012).

Com a análise por RMN foi possível observar padrões de sinais e de deslocamento em hidrogênios correspondentes em todas as estruturas. De modo geral, os sinais dos hidrogênios da dupla ligação apareceram com deslocamento químico médio de δ 8.13 ppm e δ 7.76 ppm, ambos integrandos para um hidrogênio e com constante de acoplamento (J) de 15.6 Hz e 15.7 Hz, indicando acoplamento *trans*. Outro sinal muito característico destas moléculas, exceto para os benzofuroxanos, é o, referente ao hidrogênio *orto* ao grupo nitro, que aparece como um duplete com acoplamento *meta* de 2.0 Hz, deslocamento médio de 8.66 ppm, e integração para um hidrogênio. O elevado deslocamento desse hidrogênio se deve ao efeito de desblindagem

provocado pelo grupo nitro vizinho, não sendo, portanto, observado o mesmo fenômeno após a realização da ciclocondensação térmica.

Os espectros de P9, P10 e P12 se diferenciam do P1 pela ausência do multipeto de H₄ em 7.72 – 7.67 ppm com integração para um hidrogênio e se diferenciam entre si pela amina primária (P10) em 6.24 ppm como singlete com integração para dois hidrogênios e, pelas metoxilas (P12) em 3.86 ppm e 3.88 ppm, ambas integrando para três hidrogênios cada. O hidrogênio H₉ (P1, P9 e P10) e H₁₁ (P12), aparece no espectro como um duplo dupeto com deslocamento em torno de 8.18 ppm, quando não sobreposto, e constante de acoplamento *orto* de 8.5 Hz e *meta* de 2.0 Hz. De mesmo modo, é visto para o hidrogênio H₁₀ (P1, P9 e P10) e H₁₂ (P12) uma similaridade em todos os compostos, no qual tal hidrogênio aparece como dupeto com deslocamento de 7.86 ppm com integração para um e constante de 8.4 Hz, indicando acoplamento *orto* (**Tabela 1**).

Tabela 1 – Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C das chalconas (P1, P9, P10 e P12).

   								
P1			P9		P10		P12	
Posição	δ _H (ppm)	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	δ _C (ppm)	δ _H (ppm)	δ _C (ppm)
1	—	137,47	—	136,11	—	125,45	—	130,14
2	8.23 – 8.17 (m, 2H)	129,17	8.12 (m, 2H)	130,71	7.95 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H)	131,87	7.60 (d, <i>J</i> = 2,0 Hz, 1H)	110,74
3	7.59 (t, <i>J</i> = 7.8 Hz, 2H)	129,33	7.81 – 7.79 (m, 2H)	131,93	6.62 (d, <i>J</i> = 8.8 Hz, 2H)	113,20	—	148,92
4	7.72 – 7.67 (m, 1H)	134,01	—	127,78	—	154,70	—	153,61
5	—	189,34	—	188,02	—	185,79	7.11 (d, <i>J</i> = 8.5 Hz, 1H)	110,88
6	8.14 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	125,66	8.12 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	124,84	8.06 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	126,28	7.96 (dd, <i>J</i> = 8.5, 2.1 Hz, 1H)	123,88
7	7.79 (d, <i>J</i> = 15.7 Hz, 1H)	140,72	7.79 (d, <i>J</i> = 15.7 Hz, 1H)	140,73	7.63 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	138,18	—	187,45
8	—	135,94	—	135,87	—	136,52	8.13 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	125,17
9	8.23 – 8.17 (m, 1H)	134,25	8.21 (dd, <i>J</i> = 8.5, 2.0 Hz, 1H)	133,87	8.14 (dd, <i>J</i> = 8.6, 2.1 Hz, 1H)	133,91	7.73 (d, <i>J</i> = 15.6 Hz, 1H)	139,38
10	7.87 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H)	132,49	7.88 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H)	132,06	7.83 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H)	132,35	—	135,26
11	—	126,36	—	126,03	—	125,59	8.20 (dd, <i>J</i> = 8.5, 2.0 Hz, 1H)	133,64

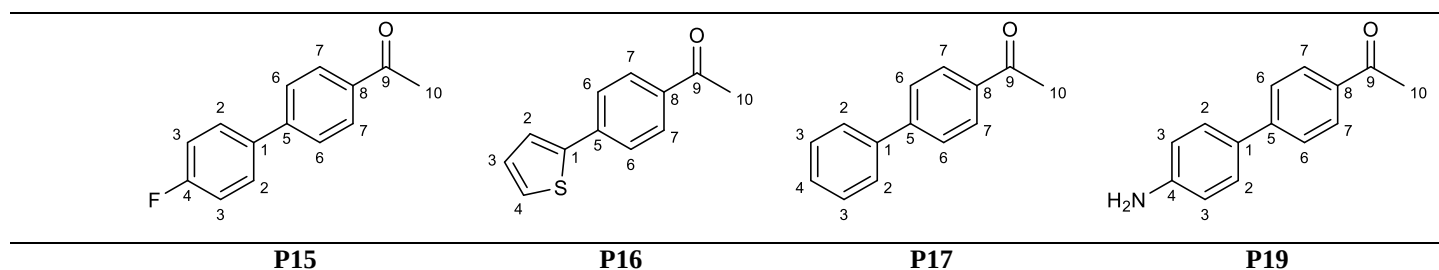
12	–	148,71	–	148,22	–	148,75	7.86 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H)	131,98
13	8.68 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	125,24	8.68 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	124,84	8.63 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	124,74	–	125,66
14	–	–	–	–	–	–	–	148,25
15	–	–	–	–	–	–	8.65 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H)	124,73
16	–	–	–	–	–	–	3.86 (s, 3H)	55,86
17	–	–	–	–	–	–	3.88 (s, 3H)	55,66
NH ₂	–	–	–	–	6.23 (s, 2H)	–	–	–

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os produtos de Suzuki, seguiram todos o mesmo padrão de reação e de purificação, com exceção do produto P19 que necessitou de gradiente de fase móvel para ser separado (início da fase móvel com Hex:AcOEt 9:1 e subida gradual até 7:3).

Conforme pode ser observado na **Tabela 2**, todos os intermediários apresentam semelhanças em seus sinais, sobretudo nos hidrogênios H₆, H₇ e H₁₀. Os sinais atribuídos como H₆ e H₇ apresentam-se como multipletos com deslocamentos na faixa de 7.84 – 7.66 ppm e 8,07 – 7,94 ppm, respectivamente, e integração para dois hidrogênios. No P15, o sinal de H₆ se sobrepõem com H₃ por isso ambos apresentam o mesmo deslocamento. Já para H₁₀, o singlete observado tem deslocamento entre 2,56 e 2,61 ppm, típico de metilas β-carbonila, e integral de três hidrogênios. Para o produto P15, as principais diferenças com o composto mais simples (P17), se dá pela ausência do sinal H₄ e por um valor menor do deslocamento de H₃ que passa de 7.55 – 7.47 ppm (P17) para 7.38 – 7.29 ppm (P15), provavelmente, devido a doação de densidade eletrônica causada pelo átomo de flúor. Os valores diferentes de H₂, H₃ H₄ e são os responsáveis por distinguir P16 de P17, sendo H₂ e H₄ localizados em 7.71 – 7.65 ppm como multipletos com integração para dois hidrogênios e H₃ em 7.20 ppm como duplo duplete com integração para um hidrogênio. Para o composto P19, a presença da amina em 5.42 ppm como um singlete com integral para dois hidrogênios é crucial para o diferenciar de P15 e P17.

Tabela 2 – Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos espectros de RMN de ¹H dos intermediários (P15, P16, P17 e P19).



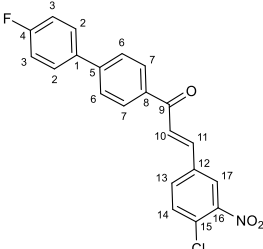
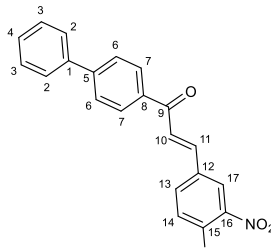
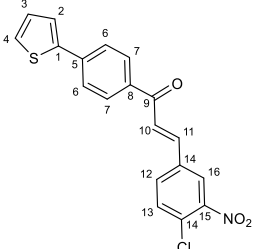
Posição	δ_H (ppm)	δ_H (ppm)	δ_H (ppm)	δ_H (ppm)
1	–	–	–	–
2	7.84 – 7.77 (m, 2H)	7.71 – 7.65 (m, 1H)	7.78 – 7.71 (m, 2H)	7.51 – 7.44 (m, 2H)
3	7.38 – 7.29 (m, 2H)	7.20 (dd, $J = 5.0, 3.6$ Hz, 1H)	7.55 – 7.47 (m, 2H)	6.71 – 6.62 (m, 2H)
4	–	7.71 – 7.65 (m, 1H)	7.47 – 7.39 (m, 1H)	–
5	–	–	–	–
6	7.84 – 7.77 (m, 2H)	7.84 – 7.78 (m, 2H)	7.85 – 7.79 (m, 2H)	7.72 – 7.66 (m, 2H)
7	8.06 – 8.00 (m, 2H)	8.02 – 7.95 (m, 2H)	8.07 – 8.01 (m, 2H)	7.94 (dd, $J = 7.6, 1.2$ Hz, 2H)
8	–	–	–	–
9	–	–	–	–
10	2.61 (s, 3H)	2.58 (s, 3H)	2.61 (s, 3H)	2.56 (s, 3H)
NH ₂	–	–	–	5.42 (s, 2H)

Fonte: Elaborado pelo autor.

Os deslocamentos e constantes de acoplamento das chalconas obtidas a partir dos intermediários estão descritas na **Tabela 3**. É possível observar no espectro que os sinais dos hidrogênios do anel aromático A e seus substituintes se mantêm quase os mesmos após a reação. As diferenças entre os intermediários e suas respectivas chalconas se dão no aparecimento dos sinais da dupla ligação e do anel B, e no desaparecimento do sinal dos hidrogênios do grupo acetil (H₁₀).

As semelhanças entre os produtos P18, P20 e P21, também são vistas nos espectros de RMN, no qual tanto os hidrogênios quanto os carbonos das posições 6 – 17 aparecem com deslocamentos químicos muito semelhantes entre si.

Tabela 3 – Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos espectros de RMN de ¹H e ¹³C das chalconas (P18, P20 e P21).

					
P18		P20		P21	
Posição	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)	δ_H (ppm)

1	-	135,30 (d, J = 3.2 Hz)	-	138,90	-	142,00
2	7.87 (m, 2H)	129,23 (d, J = 8.3 Hz)	7.78 (d, J = 7.2 Hz, 2H)	127,14	7.68 (d, J = 5.0 Hz, 1H)	127,77
3	7.39 – 7.31 (m, 2H)	115,97 (d, J = 21.5 Hz)	7.51 (d, J = 7.9 Hz, 2H)	129,19	7.21 (dd, J = 5.0, 3.6 Hz, 1H).	128,99
4	-	162.48 (d, J = 246.0 Hz)	7.44 (t, J = 7.3 Hz, 1H).	128,58	7.73 (dt, J = 3.7, 1.0 Hz, 1H)	125,86
5	-	143,79	-	144,97	-	138,41
6	7.87 (m, 2H)	126,96	7.88 (d, J = 8.5 Hz, 2H)	127,10	7.88 – 7.83 (m, 2H)	125,48
7	8.30 – 8.24 (m, 2H)	129,50	8.27 (d, J = 8.4 Hz, 2H)	129,57	8.24 – 8.17 (m, 2H)	129,82
8	-	135,92	-	136,03	-	135,55
9	-	188,22	-	188,40	-	187,92
10	8.19 (d, J = 15.7 Hz, 1H)	125,89	8.18 (d, J = 15.7 Hz, 1H)	125,28	8.14 (d, J = 15.7 Hz, 1H)	125,17
11	7.80 (d, J = 15.7 Hz, 1H)	140,22	7.79 (d, J = 15.5 Hz, 1H)	140,28	7.77 (d, J = 15.6 Hz, 1H)	140,23
12	-	135,51	-	135,57	-	135,82
13	8.23 (d, J = 2.0 Hz, 1H)	133,82	8.21 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H)	133,86	8.19 (dd, J = 8.1, 1.1 Hz, 1H)	133,81
14	7.87 (m, 1H)	132,04	7.86 (d, J = 8.5 Hz, 1H)	132,11	7.85 (d, J = 8.0 Hz, 2H)	132,09
15	-	125,17	-	125,98	-	125,97
16	-	148,25	-	148,31	-	148,27
17	8.69 (d, J = 2.0 Hz, 1H)	124,79	8.68 (d, J = 2.1 Hz, 1H)	124,85	8.67 (d, J = 2.1 Hz, 1H)	124,85

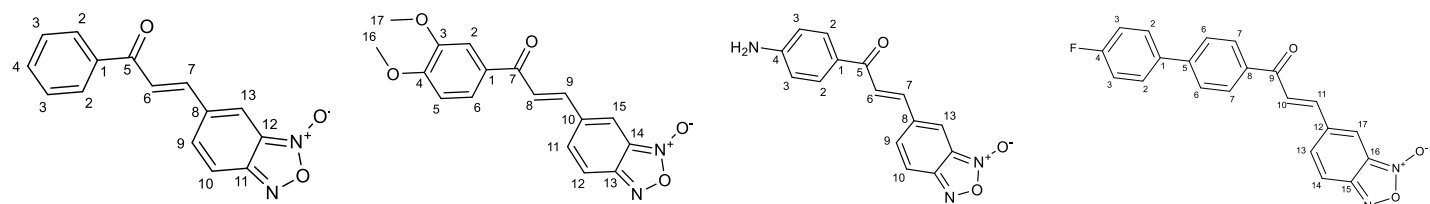
Fonte: Elaborado pelo autor.

Já para as moléculas com o anel benzofuroxano, os sinais de RMN dos hidrogênios do anel diretamente ligado ao furoxano aparecem como sinais bastante alargados com deslocamento químico possivelmente entre δ 8.30 – 8.01 ppm, e δ 7,97 – 7,73 ppm que se sobrepõe a outros sinais, sobretudo o da dupla ligação de maior deslocamento (**Tabela 4**). Um fenômeno similar ocorre com os carbonos do mesmo anel, os quais aparecem como sinais de baixa intensidade e muito alargados. Devido as anomalias observadas nos espectros de ^1H e ^{13}C dos benzofuroxanos não foi possível identificar e atribuir os sinais dos átomos desse anel. Em contrapartida, os demais sinais de carbono e de hidrogênio da molécula estão presentes, sendo ainda muito similares aos sinais vistos nas chalconas precursoras. Uma das hipóteses formuladas para explicar o alargamento dos sinais de RMN está relacionada com a tautomeria do oxigênio do anel furoxano, a qual pode resultar na maior dificuldade de visualização e identificação dos sinais no espectro de RMN.

Os deslocamentos químicos dos carbonos foram atribuídos aos respectivos átomos com base no ^{13}C -RMN e nos experimentos de HSQC e HMBC, que além de elucidar a localização dos carbonos, deu maior indicativo da formação dos produtos. Também foram esses resultados e as predições do ^1H -RMN que nortearam a atribuição dos sinais dos hidrogênios de todas as moléculas finais. Na análise de ^{13}C destaca-se, o carbono da carbonila com deslocamento próximo de 190 ppm característico deste grupo funcional, os carbonos da dupla ligação em 125

e 140 ppm, e o carbono terciário alfa a carbonila, com deslocamento próximo a 135 ppm, para todas as estruturas.

Tabela 4 – Deslocamentos químicos e constantes de acoplamento dos espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos benzofuroxanos (P3, P14, P25 e P27).



	P3		P14		P25		P27	
Posição	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)	δ_{H} (ppm)	δ_{C} (ppm)
1	—	137,14	—	130,16	—	125,04	—	135,28 (d, $J = 2.5$ Hz)
2	8.23 – 8.16 (m, 2H)	128.74	7.61 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H)	110,94	7.96 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H)	131,20	7.85 (dd, $J = 8.9, 5.4$ Hz, 2H)	129.22 (d, $J = 8.3$ Hz)
3	7.62 – 7.57 (m, 2H)	128.88	—	148,93	6.63 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H)	112,81	7.35 (t, $J = 8.8$ Hz, 2H)	115.96 (d, $J = 21.4$ Hz).
4	7.70 (ddt, $J = 6.9, 6.1, 1.3$ Hz, 1H)	133,57	—	153,65	—	154,30	—	162.48 (d, $J = 245.9$ Hz)
5	—	188.95	7.12 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H)	110,78	—	185,44	—	143,79
6	8.14 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H)	125,57	7.97 (dd, $J = 8.5, 2.0$ Hz, 1H)	123,92	8.04 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H)	126,24	7.88 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H)	126,97
7	7.82 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H)	140,99	—	187,09	7.67 (d, $J = 15.5$ Hz, 1H)	138,61	8.29 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H)	129,53
8	—	136,47	8.12 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H)	125,61	—	—	—	135,92
9	8.30 – 8.00 (m, 5H)	132,46	7.76 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H)	140,18	8,23 – 8,00 (m, 2H)	—	—	188,27
10	7.97 – 7.84 (m, 2H)	115,03	—	—	7,91 – 7,73 (m, 1H)	—	8.19 (d, $J = 15.7$ Hz, 1H)	125,55
11	—	—	8.35 – 8,00 (m, 3H)	—	—	—	7.83 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H)	140,97
12	—	—	7,93 – 7,72 (m, 2H)	—	—	—	—	—
13	8,30 – 8,00 (m, 5H)	—	—	—	8,23 – 8,00 (m, 2H)	—	8,24 – 8,08 (m, 3H)	—
14	—	—	—	—	—	—	7,94 – 7,78 (m, 7H)	—
15	—	—	8.35 – 8,00 (m, 3H)	—	—	—	—	—
16	—	—	3.88 (s, 3H)	—	—	—	—	—
17	—	—	3.86 (s, 3H)	—	—	—	8,24 – 8,08 (m, 3H)	—
NH ₂	—	—	—	—	6.24 (s, 2H).	—	—	—

Fonte: Elaborado pelo autor.

No que tange a caracterização por IV, as chalconas apresentaram bandas de absorção em 1660-1667 cm^{-1} (C=O carbonila conjugada), 1635-1608 cm^{-1} (C=C alcenos conjugados) e banda com forte estiramento em 1550-1490 cm^{-1} (NO₂ aromático) conforme mostrado na **Tabela 5**.

Das bandas que diferenciam as chalconas entre si, pode-se citar as do composto P9 que apresentaram forte intensidade em 1072,42 cm^{-1} (Br-Ar brometo de arila) e em 813,52 cm^{-1} (1,4 dissustituído), não sendo vistos sinais similares em P1 (sem substituinte na posição 4). Já para o

P10, foi observado bandas na região de $823,60\text{ cm}^{-1}$ ($1,4$ dissustituído) e $3331,07\text{ cm}^{-1}$ (NH_2 arila). Em P12, as diferenças aparecem nas bandas $1259,52\text{ cm}^{-1}$ e $1026,13\text{ cm}^{-1}$ (Éter fenilalquilico) e $825,53\text{ cm}^{-1}$ ($1,4$ dissustituído). As bandas mais fortes de P18 parecem em $812,03\text{ cm}^{-1}$ ($1,4$ dissustituído) devido a dois anéis com esse padrão de substituição, e em $1224,80\text{ cm}^{-1}$ (fluoreto de arila), enquanto em P20 e P21 é visto apenas uma banda referente a substituição em *orto* em $821,68\text{ cm}^{-1}$ e $813,39\text{ cm}^{-1}$, respectivamente.

Por outro lado, para os 4 benzofuroxanos obtidos a banda referente ao grupo NO_2 deixa de integrar o espectro. Apesar disso, para cada um dos benzofuroxanos é possível identificar bandas dos grupos funcionais como em P14 com bandas em $1265,30\text{ cm}^{-1}$ e $1018,41\text{ cm}^{-1}$ (Éter fenilalquilico), P25 com banda em $3344,57\text{ cm}^{-1}$ (NH_2 arila) e, P27 com banda em $1234,44\text{ cm}^{-1}$ (fluoreto de arila).

Tabela 5 – Bandas de IV dos principais grupos funcionais dos compostos, faixa de fusão e respectivos rendimentos.

Composto											
	P1	P9	P10	P12	P18	P20	P21	P3	P14	P25	P27
ν C=O carbonila conjugada	1664,57	1666,50		1660,71	1664,57	1664,57	1660,71	1654,92	1660,71	1639,49	1660,71
ν C=C alcenos conjugados	1608,63	1610,56	1633,71	1608,63	1614,42	1612,49	1610,56	1618,28	1602,85	1602,85	–
ν NO_2 aromático	1525,69	1525,69	1533,41	1531,48	1529,55	1527,62	1529,55	–	–	–	–
ν $1,4$ dissustituído	–	813,52	823,60	825,53	812,03	821,68	813,39	–	844,82	–	800,46
ν Br-Ar brometo de arila cm^{-1}	–	1072,42	–	–	–	–	–	–	–	–	–
ν NH_2 arila	–	–	3331,07	–	–	–	–	–	–	3344,57	–
ν Fluoreto de arila	–	–	–	–	1224,80	–	–	–	–	–	1234,44
ν Éter fenilalquilico	–	–	–	1259,52 1026,13	–	–	–	–	1265,30 1018,41	–	–
Faixa de fusão ($^{\circ}\text{C}$)	139,9 –	177,6 –	222,0 –	141,0 –	194,3 –	172,3 –	200,2	175,0	184,7 –	–	–
	140,8	179,9	224,0	152,2	208,4	177,0			188,0		
Rendimento (%)	80	42	40	69	46	52	75	30	50	6	17

Fonte: Elaborado pelo autor.

4.1 ENSAIOS BIOLÓGICOS

Os ensaios *in vitro* para avaliação de atividade frente ao Mtb e de citotoxicidade foram realizados em parceria com o Laboratório de Pesquisa de Novos Fármacos Contra Tuberculose.

Para os ensaios de Concentração Inibitória de Mínima de 90 % (CIM₉₀) utilizou-se a cepa padrão H₃₇Rv, e nos testes de Índice de Citotoxicidade de 50 % (CI₅₀) as cepas de fibroblasto humano normal MRC-5 e de macrófagos de tumor ascítico de camundongos J774A.1.

Os compostos testados estão demonstrados na **Tabela 6**. No entanto, da série de moléculas avaliadas apenas P1 e P12 apresentaram atividade frente a micobactéria com valor de MIC₉₀ de 5,23 µg/mL e 3,85 µg/mL, respectivamente. A partir do MIC, foi calculado o IS que de P1 para MRC-5 foi de 95,60 e J774A.1 de 4,75, enquanto para P12 foram respectivamente de 129,87 e 3,68.

Tabela 6 – Análise *in vitro* da atividade e citotoxicidade de chalconas e benzofuroxanos.

Composto	CIM ₉₀ (µg/mL)	CI ₅₀ (µg/mL)		IS	
	H ₃₇ Rv	MRC-5	J774A.1	MRC-5	J774A.1
Chalconas					
P1	5. 23 ± 2.83	> 500	24.06 ± 3.65	95,60	4,75
P9	> 25	> 500	231.89 ± 17.71	N/A	N/A
P10	> 25	491.56 ± 5.32	224.74 ± 8.29	N/A	N/A
P12	3.85 ± 1.79	> 500	14.17 ± 2.20	129,87	3,68
P20	> 25	> 500	> 500	N/A	N/A
Benzofuroxano					
P14	> 25	> 500	106,59 ± 5.01	N/A	N/A

Legenda: N/A – Não se aplica. Fonte: Elaborado pelo autor.

A atividade observada para os compostos P1 e P12 nos ensaios *in vitro* indica que a ausência de substituição ou o padrão de dissustituição nas posições 3 e 4 do anel A parecem ser mais favoráveis à atividade das chalconas frente ao Mtb, quando comparados a compostos monosubstituídos na posição *para*. Considerando uma análise mais aprofundada da relação estrutura–atividade dos compostos testados, a atividade do P1 pode estar possivelmente relacionada à interação hidrofóbica do anel A com um sítio ativo de caráter semelhante, bem como à formação de ligações de hidrogênio envolvendo o grupo NO₂ presente no anel B. No caso do P12, a dissustituição no anel A pode ter acrescentado, além das interações observadas em P1, a possibilidade de alcançar e interagir com novas regiões hidrofóbicas do alvo biológico, ao mesmo tempo em que introduziu grupos capazes de atuar como aceptores de ligações de hidrogênio.

Seguindo esse raciocínio, as características anteriormente mencionadas não são observadas nos demais compostos analisados, uma vez que, em P9 e P10, a presença de bromo e de amina na posição *para* pode ter dificultado a interação do anel A com regiões mais hidrofóbicas de um hipotético sítio ativo. Já para o composto P20, a ausência de atividade frente

ao Mtb possivelmente está associada ao impedimento estérico conferido pelo anel aromático adicional, o que pode ter limitado o acesso ao alvo.

Adicionalmente, de forma anômala, observou-se que o benzofuroxano análogo do P12, o P14, não apresentou atividade semelhante ou superior à sua chalcona original, como inicialmente esperado. O fechamento do ciclo benzofuroxano resultou na perda da atividade frente ao bacilo, possivelmente em decorrência da restrição conformacional imposta pela nova estrutura, a qual levou à perda de interações importantes. Ademais, as alterações físico-químicas promovidas pela introdução do novo anel também podem ter comprometido em algum nível a permeação celular do composto, afetando consequentemente sua atividade biológica.

Os achados do presente estudo podem ser indicativos de que a formação de chalconas acopladas a benzofuroxano não seja o melhor caminho para o desenvolvimento de novas moléculas promissoras contra a TB, dado que além da não atividade frente ao bacilo, são compostos que despendem muita energia e recursos para serem isolados. Desse modo, estudos adicionais que visem investigar de forma aprofundada o papel das chalconas acopladas a benzofuroxanos na TB, se fazem necessários para ampliar nossa compreensão acerca desses compostos. Somado a isso, tanto P1 quanto P12 não apresentaram $IS \geq 10$ nas células J774A.1, e por isso não se adequam aos critérios para continuidade dos estudos, sendo, portanto, necessárias modificações para otimização estrutural e melhora do IS em macrófagos.

Outro aspecto relevante observado foi que os compostos que apresentaram alguma atividade frente ao bacilo mostraram-se mais citotóxicos para a linhagem imortalizada J774A.1 do que para a linhagem normal MRC-5. Esse achado levanta a hipótese de um potencial efeito anticâncer dessas moléculas, embora tal possibilidade ainda careça de investigações adicionais para sua adequada confirmação. Parelamente, a maior citotoxicidade em células tumorais reforça um potencial mecanismo de caráter promíscuo das chalconas, o que de certo modo é esperado, visto que essas moléculas são classicamente reconhecidas como aceptores de Michael. Novos testes com diferentes linhagens tumorais e bacterianas podem ser futuramente agregados a esse trabalho para averiguação da promiscuidade e potencial atividade antitumoral desses compostos.

5 CONCLUSÃO

Assim com base nos resultados obtidos e anteriormente apresentados, é possível afirmar que ambas as rotas sintéticas utilizadas são eficazes para obtenção dos produtos com

rendimentos médios moderados, variando entre 6 % e 80 %, para a maioria dos compostos. No total, foram obtidas 11 chalconas inéditas, sendo 4 delas acopladas ao benzofuroxano. Da série de compostos testados, o P1 e P12 foram os que apresentaram atividade promissora frente ao Mtb, com MIC₉₀ (H₃₇Rv) de 5,23 µg/mL e 3,85 µg/mL, respectivamente.

Todos os compostos obtidos foram caracterizados por RMN (¹H, ¹³C, HMBC e HSQC), e IV, as quais foram análises essenciais para elucidação e confirmação da obtenção dos produtos ao longo do projeto, ao mesmo tempo que permitiram o avanço da síntese e da avaliação *in vitro* das moléculas obtidas.

Esses achados reforçam o potencial das chalconas como estruturas promissoras para o desenvolvimento de novos agentes antituberculares ao mesmo tempo que levanta-se a perspectiva sobre potenciais aplicações anticâncer. Ambas possíveis aplicações são justificadas a partir de novas modificações estruturais que visem aumento da seletividade dos compostos como anti-TB e investigação mais aprofundada de seu potencial uso como antitumoral.

REFERÊNCIAS

- ALENE, K. A.; WANGDI, K.; CLEMENTS, A.C. A. Impact of the COVID-19 pandemic on tuberculosis control: an overview. **Tropical medicine and infectious disease**, v. 5, n. 3, p. 123, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/tropicalmed5030123>. Available from: <https://www.mdpi.com/2414-6366/5/3/123>. Access in: 26 dec. 2025.
- BELL, L. C. K.; NOURSADEGHI, M. Pathogenesis of HIV-1 and Mycobacterium tuberculosis co-infection. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 2, p. 80-90, 2018. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.128. Available from: <https://www.nature.com/articles/nrmicro.2017.128.pdf>. Access in: 26 dec. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de Recomendações para o Controle da Tuberculose no Brasil**. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. ISBN 978-85-334-2696-2. Disponível em: https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_recomendacoes_controle_tuberculose_brasil_2_ed.pdf. Acesso em: 04 mar. 2025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. **Boletim Epidemiológico - Tuberculose 2025**. Brasília: Ministério da Saúde, 2025. ISSN 9352-7864. Disponível em: <https://www.gov.br/aids/pt-br/central-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2025/boletim-epidemiologico-tuberculose-2025/view>. Acesso em: 26 dez. 2025.
- CAMINERO, J. A. (Ed.). **Guidelines for Clinical and Operational Management of Drug-Resistant Tuberculosis**. Paris: International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, 2013. ISBN: 979-10-91287-03-6. Available from: https://theunion.org/sites/default/files/2020-08/mdr-tbguide_6-19-13_web.pdf. Access in: 04 March 2025.
- CASTRO, D. *et al.* Anti-trypanosomatid benzofuroxans and deoxygenated analogues: Synthesis using polymer-supported triphenylphosphine, biological evaluation and mechanism of action studies. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, n. 12, p. 5055-5065, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2009.09.009>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0223523409004413>. Access in: 30 March 2025.
- CHANDRA P.; GRIGSBY S. J.; PHILIPS J. A. Immune evasion and provocation by Mycobacterium tuberculosis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 20, n. 12, p. 750-766, 2022. DOI: 10.1038/s41579-022-00763-4. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9310001/>. Access in: 26 dec. 2025.
- DHEDA, K.; BARRY, C.E.; MAARTENS, G. Tuberculosis. 3 ed. **Lancet**, London, v. 387, 10024, p. 1211- 1226, March, 2016. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)00678-4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26377143/>. Access in: 04 March 2025.

DOS SANTOS, J. L. *et al.* New Antitubercular Drugs Designed by Molecular Modification. In: Understanding Tuberculosis-New Approaches to Fighting Against Drug Resistance. **IntechOpen**, 2012. DOI: 10.5772/33169. Available from: <https://www.intechopen.com/chapters/28838>. Access in: 04 March 2025.

FERNANDES, G. F. S. *et al.* Benzofuroxan derivatives as potent agents against multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. **ChemMedChem**, v. 16, n. 8, p. 1268-1282, 2021. DOI: 10.1002/cmdc.202000899. Available from: <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cmdc.202000899>. Access in: 04 March 2025.

FERNANDES, G. F. S. *et al.* Current Advances in Antitubercular Drug Discovery: Potent Prototypes and New Targets. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 27, p. 3133–3161, Setember, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2174/0929867322666150818103836>. Available from: <https://www.benthamdirect.com/content/journals/cmc/10.2174/0929867322666150818103836>. Access in: 04 March 2025.

FERNANDES, G. F. S. *et al.* Design, synthesis, and characterization of N-oxide-containing heterocycles with *in vivo* sterilizing antitubercular activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 60, n. 20, p. 8647-8660, 2017. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.7b01332. Available from: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.jmedchem.7b01332>. Access in: 04 March 2025.

FERNANDES, G. F. S.; PAVAN, A. R.; DOS SANTOS, J. L. Heterocyclic N-oxides-a promising class of agents against tuberculosis, malaria and neglected tropical diseases. **Current Pharmaceutical Design**, v. 24, n. 12, p. 1325-1340, 2018. DOI: 10.2174/1381612824666180417122625. Available from: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2018/00000024/00000012/art00009>. Access in: 04 March 2025.

GONÇALVES DA GAMA, K. N. *et al.* O impacto do diagnóstico da tuberculose mediante suas representações sociais. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 72, n. 5, p. 1254–1261, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0881>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reben/a/zRp44zCDpF3zdLBbLXvMg9g/?lang=en>. Acesso em: 04 mar. 2025.

KHANAM, S. H. Bioactive Benzofuran derivatives: A review. **European journal of medicinal chemistry**, v. 97, p. 483-504, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.11.039>. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S022352341401071X>. Access in: 04 March 2025.

KLEIN, D. Reações de adição conjugada: Reações de Michael. In: KLEIN, David. **Química Orgânica – 2.ed.** Rio de Janeiro: LTC, 2016. *E-book*. p. 399. v.2. ISBN 9788521631910. Available from: <https://app.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788521631910/>. Access in: 04 March 2025.

LAPAUSA, M. R.; PAREJA, J. F. P.; ASENSIO, A. N. Nuevos fármacos antituberculosos en la tuberculosis resistente y multirresistente. **Medicina clínica**, v. 141, n. 7, p. 306-313, 2013. DOI:10.1016/j.medcli.2013.01.039. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025775313001243>. Access in: 04 March 2025.

LEMO, A. dos S. de; LINS, R. S. **Doenças infecciosas na emergência: diagnóstico e tratamento**. Barueri: Manole, 2023. *E-book*. p. Capa. ISBN 9786555763232. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786555763232/>. Acesso em: 11 fev. 2025.

MARTÍNEZ-CAMPRECIÓS, J.; ESPINOSA-PEREIRO, J.; SÁNCHEZ-MONTALVÁ, A. Actualización sobre el tratamiento de la tuberculosis. **Medicina Clínica**, v. 163, n. 5, p. 245-252, 2024. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0025775324002136>. Consultado el: 25 Dic. 2025.

NUNES-ALVES, C. *et al.* In search of a new paradigm for protective immunity to TB. **Nature Reviews Microbiology**, v. 12, n. 4, p. 289-299, 2014. DOI: 10.1038/nrmicro3230. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4085047/>. Access in: 30 March 2025.

ORME, I. Search for New Drugs for Treatment of Tuberculosis. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 45, n. 7, p. 1943–1946, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1128/aac.45.7.1943-1946.2001>. Available from: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.45.7.1943-1946.2001>. Access in: 26 dec 2025.

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. Available from: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.46.8.2720-2722.2002>. Access in: 06 jun. 2025

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. 4 ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012.

POORANAGANGADEVI, N.; PADMAPRIYADARSINI, C. Treatment of tuberculosis and the drug interactions associated with HIV-TB co-infection treatment. **Frontiers in Tropical Diseases**, v. 3, n. 834013, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fitd.2022.834013>. Available from: <https://www.frontiersin.org/journals/tropical-diseases/articles/10.3389/fitd.2022.834013/full>. Access in: 26 dec. 2025.

RAMACHANDRAN G.; SWAMINATHAN S. Safety and tolerability profile of second-line anti-tuberculosis medications. **Drug Safety**, v. 38, n. 3, p. 253-269, 2015. DOI 10.1007/s40264-015-0267-

y. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40264-015-0267-y>. Access in: 25 dec. 2025.

RAMMOHAN, A. *et al.* Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 18, p. 433-458, 2020. DOI:10.1007/s10311-019-00959-w. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-019-00959-w>. Access in: 04 March 2025.

RIDOLFI, M. F.; ROLLA, V. C. Tuberculose. *In*: LEMOS, A. dos S. de; LINS, R. S. **Doenças infecciosas na emergência: diagnóstico e tratamento**. Barueri: Manole, 2023. E-book. p.283. ISBN 9786555763232. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786555763232/>. Acesso em: 04 mar. 2025.

RODRÍGUEZ-SILVA, C. N.; PROKOPCZYK, I. M.; DOS SANTOS, J. L. The medicinal chemistry of chalcones as anti-*Mycobacterium tuberculosis* agents. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 16, p. 2068-2080, 2022. DOI: 10.2174/1389557522666220214093606. Available from: <https://www.benthamdirect.com/content/journals/mrmc/10.2174/1389557522666220214093606>. Access in: 04 March 2025.

SILVERSTEIN, R. M.; WBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

TIEMERSMA, E. W. *et al.* Natural history of tuberculosis: duration and fatality of untreated pulmonary tuberculosis in HIV negative patients: a systematic review. **PloS one**, v. 6, n. 4, p. e17601, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017601>. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0017601>. Access in: 30 March 2025.

WARNER, D.F. *et al.* *Mycobacterium tuberculosis* biology, pathogenicity and interaction with the host. **Nature Reviews Microbiology**, v. 23, p. 788–804, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-025-01201-x>. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41579-025-01201-x> Access in: 26 dec. 2025.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global tuberculosis report 2025. **Global Programme on Tuberculosis and Lung Health (GTB)**, 2025. ISBN: 978-92-4-011692-4. Available from: <https://www.who.int/teams/global-programme-on-tuberculosis-and-lung-health/tb-reports/global-tuberculosis-report-2025>. Access in: 25 dec. 2025.

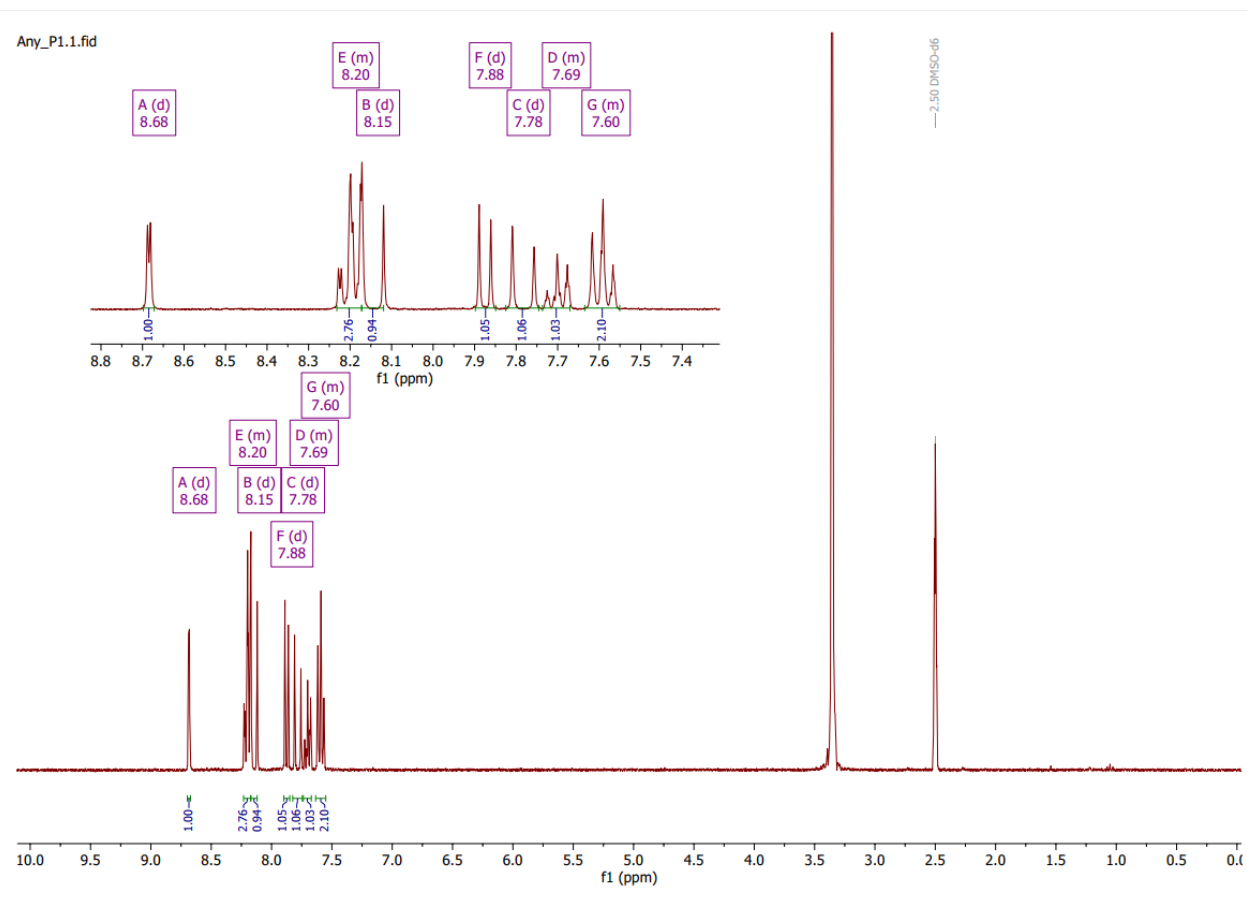
WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **WHO consolidated guidelines on tuberculosis**. Module 4: treatment - drug-resistant tuberculosis treatment, 2020. ISBN 978-92-4-000704-8. Available from: <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/56364485-36dc-467f-b50c-23db380b13ab/content>. Access in: 25 dec. 2025.

YEW, W. W. Clinically significant interactions with drugs used in the treatment of tuberculosis. **Drug safety**, v. 25, n. 2, p. 111-113, 2002. DOI: <https://doi.org/10.2165/00002018-200225020-00005>. Available from: <https://link.springer.com/article/10.2165/00002018-200225020-00005>. Access in: 26 dec. 2025.

ZUMLA, A. *et al.* Tuberculosis treatment and management—an update on treatment regimens, trials, new drugs, and adjunct therapies. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 3, n. 3, p. 220 – 234, March 2015. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600\(15\)00063-6/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanres/article/PIIS2213-2600(15)00063-6/abstract). Access in: 25 dec. 2025.

ANEXO A – DADOS DOS EXPERIMENTOS DE RMN

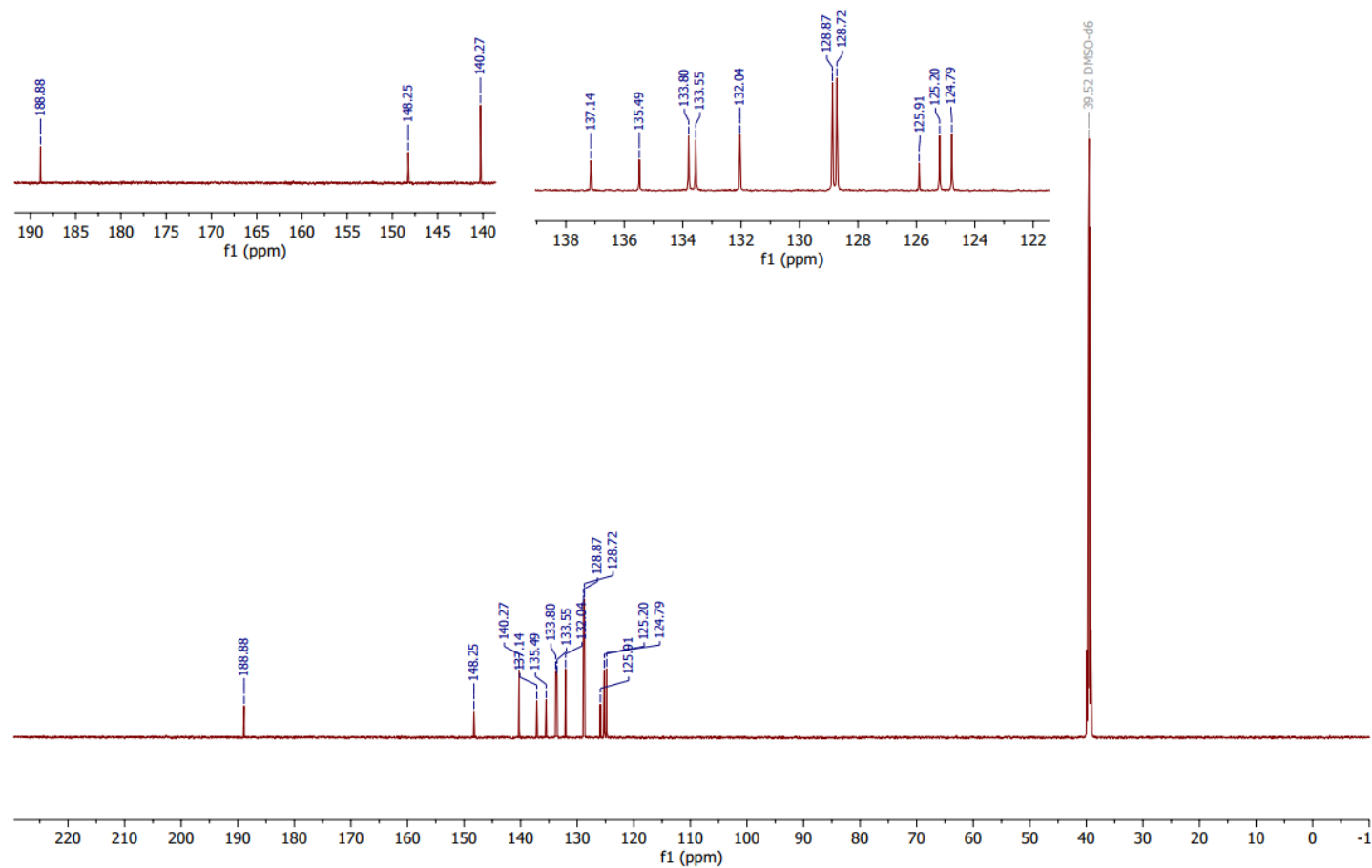
Espectro 1 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P1.



Fonte: Dados da pesquisa.

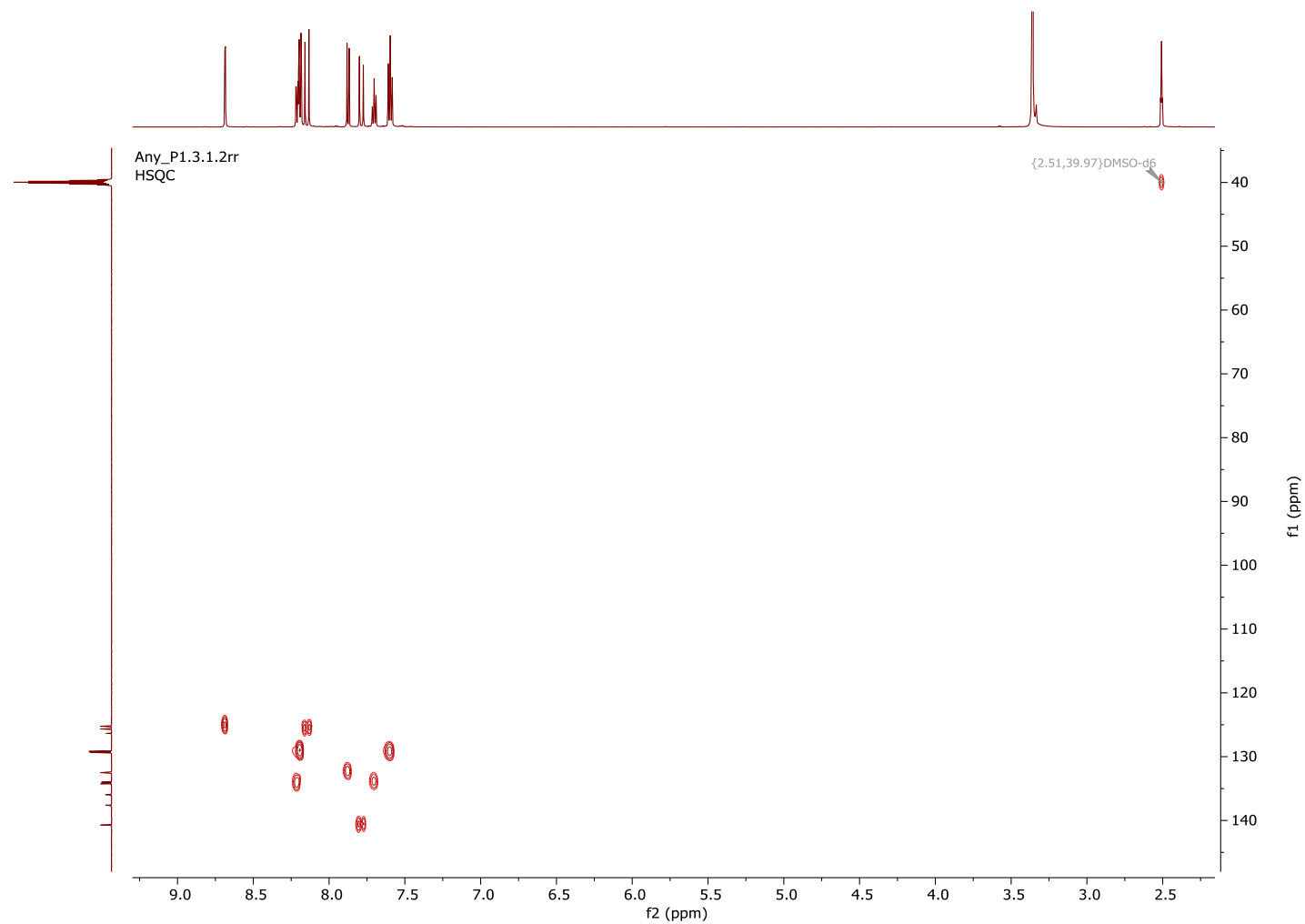
Espectro 2 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P1.

Any P1.13C



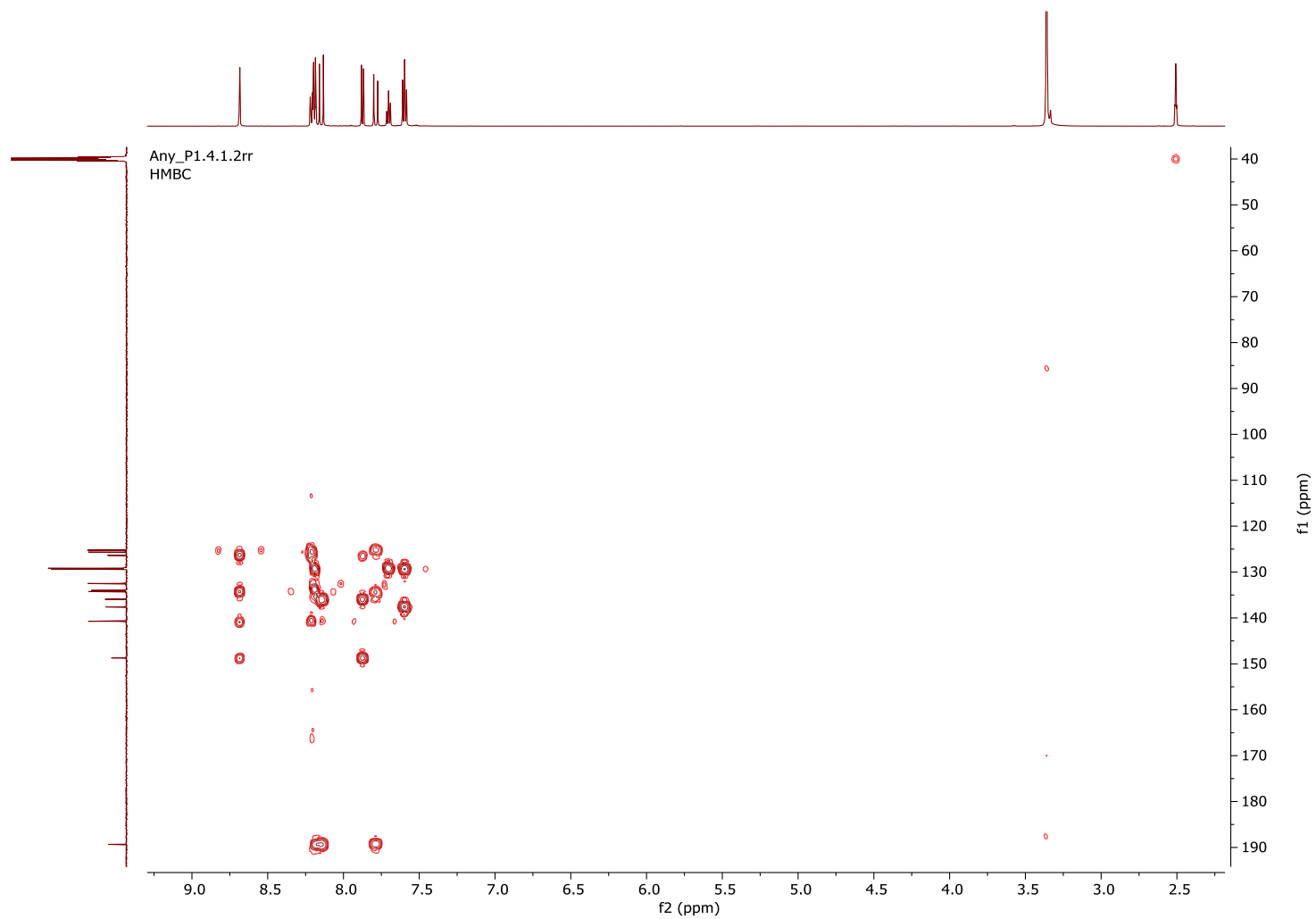
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 3 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P1.



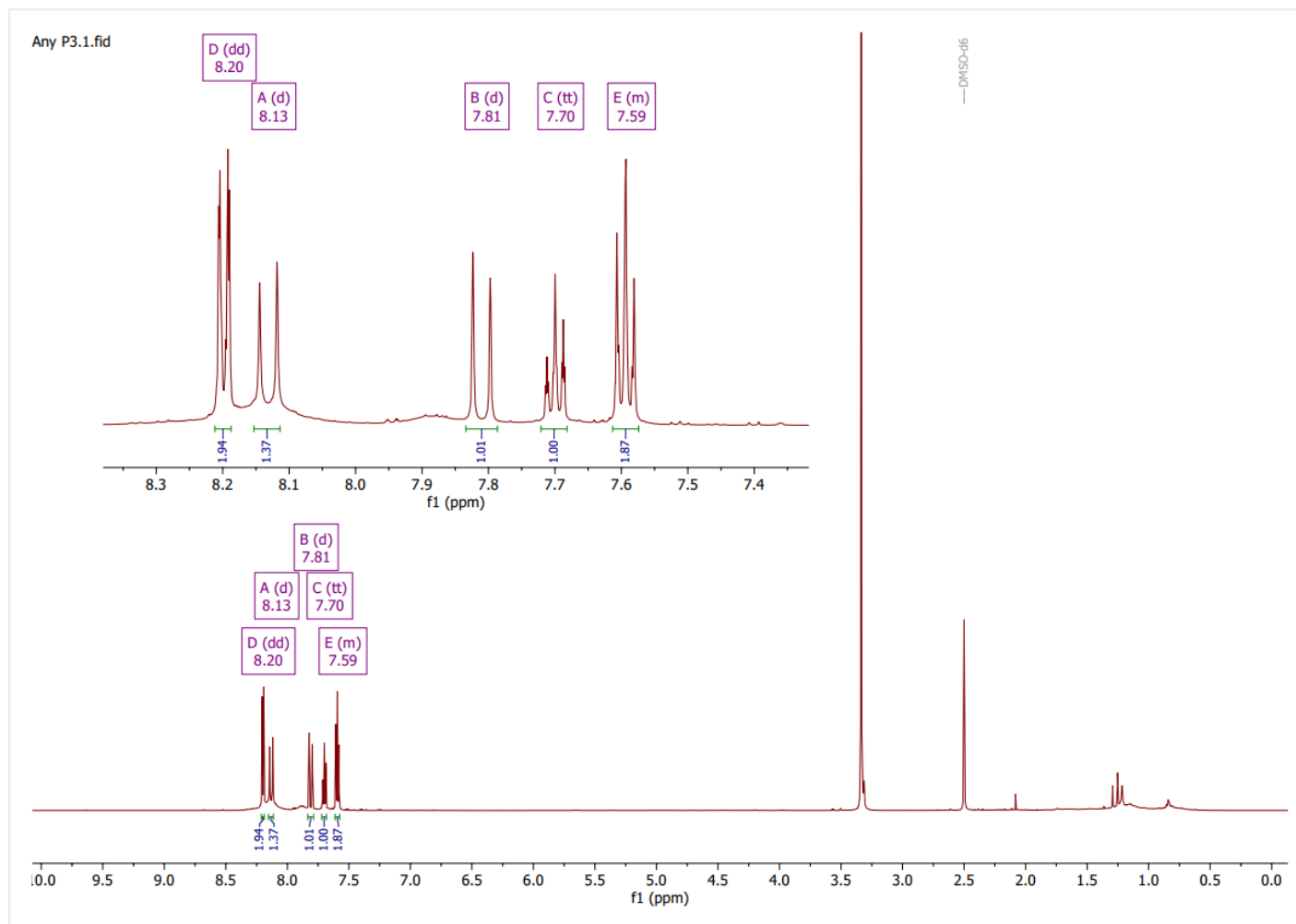
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 4 – HMBC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P1.



Fonte: Dados da pesquisa.

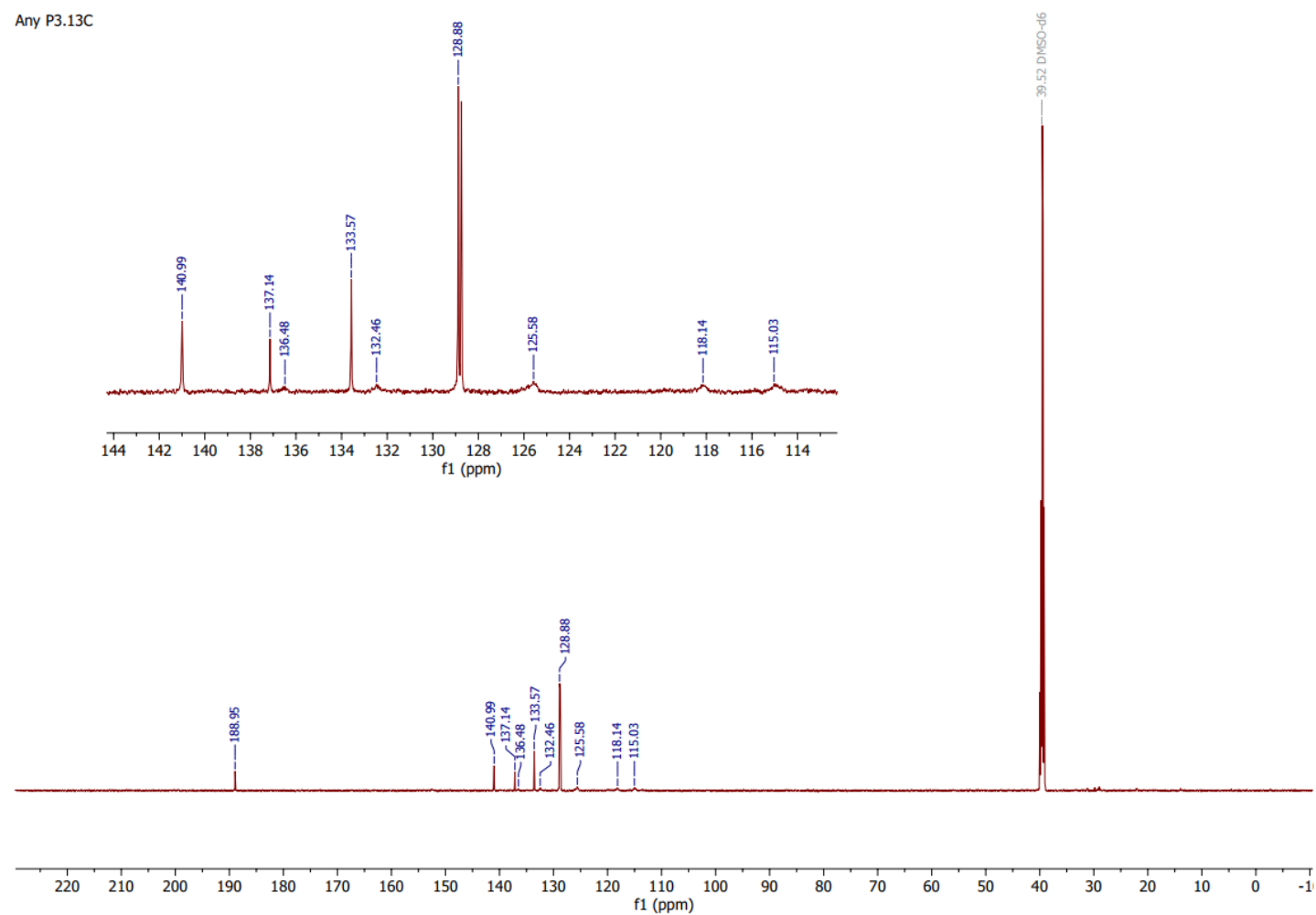
Espectro 5 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P3.



Fonte: Dados da pesquisa.

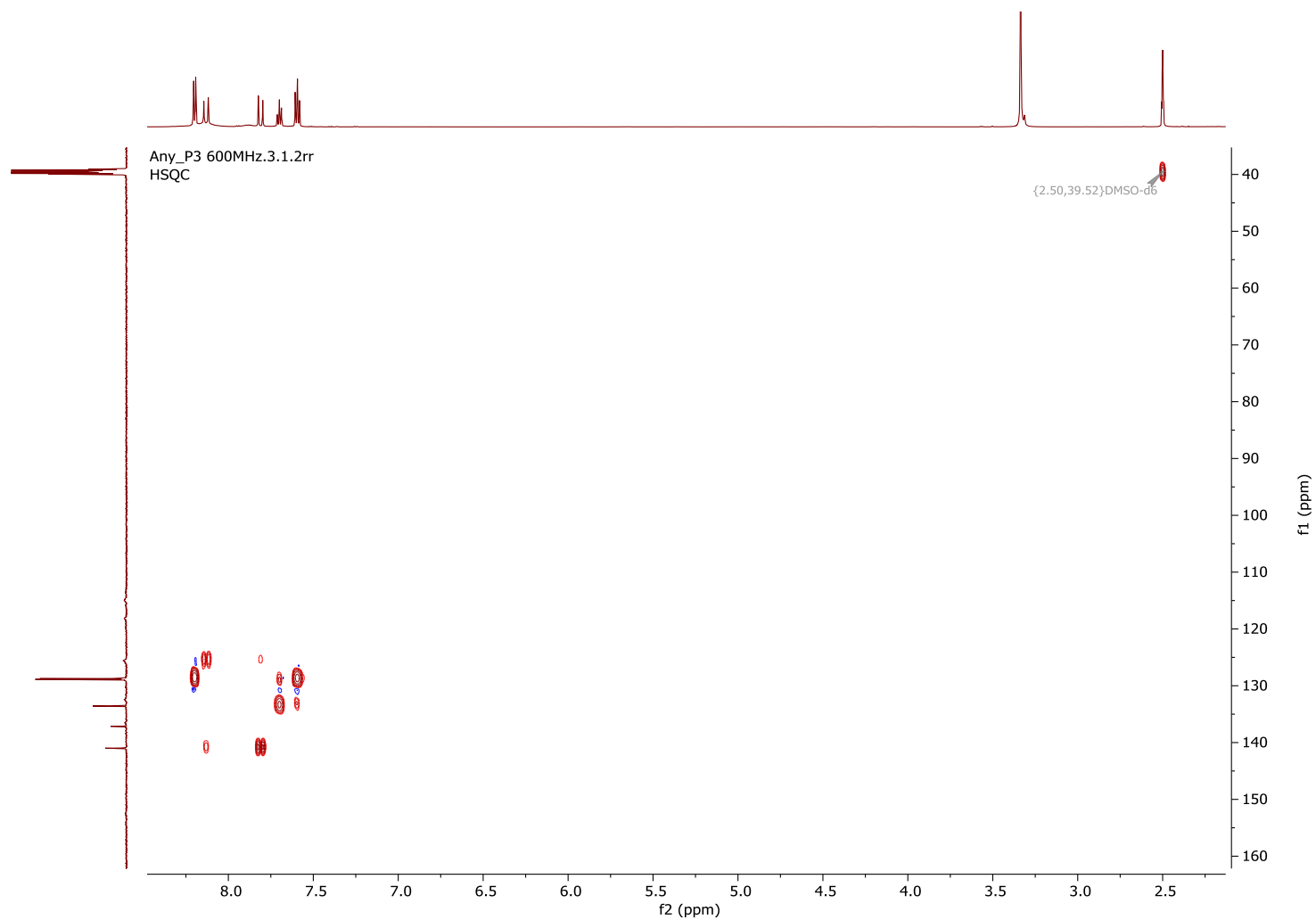
Espectro 6 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P3.

Any P3.13C



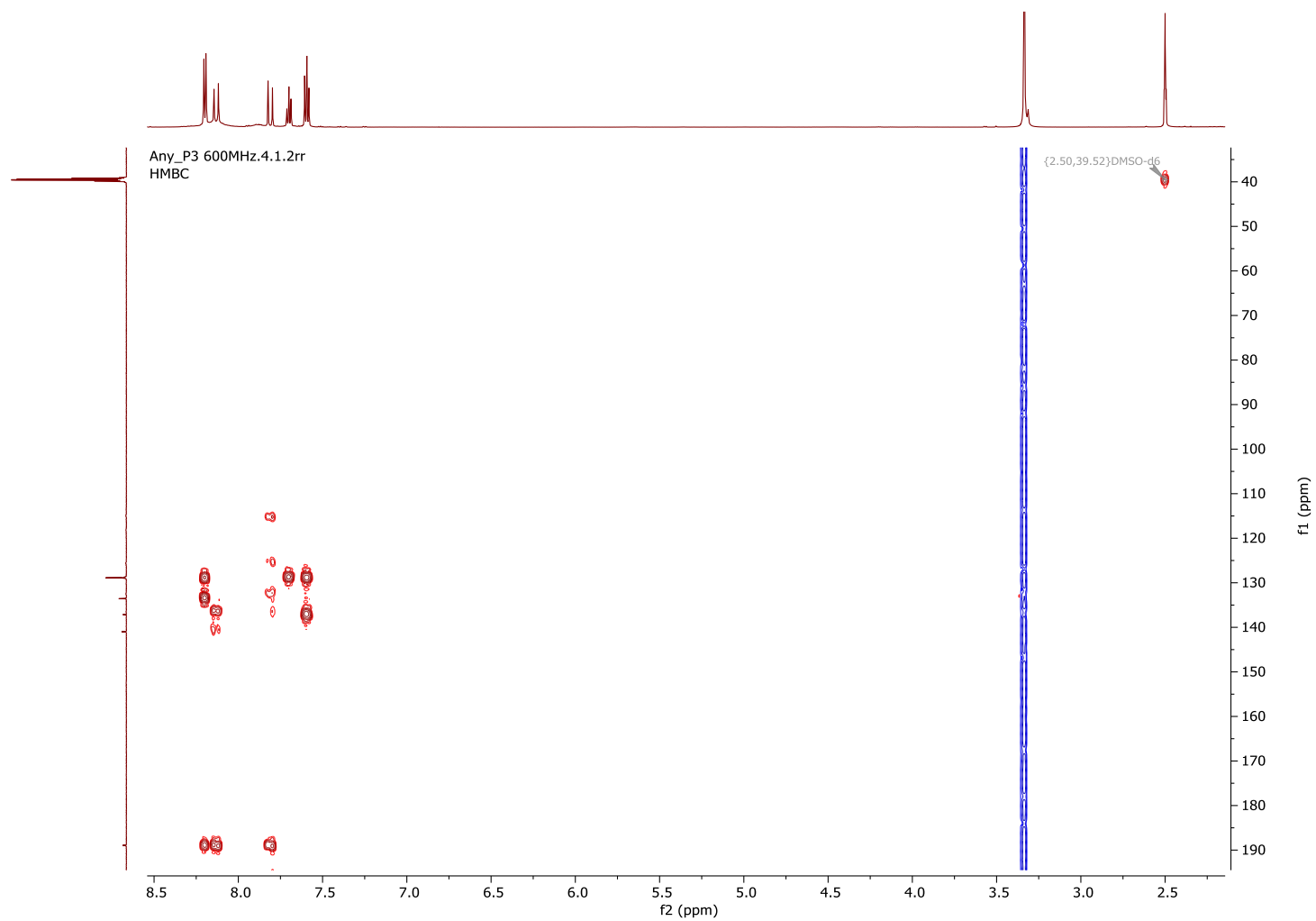
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 7 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P3.



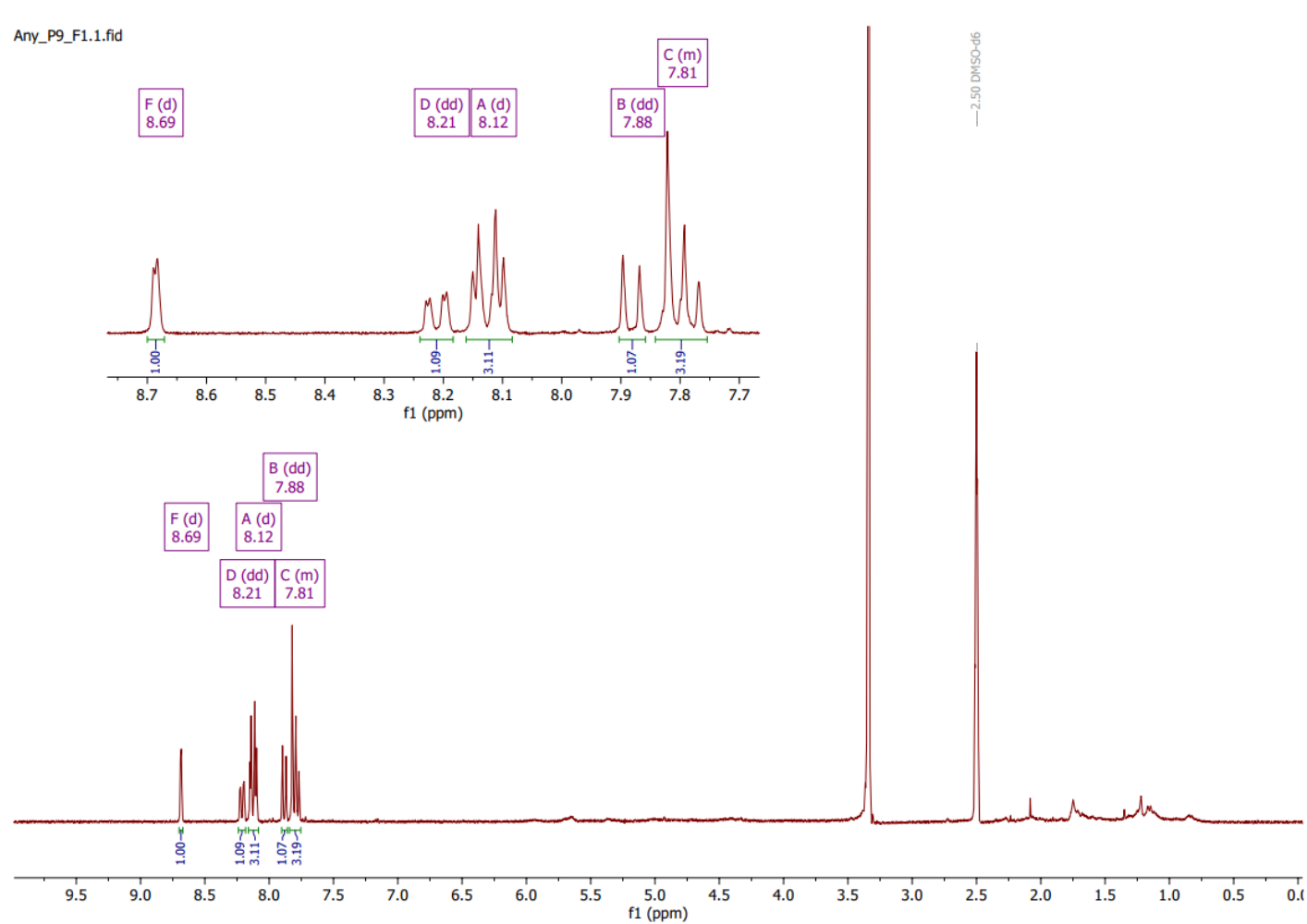
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 8 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P3.



Fonte: Dados da pesquisa.

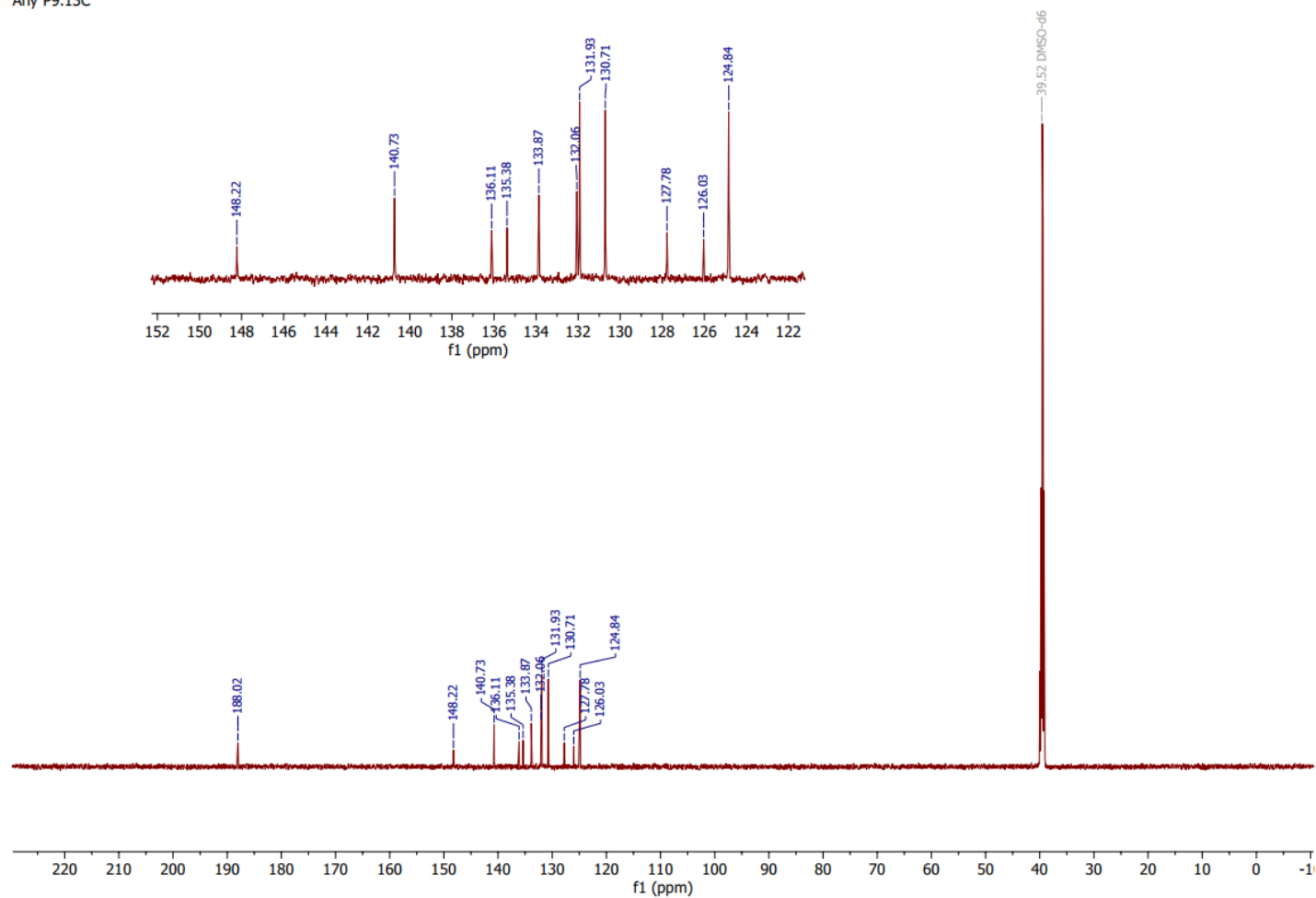
Espectro 9 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P9.



Fonte: Dados da pesquisa.

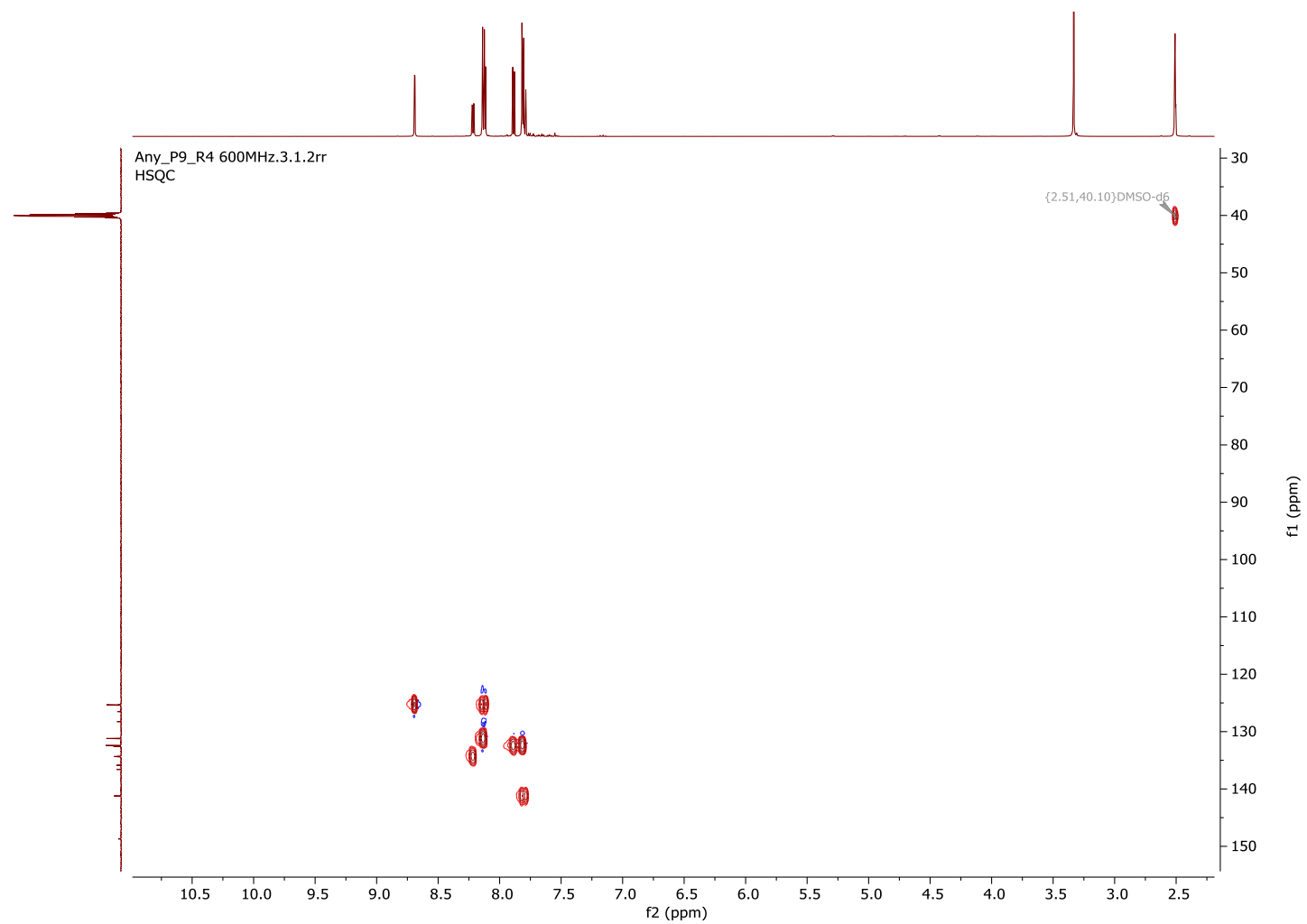
Espectro 10 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P9.

Any P9.13C



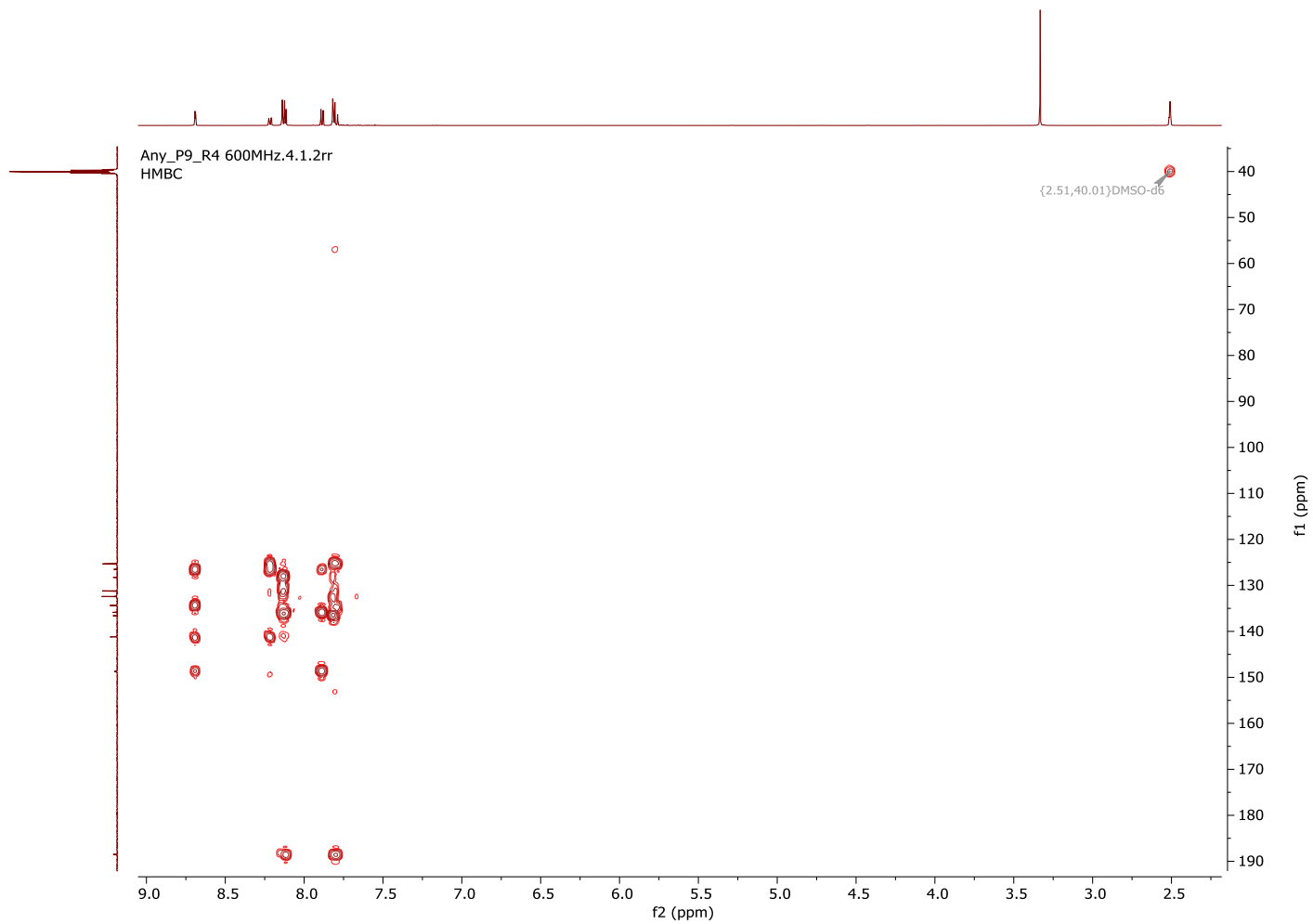
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 11 – HSQC do composto P9 (600 MHz, DMSO-d6) P9.



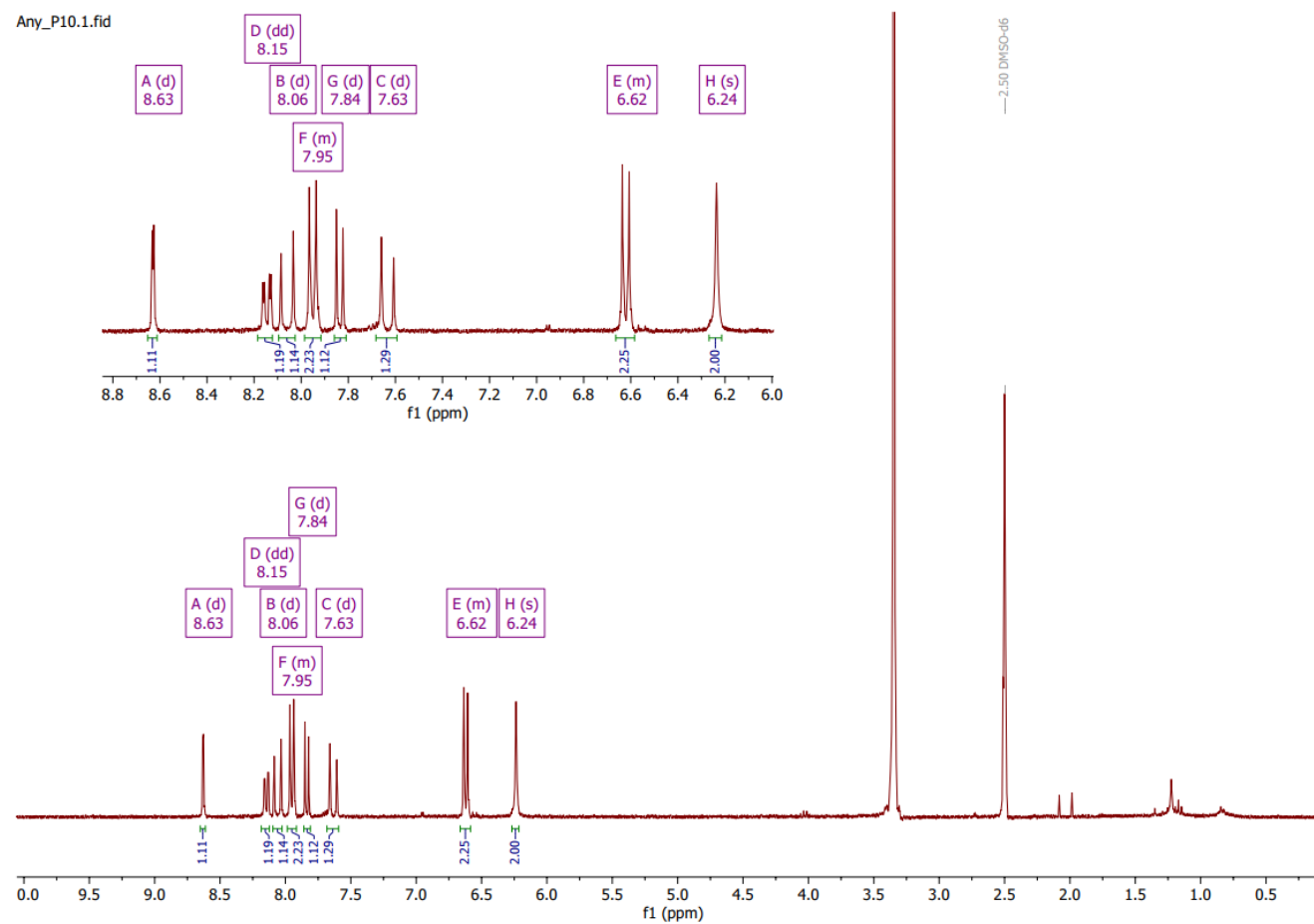
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 12 – HMBC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P9.



Fonte: Dados da pesquisa.

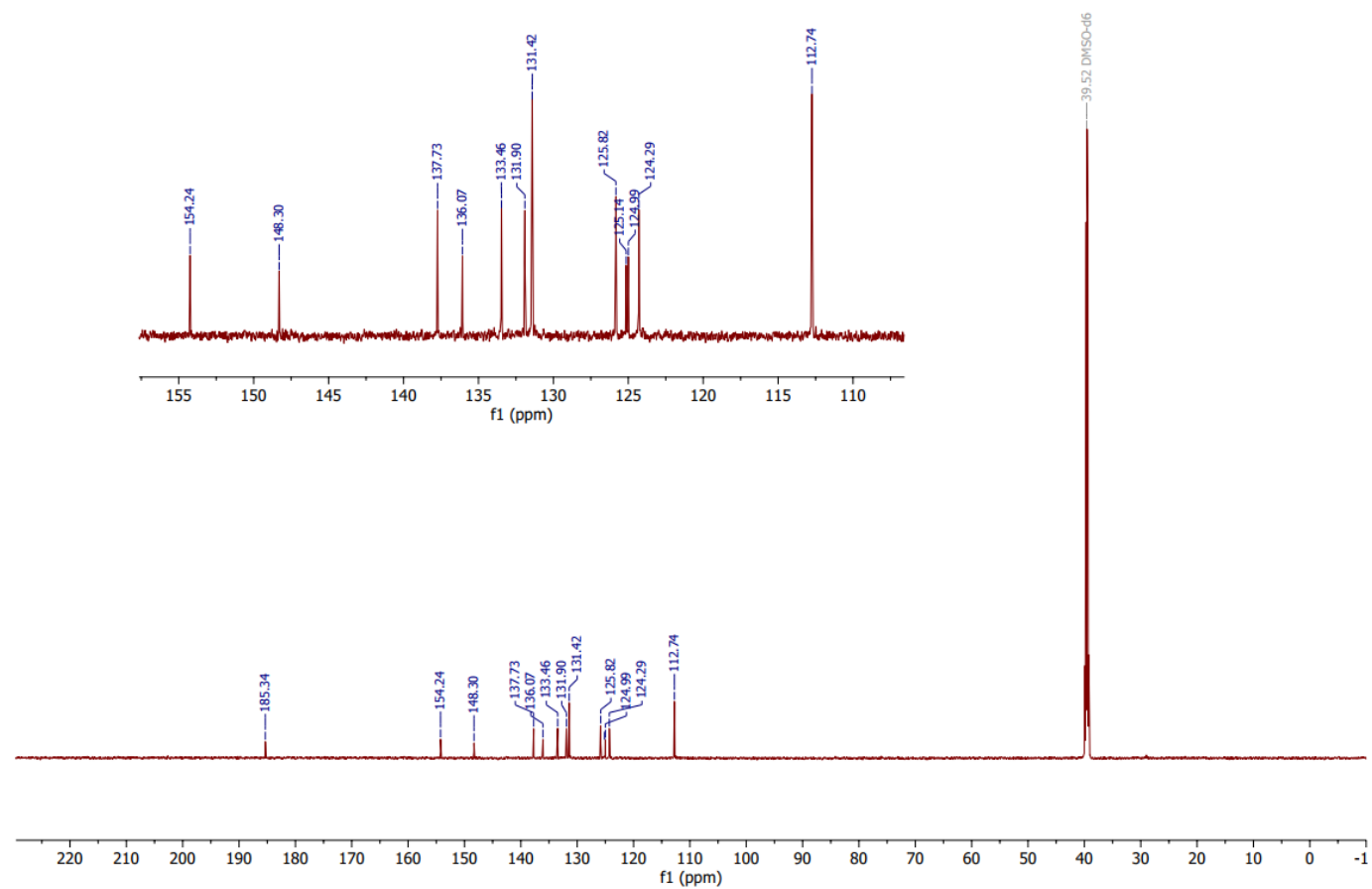
Espectro 13 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P10.



Fonte: Dados da pesquisa.

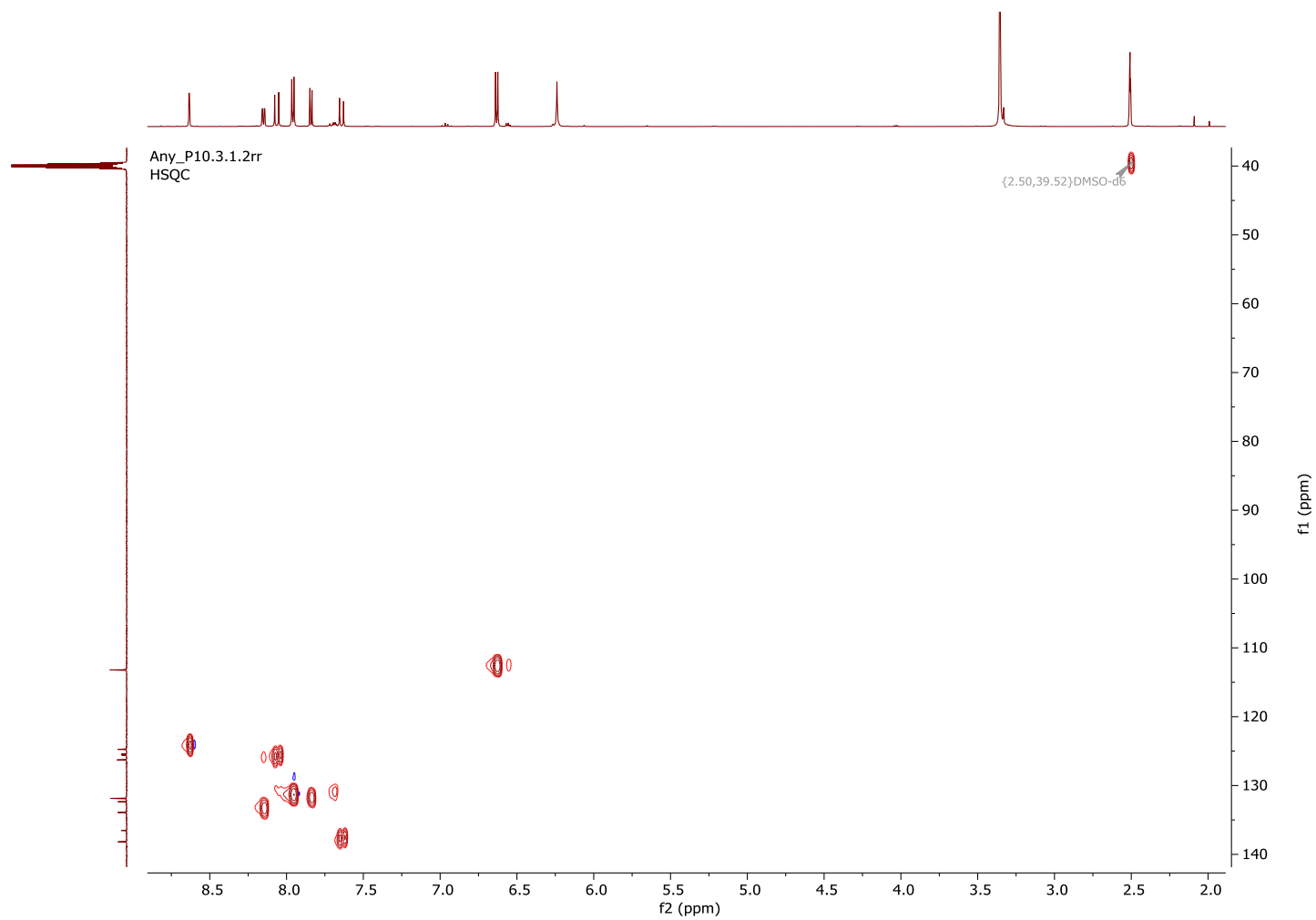
Espectro 14 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P10.

Any P10.13C



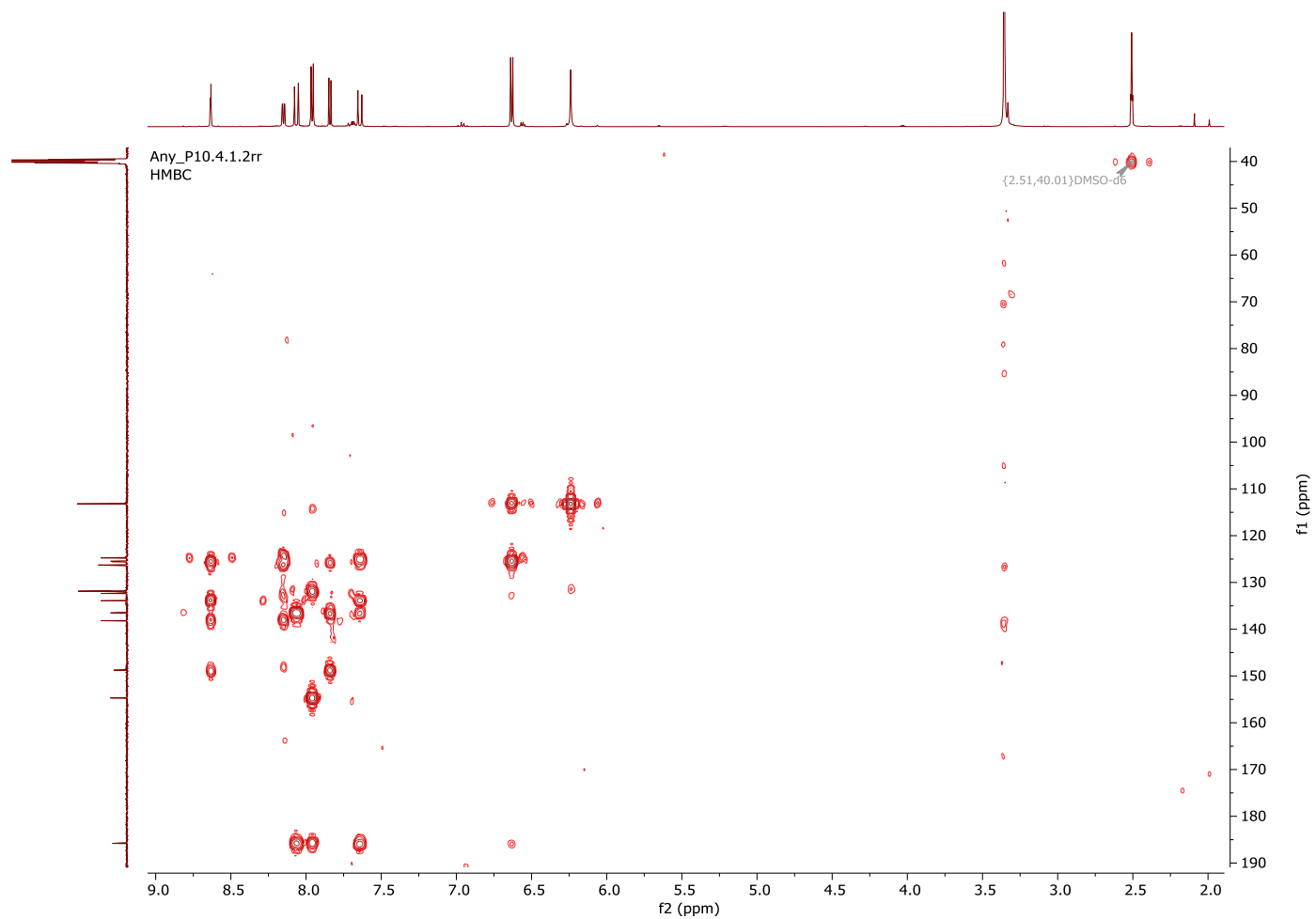
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 15 – HSQC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P10.



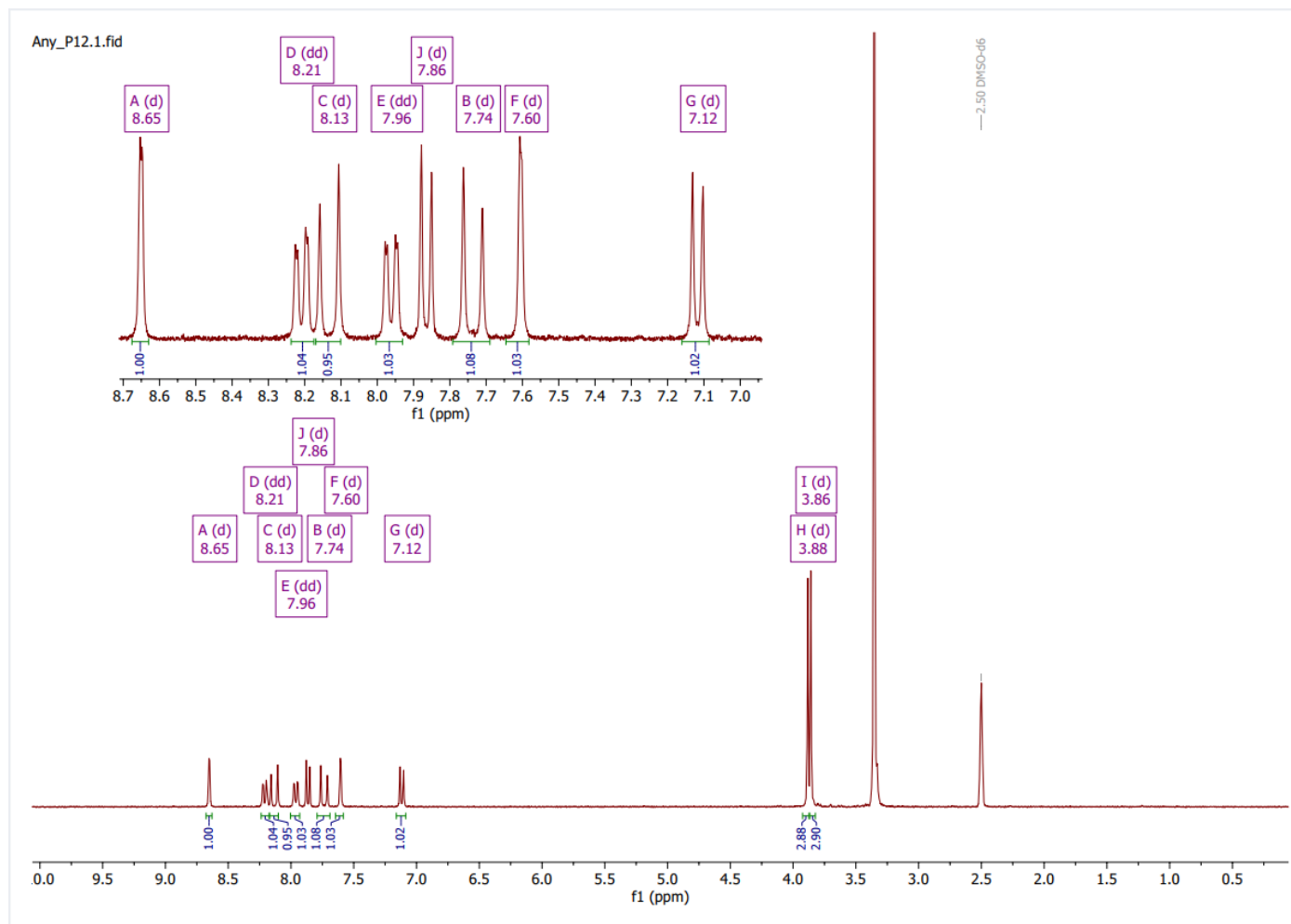
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 16 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P10.



Fonte: Dados da pesquisa.

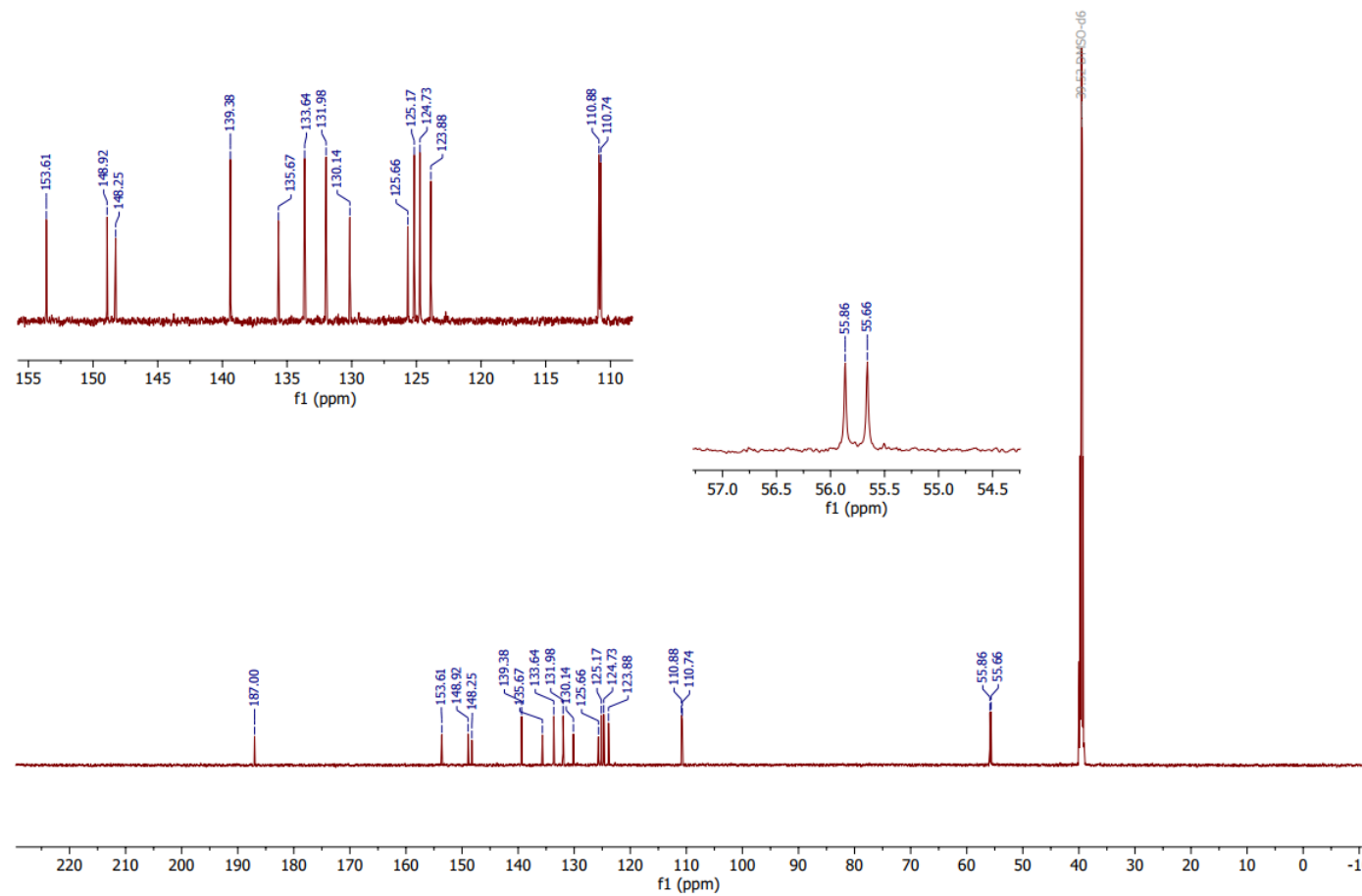
Espectro 17 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P12..



Fonte: Dados da pesquisa.

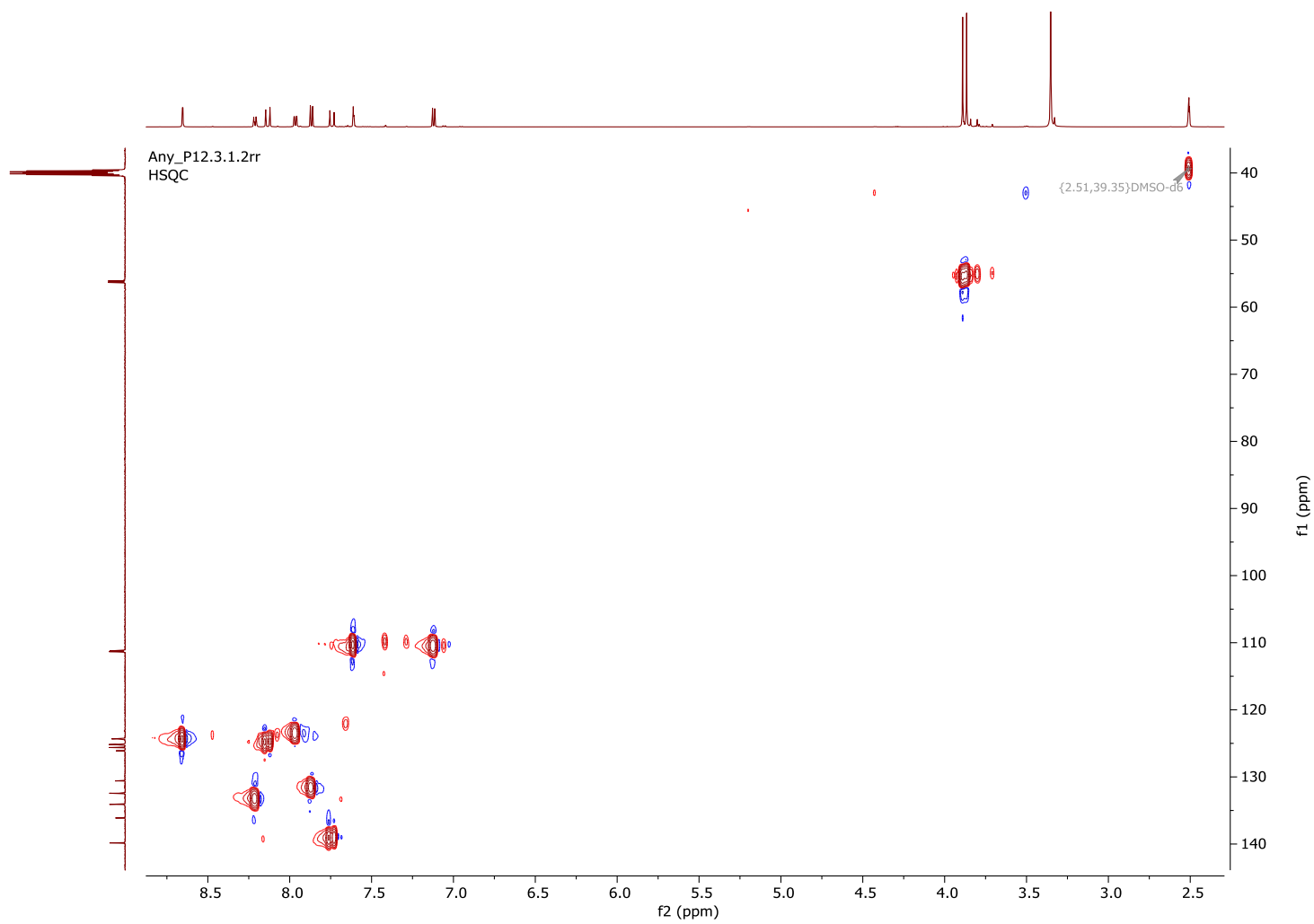
Espectro 18 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P12.

Any P12.13C



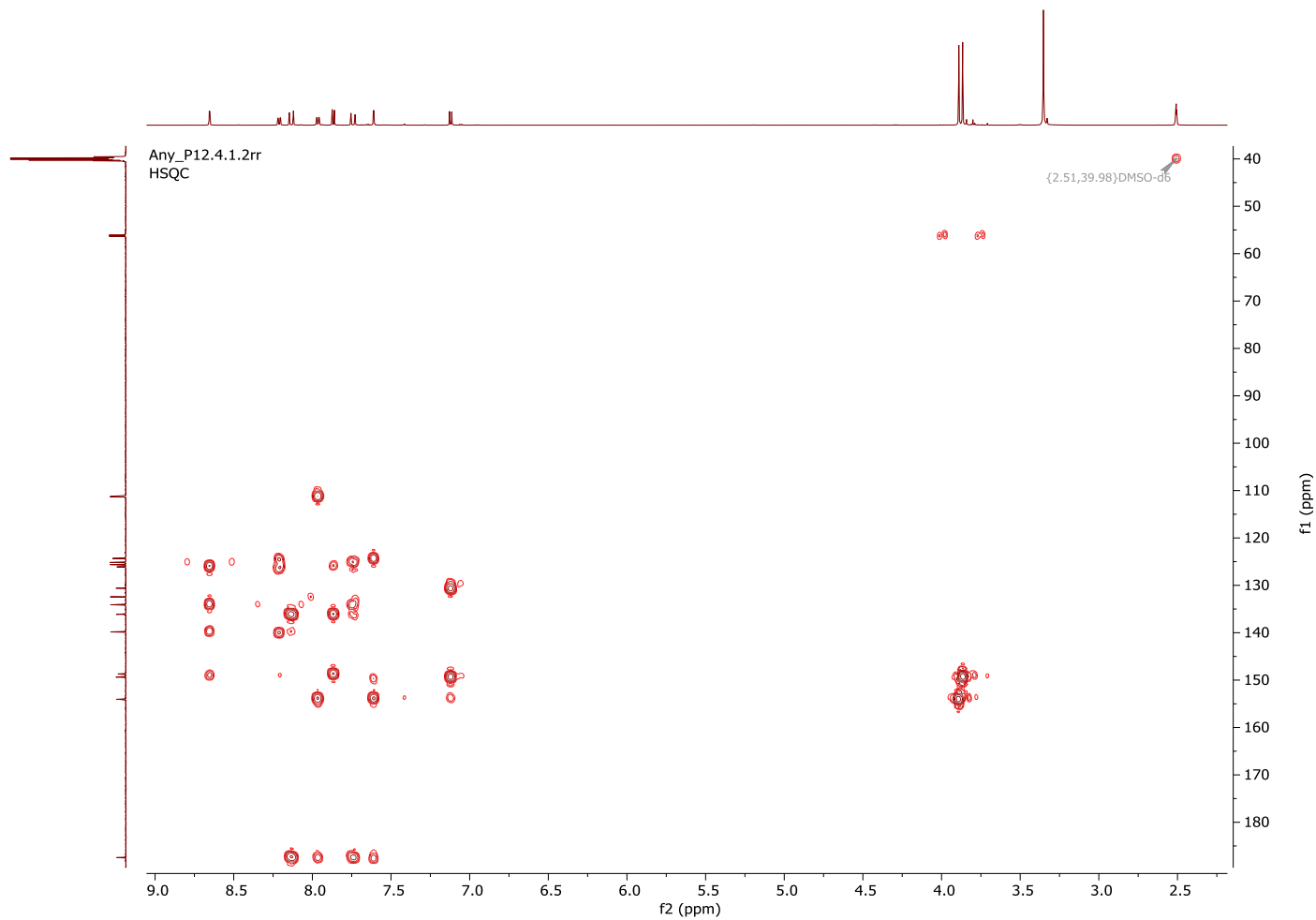
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 19 – HSQC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P12.



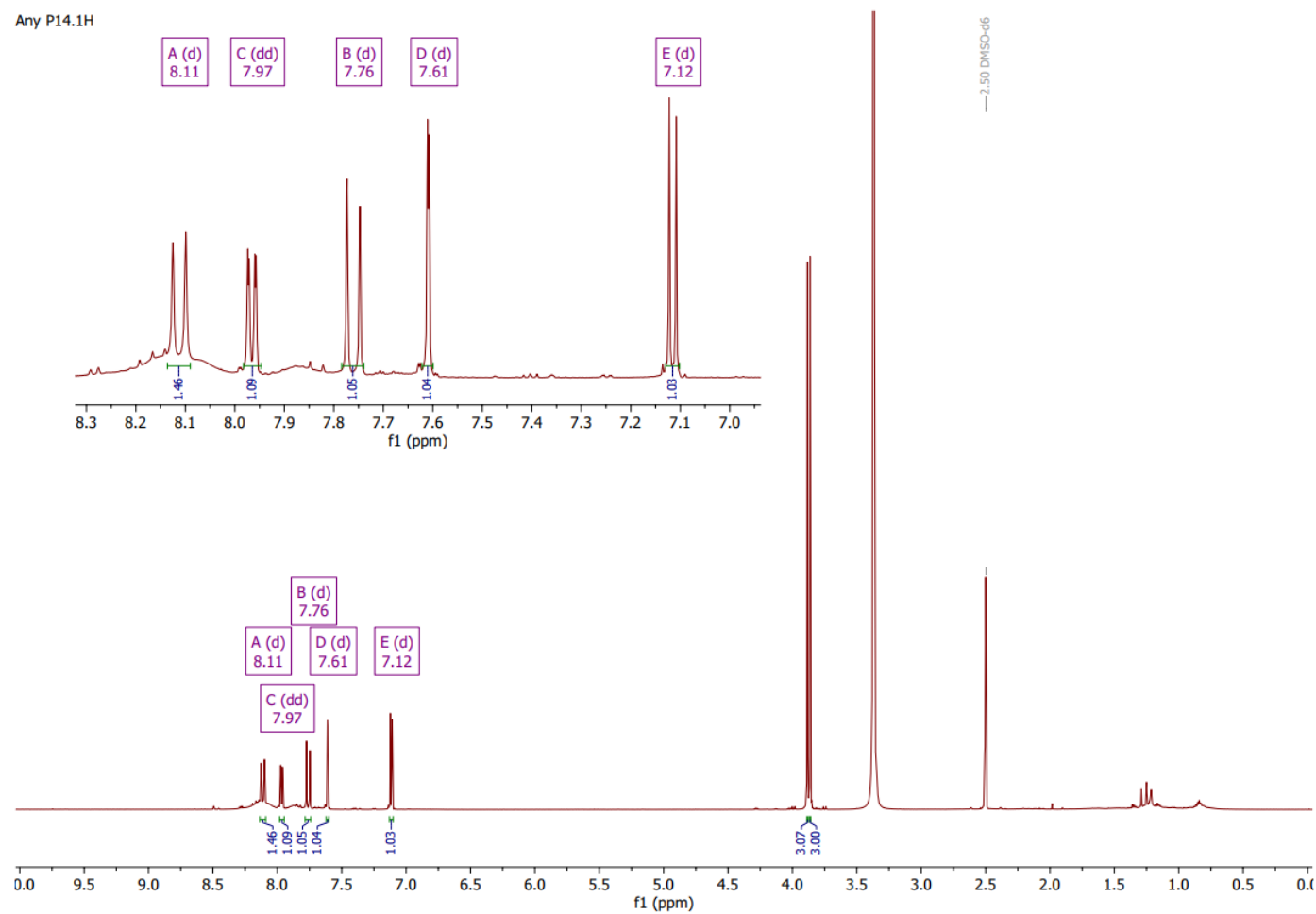
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 20 – HMBC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P12.



Fonte: Dados da pesquisa.

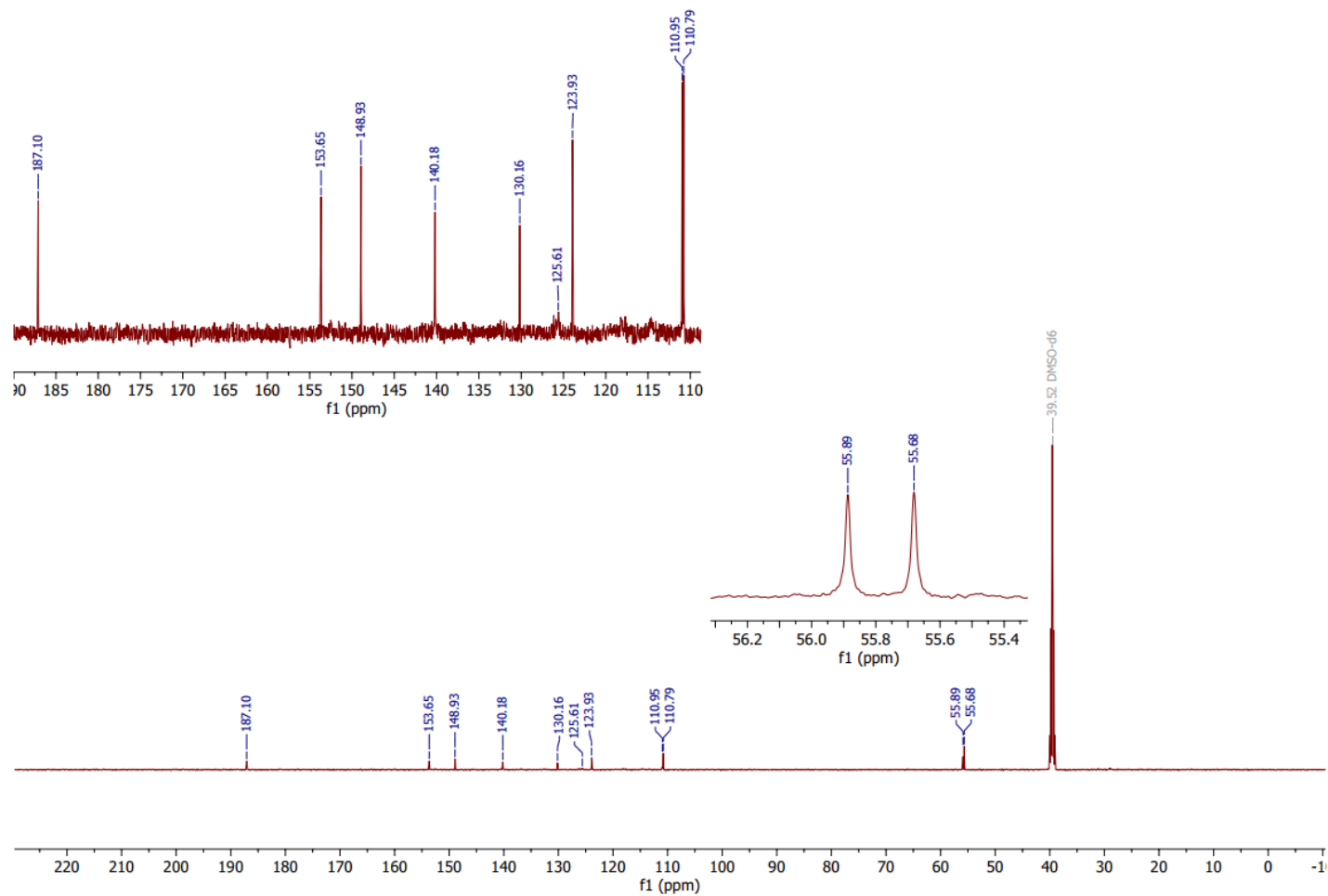
Espectro 21 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P14.



Fonte: Dados da pesquisa.

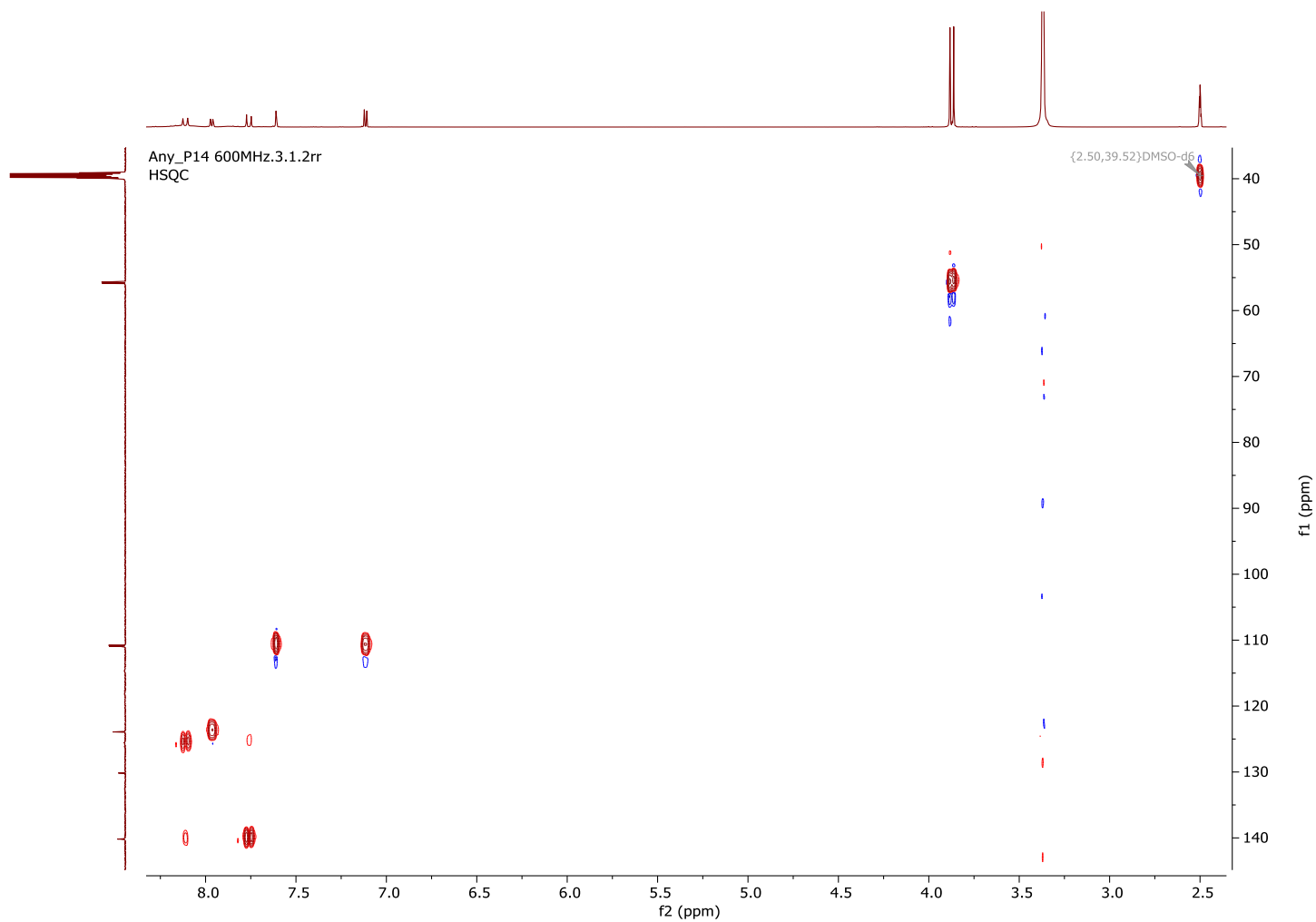
Espectro 22 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P14.

Any P14.13C



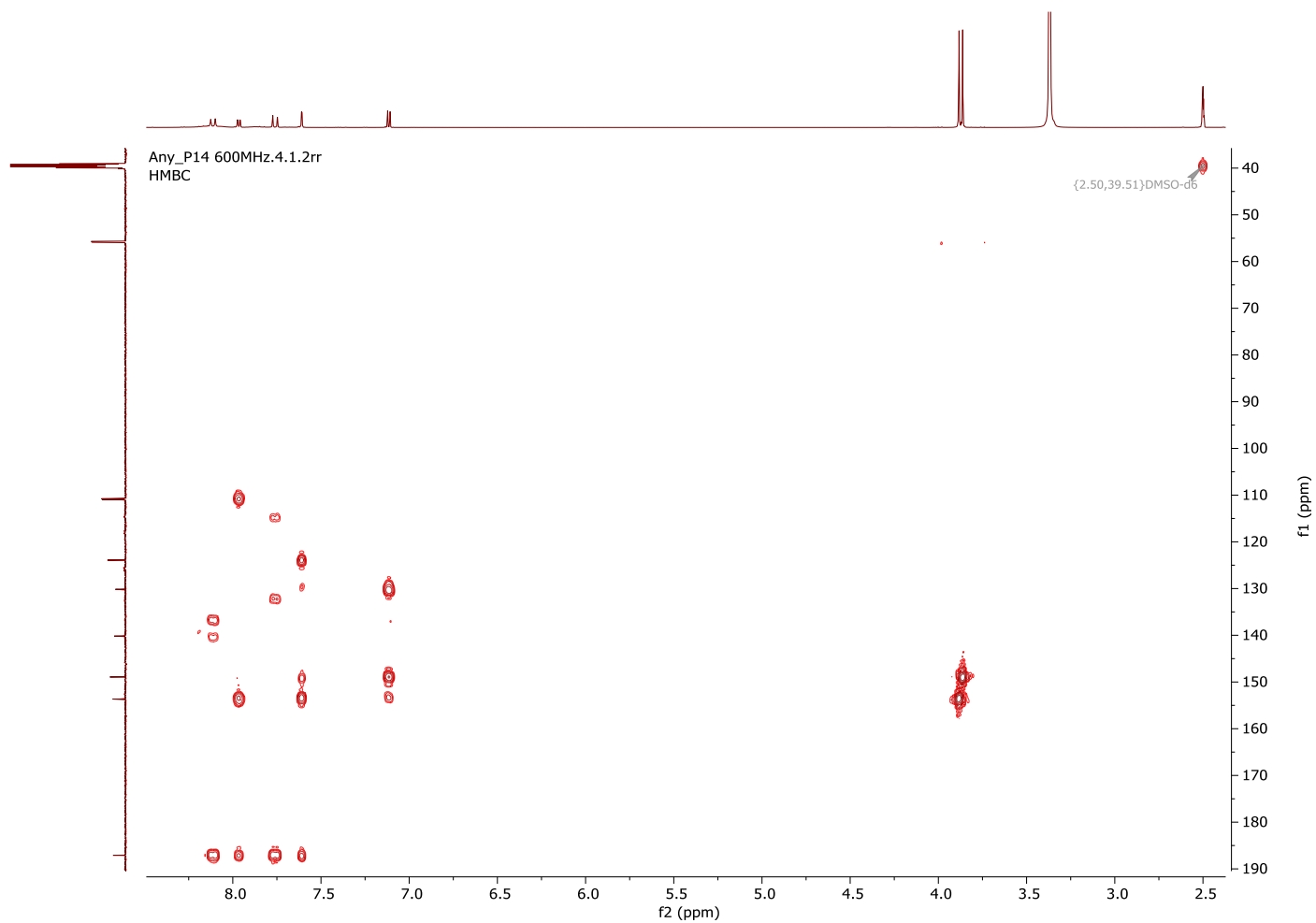
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 23 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P14.



Fonte: Dados da pesquisa.

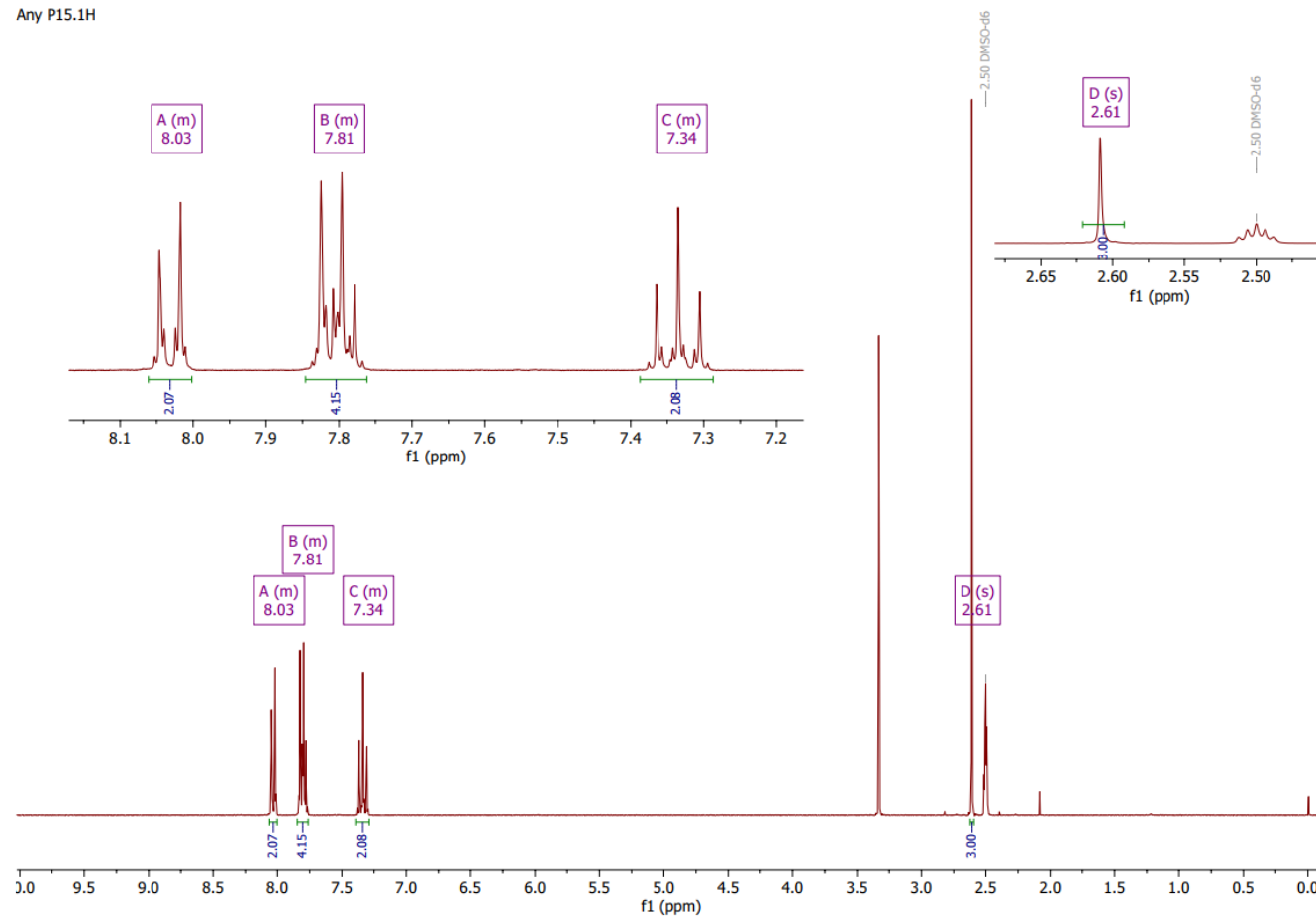
Espectro 24 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P14.



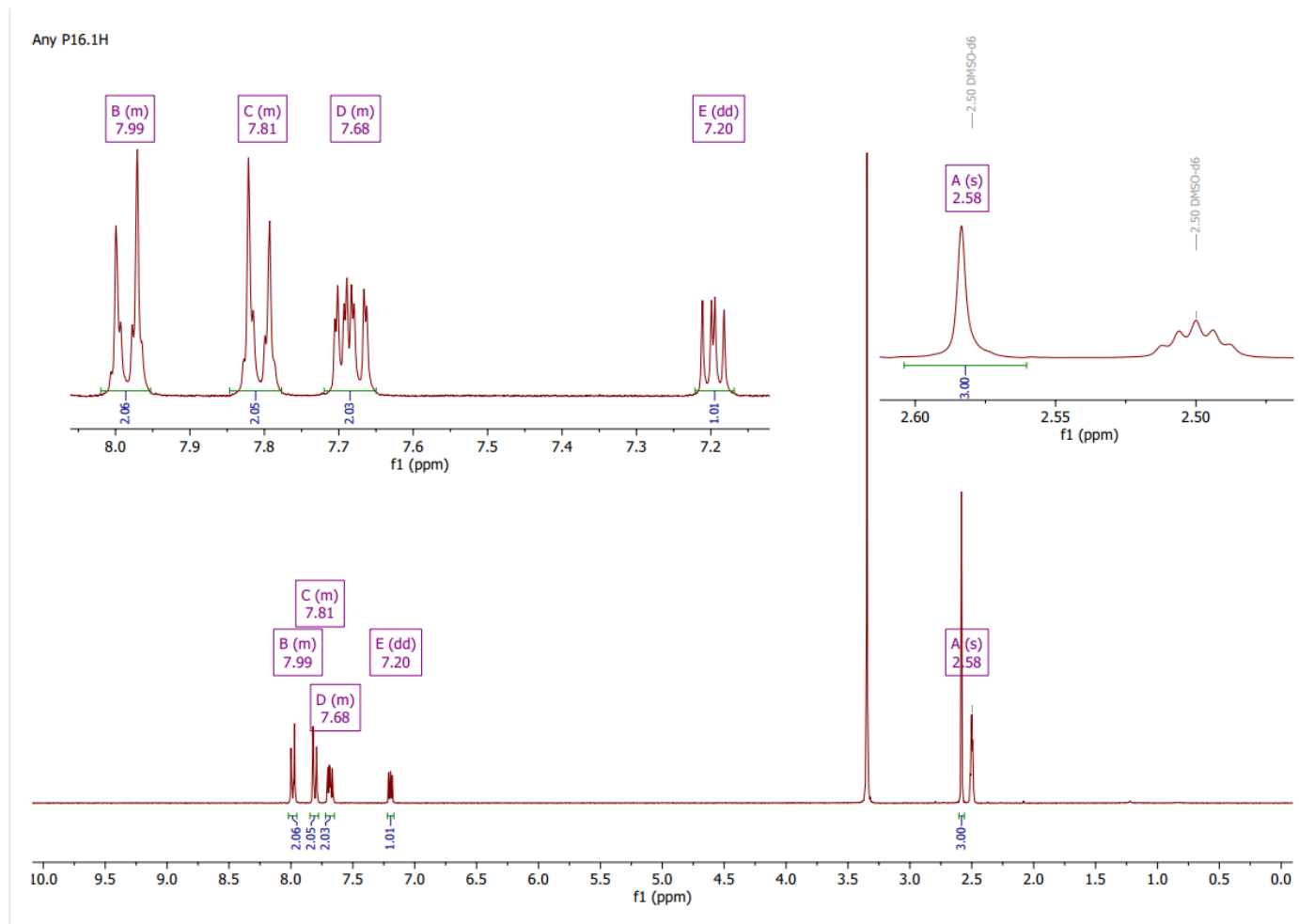
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 25 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P15.

Any P15.1H



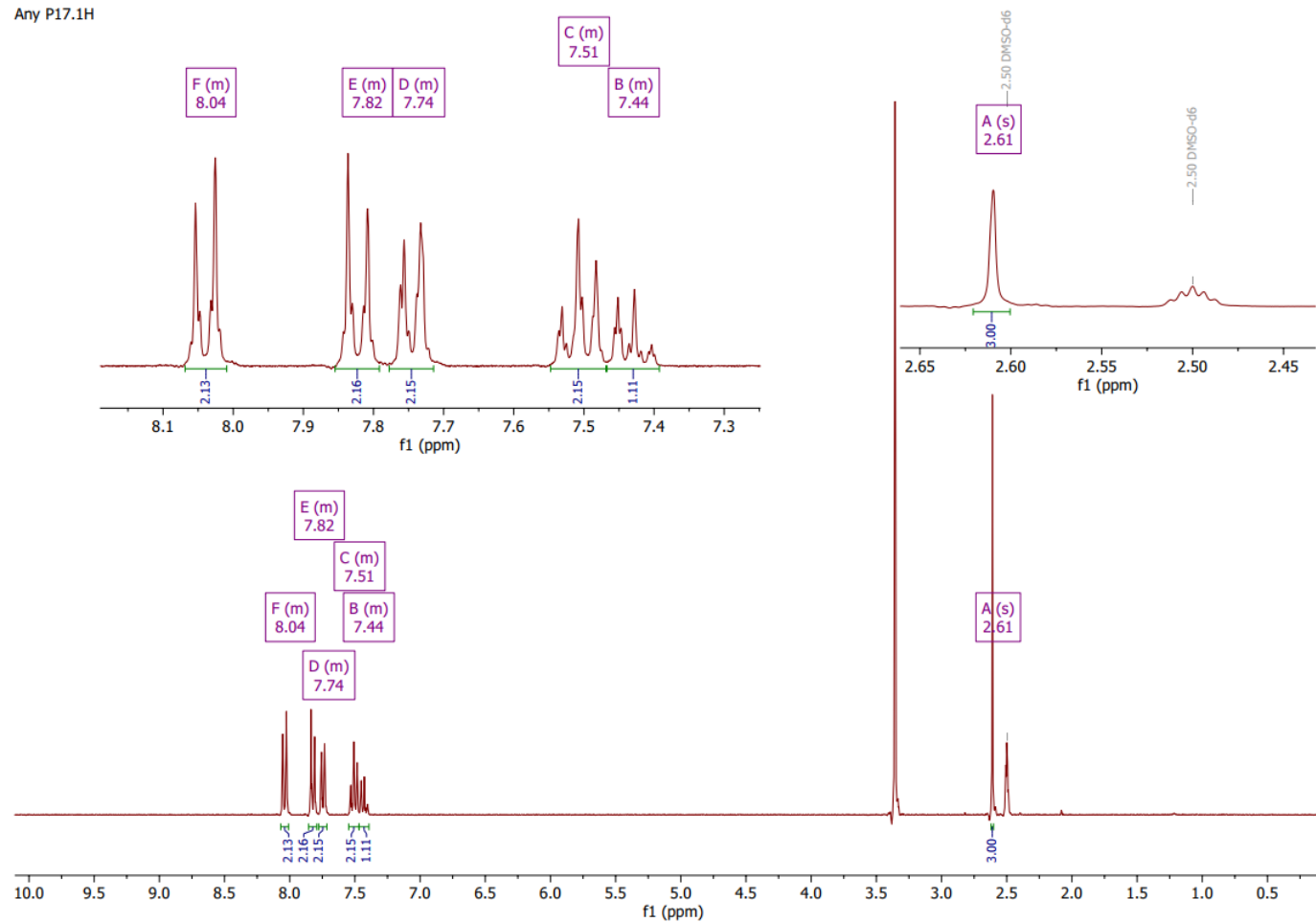
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 26 ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P16..

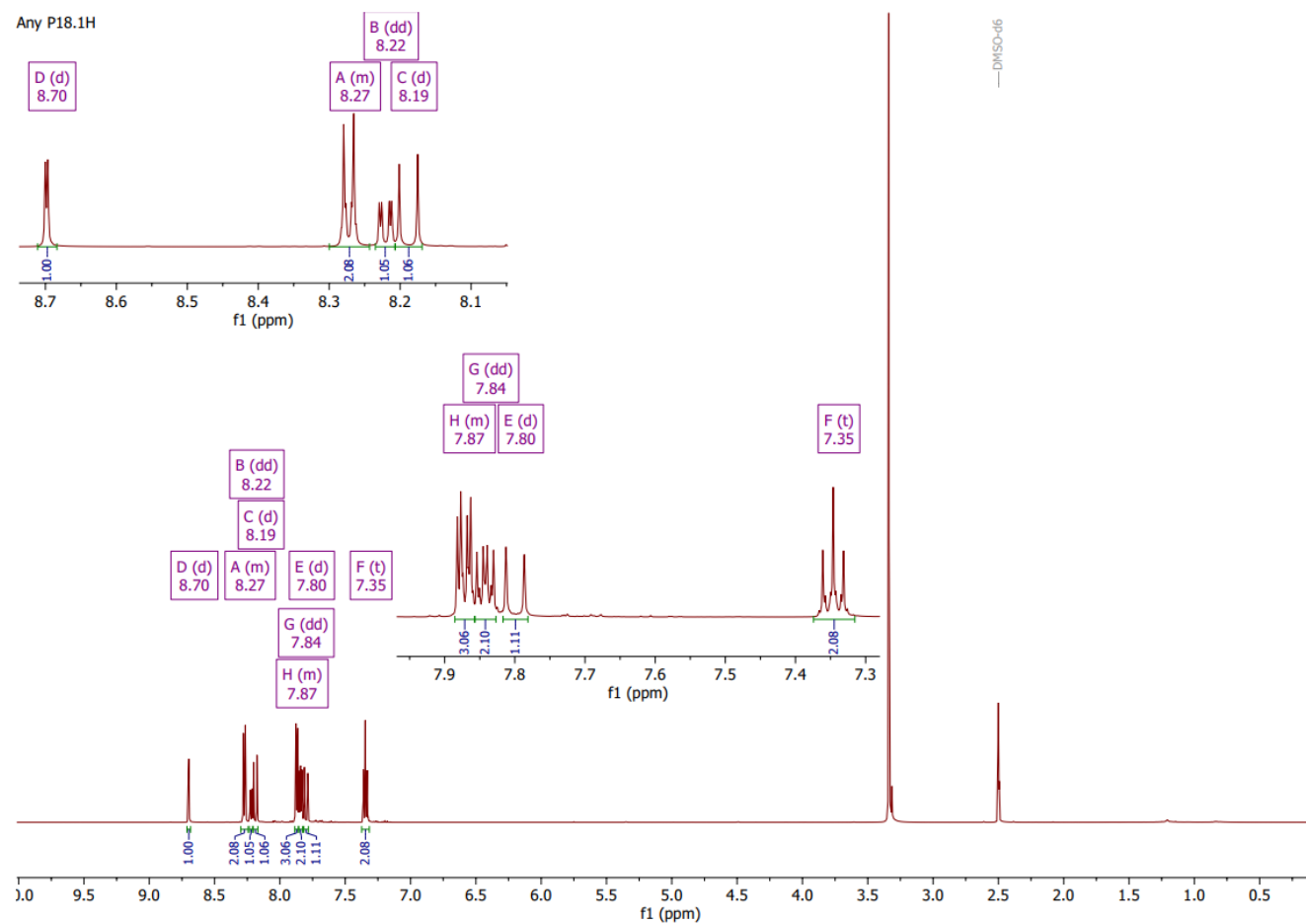
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 27 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P17.

Any P17.1H

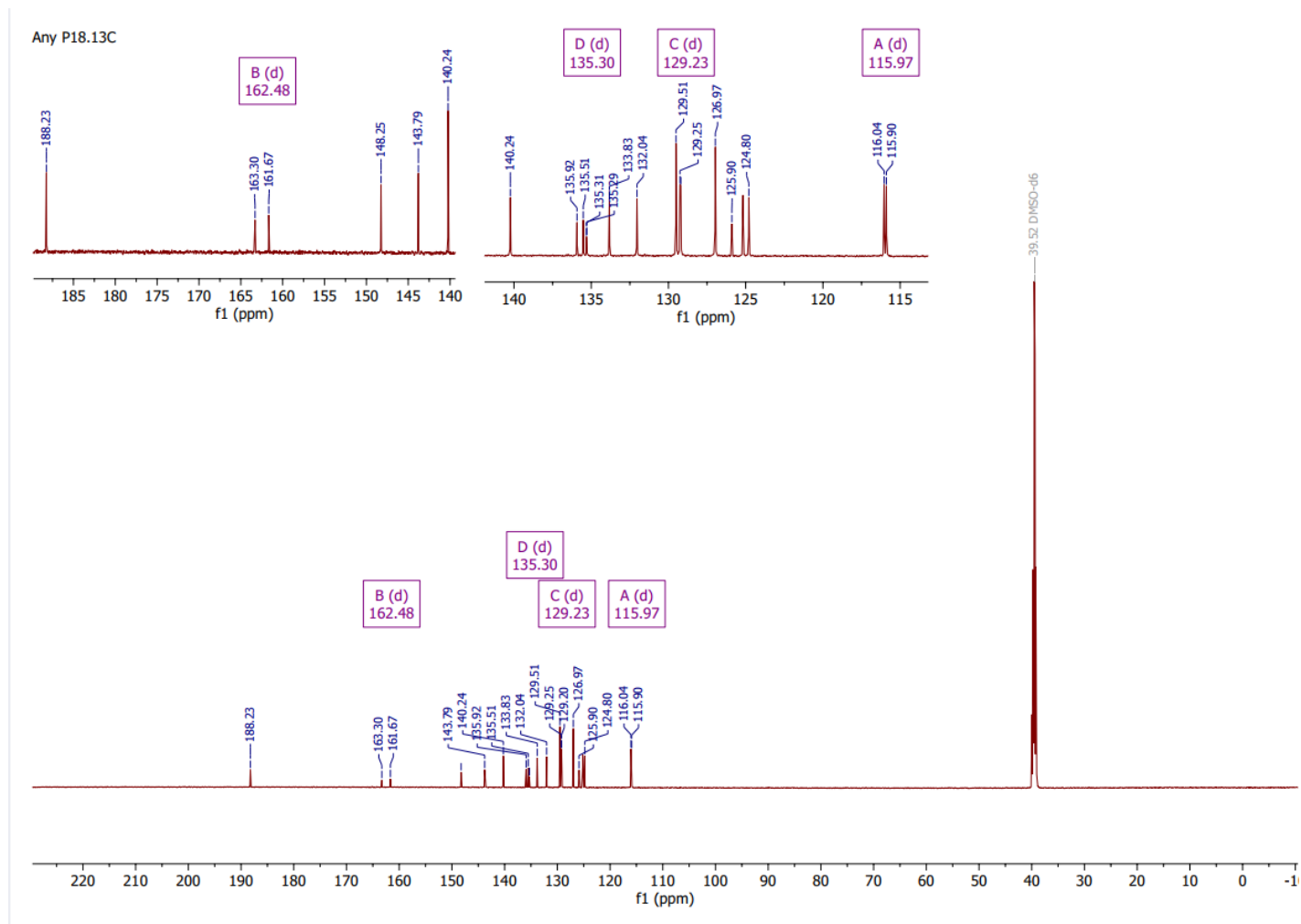


Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 28 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P18.

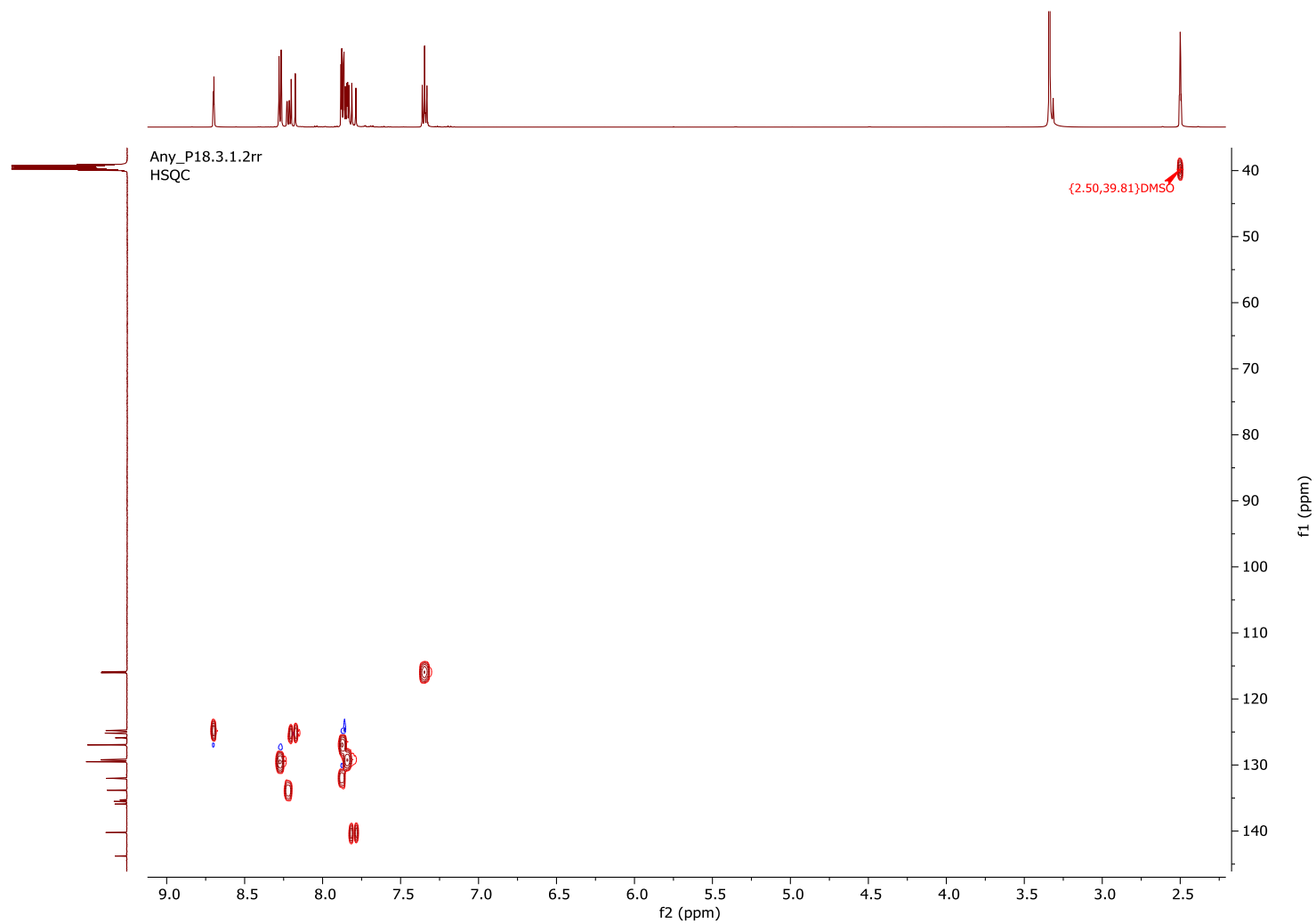
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 29– ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P18.



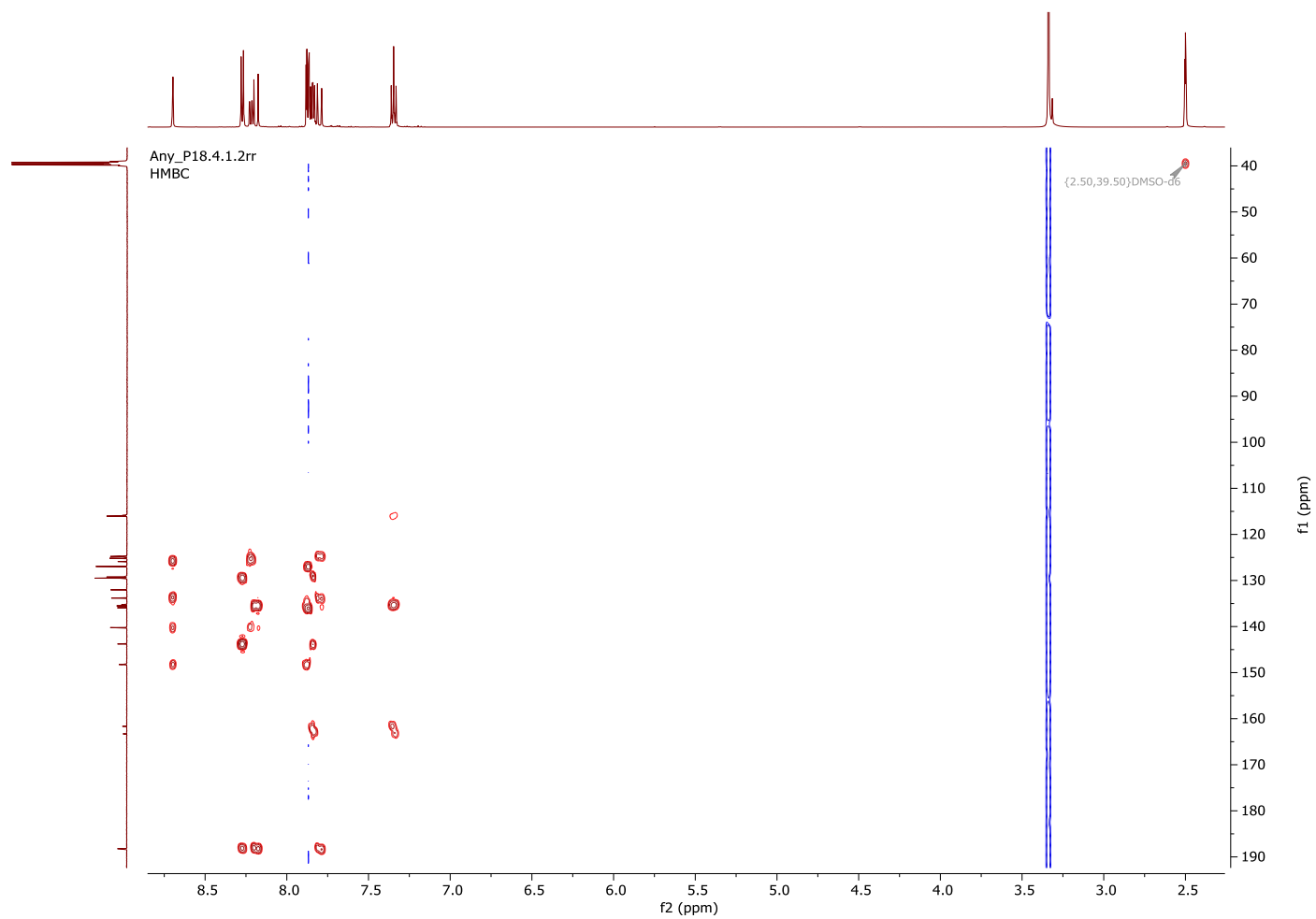
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 30 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P18.



Fonte: Dados da pesquisa.

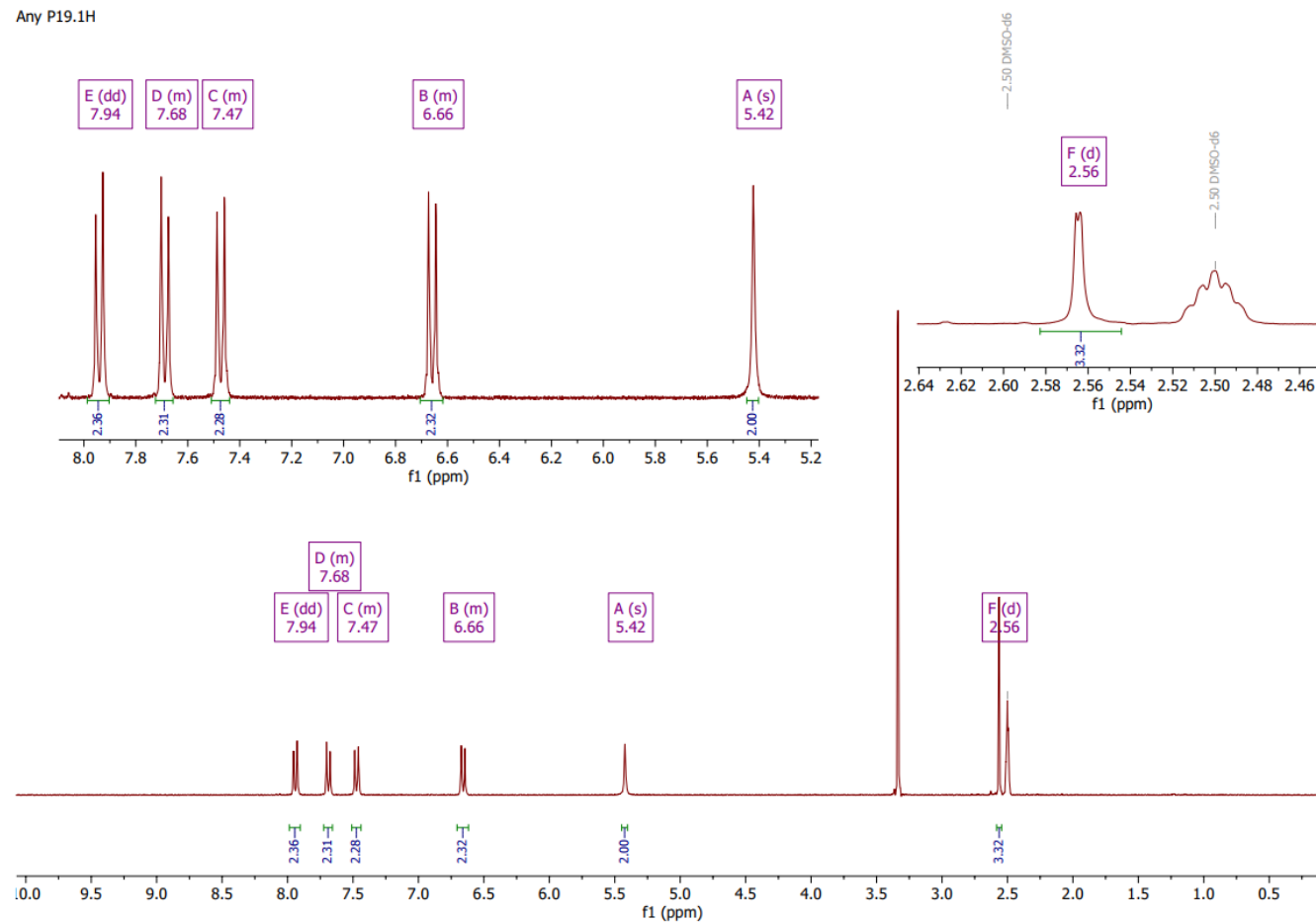
Espectro 31 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P18.



Fonte: Dados da pesquisa.

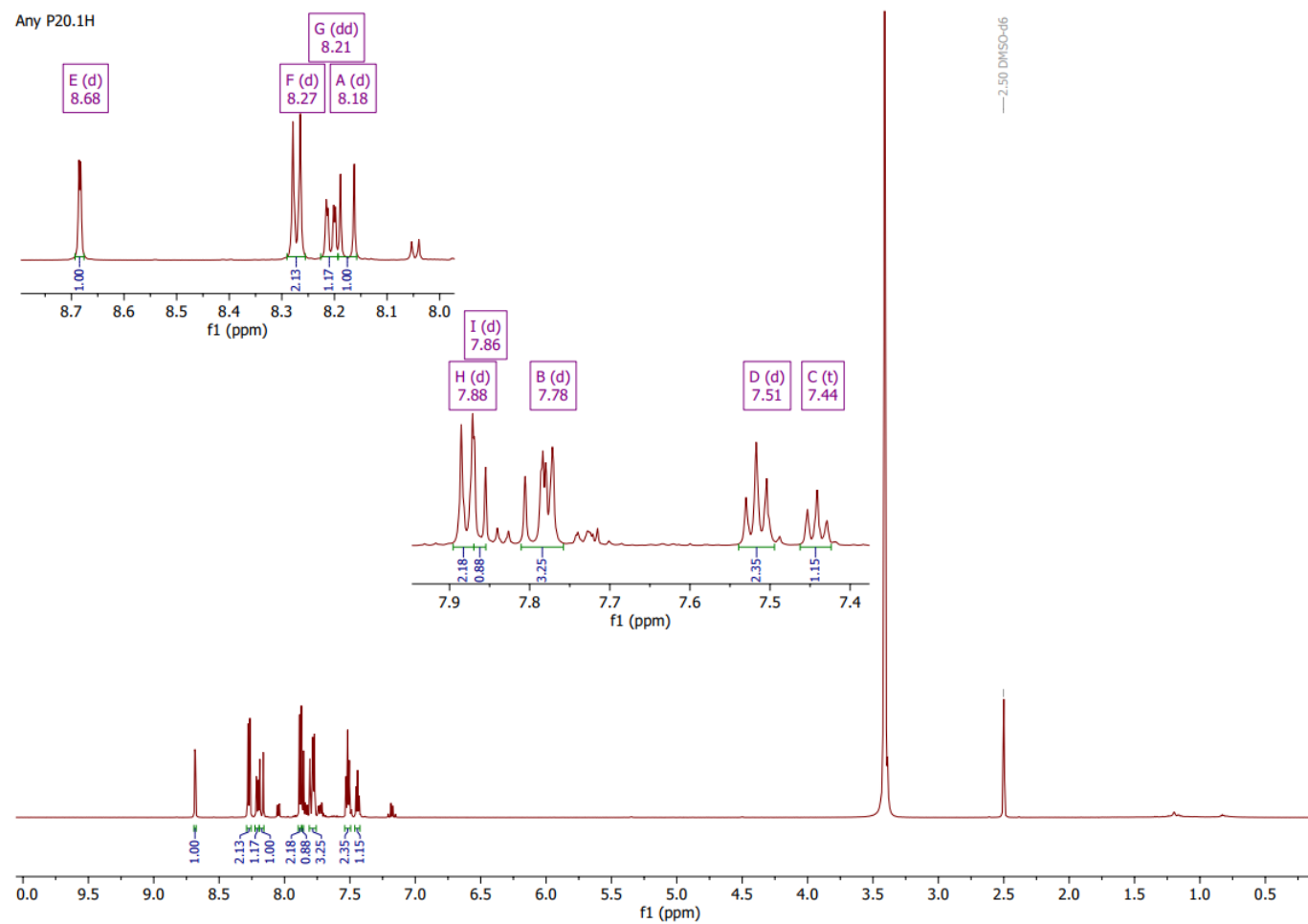
Espectro 32 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P19.

Any P19.1H



Fonte: Dados da pesquisa.

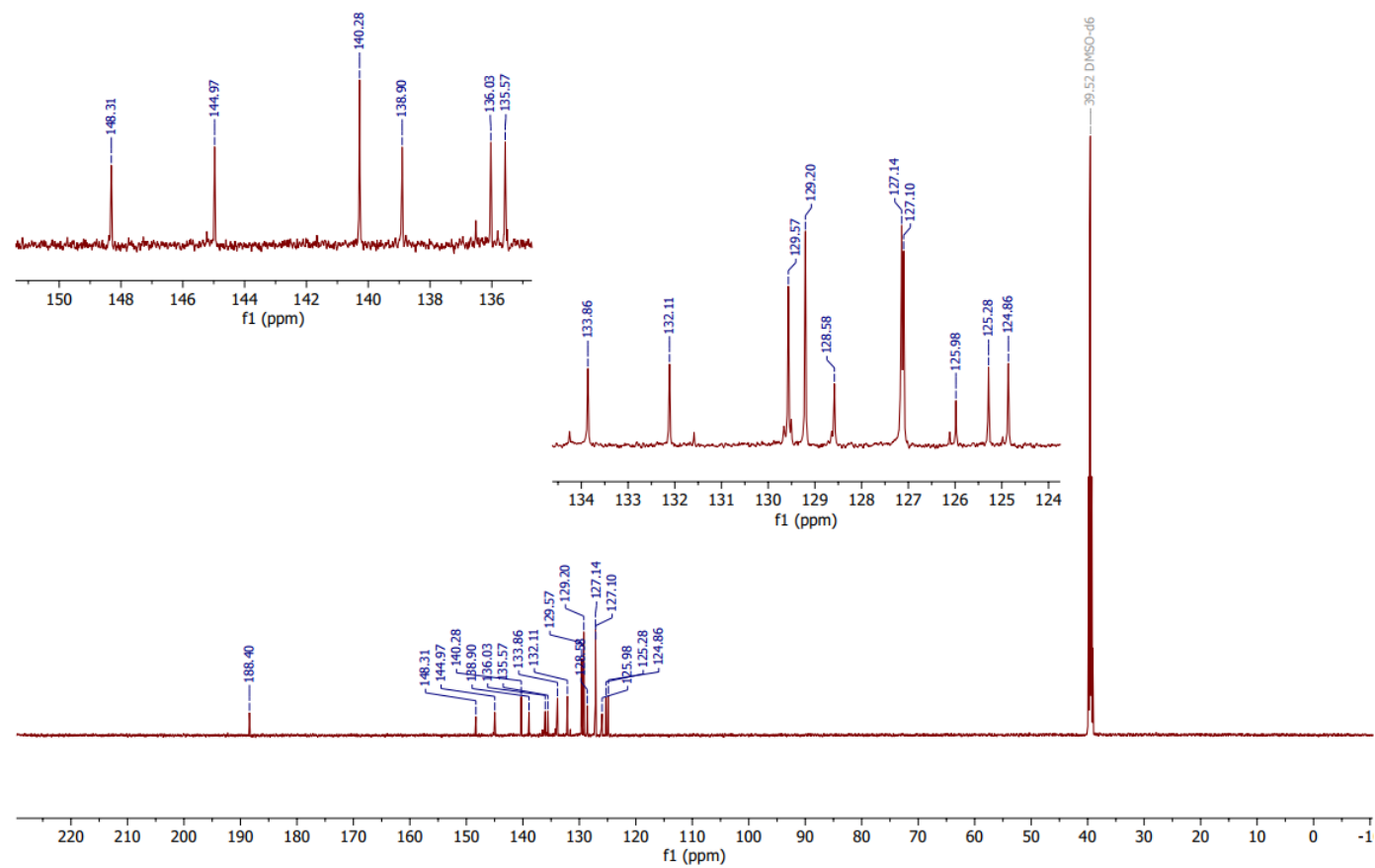
Espectro 33 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P20.



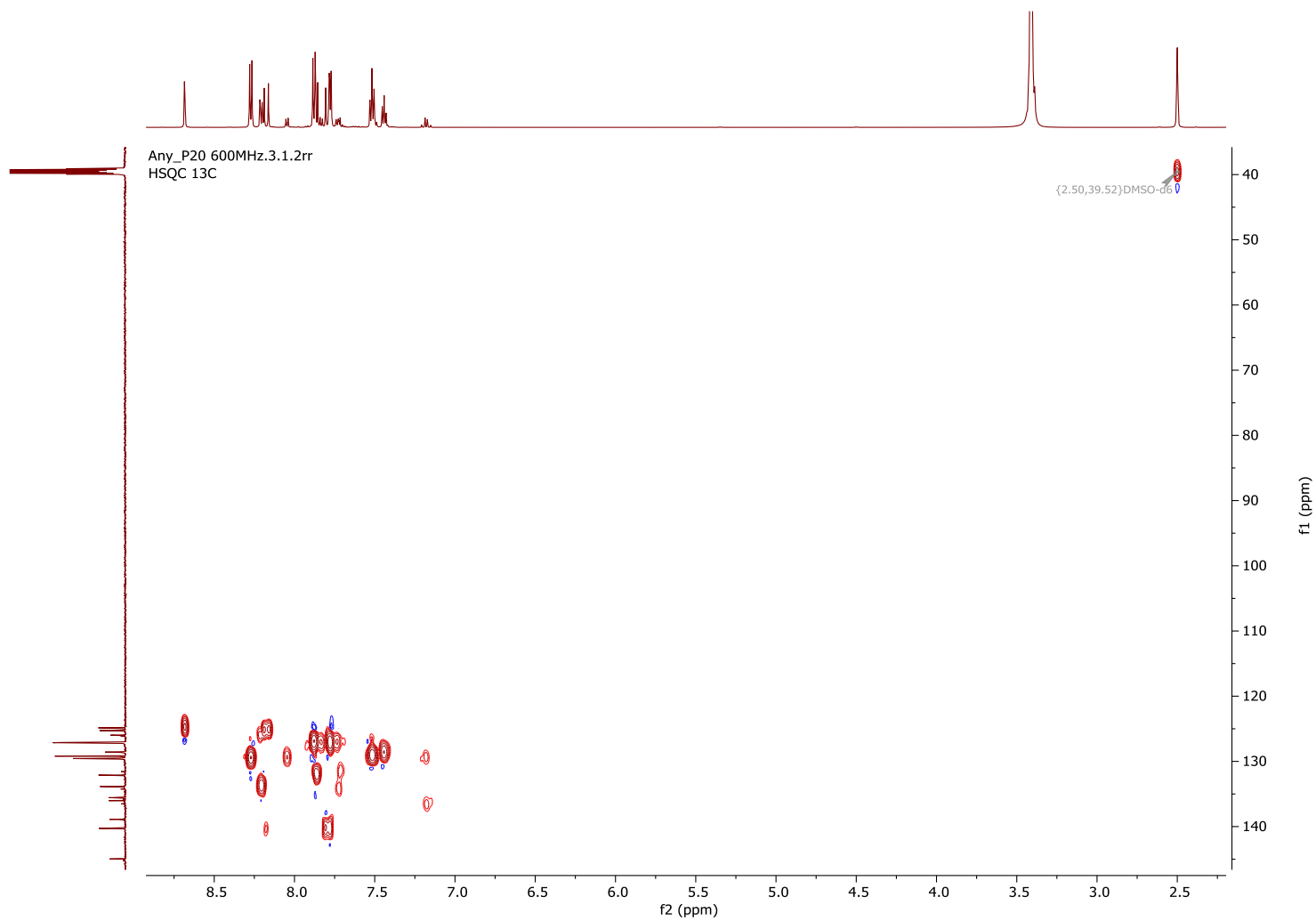
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 34 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P20.

Any P20.13C

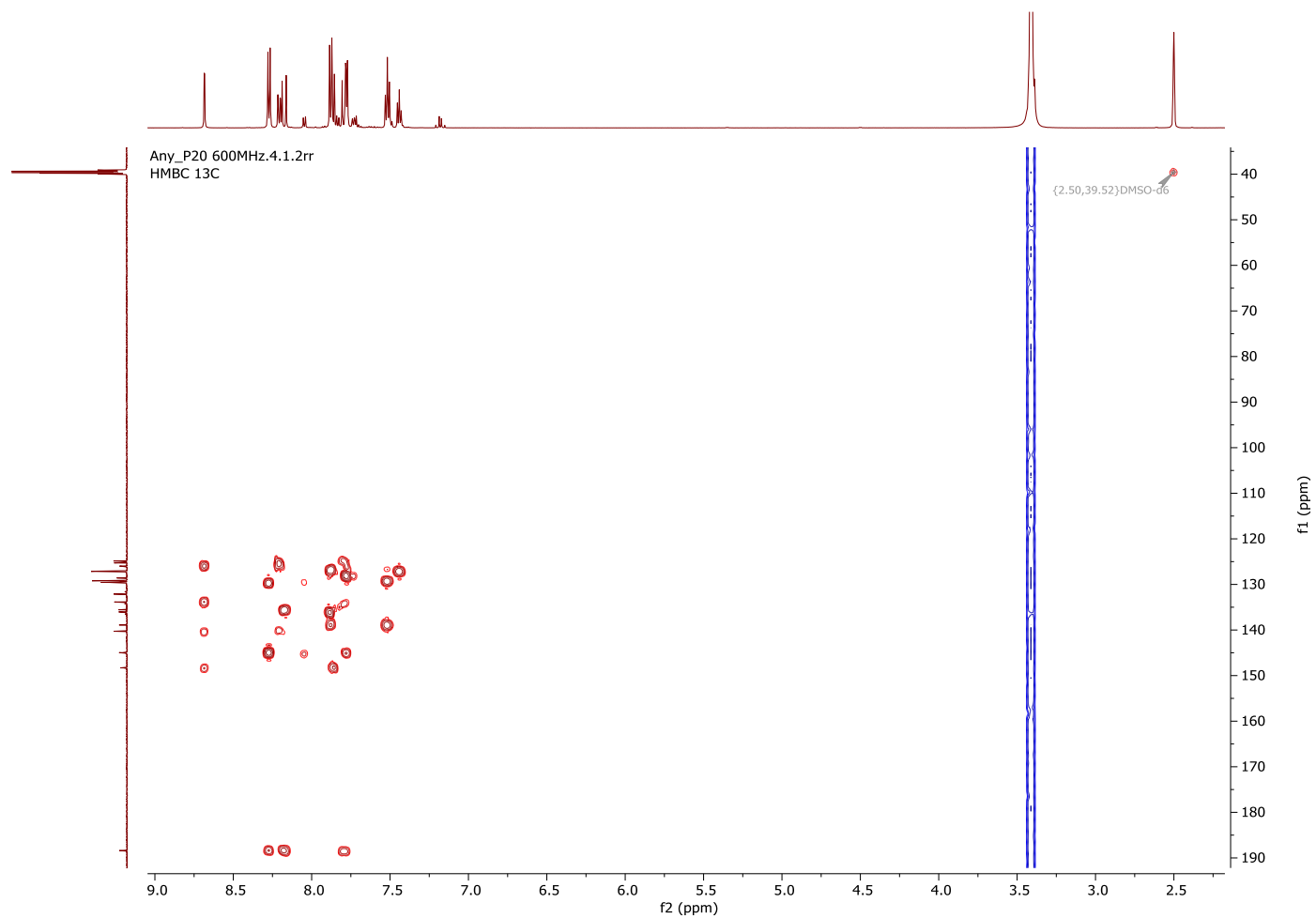
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Espectro 35 – HSQC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P20.



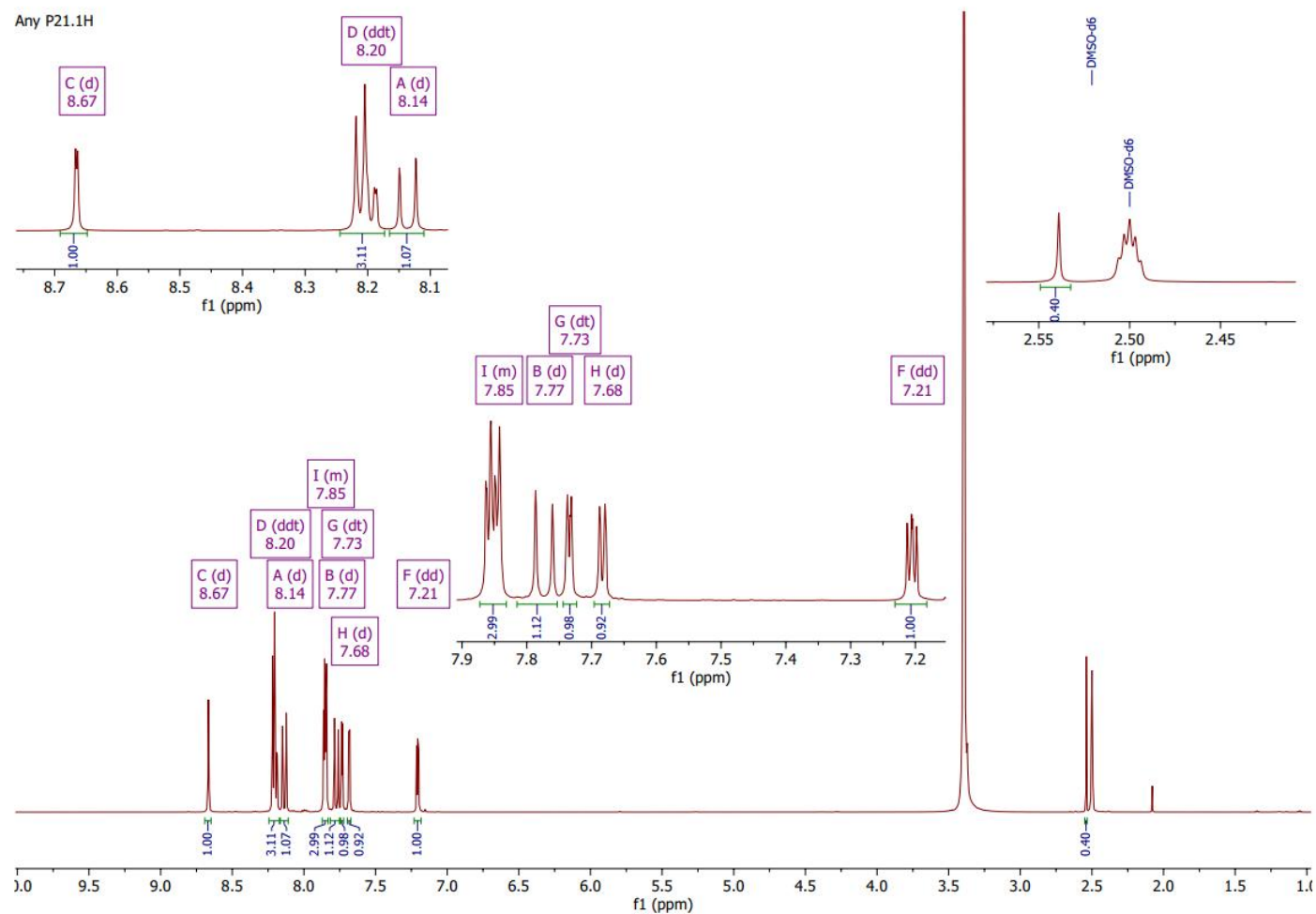
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 36 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P20.



Fonte: Dados da pesquisa.

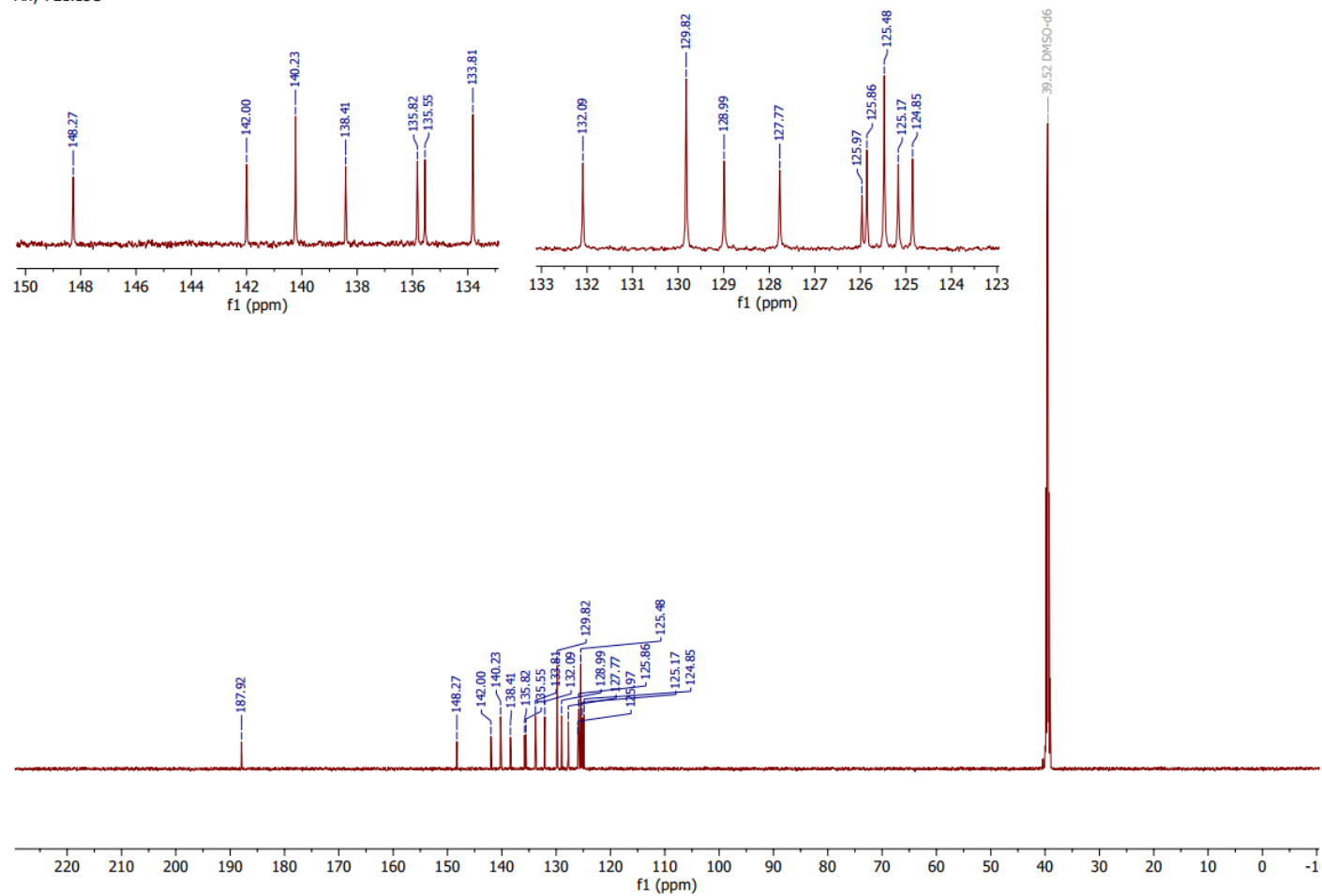
Espectro 37 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P21.



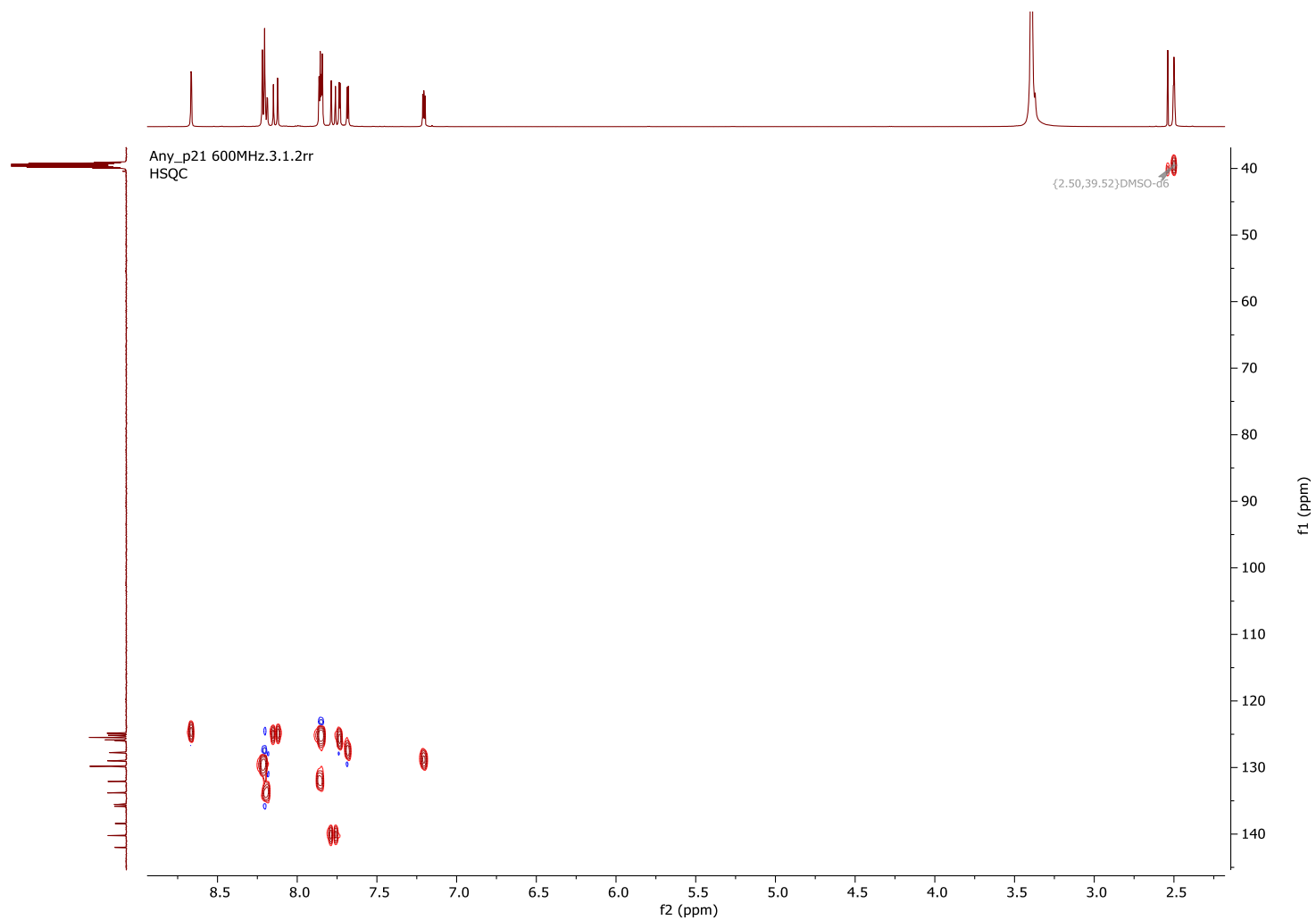
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 38 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P21.

Any P21.13C

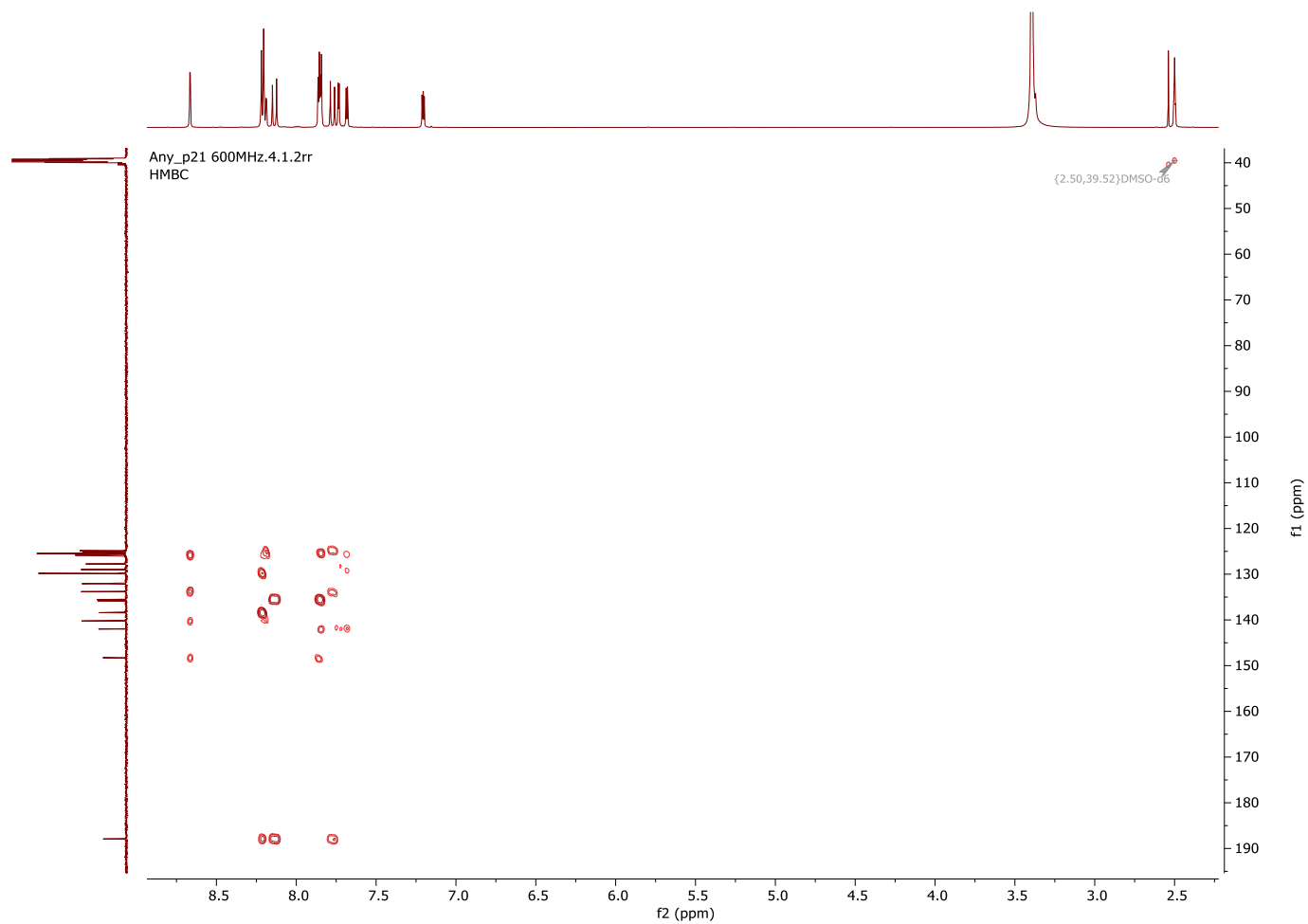
**Fonte:** Dados da pesquisa.

Espectro 39 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P21.



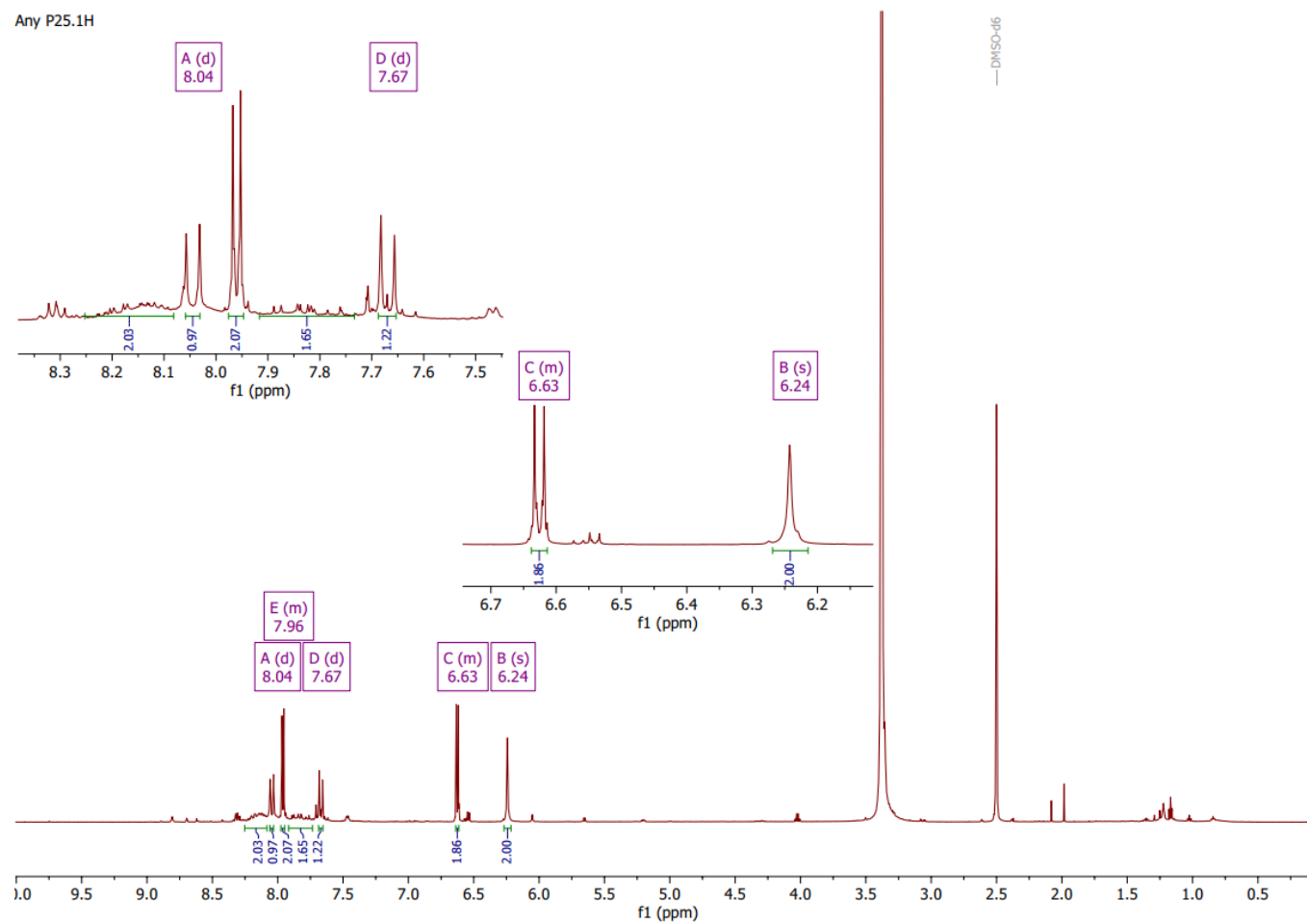
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 40 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P21.



Fonte: Dados da pesquisa.

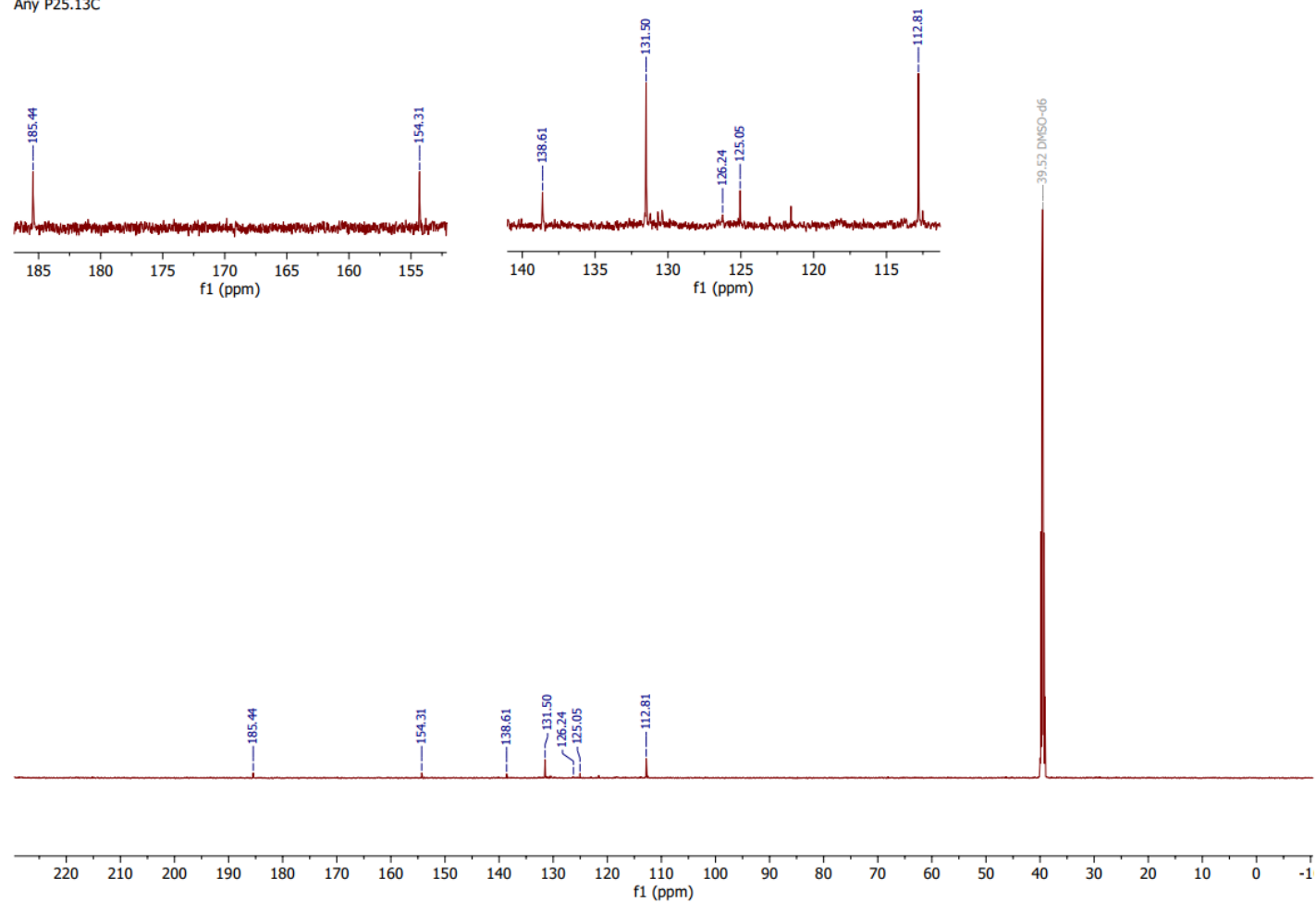
Espectro 41 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P25.



Fonte: Dados da pesquisa.

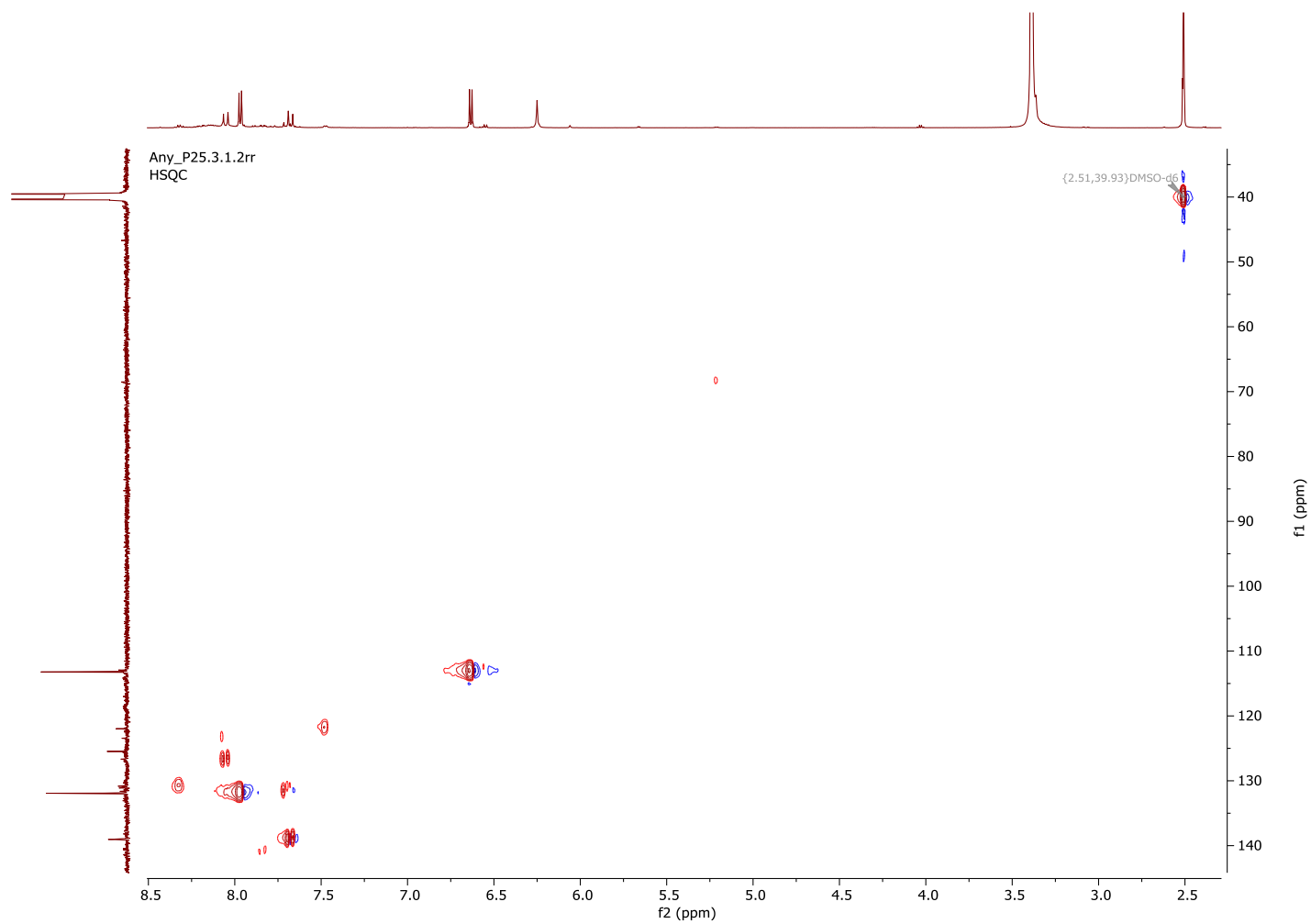
Espectro 42 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P25.

Any P25.13C



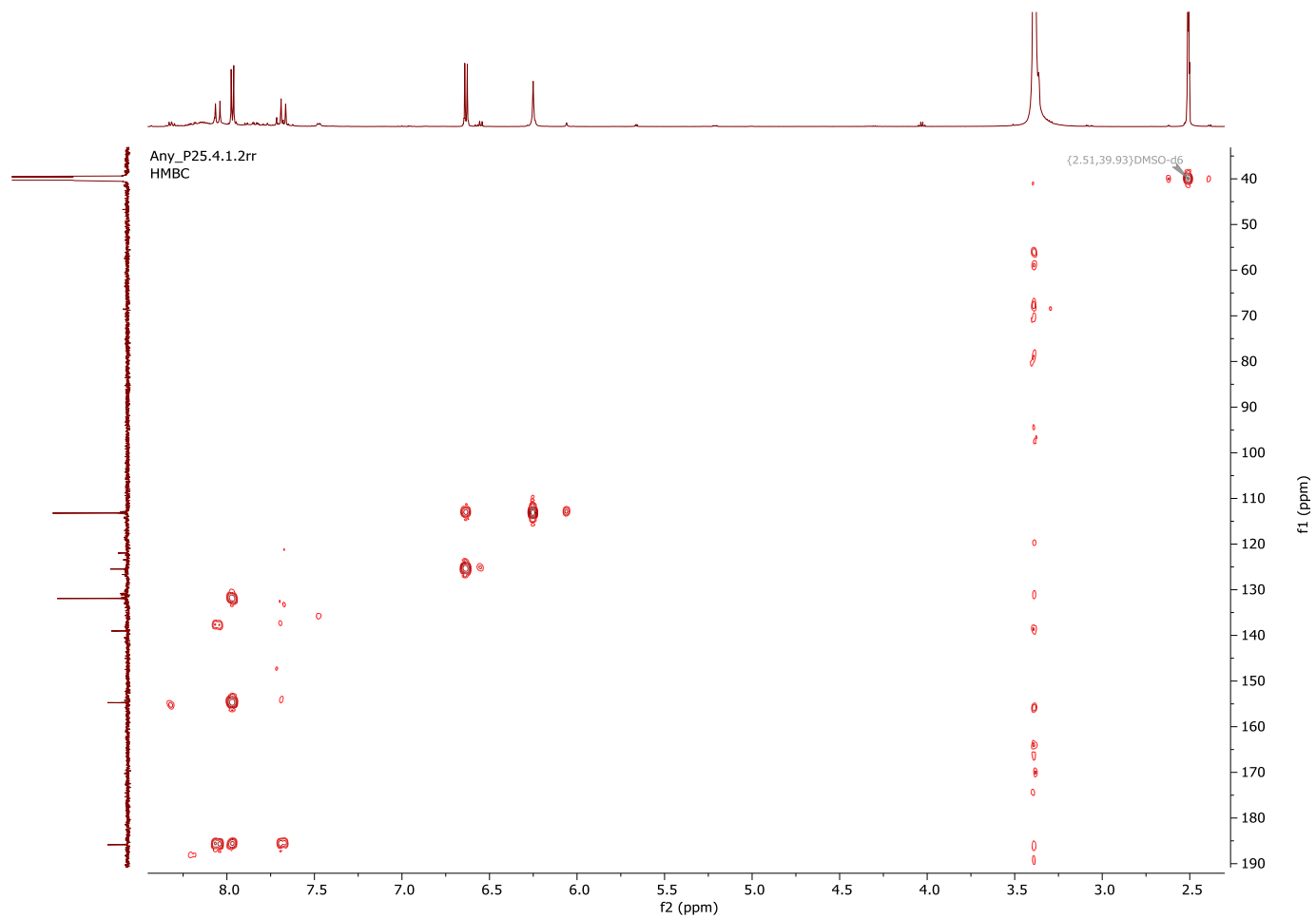
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 43 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P25.



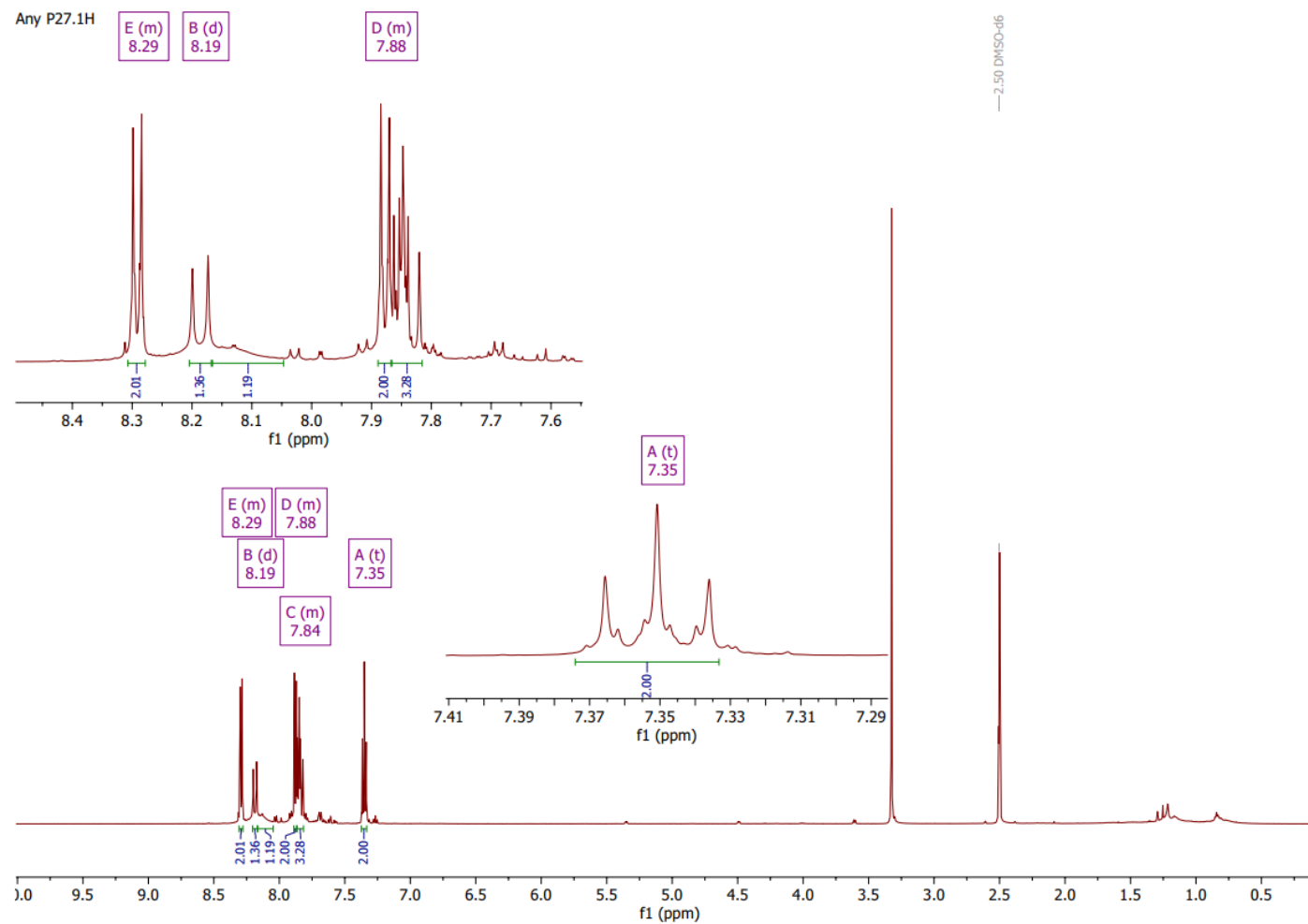
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 44 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P25.



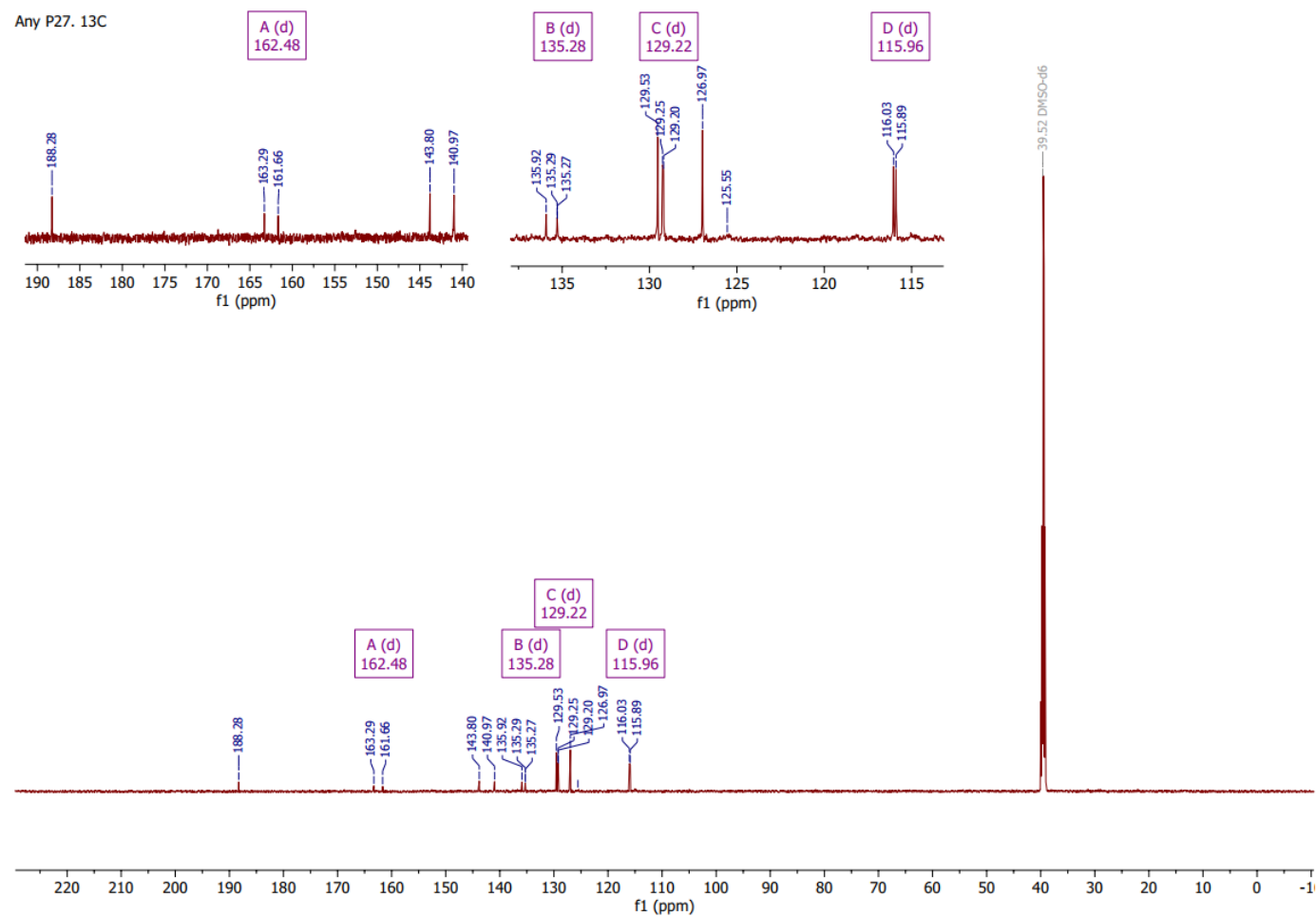
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 45 – ^1H NMR (600 MHz, DMSO- d_6) do composto P27.



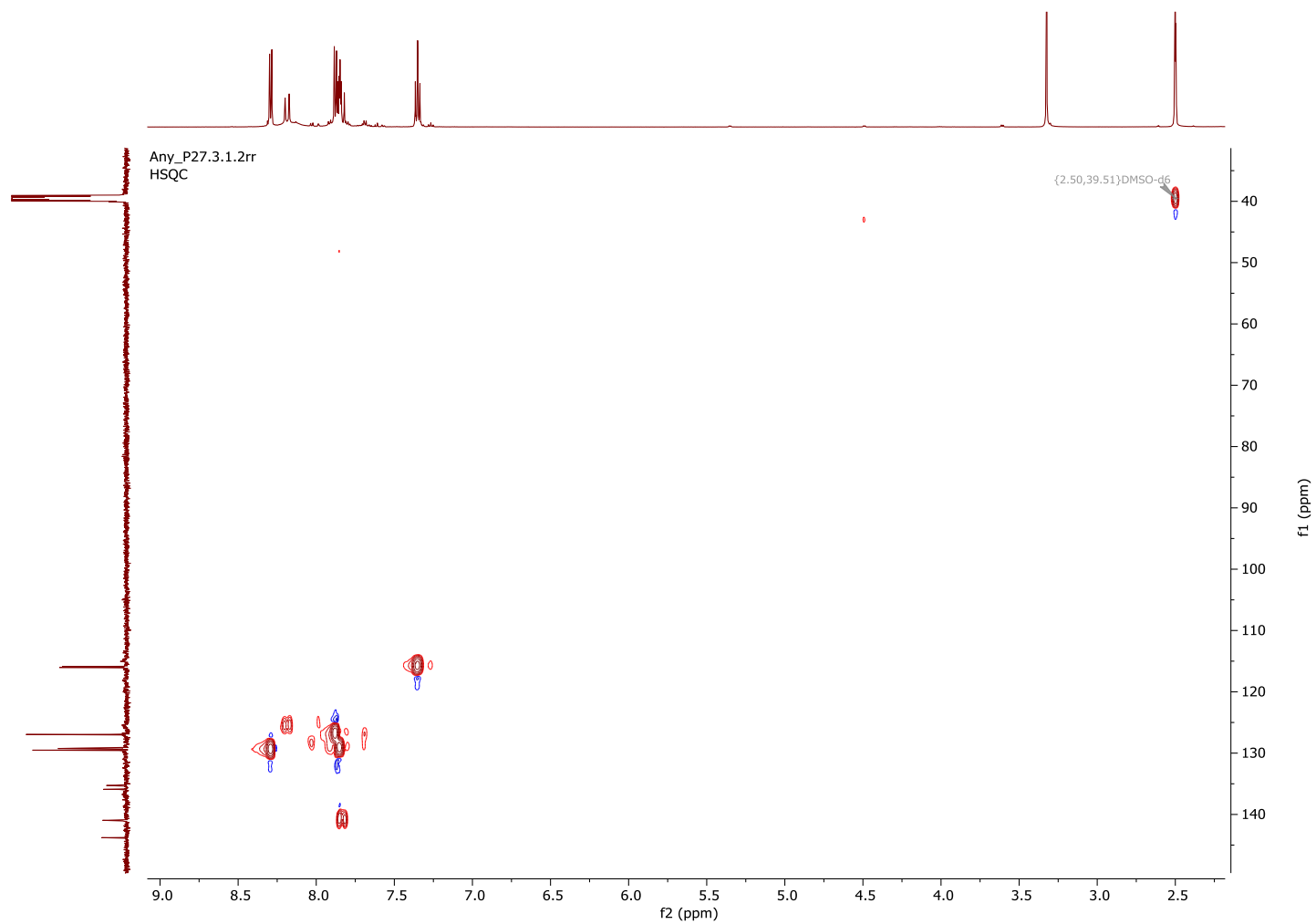
Fonte: Elaborado pelo autor.

Espectro 46 – ^{13}C NMR (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P27.



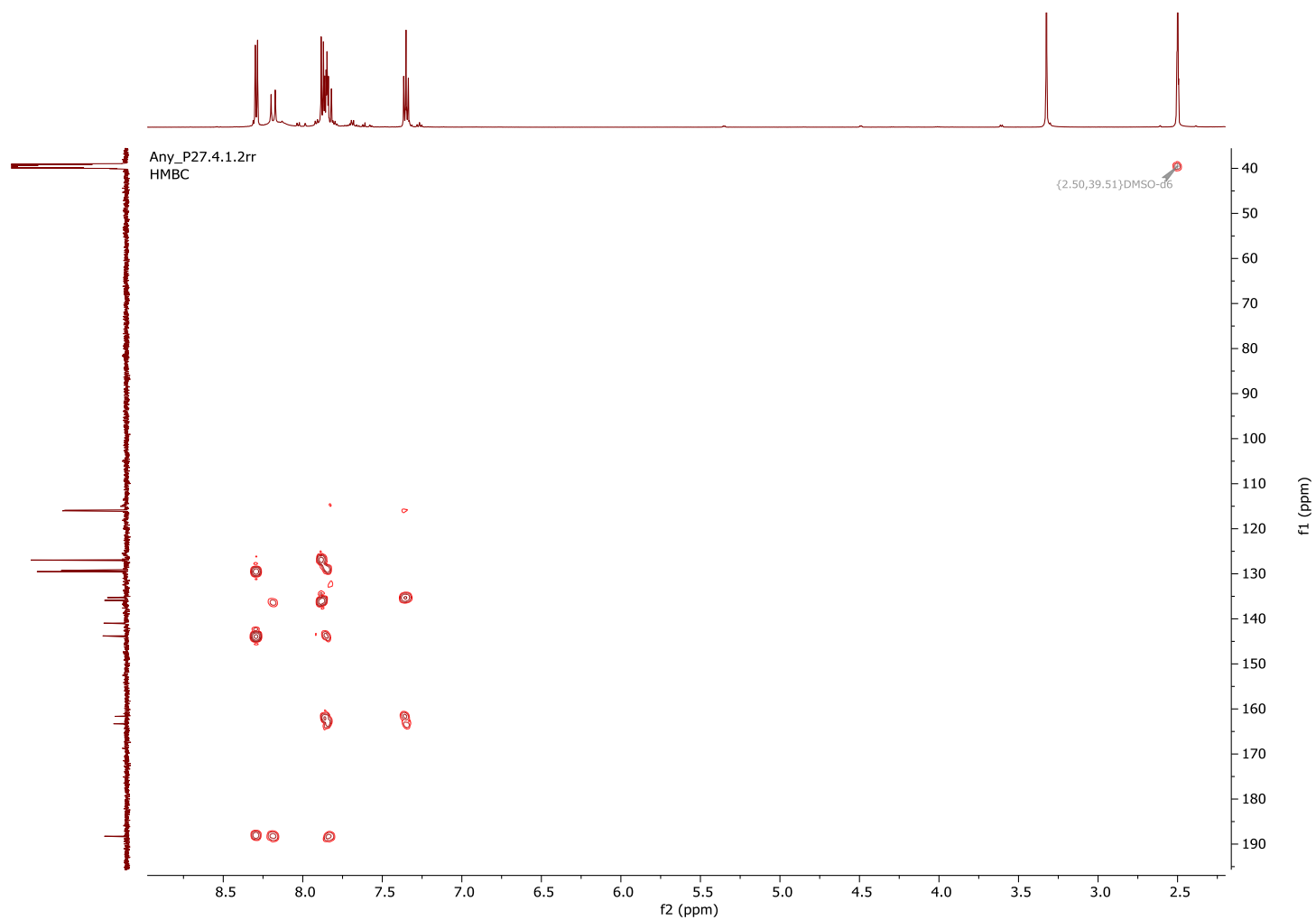
Fonte: Elaborado pelo autor.

Espectro 47 – HSQC (600 MHz, DMSO-d6) do composto P27.



Fonte: Dados da pesquisa.

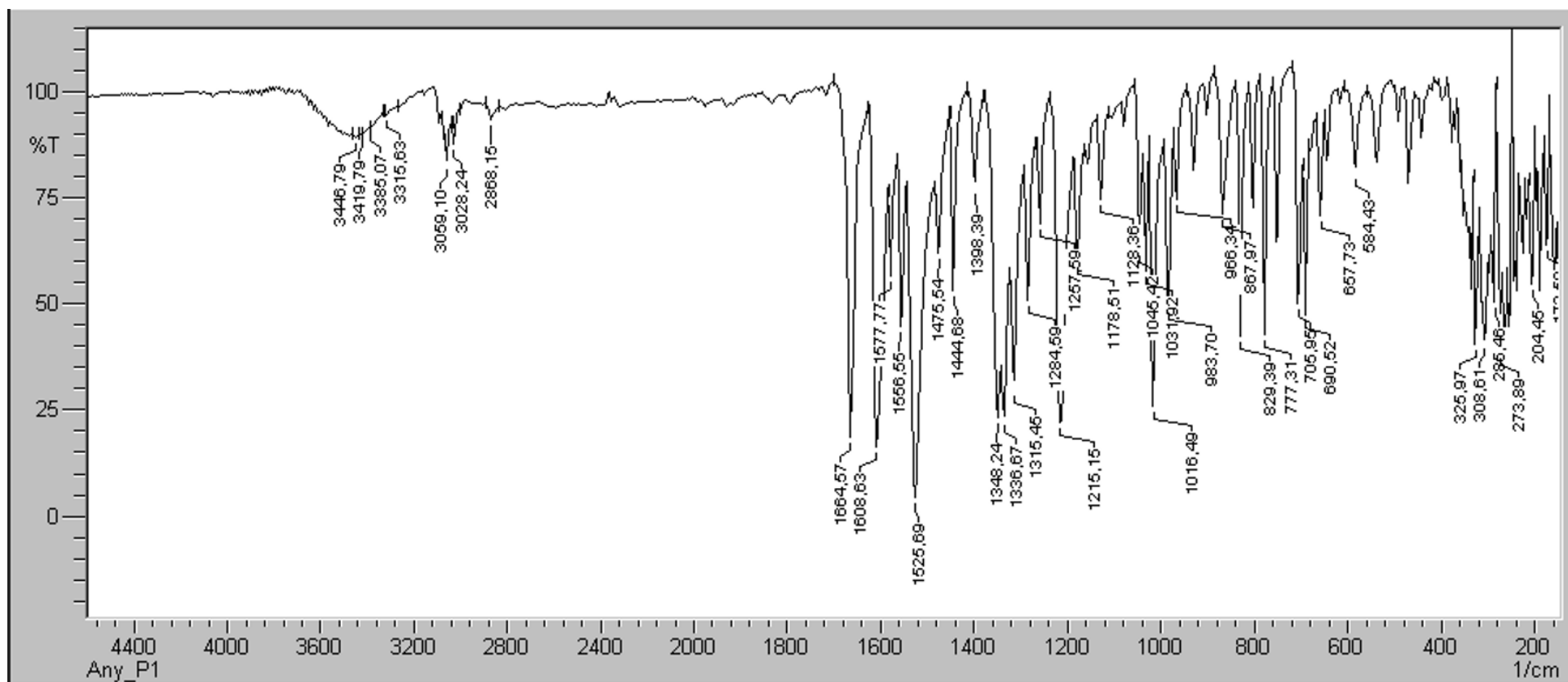
Espectro 48 – HMBC (600 MHz, DMSO-d₆) do composto P27.



Fonte: Dados da pesquisa.

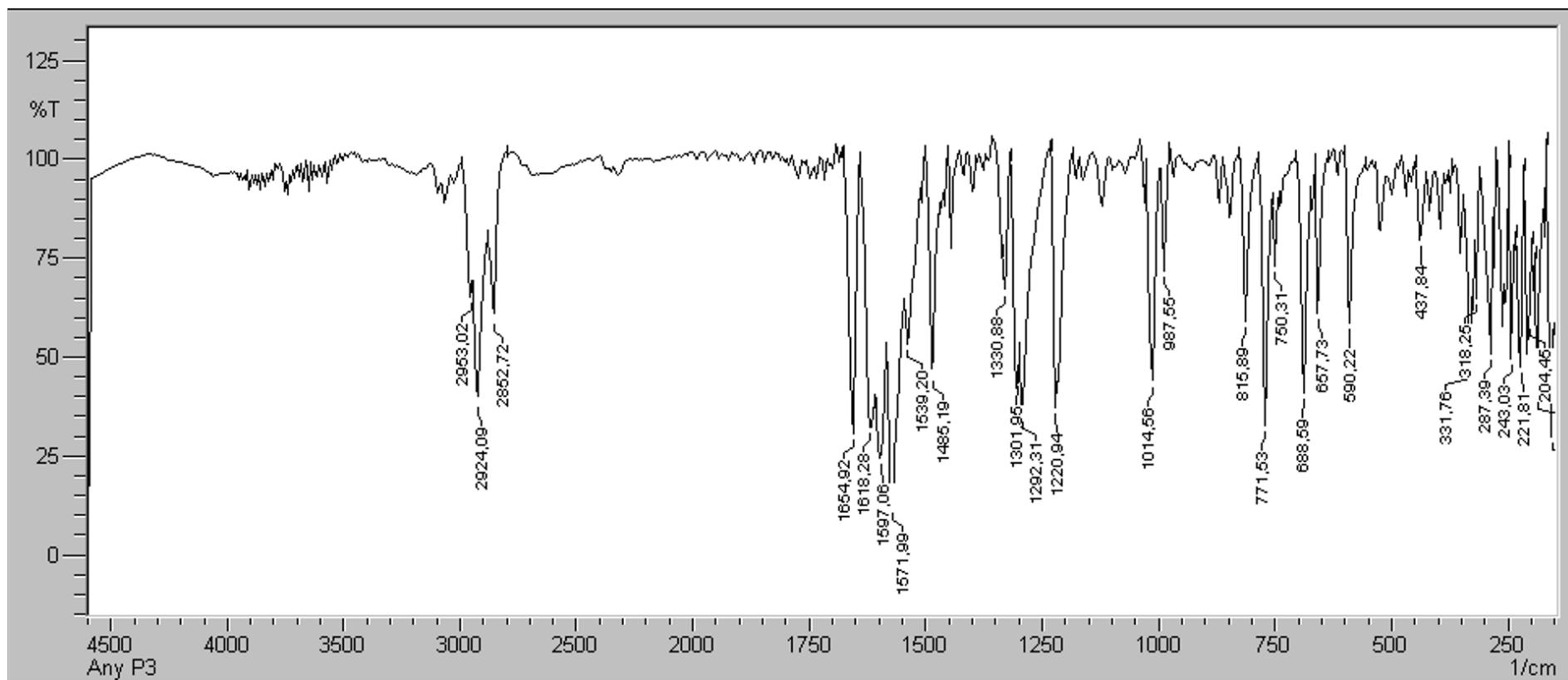
ANEXO B – DADOS DOS EXPERIMENTOS DE IV

Espectro 49 – Espectro de infravermelho P1.



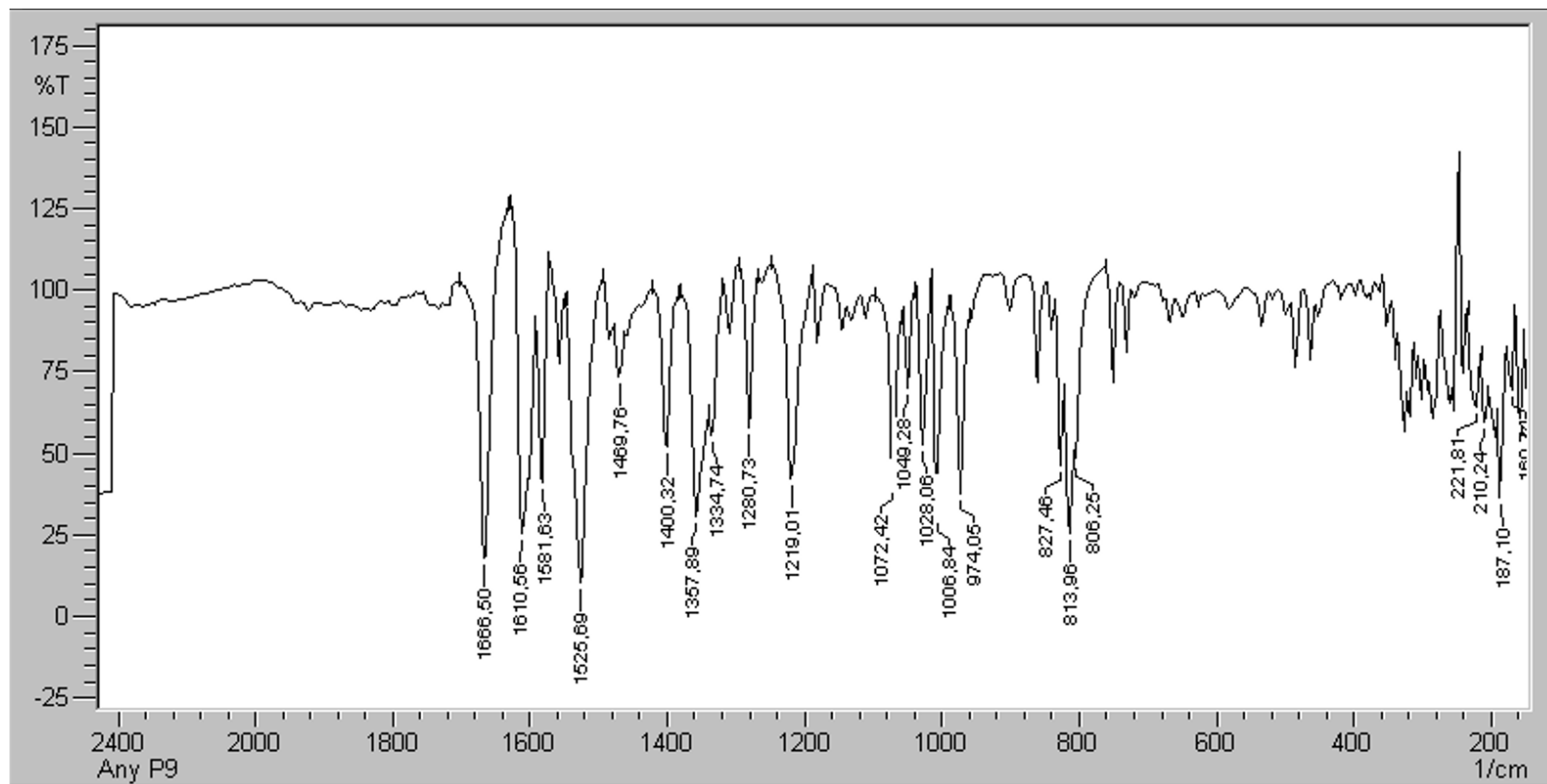
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 50 – Espectro de infravermelho P3.



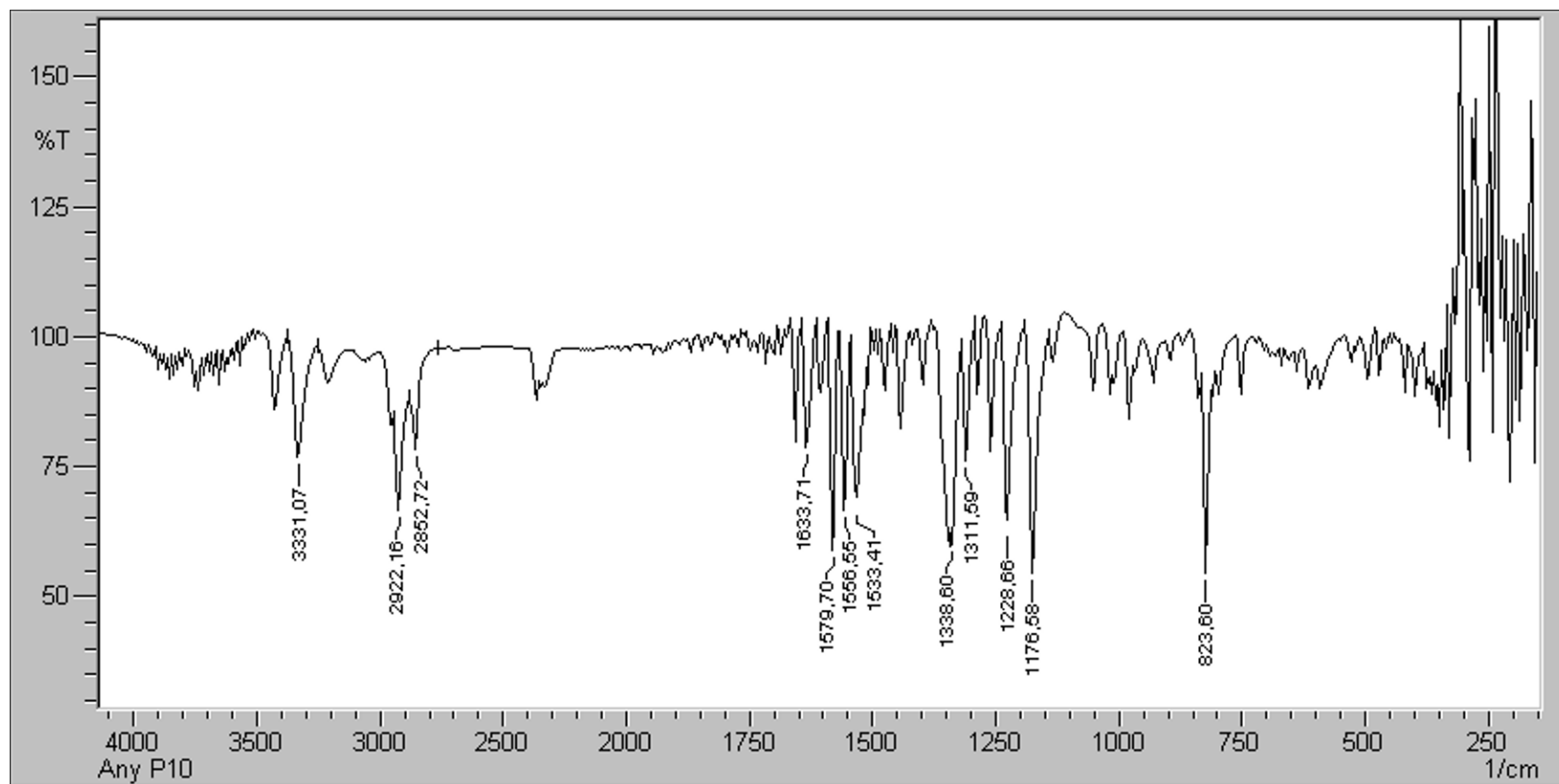
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 51 – Espectro de infravermelho P9.



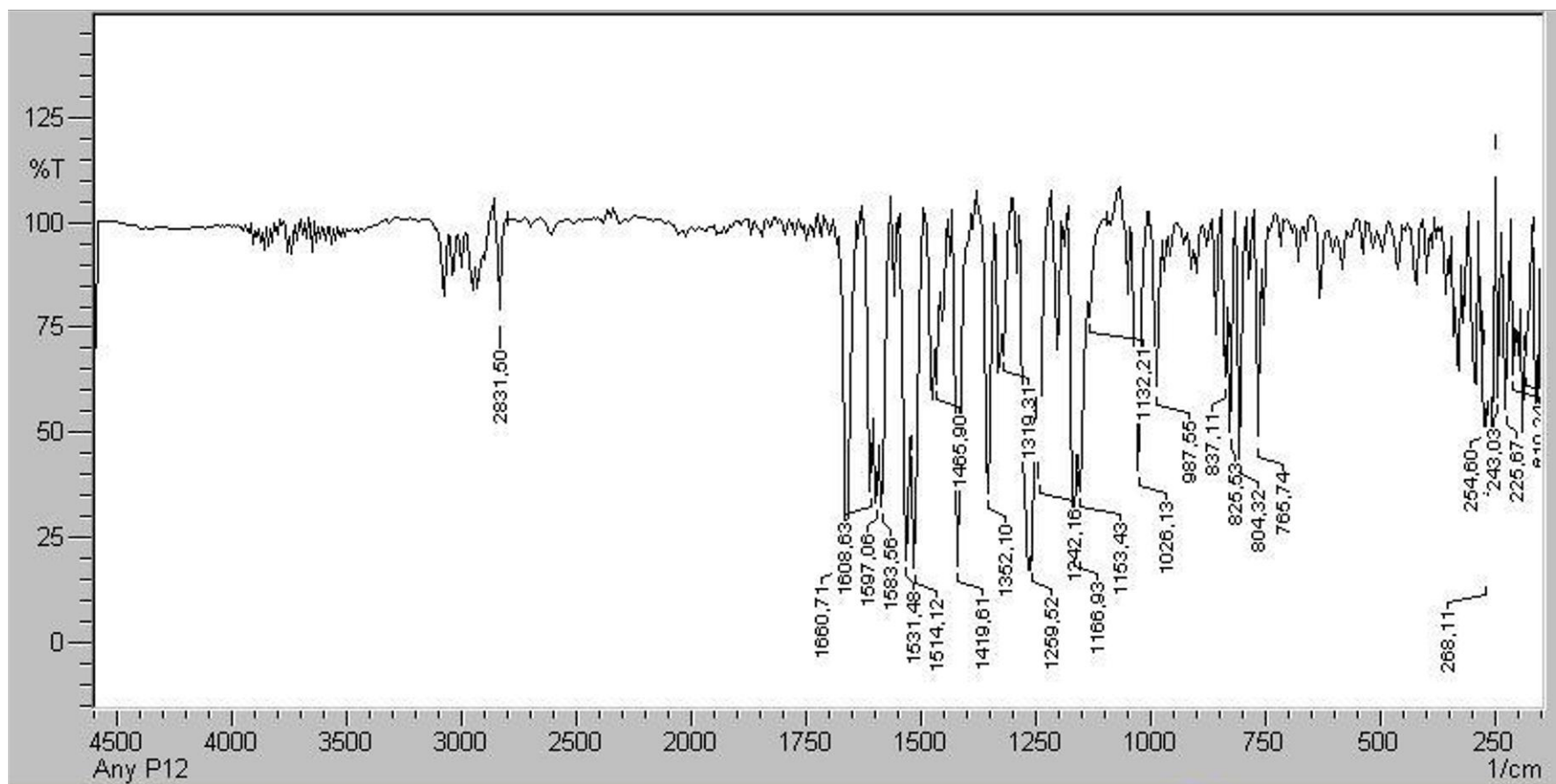
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 52 – Espectro de infravermelho P10.



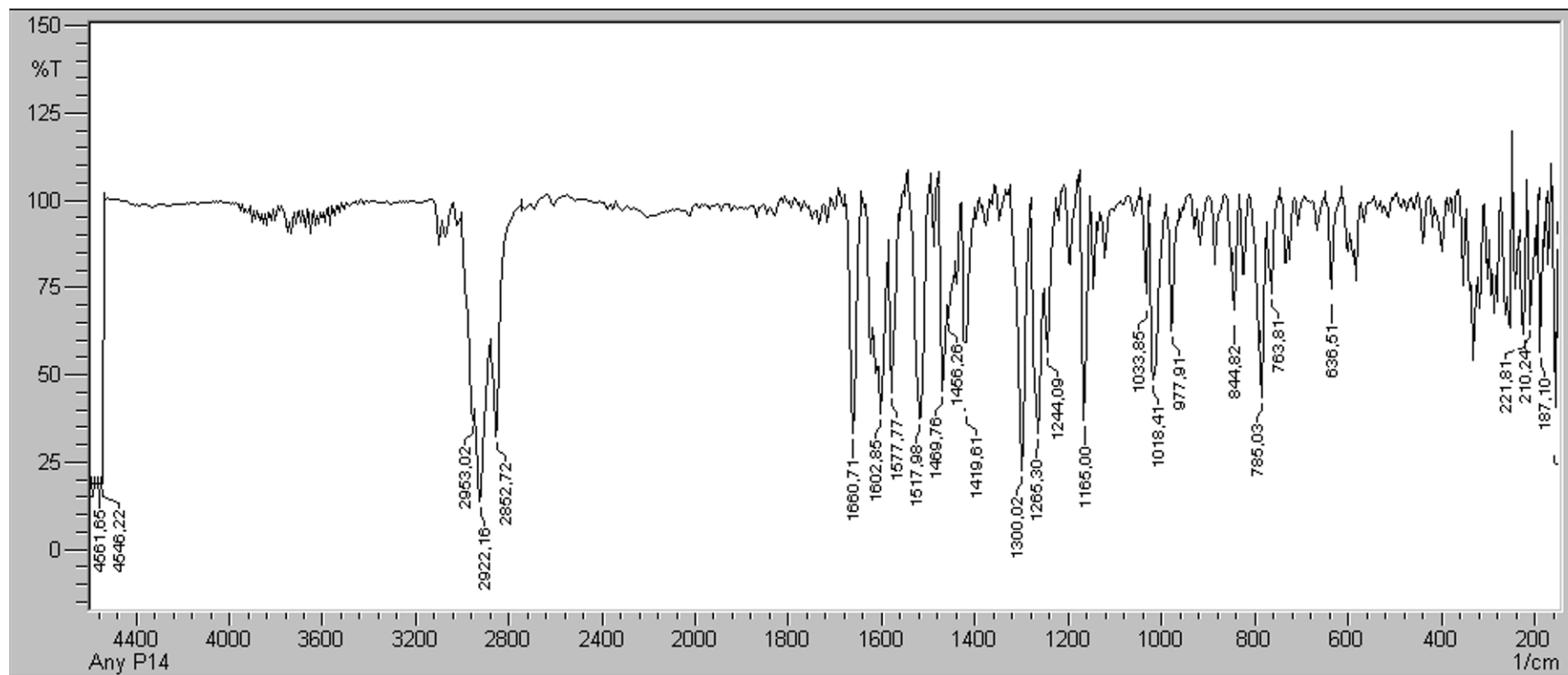
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 53 – Espectro de infravermelho P12.



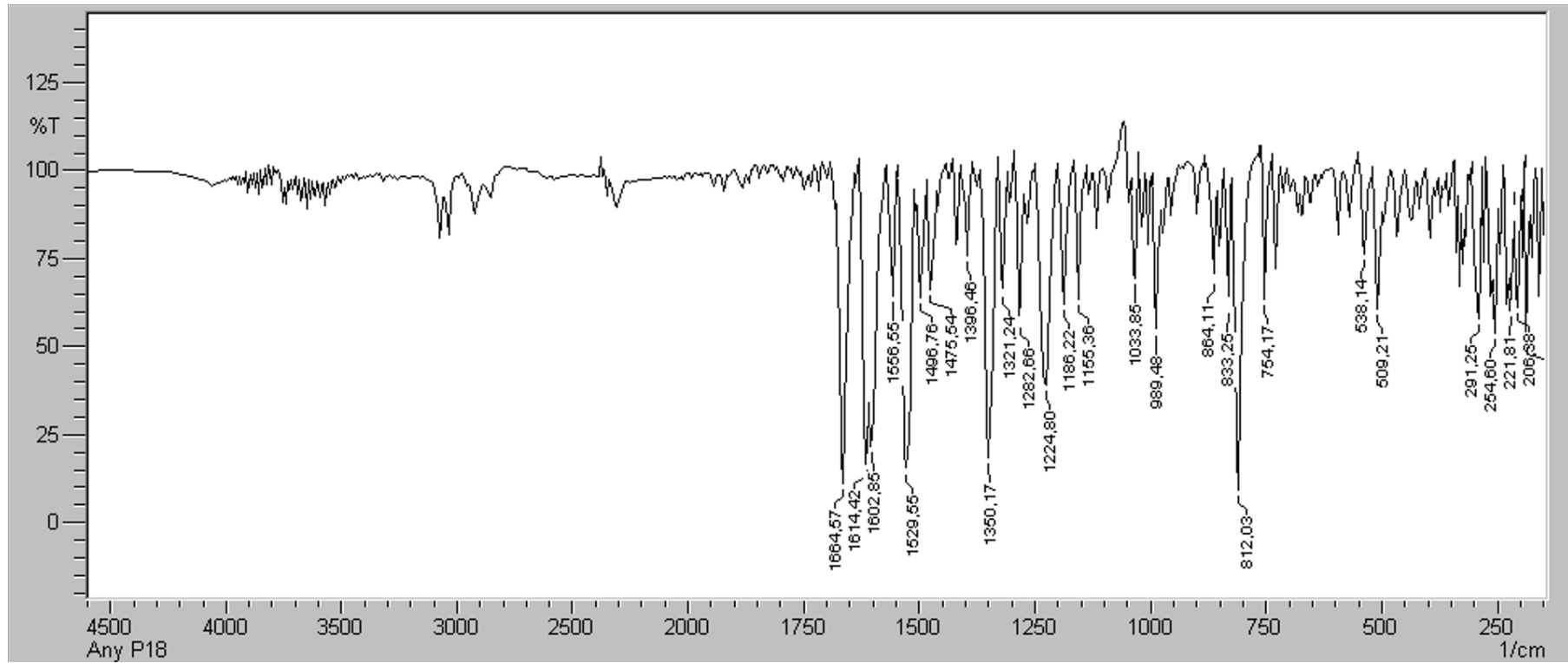
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 54 – Espectro de infravermelho P14.



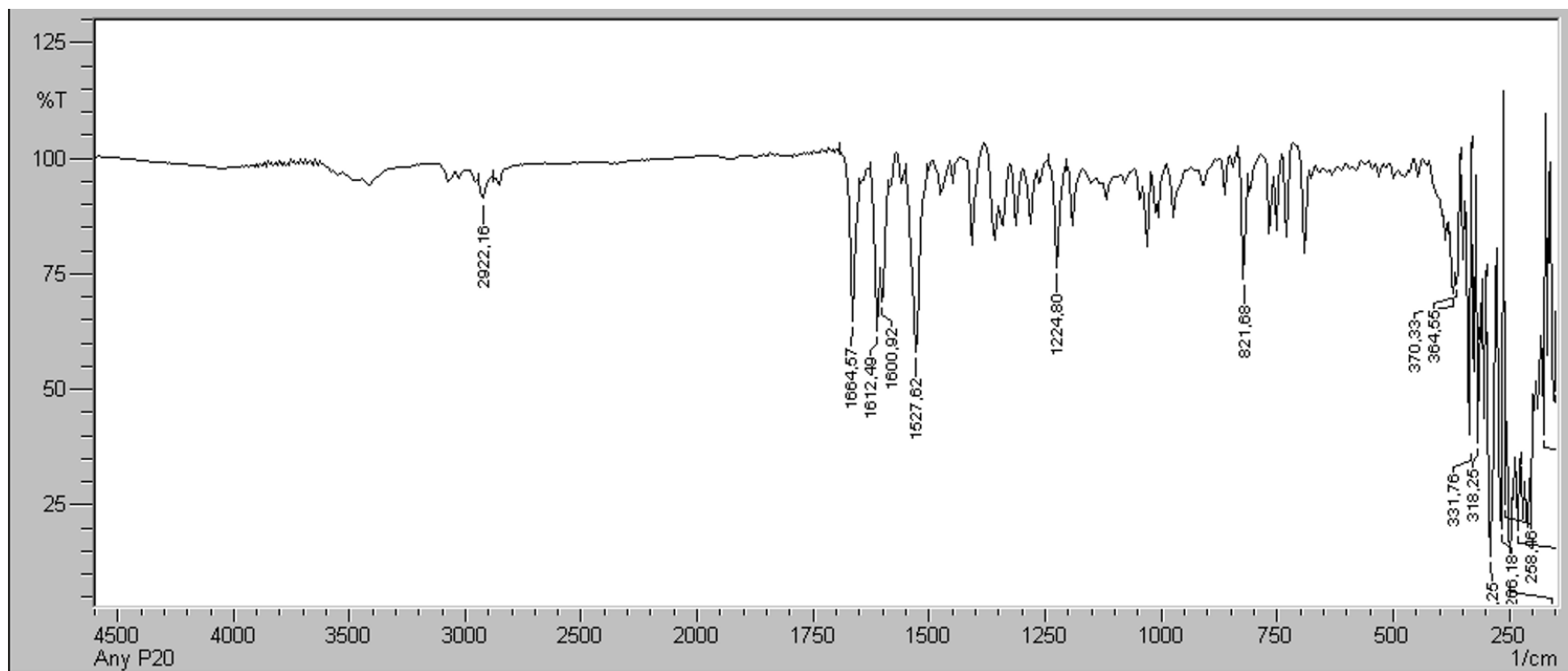
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 55 – Espectro de infravermelho P18.



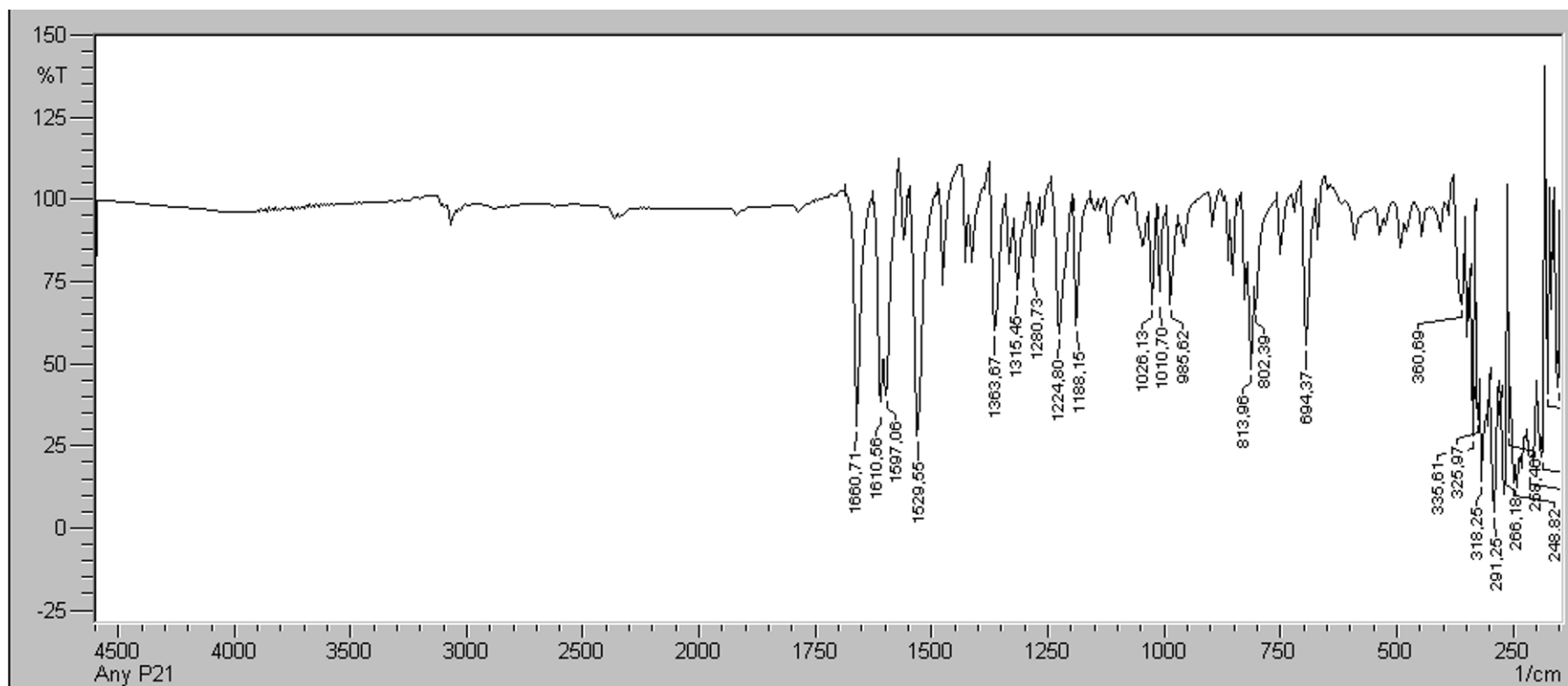
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 56 – Espectro de infravermelho P20.



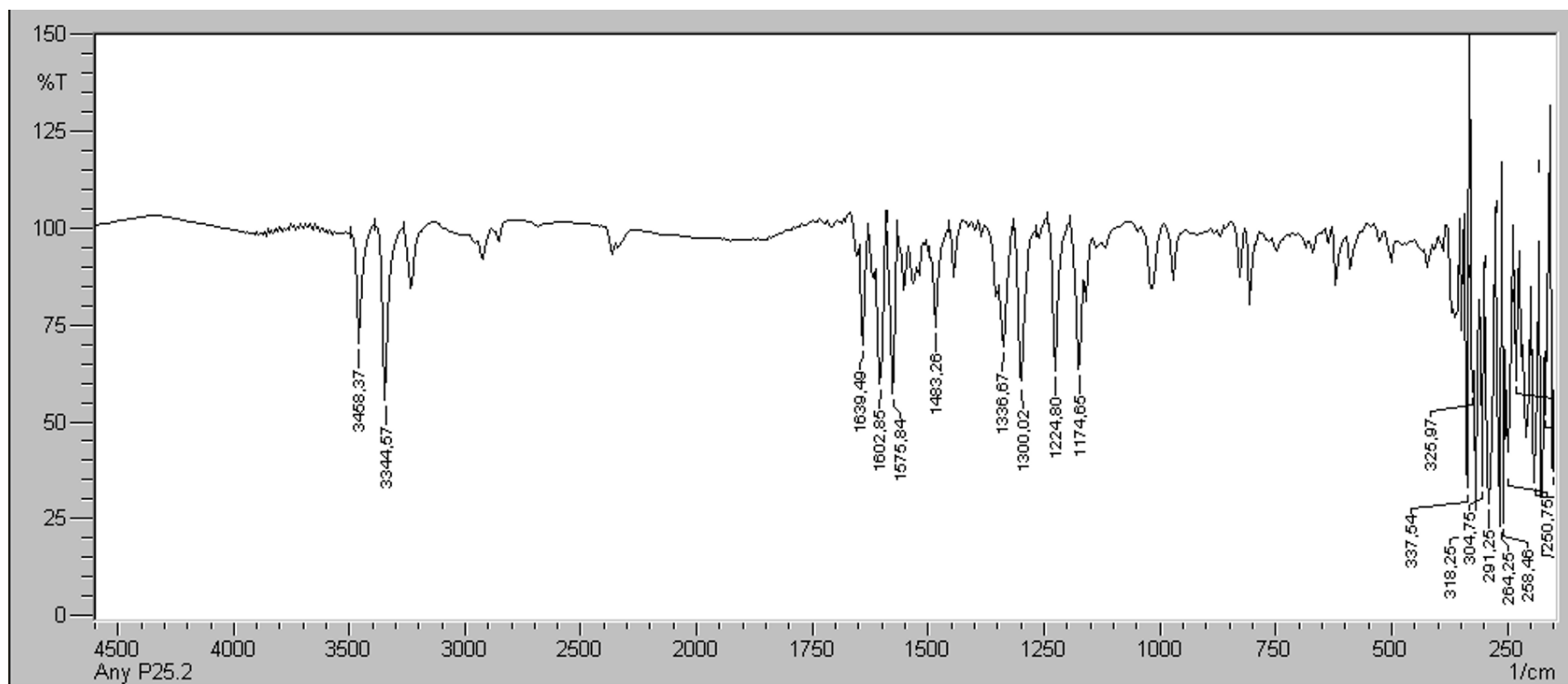
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 57 – Espectro de infravermelho P21.



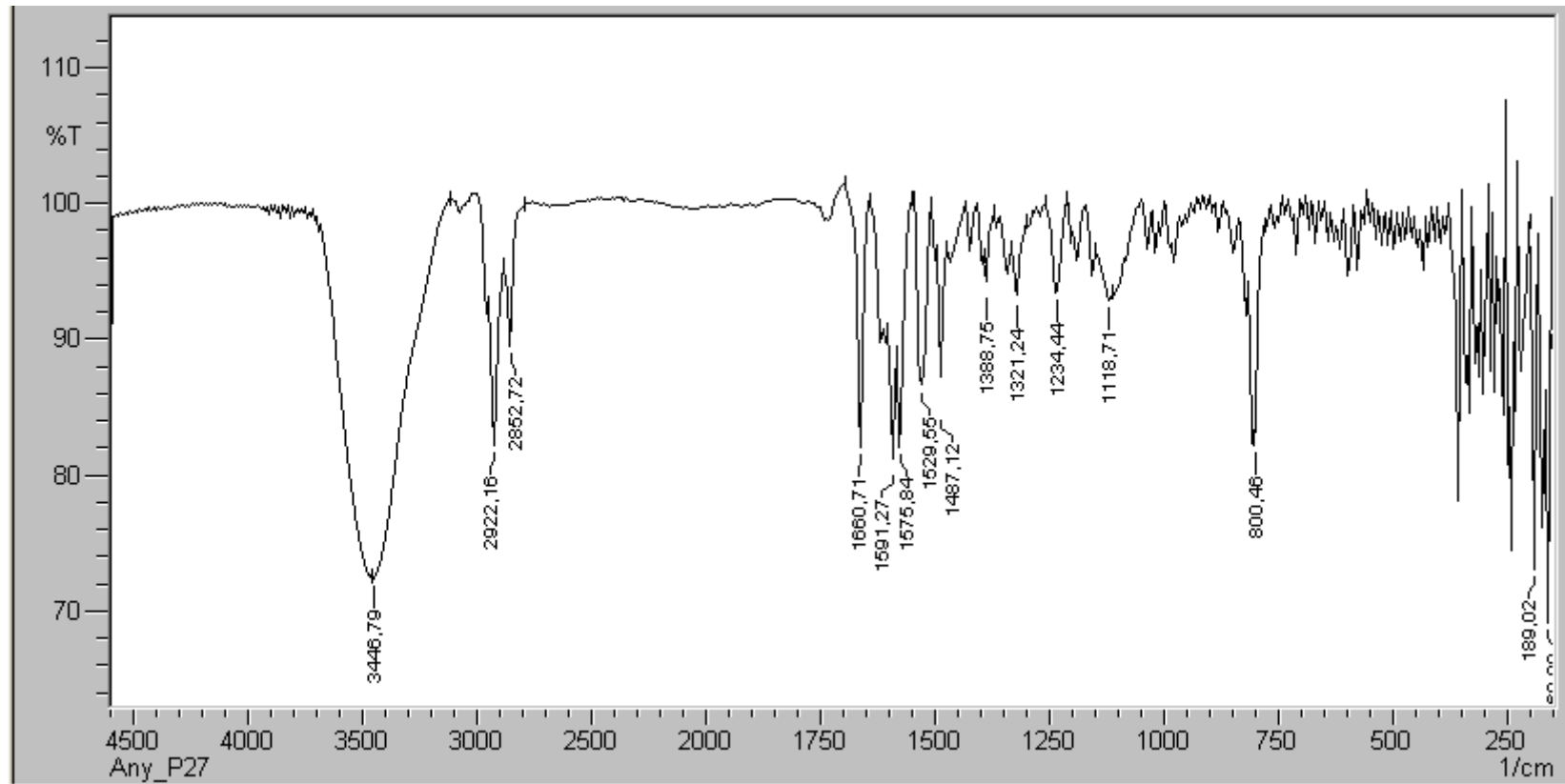
Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 58 – Espectro de infravermelho P25.



Fonte: Dados da pesquisa.

Espectro 59 – Espectro de infravermelho P27.



Fonte: Dados da pesquisa.