



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

Vinícius Bertoco Pianta

**Síntese e atividade contra *Helicobacter pylori* de
4-hidroxicordoína e seus análogos**

São José do Rio Preto

2021

Vinícius Bertoco Pianta

**Síntese e atividade contra *Helicobacter pylori* de
4-hidroxicordoína e seus análogos**

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

Orientador: Prof. Dr. Luis Octávio Regasini
Coorientador: Dr. Miguel Divino da Rocha

São José do Rio Preto

2021

P581s Pianta, Vinícius Bertoco
Síntese e atividade contra *Helicobacter pylori* de 4-hidroxycordoína e seus análogos / Vinícius Bertoco Pianta. -- São José do Rio Preto, 2021
88 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto
Orientador: Luis Octávio Regasini
Coorientador: Miguel Divino da Rocha

1. Química. 2. Química Orgânica. 3. Química Farmacêutica. I. Título.

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

Essa ficha não pode ser modificada.

Vinícius Bertoco Pianta

**Síntese e atividade contra *Helicobacter pylori* de
4-hidroxicordoína e seus análogos**

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

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luis Octávio Regaini
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof. Dr. Fávero Reisdorfer Paula
Unipampa – Universidade Federal do Pampa / RS

Prof. Dr. Helcio Silva dos Santos
UVA – Universidade Estadual Vale do Acaraú / CE

São José do Rio Preto

28 de julho de 2021

*Dedico este trabalho à minha família, especialmente, aos meus pais, **Valdir Pianta e Maria Cristina Bertoco Pianta**, à minha namorada, **Heloísa Fusetto de Lima**, aos meus avós maternos, **Antenor e Wilma**, e aos meus avós paternos (in memoria), **João e Nair**.*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me acompanhar durante todos os anos, desde o ensino fundamental até o fim da pós graduação, por estar comigo, não me deixar desistir dos meus sonhos, mesmo em momentos tão difíceis, como os que estamos vivendo. Meu muito obrigado!

Aos meus pais, **Valdir Pianta** e **Maria Cristina Bertoco Pianta**, agradeço por todo o esforço depositado em mim ao longo dos anos, desde a graduação até aqui, por sempre me ensinarem o caminho certo. À minha namorada, **Heloísa Fusetto de Lima**, por estar ao meu lado sempre e apoiar as minhas decisões. À toda a minha família, **primos, tios e tias**, por sempre todo carinho. Aos meus avós maternos, **Antenor** e **Wilma** e à minha avó paterna (*in memoria*) **Nair Magri Pianta**, que tenho certeza que desde o dia de sua partida, continuou olhando por mim, obrigado por tudo e por todos.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Luis Octávio Regasini**, por todo o companheirismo, por ter sido um amigo durante esses quase 3 anos, pelos ensinamentos, broncas, quando necessárias, tenho certeza que foram para o meu melhor, sempre presente quando precisei. Por nunca ter desistido de nada e por tudo o que você conquistou, eu te admiro muito, meu “pai” científico.

Ao meu coorientador, Dr. **Miguel Divino da Rocha**. Sempre atencioso e prestativo. Muito obrigado.

Agradecer à Me. **Julyanna Nascentes**, à Me. **Lígia Rodrigues** e ao **Carlos Quirino**, pelos ensinamentos e auxílios nos experimentos. Agradecer também ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP/São José do Rio Preto, por todo apoio e pela oportunidade de fazer parte dessa Universidade.

Às Me. **Meliza Arantes de Souza Bessa** e Dra. **Ralciane de Paula Menezes**, ao Prof. Dr. **Carlos Henrique Martins**, Universidade Federal de Uberlândia/Uberlândia-MG, pela colaboração nos estudos contra *Helicobacter pylori*, entre outras espécies bacterianas.

À **Giulia Polinário** e ao Prof. Dr. **Fernando Pavan**, membros do Laboratório de Tuberculose, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP/Araraquara-SP, pela colaboração nos estudos contra *Mycobacterium tuberculosis*.

Às agências de fomento, **CAPES**, **FAPESP** e **CNPq**, por todo o auxílio para o Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos e para o Programa de Pós Graduação em Química.

Aos amigos do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos, agradeço, em especial, ao Me. **Yury Lugo**, **Dinis Caina Kandjaba** e aos amigos que não pude conviver por muito tempo, mas que me apoiaram desde o início, Me. **Guilherme Torrezan** e Dr. **Carlos Polaquini**, pela amizade. Obrigado pelo apoio e pelo tempo de convívio.

Ao Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP/São José do Rio Preto, em especial, ao Dr. **Fábio Moraes**, pela realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear. Ao Laboratório-II de Ressonância Magnética Nuclear, Instituto de Química, UNESP/Araraquara, especialmente, ao Dr. **Nivaldo Boralle**, também pela realização dos mesmo experimentos.

Aos meus amigos, **Henrique Matavelli**, **Luiz Augusto**, **Danilo Jorge**, **Nelson Bolotario**, **Maickon Ocampos**, aos meus professores do ensino médio **Marcus Vinícius**, **Marcos Bonaldo e Conde**, à minha orientadora de iniciação científica Dra. **Patrícia H. Suegama** e ao meu orientador de Trabalho de Conclusão de Curso, Dr **Eliandro Faoro**. Obrigado por terem sido a minha base quando precisei, por serem pessoas que souberam me apoiar nos momentos mais difíceis, que me ensinaram a me comportar como profissional e principalmente como ser humano, eu levarei vocês para sempre comigo.

“Não fui Eu que ordenei a você? Seja forte e corajoso! Não se apavore e nem desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde andar.”

(Bíblia, Josué 1:9)

RESUMO

A 4-hidroxicordoína (1) é uma *O*-isoprenilchalcona natural com poucas descrições sobre sua síntese e atividades farmacológicas. No presente trabalho, 1 foi sintetizada em quatro etapas, com um rendimento global de 37%. Onze análogos de 1 foram sintetizados em duas etapas com rendimentos globais que variaram de 16 a 54%. As das substâncias foram determinadas por meio de análise espectrais de Ressonância Magnética Nuclear. Todas as chalconas foram avaliadas contra *Helicobacter pylori*, utilizando o método de microdiluição em caldo, o qual estabeleceu os valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM). A substância 1 e seu análogo inédito 6 (3-hidroxicordoína) demonstraram valores de CIM de 62,5 µg mL⁻¹ e 125 µg mL⁻¹, respectivamente. Os dados preliminares de relação estrutura-atividade indicaram que a presença e a posição da hidroxila no anel B são essenciais para a atividade contra *H. pylori*. Adicionalmente, as substâncias 1 e 6 foram testadas contra um painel de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. A substância 1 mostrou-se não foi ativa com CIM > 400 µg mL⁻¹. A substância 6 exibiu valor de CIM igual a 400 µg mL⁻¹ contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*. As previsões *in silico*, utilizando SwissADME® sugeriram que 1 e 6 não violaram as regras de Lipinski, Ghose, Veber, Egan e Muegge, evidenciando suas propriedades *drug-likeness*. Em suma, a síntese e bioatividade de 1 e 6 corroboram o potencial de produtos naturais inexplorados para a descoberta de agentes antibacterianos novos.

Palavras-chave: cordoína; chalcona; prenilação; Claisen-Schmidt.

ABSTRACT

4-Hydroxycordoin (1) is a natural *O*-isoprenylchalcone with few descriptions on its synthesis and pharmacological activities. In this work, 1 was synthesized in four steps with an overall yield of 37%. Eleven analogs of 1 were synthesized in two steps with overall yields from 16% to 54%. Structures of compounds were determined by Nuclear Magnetic Resonance spectral data analyses. All chalcones were evaluated against *Helicobacter pylori*, using broth microdilution method, which established the values of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Compound 1 and its new analog 6 (3-hydroxycordoin) displayed MIC values of 62.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. Preliminary structure-activity relationships indicated that the presence and position of hydroxyl on ring B are crucial for the activity against *H. pylori*. In addition, compounds 1 and 6 were tested against a panel of Gram-positive and Gram-negative species. Compound 1 was not active with MIC > 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Compound 6 presented MIC value of 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*. *In silico* predictions by SwissADME® suggested that 1 e 6 did not violate Lipinski's, Ghose's Veber's, Egan's and Muegge's rules, evidencing their drug-likeness properties. In brief, the synthesis and bioactivity evaluation of 1 and 6 corroborate the potential of unexplored natural products for the discovery of new antibacterial agents.

Keywords: 4-hydroxycordoin. Chalcone. Antibacterial. *Helicobacter pylori*. Drug-likeness

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Fármacos antibacterianos de origem natural: daptomicina (1) e fidaxomicina (2).....	18
Figura 2. Fármacos antitumorais de origem natural: mebutato de ingenol (3) e aplidina (4).....	19
Figura 3. Estrutura do núcleo chalcônico com geometria <i>E</i>	20
Figura 4. Chalcona indutora de atividade da enzima heme-oxigenase-1.....	20
Figura 5. Chalconas com atividades antitumoral (7) e antimicrobiana (8) e (9).....	22
Figura 6. Subunidades terpenólicas: isoprenila (10), geranila (11) e farnesila (12).....	22
Figura 7. Chalconas naturais C-preniladas: xantoangelol (13), brousochalcona A (14) e xantohumol (15).....	23
Figura 8. Estrutura da cordoína (16).....	23
Figura 9. Rota sintética A para a obtenção da cordoína (16).....	24
Figura 10. Rota sintética B para a obtenção da cordoína (15).....	25
Figura 11. Estrutura química da 4-hidroxicordoína (18).....	25
Figura 12. Rota sintética proposta para 4-hidroxicordoína (18).....	28
Figura 13. Rota sintética para a obtenção da 4-hidroxicordoína (17).....	29
Figura 14. Análogos chalcônicos prenilados com atividade contra bactérias Gram-positivas.....	31
Figura 15. Análogo chalcônico com atividade antiprotozoária (25).....	32
Figura 16. Análogos chalcônicos com atividade anticancerígena (26 e 27).....	32
Figura 17. Fármacos utilizados no tratamento contra <i>H. pylori</i>	34
Figura 18. Análogos chalcônicos com atividade contra <i>H. pylori</i> (36, 37 e 38).....	35
Figura 19. Análogo chalcônico com atividade anti <i>H. pylori</i> (39).....	35
Figura 20. Planejamento estrutural dos análogos chalcônicos.....	37
 Figura 1. Estrutura da 4-hidroxicordoína (1).....	 53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividade contra <i>Helicobacter pylori</i> de 4-hidroxicordoína (1) e seus análogos 5–15 expressa em valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	67
Tabela 2. Atividade antibacteriana de 4-hidroxicordoína (1) e seu análogo 6 expressa em valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM).....	68
Tabela 3. Predições <i>in silico</i> de propriedades <i>drug-likeness</i>	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CI₅₀	concentração inibitória capaz de reduzir 50% da viabilidade celular
CIM	concentração inibitória mínima
CBM	concentração bactericida mínima
CCDA	cromatografia camada delgada analítica
DBU	1,8-diazabicycloundec-7-eno
d	duplete
dd	duplo duplete
ddd	duplo duplo duplete
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
hMAO-A	monoamina oxidase humana A
hMAO-B	monoamina oxidase humana B
Hz	Hertz
IS	índice de seletividade
IBP	inibidor de bomba de prótons
<i>J</i>	constante de acoplamento
MOM	metoximetila
PN	produtos naturais
ppm	parte por milhão
RMN	Ressonância Nuclear Magnética
s	singlete
t	triplete
TMS	tetrametilsilano
TNF	teste de natação forçada
TSC	teste da suspensão pela cauda

δ_C	deslocamento químico de carbono treze
δ_H	deslocamento químico de hidrogênio

LISTA DE SÍMBOLOS

h	Horas
min	Minutos

APÊNDICE I

Figura 1S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 1 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	77
Figura 2S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 1 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	77
Figura 3S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 5 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	78
Figura 4S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 5 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	78
Figura 5S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 6 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	79
Figura 6S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 6 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	79
Figura 7S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 7 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	80
Figura 8S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 7 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	80
Figura 9S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 8 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	81
Figura 10S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 8 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	81
Figura 11S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 9 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	82
Figura 12S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 9 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	82
Figura 13S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 10 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	83
Figura 14S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 10 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	83
Figura 15S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 11 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	84
Figura 16S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 11 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	84
Figura 17S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 12 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	85
Figura 18S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 13 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	86
Figura 19S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 14 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	87
Figura 20S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 14 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	87
Figura 21S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona 15 (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	88
Figura 22S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona 15 (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).....	88

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS	18
1.1	INTRODUÇÃO	18
1.1.1	Produtos Naturais e Fármacos	18
1.1.2	Chalconas	19
1.1.3	Cordoína	23
1.1.4	4-Hidroxicordoína	27
1.1.5	Análogos chalcônicos da cordoína	30
1.1.6	<i>Helicobacter pylori</i>	32
2.	OBJETIVOS	36
2.1	Objetivo geral	36
2.2	Objetivos específicos	36
3	REFERÊNCIAS	38
4	SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE 4-HIDROXICORDOÍNA E SEUS ANÁLOGOS CONTRA <i>Helicobacter pylori</i>	50
4.1	ABSTRACT	51
4.2	INTRODUÇÃO	52
4.3	PARTE EXPERIMENTAL	54
4.3.1	Procedimentos gerais	54
4.3.2	Síntese	54
4.3.3	Atividade Antibacteriana	56
4.3.4	Predição das propriedades <i>drug-likeness</i>	57
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
6	CONCLUSÕES	71
7	AGRADECIMENTOS	72
	REFERÊNCIAS	73
	APÊNDICE A– Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das chalconas sintetizadas	76

1. INTRODUÇÃO, REVISÃO BIBLIOGRÁFICA E OBJETIVOS

1.1 INTRODUÇÃO

1.1.1. Produtos Naturais e Fármacos

Os produtos naturais (PNs) são considerados uma fonte de protótipos e de inspiração químico-farmacológica para a descoberta e desenvolvimento de novos fármacos (PERVEEN et al., 2019; NEWMAN & CRAGG, 2020). No período entre os anos de 1981 a 2019 foram aprovados 1881 novos fármacos, sendo que 41,2% são de origem natural (macromoléculas biológicas, produtos naturais ou derivados de produtos naturais) (NEWMAN & CRAGG, 2020). Com relação aos fármacos antibacterianos, entre os 162 aprovados nesse período, 48% são de origem natural ou derivados de produtos naturais (NEWMAN & CRAGG, 2020). A Figura 1 resumizou as estruturas de dois fármacos antibacterianos, daptomicina (**1**) e fidaxomicina (**2**), aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*) em 2003 e 2011, respectivamente (RUBINSTEIN et al., 2003; VENUGOPAL & JOHNSON, 2012; VILHENA & BETTENCOURT, 2012). A daptomicina é um antibiótico lipopeptídeo produzido pela bactéria *Streptomyces roseosporus* (TALLY & BRUNIN, 2000; MIAO et al., 2005). Ela é indicada como uma opção para o tratamento contra meningites, bacteremias, sepses, endocardites e infecções no trato urinário causadas por espécies de *Enterococcus* resistentes à vancomicina (KOSOWSKA-SHICK et al., 2006). A fidaxomicina é um produto de fermentação da actinobactéria *Dactylosporangium aurantiacum* (BYUNG-YONG et al., 2010). Ela é utilizada no tratamento de infecções intestinais causadas por *Clostridium difficile* (HECHT et al., 2007; KARLOSKY et al., 2008).

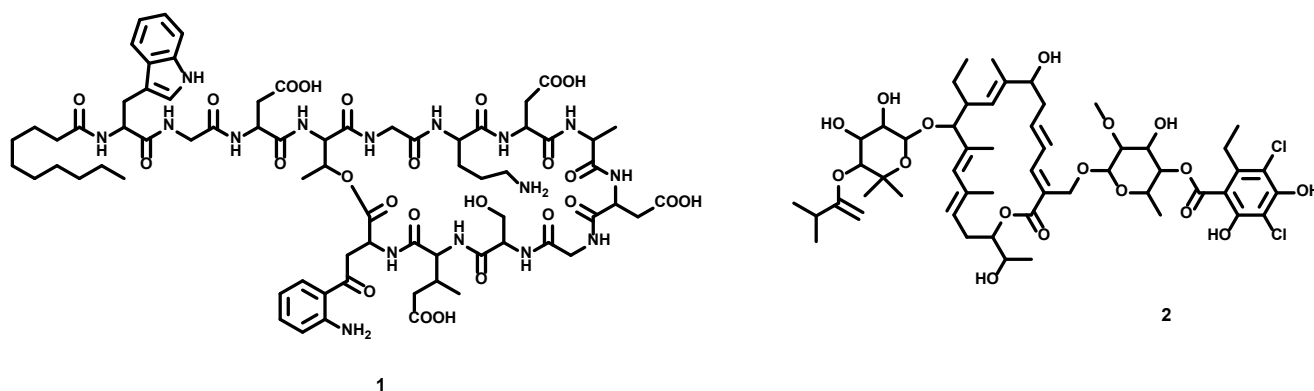


Figura 1. Fármacos antibacterianos de origem natural: daptomicina (**1**) e fidaxomicina (**2**).

Fonte: autor

Os PNs também são importantes para a descoberta de novos fármacos antitumorais. De acordo com Newman e Cragg, 46% dos agentes antineoplásicos aprovados pela FDA entre os anos de 1981 e 2019 são de origem natural (NEWMAN & CRAGG, 2020). O fármaco antitumoral mebutato de ingenol (**3**), aprovado em 2012 pela FDA (LEBWOHL et al., 2012), é um éster extraído da seiva da planta *Euphorbia peplus* (SILLER et al., 2010). Ele é utilizado no tratamento tópico de ceratoses actínicas, que são neoplasias benignas na pele com potencial de transformação para tumores malignos (ALI et al., 2012). A aplidina (**4**) é isolada do tunicado marinho *Aplidium albicans* (BERTANHA et al., 2014). Esse fármaco foi aprovado na Austrália em 2018 para o tratamento do mieloma múltiplo (NEWMAN & CRAGG, 2020). Na Figura 2 foram sumarizadas as estruturas dos fármacos mebutato de ingenol e aplidina.

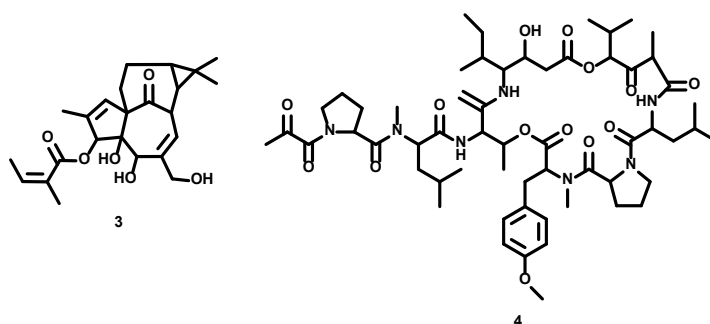


Figura 2. Fármacos antitumorais de origem natural: mebutato de ingenol (**3**) e aplidina (**4**).

Fonte: autor

1.1.2. Chalconas

As chalconas (Figura 3) são PNs considerados estruturas privilegiadas pela Química Medicinal, devido ao seu amplo espectro de bioatividades, além de apresentar síntese fácil e versátil (ZHUANG et al., 2017). Elas são formadas por dois anéis aromáticos (anéis A e B) ligados entre si por uma carbonila α,β -insaturada (PAULO et al., 2019). A presença da ligação dupla entre os carbonos α e β permitem as geometrias *E* e *Z*. Contudo, o isômero *E* é termodinamicamente mais estável do que o isômero *Z* (ZHUANG et al., 2017).

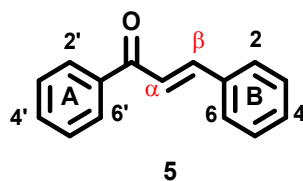


Figura 3. Estrutura do núcleo chalcônico com geometria *E*.

Fonte: autor

De modo geral, as substâncias que contêm a subunidade carbonílica α,β -insaturada possuem diversas atividades biológicas (DINKOVA-KOSTOVA et al., 2001; MAYDT et al., 2013). Esse fragmento estrutural, conhecido como aceptor de Michael, pode formar ligações covalentes com bionucleófilos, como a sulfidril de resíduos de cisteína presentes em proteínas, desempenhando um papel fundamental em algumas atividades biológicas (YASIN et al., 2014). Sawle e colaboradores demonstraram que ponte cetônica α,β -insaturada foi fundamental na indução de atividade da enzima heme-oxigenase-1 pela chalcona trimetoxilada **6** (Figura 4) (SAWLE et al., 2008)

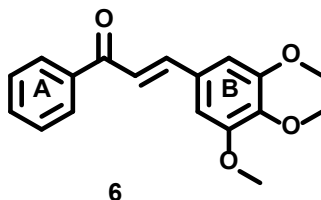


Figura 4. Chalcona indutora de atividade da enzima heme-oxigenase-1 (SAWLE et al., 2008).

Fonte: autor

As chalconas são substâncias extraídas de plantas, contudo, elas também podem ser sintetizadas por meio de reações de condensação aldólica, as quais são de relativa facilidade de execução. A reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt ocupa um papel central na síntese de chalconas, pois ela forma ligação dupla carbono-carbono (MIGUEL et al., 2016). Essa reação envolve aldeídos e cetonas na presença de um solvente prótico, como álcoois de cadeia curta ou água, e catalisadores básicos (VOGEL, 1989). A reação de condensação de Claisen-Schmidt tem sido a metodologia mais utilizada para a obtenção

dessas substâncias devido à versatilidade de aldeídos e cetonas comercialmente disponíveis (DIN et al., 2014).

Do ponto de vista químico, várias modificações podem ser realizadas no núcleo chalcônico, incluindo inserções de grupos funcionais nos anéis A e B. Esses substituintes promovem efeitos estereoeletrônicos que permitem uma grande riqueza de interações intermoleculares covalentes e não-covalentes com receptores farmacológicos. Efeitos estéricos podem ser causados por substituintes volumosos, principalmente na posição *orto*, que reduzem a flexibilidade da ponte cetônica α,β -insaturada. Efeitos eletrodoadores e eletroaceptores podem ser modulados devido à diferença de eletronegatividade entre os átomos e/ou grupos de átomos nos anéis A e B. Além disso, dependendo da natureza do substituinte, podem ocorrer os efeitos de doação e/ou recepção de prótons (substituintes que se comportam como sítios ácidos e/ou básicos de Lewis). A versatilidade na captação/retirada de prótons pode possibilitar a formação de ligações de hidrogênio e quelação de metais. Sendo assim, as alterações mais comuns descritas para as chalconas são substituições nos anéis A e B em diferentes posições (CESARIN, FERREIRA & BRAZ, 2001).

O nosso grupo vem estudando o efeito de chalconas contra tumores caninos (SANTOS et al., 2017) e microrganismos patogênicos humanos (MARQUES et al., 2020). Santos e coautores sintetizaram uma série de *p*-aminochalconas e avaliaram a sua atividade antiproliferativa contra a linhagem tumoral canina DH82. Os resultados demonstraram que as aminochalconas substituídas por um grupo hidrofóbico no anel B (fluor, cloro (**7**) e metila) foram agentes antiproliferativos potentes (CI_{50} 88, 91 e 90 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) (SANTOS et al., 2019). Marques e colaboradores demonstraram que a chalcona 3',4',5'-trimetoxilada (**8**) apresentou atividade antifúngica potente contra *Candida krusei* (CIM 31,2 $\mu\text{g/mL}$), sendo cerca de oito vezes mais potente do que fluconazol (fármaco antifúngico de referência). Além disso, os autores também demonstraram que a 2',5'-dimetoxichalcona (**9**) exibiu efeito antiproliferativo potente contra células tumorais de colo do útero, de pele e de mama (CI_{50} 7,7, 8,3 e 9,2 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) com valores superiores à curcumina (substância antiproliferativa de referência) (MARQUES et al., 2020).

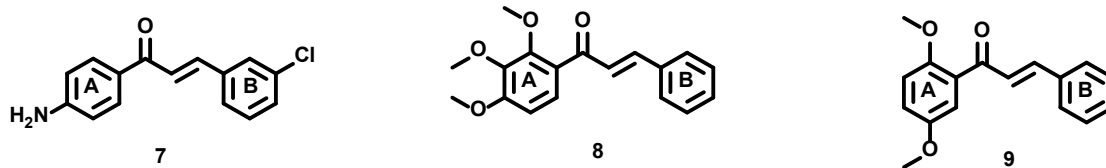


Figura 5. Chalconas com atividades antitumoral (7) (SANTOS et al., 2017) e antimicrobiana e antitumoral (8) e (9) (MARQUES et al., 2020).

Fonte: autor

As chalconas preniladas são uma classe importante de chalconas de ocorrência natural (EPIFANO et al., 2007). O termo prenila tem sido utilizado para designar grupos terpenoílicos, incluindo isoprenila (10), geranila (11) e farnesila (12), os quais apresentam cinco, dez e quinze átomos de carbono, respectivamente (Figura 6) (CLEMENTINA & SILVA, 2020).

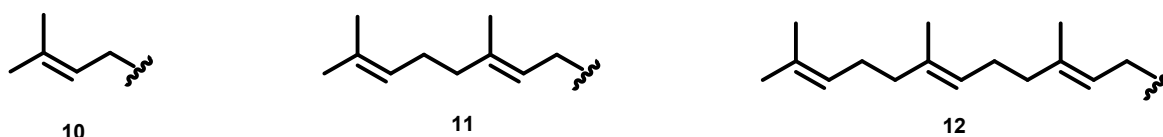


Figura 6. Subunidades terpenoílicas: isoprenila (10), geranila (11) e farnesila (12).

Fonte: autor

As chalconas *C*-preniladas, cujo grupo terpenoílico está ligado diretamente ao átomo de carbono, são as mais comuns, enquanto as chalconas *O*-preniladas são de menor ocorrência natural (YANG et al., 2015). Alguns exemplos de chalconas naturais preniladas são o xantoangelol (13), broussochalcona A (14) e xantoumol (15) (Figura 7). Essas chalconas *C*-preniladas vêm sendo isoladas de *Angelica keiskei* (Apiaceae), *Broussonetia papyrifera* (Moraceae) e *Humulus lupulus* (Cannabaceae), respectivamente, e apresentam atividades antimicrobianas (MOTANI et al., 2008; FENG et al., 2014) e antitumorais (WANG et al., 2015; TENG et al., 2017; PARK et al., 2018).

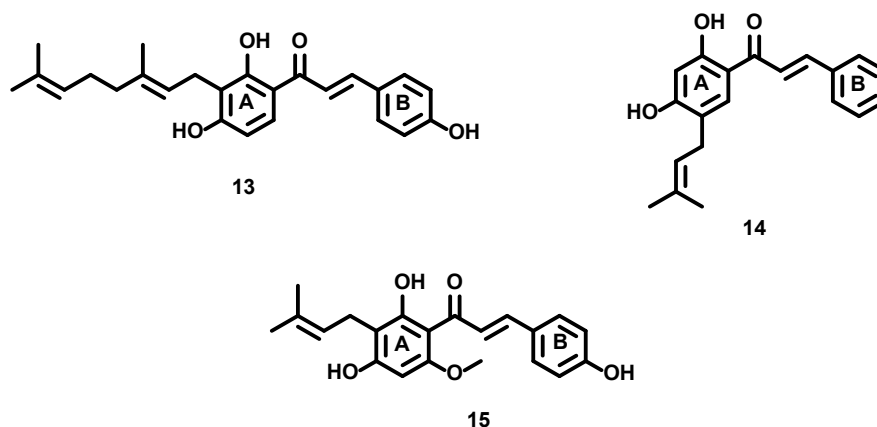


Figura 7. Chalconas naturais C-preniladas: xantoangelol (13), brousochalcona A (14) e xantohumol (15).

Fonte: autor

1.1.3. Cordoína

Entre as chalconas naturais preniladas, uma das que mais se destaca é a cordoína (16) (Figura 8). Esta apresenta uma subunidade *O*-isoprenila e uma hidroxila nas posições 4' e 2' do anel A, respectivamente. Ela pode ser extraída de algumas plantas, incluindo *Millettia erythrocalyx* Gagnep. (Fabaceae), *Cordia piaca* (Leguminosae) (LUPI et al., 1975) e *Derris* spp. (Fabaceae) (DO NASCIMENTO & MORS 1972). A cordoína apresenta um valor de coeficiente de partição $\log P$ de 5,2, que a caracteriza como uma substância altamente lipofílica (GENOVESE et al., 2009).

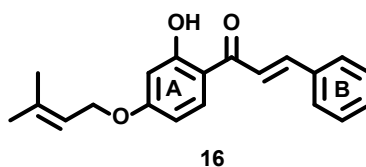


Figura 8. Estrutura da cordoína (16).

Fonte: autor

Além de ser isolada de algumas plantas, a cordoína pode ser obtida sinteticamente. A rota mais comum para a obtenção da cordoína (Rota A) envolve duas etapas: (a) a reação *O*-

prenilação do grupo 4'-hidroxila da 2',4'-dihidroxiacetofenona (**17**), e a (b) reação de condensação aldólica entre o derivado acetofenônico isoprenilado (**17.1**) e o benzaldeído (Figura 8). Contudo, a Rota A apresenta algumas variações nos procedimentos experimentais (CHIMENTI et al., 2007; REDDY et al., 2008; GENOVESE et al., 2009). De modo geral, na primeira etapa reacional (etapa a), a 2,4-dihidroxiacetofenona e o brometo de isoprenila são utilizados como reagentes de partida. Essa reação tem sido catalisada por catalisadores básicos, incluindo K_2CO_3 e DBU (*1,8-diazabicycloundec-7-eno*), e a acetona tem sido empregada como solvente. Na segunda etapa reacional (etapa b), o derivado acetofenônico isoprenilado (**17.1**) é condensado com o benzaldeído utilizando também catalisadores alcalinos, como KOH e $Ba(OH)_2$. Álcoois de cadeia curta, como MeOH e EtOH, tem sido utilizados como solventes dessa etapa reacional. Maiores detalhes dos procedimentos experimentais da rota sintética A foram apresentados na Figura 9.

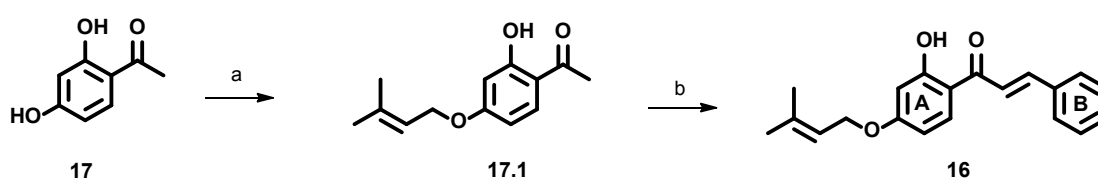


Figura 9. Rota sintética A para a obtenção da cordoína (**16**).

ESTUDO A (CHIMENTI et al., 2007). Reagentes e condições: **a**) brometo de isoprenila, K_2CO_3 anidro, acetona, temperatura ambiente, 3 h – purificação: cristalização em hexano (rendimento não informado); **b**) benzaldeído, $Ba(OH)_2$, MeOH, 40 °C, 24 h – purificação: cristalização em EtOH (rendimento 70%).

ESTUDO B (REDDY et al., 2008). Reagentes e condições: **a**) brometo de isoprenila, K_2CO_3 , acetona, 80 °C, 8 h – purificação: cromatografia em coluna de fase normal, utilizando misturas de hexano e acetato de etila como eluentes (rendimento 89%); **b**) benzaldeído, KOH, MeOH, temperatura ambiente, 24–36 h – purificação: cromatografia em coluna de fase normal, utilizando misturas de hexano e acetato de etila como eluentes (rendimento 75%).

ESTUDO C (GENOVESE et al., 2009). Reagentes e condições: **a**) brometo de isoprenila, DBU, acetona, temperatura ambiente, 24 h – purificação: cristalização em hexano

(rendimento 76%); **b**) benzaldeído, KOH, EtOH, temperatura ambiente, 24 h – purificação: cristalização em hexano (rendimento 93%).

Guan e coautores empregaram uma rota sintética diferente da citada na Figura 8 (GUAN et al., 2013). Eles utilizaram uma metodologia que envolveu quatro etapas reacionais (Rota **B**) (Figura 10). Na etapa **a**, as hidroxilas fenólicas da 2',4'-dihidroxiacetofenona (**17**) foram protegidas com o cloreto de metoximetila (MOMCl). O carbonato de potássio e acetona foram utilizados nessa etapa reacional como catalisador e solvente, respectivamente. Na etapa **b**, o derivado acetofenônico protegido com o grupo MOM (**17.2**) foi condensado com o benzaldeído utilizando KOH como um catalisador e EtOH como solvente. Na etapa **c**, a desproteção dos grupos fenólicos do intermediário **17.3** foi realizada por meio da hidrólise ácida utilizando HCl. Finalmente, na etapa **d**, 4'-hidroxila do intermediário **17.4** foi prenilada seletivamente com o brometo de isoprenila (GUAN et al., 2013).

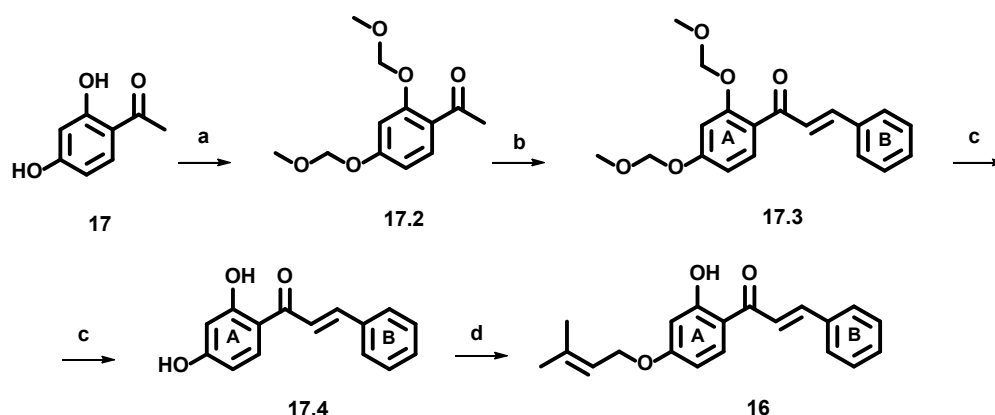


Figura 10. Rota sintética **B** para a obtenção da cordoína (**16**) (GUAN et al., 2013).

Reagentes e condições: **a**) MOMCl, K₂CO₃, acetona, temperatura ambiente, 2 h; **b**) benzaldeído, KOH, EtOH, temperatura ambiente, 24 h; **c**) HCl, MeOH, 65 °C, 30 min; **d**) brometo de isoprenila, acetona anidra, refluxo, 56 °C, 5–8 h – purificação: cristalização em EtOH (rendimento 81%).

Vários estudos têm descrito as atividades biológicas da cordoína e seus análogos naturais e sintéticos. Esses trabalhos descreveram os seus efeitos antitumoral (BOTTA et al., 2005; LIU et al., 2010; BUYÈRE et al., 2011; ZHANG et al., 2013; FONSECA et al., 2014;

NABEKURA et al., 2020), antifúngico (FLORES et al., 2016), anticonvulsivante (GENOVESE et al., 2009), antidepressivo (CHIMENTI et al., 2009; XIE et al., 2014) e antiplaquetário (REDDY et al., 2011).

Chimenti e colaboradores avaliaram os efeitos *in vitro* da cordoína sobre as enzimas monoamina oxidase humana A e B (hMAO-A e hMAO-B) (CHIMENTI et al., 2009). As hMAOs desempenham um papel importante no metabolismo de vários neurotransmissores (AIGNER et al., 2017; CARRADORI & SILVESTRI, 2015). Substâncias que atuem sobre essas enzimas podem ser úteis no tratamento de algumas doenças psiquiátricas e neurológicas. Os inibidores da hMAO-B, como selegilina, são utilizados no tratamento de Alzheimer e Parkinson (FACTOR et al., 2008; SANTANTA et al., 2008), enquanto os inibidores da hMAO-A, como a clorgilina, um inibidor irreversível e seletivo dessa monoamina, são utilizados como antidepressivos e agentes ansiolíticos (PACHER et al., 2004). A cordoína apresentou valor de CI_{50} (concentração inibitória de 50%) de 18,76 $\mu\text{mol/L}$ contra hMAO-B. Contudo, a cordoína foi inativa contra hMAO-A ($CI_{50} > 20 \mu\text{mol/L}$), revelando ser seletiva para a isoforma B, com valor de IS (índice de seletividade) $> 1,1$ (CHIMENTI et al., 2009).

Zhang e coautores estudaram os efeitos da cordoína sobre a fosfatase CDC25B (ZHANG et al., 2014). Essa enzima controla a progressão do ciclo celular, catalisando a remoção de fosfatos (RUDHOLF, 2007). Contudo, CDC25B é oncogênica (BROGGINI et al., 2019) e sua superexpressão foi descrita em vários tipos de cânceres humanos, incluindo tumores de cabeça, pescoço e cólon (SIBILLE et al., 2012). O efeito da cordoína sobre CDC25B foi avaliado pelo monitoramento da desfosforilação do fosfato de 3-O-metilfluoresceína. A cordoína (20 $\mu\text{g/mL}$) apresentou uma taxa de inibição da CDC25B de aproximadamente 90%, indicando que essa chalcona é um inibidor potente da CDC25B e, consequentemente, um promissor agente antitumoral (ZHANG et al., 2014).

Xie e colaboradores avaliaram a atividade antidepressiva da cordoína em ratos, utilizando ensaios comportamentais de TNF (teste de natação forçada) e TSC (teste da suspensão pela cauda) (XIE et al., 2014). Essas metodologias são as mais empregadas para avaliar *in vivo* o potencial de substâncias com atividade antidepressiva (BETTIO et al., 2014; POLESZAK et al., 2015). Os ratos foram tratados com uma dose intraperitoneal de 10 mg/kg de cordoína 30 min antes dos testes. A fluoxetina (10 mg/kg) foi utilizada como um fármaco antidepressivo de referência. A cordoína apresentou atividade tipo-antidepressiva moderada quando comparada ao fármaco de referência. Para a cordoína, a redução do tempo de imobilidade em relação ao controle negativo (ratos não tratados) nos testes de TNF e TSC

foram de 26,9% e 35,2%, respectivamente, enquanto a fluoxetina apresentou 55,7% e 69,1%, respectivamente (XIE et al., 2014).

Fonseca e coautores analisaram os efeitos da cordoína sobre duas linhagens celulares humanas de câncer de cólon (HTC-116 e DLD-1). O tratamento com cordoína (30 $\mu\text{mol/L}$) reduziu a proliferação celular das linhagens HTC-116 e DLD-1 em 40% e 50%, respectivamente, após 24 h de exposição. O efeito antiproliferativo dessa chalcona foi seletivo para as linhagens tumorais, uma vez que ela reduziu apenas 20% da proliferação celular de células normais de epitélio intestinal de rato (IEC-18). A cordoína também foi capaz de interromper o ciclo celular de HTC-116 e DLD-1 nas fases G2/M e GO/G1, respectivamente. Além disso, os autores demonstraram a capacidade da cordoína em inibir a via de sinalização Wnt/ β -catenina (FONSECA et al., 2015).

Flores e colaboradores investigaram os efeitos antifúngicos da cordoína contra *Saprolegnia parasitica* e *Saprolegnia australis* resistentes ao bronopol. Essas espécies de fungos infectam peixes de água-doce, como o pacu (*Piaractus mesopotamicus*), piavuçu (*Leporinus macrocephalus*) e tilápia (*Oreochromis niloticus*) (ALI et al., 2008). A cordoína apresentou valores de CIM (concentração inibitória mínima) contra *S. parasitica* e *S. australis* de 200 e 175 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. Os valores inibitórios da cordoína foram similares aos do safrol (CIM 175 e 150 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente) e do eugenol (CIM 150 e 150 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), os quais foram utilizados como controles positivos. Além disso, a cordoína demonstrou valor de COM (concentração oomicida mínima) de 200 $\mu\text{g/mL}$ contra *S. australis* (FLORES et al., 2016).

1.1.4. 4-Hidroxicordoína

Um análogo natural da cordoína que também tem se destacado pelas suas atividades biológicas é a 4-hidroxicordoína (**18**) (Figura 11) (EPIFANO et al., 2007). Essa substância *O'*-prenilada vem sendo isolada planta *Lonchocarpus neuroscapha* Benth (Fabaceae) (FIORITO et al., 2017).

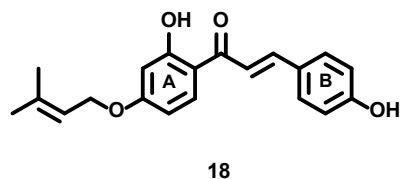


Figura 11. Estrutura química da 4-hidroxicordoína (**18**).

Fonte: autor

Genovese e colaboradores, além de proporem uma rota sintética para a cordoína (Figura 8), também sintetizaram a 4-hidroxicordoína com 35% de rendimento, utilizando-se dos mesmos reagentes e condições reacionais na etapa **a**. A etapa **b** envolveu uma reação de condensação aldólica entre o intermediário **17.1** e um benzaldeído *p*-hidroxilado. Nesta etapa, o catalisador, o solvente e as condições reacionais foram as mesmas (GENOVESE et al., 2009). A rota sintética proposta então pelos autores, encontra-se na Figura 12.

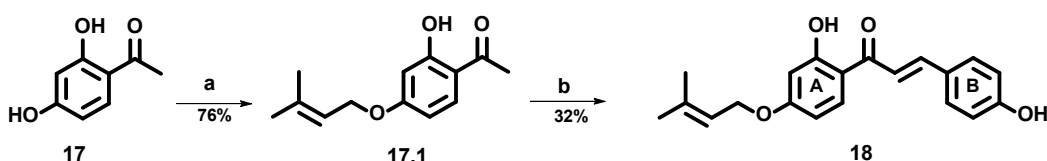


Figura 12. Rota sintética proposta para 4-hidroxicordoína (**18**) (GENOVESE et al., 2009).

Reagentes e condições: **a)** brometo de isoprenila, DBU e acetona; temperatura ambiente, 24 h – purificação: cristalização em hexano; **b)** *p*-hidrobenzaldeído, KOH e EtOH; temperatura ambiente, 24 h – purificação: cristalização em hexano.

Li e colaboradores sintetizaram 4-hidroxicordoína por meio de reações entre os intermediários **17.1** e **19.1** (Figura 13). Na síntese de **17.1** utilizou-se como reagente de partida a 2',4'-dihidroxiacetofenona (**17**) em uma suspensão de acetônica de K₂CO₃ sob refluxo. Para a síntese do intermediário **19.1**, as mesmas condições reacionais foram utilizadas, porém foi necessária a proteção da hidroxila fenólica presente na estrutura *p*-hidroxibenzaldeído, utilizando o grupo protetor MOM. A terceira etapa ocorreu a

condensação aldólica entre os dois intermediários sob atmosfera de N₂. Na quarta, o grupo protetor MOM foi removido utilizando o ácido *p*-toluenossulfônico (PTSA) (LI et al., 2012).

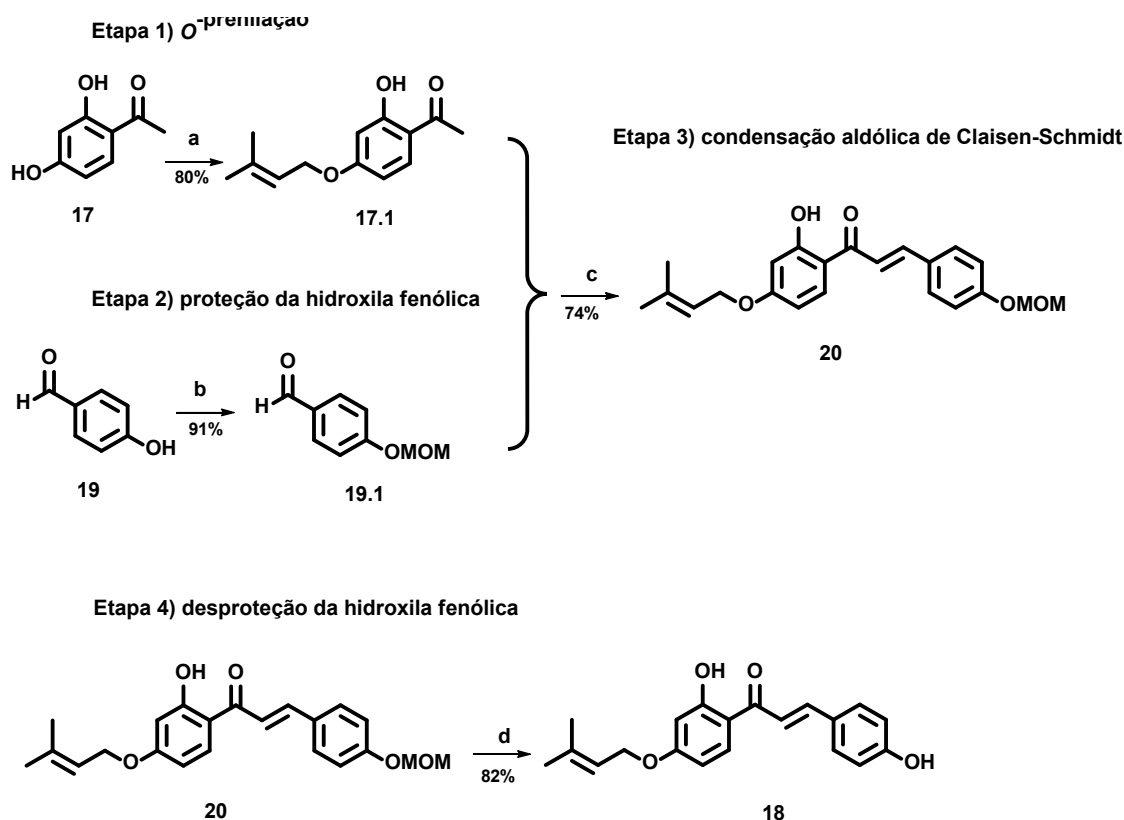


Figura 13. Rota sintética para a obtenção da 4-hidroxicordoína (**18**) (LI et al., 2012).

Reagentes e condições: **a)** brometo de isoprenila, K₂CO₃, acetona, 56°C; **b)** MOMCl, K₂CO₃, acetona, 56 °C; **c)** KOH/H₂O, EtOH, N₂; **d)** *p*-TSOH , MeOH, temperatura ambiente (os tempos reacionais não foram informados).

Assim como a cordoína, as atividades biológicas da 4-hidroxicordoína também têm sido estudadas, incluindo antibacteriana (ÁVILA et al, 2008; DAN & DAI, 2019), anticonvulsiva (GENOVESE et al., 2009), antifúngica (MESSIER et al., 2011), anti-inflamatória (FELDMAN et al., 2011; FIORITO et al., 2017) e antitumoral (EPIFANO et al., 2012).

Os efeitos da 4-hidroxicordoína sobre a formação de biofilme e da transição levedura-hifa de *Candida albicans* foram avaliados. Esses processos são fatores de virulência

importantes para a infecção sistêmica por *C. albicans* (LOPEZ-MARTINEZ, 2010). Os autores utilizaram duas cepas de *C. albicans*, uma cepa padrão (ATCC 28366) e uma cepa clínica (LAM-1), que foi isolada do sangue de um paciente com candidíase sistêmica (LACASSE et al., 1990). O processo de formação do biofilme das duas cepas de *C. albicans* foi inibido completamente após o tratamento com a 4-hidroxicordoína (20 µg/mL). Além disso, a exposição à 4-hidroxicordoína (100 µg/mL) inibiu aproximadamente 97% a formação de hifas das duas cepas de *C. albicans*, sugerindo que essa chalcona é um agente anti-*Candida* promissor (MESSIER et al., 2011).

Feldman e colaboradores investigaram os efeitos da 4-hidroxicordoína contra três espécies bacterianas de interesse odontológico, incluindo *Porphyromonas gingivalis* (ATCC 33277), *Fusobacterium nucleatum* (ATCC 25586) e *Prevotella intermedia* (ATCC 25611), as quais estão associadas à periodontite, uma infecção gengival em estágio avançado (NAZIR, 2017). A 4-hidroxicordoína apresentou atividade contra todas as espécies, com valores de CIM de 2,5, 5,0 e 40 µg/mL contra *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, respectivamente. Além disso, essa chalcona demonstrou efeito bactericida contra *P. intermedia* e *P. gingivalis*, com valores de CBM (concentração bactericida mínima) de 5,0 e 10 µg/mL, respectivamente. A 4-hidroxicordoína (1,0 µg/mL) também afetou adesão de *P. gingivalis* às células humanas de epitélio bucal (GMSM-K), reduzindo 31% da adesão celular (FELDMAN et al., 2011).

1.1.5. Análogos chalcônicos da 4-hidroxicordoína

Há inúmeras razões para sintetizar análogos chalcônicos, incluindo a necessidade de melhorar a atividade farmacológica de protótipos naturais, aumentar a seletividade para um determinado receptor/enzima ou otimizar propriedades farmacocinéticas (LIMA et al., 2005; HUGHES, et al., 2011).

A atividade antibacteriana de um conjunto de 31 chalconas foi avaliada contra duas espécies Gram-positivas, *Bacillus cereus* (ATCC 11778) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922), e duas espécies Gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Os quatro análogos chalcônicos mais potentes (**21–24**) contra *B. cereus* e *S. aureus* apresentaram valores de CIM variando entre 3,9 µg/mL e 31,2 µg/mL. Essas substâncias apresentavam grupos prenilas em suas estruturas (Figura 13), corroborando

à importância desse fragmento para a bioatividade. Contudo, as chalconas **21–24** foram inativas contra as espécies Gram-negativas (ÁVILA et al., 2008).

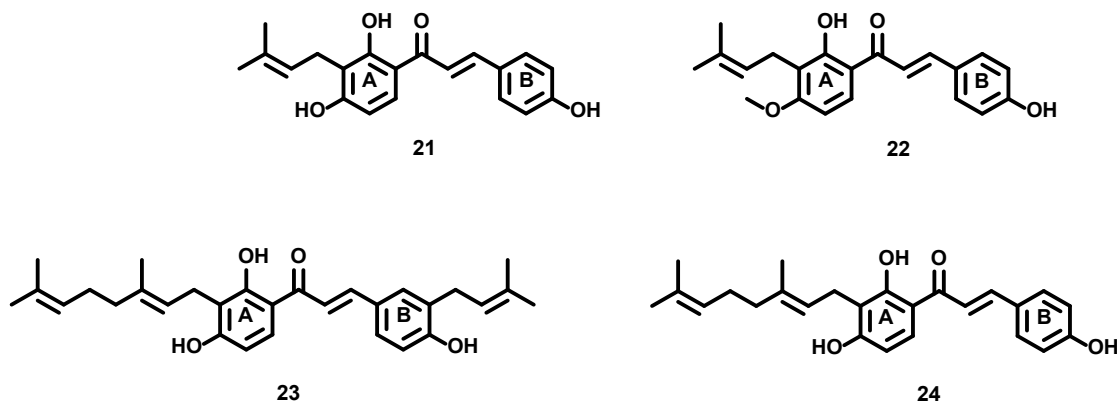


Figura 14. Análogos chalcônicos prenilados com atividade contra bactérias Gram-positivas (ÁVILA et al., 2008).

Fonte: autor

Ortalli e coautores avaliaram a atividade anti-*Leishmania* de um conjunto de análogos chalcônicos contra a forma promastigota de *Leishmania donovani*. O análogo isoprenilado **25** (Figura 15) apresentou a maior potência da série contra o parasita, com valor de CI_{50} 3,0 $\mu\text{mol/L}$. Além disso, a chalcona **25** demonstrou baixa toxicidade contra as linhagens celulares de mamíferos, incluindo VERO (célula epitelial de rim de macaco) e THP-1 (célula de monócito humano), com valores de CI_{50} 600 $\mu\text{mol/L}$ contra ambas as linhagens celulares. A substância **25** apresentou atividade contra a forma amastigota intracelular de *L. donovani*, com valor de CI_{50} 14 $\mu\text{mol/L}$, e contra formas promastigotas de outras espécies de *Leishmania*, incluindo *L. tropica*, *L. major* e *L. infantum*, com valores de CI_{50} 5,2, 3,3 e 1,6 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente. A investigação sobre o modo de ação da substância indicou a sua capacidade de inibir a tripanotiona redutase, uma enzima essencial para o parasita (ORTALLI et al., 2018).

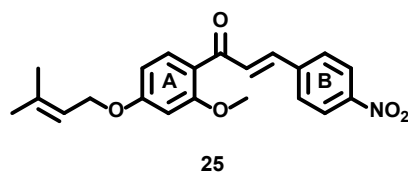


Figura 15. Análogo chalcônico com atividade antiprotozoária (**25**).

Fonte: autor

Zhang e colaboradores investigaram a atividade antineoplásica de chalconas isopreniladas contra as linhagens celulares tumorais humanas de cólon (HCT-116), cervical (HeLa) e pulmão (A549). As chalconas **26** e **27** (Figura 16) apresentaram atividade antitumoral potente, com valores de CI_{50} variando entre 0,89 a 5,76 $\mu\text{mol/L}$. Além disso, a substância **26** demonstrou efeitos contra xenoinxertos de carcinoma de cólon em camundongos, inibindo em 50% o volume do tumor quando comparado com o grupo controle (não tratado).

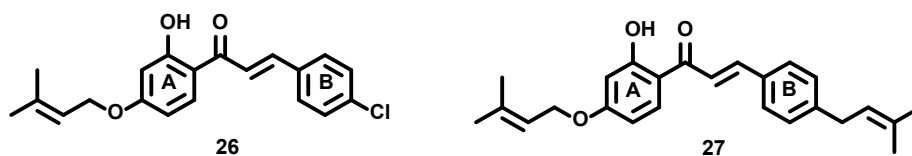


Figura 16. Análogos chalcônicos com atividade anticancerígena (**26** e **27**).

Fonte: autor

1.1.6. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori, anteriormente conhecida como *Campylobacter pylori*, é uma bactéria Gram-negativa que coloniza e cresce no muco e no tecido epitelial gástrico humano (DUNN et al., 1997). Ela possui uma morfologia encurvada ou espiralada com superfície lisa e extremidades arredondadas, medindo entre 0,1 e 0,5 μm de largura e 3 μm de comprimento. Além disso, possui de 4 a 6 flagelos unipolares e bulbos terminais nas extremidades lisas (TAVIRA, 2000).

A acidez do estômago de mamíferos, em especial o humano, não fornece condições para o crescimento da maioria das bactérias. Entretanto, *H. pylori* consegue sobreviver e crescer nesse meio tão inóspito (SCOTT et al., 2007). A resistência ao meio gástrico é

resultante de uma série de enzimas, como oxidases e catalases, além da produção intensa de urease, responsável pela hidrólise da ureia em amônia, o que confere resistência à acidez gástrica, tornando o ambiente favorável ao crescimento do microrganismo (JAWETZ et al., 2012; TORTORA, 2012).

Estudos demonstram que cerca de 50% da população mundial é portadora de *H. pylori*, podendo ser transmitida pelas vias fecal-oral, gástrico-oral, oral-oral ou sexual (PADOL et al., 2006; LIM et al., 2016; ZAMANI et al., 2017). Um dos fatores de risco mais importante para a prevalência mais alta de infecção por *H. pylori* é o nível socio-econômico mais baixo, como a superlotação doméstica, moradias em áreas rurais e águas contaminadas (CEYLAN et al., 2007; OZAYDIN et al., 2013). Além disso, fatores como idade, etnia, dieta, diabetes, tabagismo e consumo de álcool tornam o organismo humano mais sensível à infecção por *H. pylori* (ZATERKA et al., 2007; ZHOU et al., 2013; KIBRU et al., 2014; XIA et al., 2016; GENTA et al., 2017).

De acordo com a publicação do IV Consenso Brasileiro de *H. pylori* no ano de 2018 (COELHO et al., 2018), as infecções por *H. pylori* são combatidas com o uso de inibidores de bombas de prótons (omeprazol, lansoprazol, esoprazol) e fármacos antibacterianos, os quais são utilizados na primeira linha de tratamento (claritromicina, **28** e amoxicilina, **29**) e segunda linha de tratamento (subcitrato de bismuto, levofloxacino **30**, metronidazol **31**, tinidazol **32**, tetraciclina **33**, doxicilina **34** e furazolidona **35**) (COELHO et al., 2018).

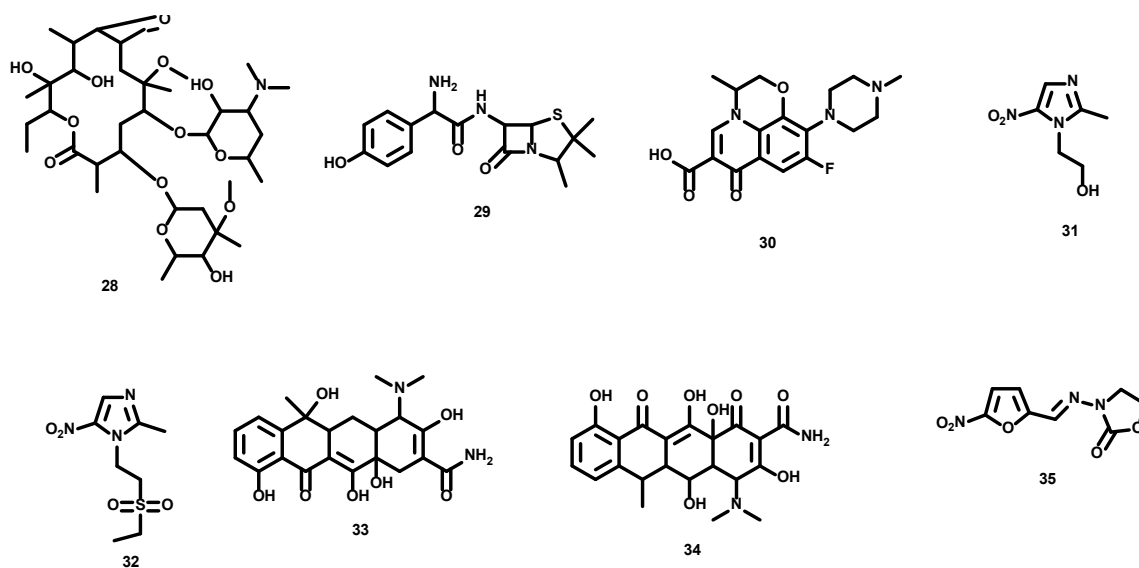


Figura 17. Fármacos utilizados no tratamento contra *Helicobacter pylori*: claritromicina (**28**), amoxicilina (**29**), levofloxacino (**30**), metronidazol (**31**), tinidazol (**32**), tetraciclina (**33**), doxicilina (**34**) e furazolidona (**35**) (COELHO, et al., 2018).

Fonte: autor

A resistência da *H. pylori* à alguns antibióticos é um dos principais fatores que dificultam o sucesso do tratamento. As taxas de resistência à claritromicina e metronidazol aumentaram significativamente nos últimos anos (COSME et al., 2015). A resistência à claritromicina e levofloxacina aumentou mais que 20% nos anos de 2008 a 2009. (KOCAZEYBEK et al., 2016).

As chalconas, por apresentarem vários estudos relacionados à atividade antibacteriana, surgem como uma alternativa para o tratamento contra *H. pylori*. Lai e colaboradores avaliaram 23 análogos chalcônicos 3',4',5'-trimetoxilados contra três cepas de *H. pylori*, sendo duas delas resistentes ao metronidazol e a claritromicina (v1254 e v1354). Três substâncias, **36**, **37** e **38**, foram mais seletivas e tiveram os valores de Concentração Bactericida Mínima (CBM) determinados de 12,5 a 100 μ M. O análogo **37**, apresentou o maior efeito inibitório contra *H. pylori*, semelhante à amoxicilina, com valores de CBM de 12,5 μ M contra as três cepas (BATOVSKA et al., 2009).

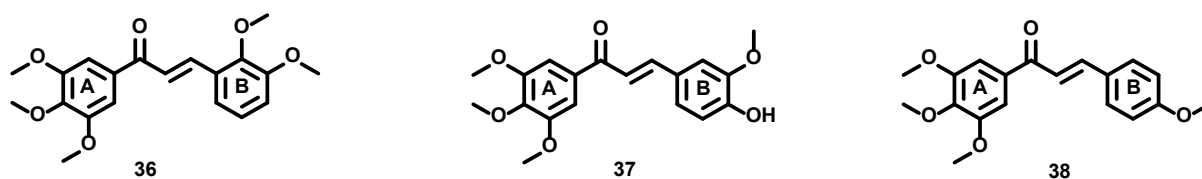


Figura 18. Análogos chalcônicos com atividade contra *Helicobacter pylori* (**36–38**) (LAI et al., 2010).

Fonte: autor

Em 2014, Bodet e co-autores sintetizaram e avaliaram a atividade de 3 chalconas oxipreniladas de ocorrência natural contra 17 cepas de *H. pylori*, incluindo isolados clínicos. A substância **39**, xinjiachalcona A, isolada das raízes de *Glycyrrhiza inflata* Batalin (Fabaceae), demonstrou valores de CIM que variaram de 12,5 a 50 μM , os quais são próximos aos da claritromicina CIM entre 0,22 a 85,5 μM), a qual foi empregada como fármaco antibacteriano de referência (BODET et al., 2014).

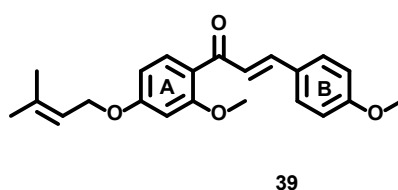


Figura 19. Xinjiachalcona A (**39**) com atividade contra *Helicobacter pylori* (BODET et al., 2014).

Fonte: autor

2. OBJETIVOS

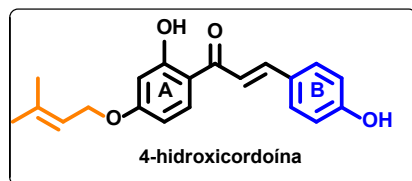
2.1. Objetivo Geral

Sintetizar e avaliar 4-hidroxicordoína (**4HC**) e uma série de análogos contra *Helicobacter pylori*.

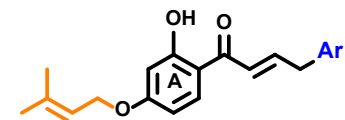
2.2. Objetivos Específicos

- A) Sintetizar e purificar 4-hidroxicordoína (**4HC**) e uma série de chalconas 4'-*O*-preniladas com grupos eletroatratores e eletrodoadores no anel B (Figura 20);
- B) Confirmar a estrutura das chalconas-alvo por meio de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN de ^1H) e de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13 (RMN de ^{13}C);
- C) Avaliar a atividade antibacteriana da **4HC** e seus análogos contra *H. pylori*, utilizando microdiluição em caldo .
- D) Avaliar a atividade de **4HC** e 3-hidroxicordoína (**5**) contra outras espécies Gram-negativas e Gram-positivas;
- E) Investigar *in silico* as propriedades farmacocinéticas e de *drug-likeness* de **4HC** e **3HC**.

Figura 20. Planejamento estrutural dos análogos chalcônicos



avaliação de grupos doadores e retiradores de elétrons sobre o anel B



5. Ar = fenila
6. Ar = 3-hidroxifenila
7. Ar = 4-metoxifenila
8. Ar = 3,4-dimetoxifenila
9. Ar = 3,4,5-trimetoxifenila

10. Ar = 4-metilfenila
11. Ar = 4-fluorfenila
12. Ar = 4-bromofenila
13. Ar = 2,4-diclorofenila
14. Ar = 2,6-diclorofenila
15. Ar = 4-trifluorometilfenila

3. REFERÊNCIAS

AIGNER, M. et al. Biosensor for the characterisation of hMAO B inhibitors and the quantification of selegiline. **Talanta**, v. 174, p. 696–702, 2017.

ALI, F. R.; WLODEK, C.; LEAR, J. T. The role of ingenol mebutate in the treatment of actinic keratoses. **Dermatologic Therapy**, v. 2, p. 1–8, 2012.

AVILA, H. P.; SMANIA, E. F. A.; DELLE-MONACHE, F.; SMANIA, A. J. R. Structure-activity relationship of antibacterial chalcones. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 9790–9794, 2008.

BERTANHA, C. S. et al. Quinone and hydroquinone metabolites from the ascidians of the Genus *Aplidium*. **Marine Drugs**, v. 12, p. 3608–3633, 2014.

BETTIO, L. E. et al. Guanosine prevents behavioral alterations in the forced swimming test and hippocampal oxidative damage induced by acute restraint stress. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 127, p. 7–14, 2014.

BOTTA, B. et al. Prenylated flavonoids: pharmacology and biotechnology. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 713–739, 2005.

BROGGINI, M. et al. Inhibition of CDC25B with WG-391D impedes the tumorigenesis of ovarian cancer. **Frontiers in Oncology**, v. 1, p. 236, 2019.

BRUYERE, C. et al. growth inhibitory activities of oxyprenylated and non-prenylated naturally occurring phenylpropanoids in cancer cell lines. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 21, p. 4173–4178, 2011.

BRUYÈRE, C. et al. Considering temozolomide as a novel potential treatment for esophageal cancer. **Cancer**, v. 117, p. 2004–2016, 2011.

BYUNG-YONG. et al. *Dactylosporangium luridum* sp. nov., *Dactylosporangium luteum* sp. nov. and *Dactylosporangium salmoneum* sp. nov., nom. rev., isolated from soil. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 60, p. 181–1823, 2010.

CARRADORI, S.; SILVESTRI, R. New frontiers in selective human MAO-B inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, p. 6717–6732, 2015.

CEYLAN, A. et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* in children and their family members in a district in Turkey. **Journal of Health, Population and Nutrition**, v. 25, p. 422–427, 2007.

CHEY, W. D. et al. ACG. Clinical Guideline: Treatment of *Helicobacter pylori* infection. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 112, p. 212–239, 2017.

CHIMENTI, F. et al. Monoamine oxidase isoform-dependent tautomeric influence in the recognition of 3,5-diaryl pyrazole inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 425–428, 2007.

CHIMENTI, F. et al. Synthesis, molecular modeling studies and selective inhibitory activity against MAO of N1-propanoyl-3,5-diphenyl-4,5-dihydro-(1*H*)-pyrazole derivatives. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, p. 2262–2267, 2008.

CHIMENTI, F. et al. Synthesis, stereochemical identification, and selective inhibitory activity against human monoamine oxidase-b of 2-methylcyclohexylidene-(4-arylthiazol-2-yl)hydrazones. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 4874–488, 2008.

COELHO, L.G. V. et al. 3rd Brazilian Consensus on *Helicobacter pylori*. **Archives of Gastroenterology**, v. 50, p. 81–96, 2013.

DAI, J. K.; DAN, W. J. Recent developments of chalcones as potential antibacterial agents in medicinal chemistry. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 187, 2020.

DAINA, A. et al. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, v. 3, 2017.

DINKOVA-KOSTOVA. et al. Potency of michael reaction acceptors as inducers of enzymes that protect against carcinogenesis depends on their reactivity with sulfhydryl groups. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, p. 3404–3409, 2001.

DO NASCIMENTO, M.C. and MORS, W.B. Chalcones of the root bark of *Derris sericea*. **Phytochemistry**, v. 11, p. 3023–3028, 1972.

EPIFANO, F. et al. *In vitro* inhibitory activity of boropinic acid against *Helicobacter pylori*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 16, p. 5523–5525, 2006.

EPIFANO, F. et al. Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. **Phytochemistry**, v. 68, p. 939–953, 2007.

EPIFANO, F. et al. Nelumal A, the active principle of *Ligularia nelumbifolia* is a novel farnesoid X receptor agonist. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 3130–3135, 2012.

FACTOR, S. A. Current status of symptomatic medical therapy in Parkinson's disease. **Neurotherapeutics**, v. 5, p. 164–180, 2008.

FENG, L. et al. Synthesis, structure-activity relationship studies, and antibacterial evaluation of 4-chromanones and chalcones, as well as olympicin A and derivatives. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 57, p. 8398–8420, 2014.

FONSECA, B. F. et al. Derricin and derricidin inhibit Wnt/ β -catenin signaling and suppress colon cancer cell growth *in vitro*. **Plos One**, v. 10, E0120919, 2015.

FLORES, S. et al. Synthesis and evaluation of novel oxyalkylated derivatives of 2',4'-dihydroxychalcone as anti-oomycete agents against bronopol resistant strains of *Saprolegnia* sp. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, p. 1–12, 2016.

FUHRMANN, E. et al. Synthesis of Alkyl Aryl Ethers by Catalytic Williamson Ether Synthesis with Weak Alkylation Agents. **Organic Process Research & Development**, v. 9, p. 206–211, 2005.

GENOVESE, S. et al. Prenyloxyphenylpropanoids as a novel class of anticonvulsive agents. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 19, p. 5419–5422, 2009.

GENOVESE, S.; EPIFANO, F. Auraptene: A Natural Biologically Active Compound with Multiple Targets. **Current Drug Targets**, v. 12, p. 381–386, 2011.

GENTA, R. M.; TURNER, K. O. & SONNENBERG, A. Demographic and socioeconomic influences on *Helicobacter pylori* gastritis and its pre-neoplastic lesions amongst US residents. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 46, p. 322–330, 2017.

GHOSE, A. K.; VISWANADHAN, V. N.; WENDOLOSKI, J. J. A knowledge-based approach in designing combinatorial or medicinal chemistry libraries for drug discovery. 1. A qualitative and quantitative characterization of known drug databases. **Journal of Combinatorial Chemistry**, v. 1, n. 1, p. 55–68, 1999.

GUAN, L.P. et al. Design, synthesis and antidepressant activity evaluation 2'-hydroxy-4',6'-diisoprenyloxychalcone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 22, p. 5218–5226, 2013.

HECHT, D. et al. *In vitro* activities of 15 antimicrobial agents against 110 toxigenic *Clostridium difficile* clinical isolates collected from 1983 to 2004. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, p. 2716–2719, 2007.

HUGUES, J. D. et al. Physiochemical drug properties associated with *in vivo* toxicological outcomes. **Bioinorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 17, p. 4872–4875, 2008.

HUGHES J. D. et al. Principles of early drug discovery. **British Journal of Pharmacology**, v. 162, p. 1239–1249, 2011.

KARLOWSKY, J.; LAING, N.; ZHANEL, G. *In vitro* activity of OPT-80 tested against clinical isolates of toxin-producing *Clostridium difficile*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 52, p. 4163–4165, 2008.

KIBRU, D. et al. *Helicobacter pylori* infection and its association with anemia among adult dyspeptic patients attending Butajira Hospital, Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, v. 14, p. 656, 2014.

KOSOWSKA-SHICK. et al. Activity of telavancin against staphylococci and enterococci determined by MIC and resistance selection studies. **Antimicrobial Agents Chemotherapy**, v. 53, p. 4217–4224, 2009.

KOCAZEYBEK, B.; TOKMAN, H. B. Prevalence of primary antimicrobial resistance of *H. pylori* in Turkey: a systematic review. **Helicobacter**, v. 21, n. 4, p. 251–260, 2016.

LEBWOHL, M. et al. Long-term follow-up study of ingenol mebutate gel for the treatment of actinic keratoses. **JAMA Dermatology**, v. 149, p. 666–670, 2013.

LI, C. G.; SI, J. T. J. Advances in the first total synthesis of natural flavonoids. **Natural Science Edition**, v. 35, p. 529–531, 2012.

LIM, S.G. et al. The relationship between the failure to eradicate *H. pylori* and previous antibiotics use. **Digestive and Liver Disease**, v. 48, p. 385–390, 2016.

LIMA, L. M.; BARREIRO, E. J. Bioisosterism: A useful strategy for molecular modification and drug design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 23–49, 2005.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, n. 1–3, p. 3–25, 1997.

LIU, H.L.; JIANG, W.B. and XIE, M.X. Flavonoids: Recent Advances as Anticancer Drugs. **Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery**, v. 5, p. 152–164, 2010.

LUPI, A.; DELLE MONACHE, G.; DELLE MONACHE, F. Synthetic analogs of natural prenylated and chromenes chalcones. **National Library Medicine, Farmaco Science**, v. 32, p. 261–269, 1977.

MALFERTHEINER, P. et al., Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht V/Florence Consensus Report. **Gut**, v. 66, p. 1–30, 2017.

MARQUES, B. C. et al. Methoxychalcones: Effect of Methoxyl Group on the Antifungal, Antibacterial and Antiproliferative Activities. **Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 881–891, 2020.

MAYDT D. et al. Chemical reactivity and biological activity of chalcones and other α,β -unsaturated carbonyl compounds. **Xenobiotica**, v. 43, p. 711–718, 2013.

MIAO, V. et al. Genetic engineering in *Streptomyces roseosporus* to produce hybrid lipopeptide antibiotics. **Chemistry & Biology**, v. 13, p. 269–276, 2006.

MOLINSPIRATION CHEMINFORMATICS. Available online: www.molinspiration.com (acessado em 01 Junho 2021).

MOTANI, K. et al. Proteomic analysis of apoptosis induced by xanthoangelol, a major constituent of *Angelica keiskei*, in neuroblastoma. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, p. 618–626, 2008.

MUEGGE, I.; HEALD, S. L.; BRITTELLI, D. Simple selection criteria for drug-like chemical matter. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 1841–1846, 2001.

NABEKURA, T. et al. Citrus auraptene induces drug efflux transporter P-glycoprotein expression in human intestinal cells. **Food & Function**, v. 11, p. 5017–5023, 2020.

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 01/1981 to 09/2019 . **Journal of Natural Products**, v. 83, p.770–803, 2020.

ORTALLI, M. et al. Identification of chalcone-based antileishmanial agents targeting trypanothione reductase. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 152, p. 527–541, 2018.

OZAYDIN, N.; TURKYILMAZ, S.A. & CALI, S. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the ¹³C-Urea breath test. **BMC Public Health**, v. 13, p. 1215, 2013.

PACHER, P.; KECSKEMETI, V. Trends in the development of new antidepressant. Is there a light at the end of the tunnel? **Current Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 925–943, 2004.

PADOL, S. et al. The Effect of CYP2C19 Polymorphisms on H. pylori Eradication Rate in Dual and Triple First-Line PPI Therapies: A Meta-analysis. **American Journal of Gastroenterology**, v. 101, p. 1467–1475, 2006.

PANDURANGAN N. A Rapid, Solvent-Free Deprotection of Methoxymethyl (MOM) Ethers by *p*TSA; An Eco-Friendly Approach. **Letters in Organic Chemistry**, v 14, p. 231–235, 2017.

PARK, S. et al. The *O*-methylated isoflavone, formononetin, inhibits human ovarian cancer cell proliferation by sub G0/G1 cell phase arrest through PI3K/AKT and ERK1/2 inactivation. **Journal of Celular Biochemistry**, v. 119, p. 7377–7387, 2018.

PAJOUHESH, H. & LENZ, G. R. Medicinal Chemistry Properties of Successful Central Nervous System Drugs. **Neuro RX**, v. 2, p. 541–553, 2005.

PAULO, N. B. et al. Synthesis, structural characterization, and cytotoxic evaluation of chalcone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 28, p. 2037–2049, 2019.

PERVEEN, S. and AL-TAWELL, A. M. Pharmacognosy. **Natural Products in Drug Discovery**, 2019.

PHAN, C. W.; DAVID, P.; SABARATNAM, V. Edible and medicinal mushrooms: emerging brain food for the mitigation of neurodegenerative diseases. **Journal of Medicinal Food**, v. 20, p. 1–10, 2017.

POLAQUINI, C. R. et al. Antibacterial and Antitubercular Activities of Cinnamylideneacetophenones. **Molecules**, v. 22, p. 1685, 2017.

POLAQUINI, C. R. et al. Antibacterial activity of 3,3'-dihydroxycurcumin (DHC) is associated with membrane perturbation. **Bioorganic Chemistry**, v. 90, p. 103031, 2019.

POLAQUINI, C. R. et al. Antibacterial activity of a new monocarbonyl analog of curcumin MAC 4 is associated with divisome disruption. **Bioorganic Chemistry**, v. 109, p. 104668, 2021.

POLESZAK, E. et al. The influence of caffeine on the activity of moclobemide, venlafaxine, bupropion and milnacipran in the forced swim test in mice. **Life Sciences**, v. 136, p. 8–13, 2015.

PREADMET. Available online: www.preadmet.bmdrc.kr (acessado em 20 Abril 2021).

RAMALHO, S. D. **Síntese e avaliação do potencial bioativo de derivados de chalconas**. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) Instituto de Física Química Molecular - Unidade de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, Goiás, 2011.

RUBINSTEIN, E. et al. Worldwide assessment of linezolid's clinical safety and tolerability: comparator-controlled phase III studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 47, p. 1824–1831, 2003.

RUDHOLF, J. Inhibiting transient protein-protein interactions: lessons from the CDC25 protein tyrosine phosphatases. **Natural Reviews Cancer**, v. 7, p. 202–211, 2007.

SANTANA, L. et al. Quantitative Structure-Activity Relationship and Complex Network Approach to Monoamine Oxidase A and B Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 6740–6751, 2008.

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

SAWLE, P. et al. Structure–Activity Relationships of Methoxychalcones as Inducers of Heme Oxygenase-1. **Chemical Research in Toxicology**, v. 21, p. 1484–1494, 2008.

SIBILLE, E. et al. Development of a matrix-assisted laser desorption/ionization-mass spectrometry screening test to evidence reversible and irreversible inhibitors of CDC25 phosphatases. **Analytical biochemistry**, v. 430, p. 83–91, 2012.

SILLER, G. et al. PEP005 (ingenol mebutate) gel, a novel agent for the treatment of actinic keratosis: results of a randomized, double-blind, vehicle-controlled, multicentre, phase IIa study. **Australasian Journal of Dermatology**, v. 50, p. 16–22, 2009.

TALLY, F. P.; DEBRUIN, M. F. Development of daptomycin for Gram-positive infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 46, p. 523–526, 2000.

TAVIRA, L. T. *Helicobacter*. **Microbiologia**, v. 2, p. 145–149, 2000.

TENG, Y.; ZHOU, Q; GAO, P. Applications and challenges of elemental sulfur, nanosulfur, polymeric sulfur, sulfur composites, and plasmonic nanostructures. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**, v. 49, p. 2314–2358, 2019.

TORREZAN, G. S. et al. Use of glycerol, waste glycerol from biodiesel production and other protic solvents in bioactive α,β -unsaturated ketones synthesis. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 16, p. 1–7, 2020.

VENUGOPAL, A. A. and JOHNSON, S. Fidaxomicin: a novel macrocyclic antibiotic approved for treatment of *Clostridium difficile* infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, p. 568–574, 2012.

REDDY, V. B. M. et al. Structure–activity relationships of chalcone analogs as potential inhibitors of ADP- and collagen-induced platelet aggregation. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 7358–7370, 2008.

VILHENA, C.; BETTENCOURT, A. Daptomycin: a review of properties, clinical use, drug delivery and resistance. **Mini Review Medicinal Chemistry**, v. 12, p. 202–209, 2012.

WANG, W. X. et al. Antidepressant-like effects of liquiritin and isoliquiritin from *Glycyrrhiza uralensis* in the forced swimming test and tail suspension test in mice. **Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry**, v. 32, p. 1179–1184, 2008.

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

XIA, Y. et al. Dietary Patterns are Associated with *Helicobacter Pylori* Infection in Chinese Adults: A Cross-Sectional Study. **Scientific Reports**, v. 16, p. 32334, 2016.

XIE, C. et al. Synthesis of 2'-hydroxy-4'-isoprenyloxychalcone Derivatives with Potential Antidepressant-like Activity. **Medicinal Chemistry**, v. 10, p. 789–799, 2014.

YASIN, T. et al. Isothiocyanate–cysteine conjugates protect renal tissue against cisplatin-induced apoptosis via induction of heme oxygenase-1. **Pharmacological Research** v. 81, p. 1–9, 2014.

YEE, S. *In vitro* permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict *in vivo* (small intestinal) absorption in man—fact or myth. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n. 6, p. 763–766, 1997.

ZAMANI, M. et al. Role of food in environmental transmission of *Helicobacter pylori*. **Caspian Journal of Internal Medicine**, v. 8, p. 146–152, 2017.

ZATERKA, S. et al. Factors related to *Helicobacter pylori* prevalence in an adult population in Brazil. **Helicobacter**, v. 12, p. 82–88, 2007.

ZHANG, Y.; EDWARDS, P.A. FXR signaling in metabolic disease. **FEBS Letters**, v. 582, p. 10–18, 2008.

ZHANG, X. W. et al. Synthesis and evaluation of antiinflammatory activity of substituted chalcone derivatives. **Medicinal Chemistry Research**, v. 19, p. 403–412, 2010.

ZHANG, J. et al. Chalcones derivatives as potent Cell division cycle 25B phosphatase inhibitors. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 515–519, 2014.

ZHAO, Y. H. et al. Evaluation of human intestinal absorption data and subsequent derivation of a quantitative structure–activity relationship (QSAR) with the Abraham descriptors. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 6, p. 749–784, 2001.

ZHOU, X. et al. Association between *Helicobacter pylori* infection and diabetes mellitus: a meta-analysis of observational studies. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 99, p. 200–208, 2013.

ZHUANG, C.L. et al. Chalcone: a privileged structure in medicinal chemistry. **Chemical Reviews**, v. 117, p. 7762–7810, 2017.

4. SÍNTESE E ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE 4-HIDROXICORDOÍNA E SEUS ANÁLOGOS CONTRA *Helicobacter pylori*

Vinicius Bertoco Pianta^a, Miguel Divino da Rocha^a, Meliza Arantes de Souza Bessa^b, Ralciane de Paula Menezes^b, Carlos Henrique Gomes Martins^b, Luis Octavio Regasini^{a,*}

^a Departamento de Química e Ciências Ambientais, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, 15054-000, São José do Rio Preto – SP, Brasil.

^b Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902, Uberlândia – MG, Brasil.

*e-mail: luis.regasini@unesp.br

SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF 4-HYDROXYCORDOIN AND ITS ANALOGS AGAINST *Helicobacter Pylori*

4.1 ABSTRACT

4-Hydroxycordoin (**1**) is a natural *O*-isoprenylchalcone with few descriptions on its synthesis and pharmacological activities. In this work, **1** was synthesized in four steps with an overall yield of 37%. Eleven analogs of **1** were synthesized in two steps with overall yields from 16% to 54%. Structures of compounds were determined by Nuclear Magnetic Resonance spectral data analyses. All chalcones were evaluated against *Helicobacter pylori*, using broth microdilution method, which established the values of Minimum Inhibitory Concentration (MIC). Compound **1** and its new analog **6** (3-hydroxycordoin) displayed MIC values of 62.5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectively. Preliminary structure-activity relationships indicated that the presence and position of hydroxyl on ring B are crucial for the activity against *H. pylori*. In addition, compounds **1** and **6** were tested against a panel of Gram-positive and Gram-negative species. Compound **1** was not active with MIC > 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Compound **6** presented MIC value of 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*. *In silico* predictions by SwissADME® suggested that **1** e **6** did not violate Lipinski's, Ghose's Veber's, Egan's and Muegge's rules, evidencing their drug-likeness properties. In brief, the synthesis and bioactivity evaluation of **1** and **6** corroborate the potential of unexplored natural products for the discovery of new antibacterial agents.

Keywords: 4-Hydroxycordoin. Chalcone. Antibacterial; *Helicobacter pylori*.

Drug-likeness

4.2 INTRODUÇÃO

As chalconas são substâncias que apresentam dois anéis aromáticos (anéis A e B) unidos por uma cetona α,β -insaturada. São estruturas privilegiadas segundo a Química Medicinal, visto à relevância para o planejamento de substâncias bioativas e síntese fácil e versátil (ZHUANG et al., 2017). Nos últimos anos, o nosso grupo de pesquisa vem se dedicando ao estudo da atividade antibacteriana de chalconas (MARQUES et al., 2020; MORÃO et al., 2020). Chalconas substituídas por metoxilas em diferentes posições dos anéis A e B apresentaram atividade contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus sanguinis*, e contra uma espécie Gram-negativa, *Pseudomonas aeruginosa* (MARQUES et al., 2020). Chalconas substituídas por hidroxilas inibiram o crescimento bacteriano e diminuíram a incorporação de biomoléculas precursoras de DNA, RNA, proteínas e peptidoglicano de *Xanthomonas citri* subsp. *citri* e *Bacillus subtilis* (MORÃO et al., 2020).

A 4-hidroxicordoína (**1**) é uma chalcona natural *O*-isoprenilada (Figura 1), que exibe atividade antibacteriana contra espécies Gram-negativas de interesse odontológico, incluindo *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Prevotella intermedia* (FELDMAN et al., 2011; FIORITO et al., 2017). Análogos chalcônicos de **1** demonstraram atividade antibacteriana contra espécies Gram-positivas, *Bacillus cereus* e *S. Aureus* (CLEMENTINA et al., 2020). A atividade antifúngica de **1** foi evidenciada contra a formação de biofilme e da transição levedura-hifa de *Candida albicans* (LACASSE et al., 1990; LOPEZ-MARTINEZ, 2010; MESSIER et al., 2011).

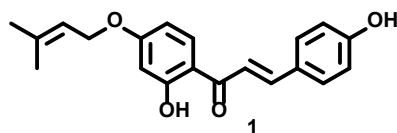


Figura 1. Estrutura da 4-hidroxicordoína (**1**)

Fonte: autor

Helicobacter pylori é uma bactéria Gram-negativa que coloniza o muco e o tecido epitelial gástrico (DUNN et al., 2007). O desenvolvimento de *H. pylori* nesse ambiente com baixo pH se deve a um conjunto de enzimas que conferem resistência à acidez gástrica (SCOTT et al., 2007), tornando o ambiente estomacal altamente favorável ao seu crescimento (JAWETZ et al., 2012; TORTORA et al., 2012). As infecções por *H. pylori* são combatidas com o uso de inibidores de bombas de prótons (omeprazol, lansoprazol, esoprazol) e fármacos antibacterianos, os quais são utilizados na primeira linha de tratamento (amoxicilina e claritromicina) e segunda linha de tratamento (subcitrate de bismuto, levofloxacino, metronidazol, tinidazol, tetraciclina, doxicilina e furazolidona) (COELHO et al., 2018). Contudo, tem conduzido ao surgimento de resistência, o que torna premente a busca de agentes antibacterianos novos (CAMARGO et al., 2014; COSME et al., 2016).

O presente estudo descreveu a síntese e avaliação contra *H. pylori* de **1** e análogos com anel B substituído por grupos eletrodoadores e eletroaceptores. Adicionalmente, as chalconas mais ativas contra *H. pylori* foram testadas contra um painel de espécies bacterianas Gram-negativas e Gram-positivas, bem como tiveram suas propriedades *drug-likeness* preditas por meio de experimentos *in silico*.

4.3 PARTE EXPERIMENTAL

4.3.1 Procedimentos gerais

Os reagentes utilizados para a síntese das chalconas (2,4-dihidroxiacetofenona e aldeídos aromáticos) foram adquiridos da Merck® e apresentaram purezas de 95–99%; os solventes foram adquiridos da Synth®. As reações foram monitoradas por cromatografia em camada delgada (Merck®). As fases estacionárias, gel de sílica (230–400 mesh, 40–63 µm, Merck ®) e LH-20 (Sephadex, ®), foram empregadas para purificações por cromatografia em coluna. Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram realizados em espectrômetro Bruker Avance III 14.1 T (600 MHz), utilizando DMSO-*d*₆ como solvente dopado com TMS (tetrametilsilano) como referência interna (Merck®).

4.3.2 Síntese

A substância **1** e os análogos **5–15** foram sintetizados utilizando materiais de partida comerciais e protocolos experimentais previamente descritos.

A obtenção de **2a** foi realizada segundo protocolo estabelecido por Fuhrmann e colaboradores (FUHRMANN et al., 2005). 2,4-Dihidroxiacetofenona (**2**, 8 mmol) e carbonato de potássio (24 mmol) foram dissolvidos em acetona (15 mL) e mantidos sob agitação durante 15 minutos a temperatura ambiente. Brometo de isoprenila (8 mmol) foi adicionado à mistura reacional, a qual foi mantida sob banho de gelo, agitação e sob atmosfera de nitrogênio. Após 6 horas, a suspensão foi diluída em água destilada (100 mL) e submetida à extração líquido-líquido com acetato de etila (3 × 15 mL) e posteriormente com solução saturada de cloreto de sódio (10 mL). A fase orgânica foi seca sob sulfato de magnésio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, empregando misturas de hexano e acetato de etila, [97,5:2,5], [95:5], [90:10] e [80:20], como eluentes.

A síntese de **3a** foi realizada segundo procedimentos descritos por Kim e colaboradores (KIM et al., 2008; KIM et al., 2015). Uma suspensão de carbonato de potássio (3 mmol) em acetona (15 mL) foi mantida sob agitação em banho de gelo durante 10 min. *p*-Hidroxibenzaldeído (**3**, 3 mmol) e cloreto de metoximetila (MOMCl, 3,6 mmol) foram adicionados à mistura reacional e agitados à temperatura ambiente durante 8 h. A suspensão foi diluída com água destilada (25 mL). O produto bruto foi

submetido à extração líquido-líquido com acetato de etila (4×25 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (10 mL). A fase orgânica foi concentrada sob pressão reduzida, fornecendo o intermediário **3a**.

A obtenção de **4** foi realizada segundo Santos e colaboradores (SANTOS et al., 2019). Uma mistura equimolar (1,5 mmol) dos intermediários **2a** e **3a** foram solubilizados em 5 mL de etanol durante 10 minutos a temperatura ambiente. Uma solução etanólica de hidróxido de sódio (10 mL, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionada gota-a-gota. A mistura reacional foi mantida sob refluxo durante 72 horas. O meio reacional foi vertido em gelo triturado, obtidos de água deionizada. O produto bruto foi submetido à extração líquido-líquido com acetato de etila (4×15 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (15 mL). A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e concentrada sob pressão reduzida. O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de permeação em gel (LH-20), usando etanol como eluente.

A reação de remoção do grupo MOM de **4** foi estabelecida segundo Pandurangan e co-autores (PANDURANGAN et al, 2017). O ácido *p*-toluenossulfônico (TsOH, 0,9 mmol) foi adicionado à uma solução metanólica (3 mL) do intermediário **4** (1,5 mmol). A solução foi mantida sob refluxo por 30 horas a 65°C . Em seguida, o meio reacional foi vertido em gelo triturado e extraído com acetato de etila (4×25 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (10 mL). O produto bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, empregando hexano e acetato de etila [4:1] como eluente.

A obtenção dos análogos chalcônicos **5–15** foi realizada por meio de condensação aldólica de Claisen-Schmidt. Uma solução equimolar (1,0 mmol) de **2a** e dos respectivos aldeídos aromáticos foram solubilizados em EtOH (5 mL). Uma solução etanólica de hidróxido de sódio (10 mL, $0,05 \text{ mol L}^{-1}$) foi adicionada à mistura reacional e mantida sob agitação por períodos que variaram de 24 horas a 96 horas e em temperatura ambiente. O meio reacional foi vertido em gelo triturado obtido de água deionizada e acidificado com ácido acético glacial até pH 3–5. O produto bruto foi particionado com acetato de etila (3×15 mL) e solução saturada de NaCl (10 mL). As substâncias **4**, e **6–14** foram purificadas por cromatografia em coluna de permeação em gel (LH-20), utilizando etanol como eluente. As substâncias **1** e **15** foram purificadas por cromatografia em coluna de gel de sílica usando misturas de hexano e acetato de etila, [95:5], [90:10], [80:20] e [70:30], como eluentes.

4.3.3 Atividade Antibacteriana

Para os ensaios de atividade antibacteriana foram utilizadas sete cepas da American Type Culture Collection (ATCC); *Helicobacter pylori* ATCC 43526, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990 e *Enterococcus faecalis* ATCC 1299.

A atividade antibacteriana das substâncias contra *H. pylori* foi avaliada de acordo com Spósito e colaboradores (SPÓSITO et al., 2019). O ensaio de microdiluição em caldo utilizou meio Mueller Hinton suplementado com 10% de soro fetal bovino. As substâncias foram solubilizadas em DMSO em placas de 96 poços em concentrações que variaram de 1000 e 0,48 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A concentração do inóculo foi ajustada para 5×10^5 UFC mL^{-1} . As placas foram preparadas em triplicadas e incubadas a 37 °C por três dias em atmosfera contendo 10% de CO₂. DMSO (Merck) e tetraciclina (Merck) foram empregados como controle negativo e controle positivo (fármaco antibacteriano de referência), respectivamente. Uma solução aquosa de resazurina (Merck) (30 μL , 0,01%) foi adicionada a cada poço para avaliação visual (SARKER et al., 2007). A presença de coloração rosa indicou a presença de células metabolicamente ativas, enquanto a presença de coloração azul indicou células metabolicamente inviáveis (ARAÚJO et al., 2012). A menor concentração em que observou uma mudança de coloração foi considerada como o valor da Concentração Inibitória Mínima (CIM). Foram realizados três experimentos independentes.

O efeito antibacteriano das substâncias selecionadas (1 e 6) foi avaliado contra outras espécies bacterianas, incluindo *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis*. Para determinar os valores de CIM, foi realizado o método de microdiluição em caldo recomendado pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2012), com pequenas modificações. As amostras foram solubilizadas em DMSO e diluídas com caldo Mueller-Hinton ajustado para cátions (Difco) a concentrações que variaram de 400 e 0,39 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A concentração dos inóculos foi ajustada para 5×10^5 UFC mL^{-1} . As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h. DMSO (Merck) e tetraciclina (Merck) foram empregados como controle negativo e controle positivo (fármaco antibacteriano de referência), respectivamente. Um inóculo foi incluído para monitorar o crescimento bacteriano. Os experimentos foram realizados

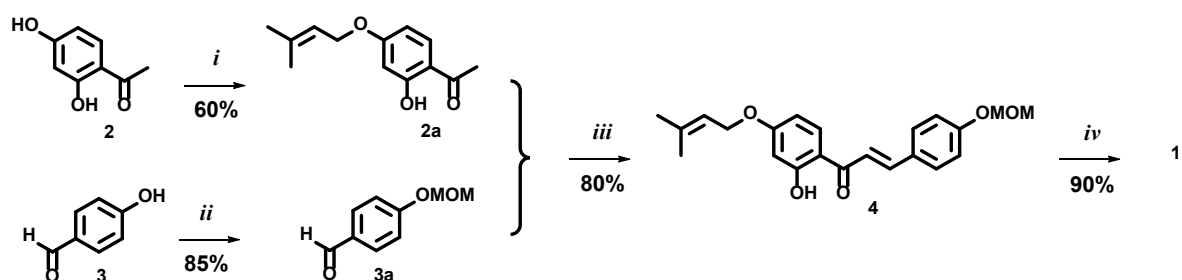
em três ensaios independentes. A CIM foi definida como a menor concentração do agente antimicrobiano capaz de inibir o crescimento bacteriano.

4.3.4 Predição das propriedades *drug-likeness*

As propriedades *drug-likeness* das chalconas selecionadas **1** e **6** e dos fármacos antibacterianos de primeira e segunda linha utilizados no tratamento contra *H. pylori* (amoxicilina, claritromicina, levofloxacino, metronidazol, tinidazol, tetraciclina, doxicilina e furazolidona) foram preditas por meio do software SwissADME® (Daina, Michielin & Zoete, 2017).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síntese de **1** utilizou 2',4'-dihidroxiacetofenona (**2**) e 4-hidroxibenzaldeído (**3**) como substâncias carboniladas de partida (Esquema 1). A primeira etapa da rota sintética envolveu a reação de *O*-isoprenilação de **2**, utilizando brometo de isoprenila, culminando na obtenção de **2a** com rendimento de 60%. Inicialmente, foram realizadas tentativas experimentais de reação de condensação de **2a** e **3**, sob catálise básica, havendo a formação de inúmeros produtos, os quais foram analisados por cromatografia em camada delgada. Esse número elevado de produtos pode estar relacionado a reatividade, em pH básico, da hidroxila fenólica *para*-posicionada a aldoxila. Para evitar a reatividade da hidroxila fenólica, **3** foi submetido a reação de proteção com o grupo metoximetila (MOM), fornecendo **3a** (85%). A terceira etapa envolveu a condensação aldólica de Claisen-Schmidt entre **2a** e **3a**, fornecendo a chalcona **4** (80%). A última etapa envolveu a remoção do grupo MOM, na presença de ácido *para*-toluenosulfônico (TsOH), com rendimento de 90%. A síntese de **1**, realizada em quatro etapas, exibiu rendimento global de 37%. Outros estudos realizaram a síntese de **1**, os quais apresentaram rendimentos globais similares o descrito no presente trabalho. Li e colaboradores utilizaram **2** e **3** como materiais de partida, MOM como grupo protetor e quatro etapas reacionais, culminando na síntese de **1** com rendimento global de 44%. Genovese e coautores descreveram a síntese de **1**, realizada sem a necessidade de reação de proteção, em três etapas, com rendimento global de 24% (GENOVESE et al., 2009).

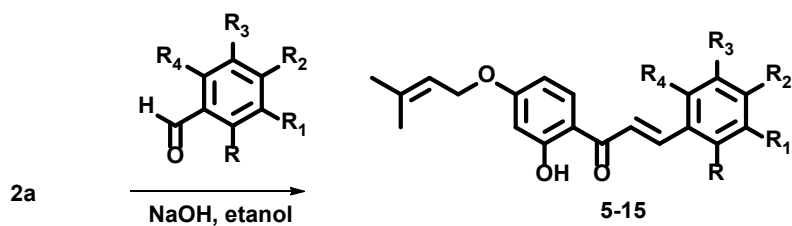


i = brometo de isoprenila, K₂CO₃ e acetona; *ii* = MOMCl, K₂CO₃ e acetona; *iii* = NaOH e EtOH; *iv* = TsOH, MeOH.

Esquema 1. Síntese da 4-hidroxicordoína (**1**)

Fonte: autor

O intermediário **2a** foi submetido a reações com derivados benzaldeídicos substituídos por grupos eletrodoadores (OCH₃ e CH₃) e eletroaceptores (F, Cl, Br e CF₃), permitindo a obtenção de onze análogos chalcônicos de **1**, com rendimentos de 27 a 91% (Esquema 2). Considerando a etapa de *O*-isoprenilação de **2**, a síntese dos análogos **5–15** exibiu rendimentos globais que variaram de 16% a 54%.



	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	Rendimento (%)
5	H	H	H	H	H	43 %
6	H	OH	H	H	H	27 %
7	H	H	OCH ₃	H	H	88 %
8	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	79 %
9	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	72 %
10	H	H	CH ₃	H	H	80 %
11	H	H	F	H	H	78 %
12	H	H	Br	H	H	77 %
13	Cl	H	Cl	H	H	89 %
14	Cl	H	H	H	Cl	79 %
15	H	H	CF ₃	H	H	80 %

Esquema 2. Síntese dos análogos **5–15**

Fonte: autor

As estruturas das chalconas foram confirmadas por meio das análises dos dados espectrais de RMN de ^1H e ^{13}C . Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C foram apresentados no Material Suplementar. Para todas as substâncias-alvo, os parâmetros de RMN, tais como; deslocamentos químicos (δ_{H} e δ_{C} em ppm), multiplicidades, integrações e constantes de acoplamento (J em Hz), estão de acordo com as estruturas planejadas. No espectro de RMN de ^1H do conjunto de chalconas foi possível observar a presença de quatro sinais característicos referentes ao grupo isoprenílico; dois simpletos, um duplete e um tripleto, os quais foram atribuídos aos hidrogênios metílicos (H-4'' e H-5''), hidrogênios metilênicos (H-1'') e hidrogênio metínico (H-2''), respectivamente. Os dois dupletos com valores de J de $\sim 15,5$ Hz foram atribuídos aos hidrogênios metínicos α e β . O valor de J indica que a ligação dupla carbono-carbono da ponte enônica possui configuração *E*. A análise dos sinais presentes no espectro de RMN de ^{13}C confirmaram a presença da ponte enônica devido à presença do sinal em ~ 192 ppm, o qual foi atribuído ao carbono carbonílico β' . Do conjunto de análogos chalônicos, **6** e **15** foram identificadas como uma substâncias inéditas. As chalconas com estrutura conhecida

tiveram seus dados espectrais comparados com a literatura (GENOVESE et al., 2009; NIMMANAPALLI et al., 2010; XIE et al., 2014).

1.1 (2E)-1-(4-(3-metil-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(4-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona

(1)

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; J em Hz): 1,74 (s) e 1,77 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,45 (t; 6,6), 5,76 (s), 6,51 (d; 2,4), 6,55 (dd; 2,4 e 9,0), 6,86 (d; 8,4;), 7,77–7,83, 8,25 (d; 9,0), 13,66 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 65,4; 102,9; 108,2; 114,2; 116,3; 117,7; 119,6; 126,1; 131,8; 132,8; 138,6; 145,2; 160,8; 165,5; 166,1; 192,3.

1.2 (2E)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (5)

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; J em Hz): 1,74 (s) e 1,77 (s), 4,65 (d; 6,6), 5,45 (t; 6,6), 6,53 (d; 2,4), 6,57 (dd; 2,4 e 9,0), 7,48–7,49 , 7,84 (d; 15,6), 7,92 (dd; 1,8 e 6,6), 8,02 (d; 15,6), 8,28 (d; 9,0), 13,43 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 65,5; 102,0; 108,4; 114,2; 119,5; 121,7; 129,4; 129,6; 131,3; 133,2; 135,0; 138,6; 144,6; 165,8; 166,1; 192,3.

1.3 (2*E*)-1-(4-(3-metillbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(3-hidroxifenil)prop-2-en-1-ona
(6).

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,72 (s) e 1,76 (s), 4,63 (d; 7,2), 5,43 (t; 7,2), 6,51 (d; 2,4), 6,56 (dd; 2,4 e 9,0), 6,89 (dd; 1,8 e 8,1), 7,25, 7,28 (dd; 7,8 e 8,1), 7,33 (d; 7,8), 7,73 (d; 15,6), 7,90 (d; 15,6), 8,23 (d; 9,0), 13,39 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 65,4; 102,0; 108,4; 114,2; 115,8; 118,5; 119,5; 120,6; 121,5; 130,4; 133,1; 136,3; 138,7; 144,8; 158,1; 165,7; 166,0; 192,3.

1.4 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(4-metóxifenil)prop-2-en-1-ona
(7).

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,74 (s) e 1,77 (s), 3,84 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,45 (t; 6,6), 6,52 (d; 2,4), 6,56 (dd; 2,4 e 9,0), 7,04 (d; 8,4), 7,82 (d; 15,6), 7,89 (d; 15,6), 7,90 (d; 8,4), 8,27 (d; 9,0), 13,61 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 55,9; 65,4; 102,0; 108,3; 114,2; 114,9; 118,9; 119,6; 127,7; 131,6; 133,0; 138,6; 144,7; 162,0; 165,6; 166,2; 192,3.

1.5 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(3,4-dimetóxifenil)prop-2-en-1-ona (**8**)

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,73 (s) e 1,76 (s), 3,83 (s), 3,88 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,44 (t; 6,6), 6,52 (d; 1,8), 6,56 (dd; 1,8 e 9,0), 7,04 (d; 8,4), 7,42 (d; 8,4), 7,58 (s), 7,80 (d), 7,89 (d), 8,29 (d; 9,0), 13,66 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 56,1; 56,2; 65,4; 102,0; 108,3; 111,3; 112,0; 114,2; 118,9; 119,6; 124,9; 127,8; 133,0; 138,5; 145,2; 149,5; 152,0; 165,6; 166,2; 192,3.

1.6 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(3,4,5-trimetóxifenil)prop-2-en-1-ona (**9**).

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,74 (s) e 1,77 (s), 3,73 (s), 3,88 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,45 (t; 6,6), 6,54 (d; 2,4), 6,57 (dd; 2,4 e 9,0), 7,27 (s), 7,80 (d; 15,0), 7,95 (d; 15,0), 8,31 (d; 9,0), 13,57 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 56,6; 60,6; 65,5; 102,0; 107,3; 108,4; 114,1; 119,6; 120,6; 130,5; 133,1; 138,6; 140,4; 145,1; 153,6; 165,7; 166,3; 192,3.

1.7 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-*p*-tolilprop-2-en-1-ona (**10**).

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,72 (s) e 1,75 (s), 2,35 (s), 4,62 (d; 6,6), 5,43 (t; 6,6), 6,50 (d; 2,4), 6,55 (dd; 2,4 e 9,0), 7,28 (d; 7,8), 7,79 (d; 15,6), 7,80 (d; 7,8), 7,95 (d; 15,6), 8,26 (d; 9,0), 13,51 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm: 18,5 e 25,9; 21,6; 65,4; 102,0; 108,3; 114,2; 119,5; 120,5; 129,6; 130,1; 132,3; 133,1; 138,6; 141,5; 144,7; 165,7; 166,2; 192,3.

1.8 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(4-fluorofenil)prop-2-en-1-ona
(11).

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} in ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,72 (s) e 1,75 (s), 4,62 (d; 6,6), 5,43 (t; 6,6), 6,52 (d; 2,4), 6,56 (dd; 2,4 e 9,0), 7,31 (dd; 8,4 e 9,0); 7,82 (d; 15,6), 7,97 (d; 15,6), 7,99 (d; 4,8 e 8,4), 8,26 (d; 9,0), 13,45 (s).

RMN de ^{13}C (150 MHz; DMSO- d_6), δ_{C} em ppm (multiplicidade; $J_{\text{C,F}}$ em Hz): 18,5 e 25,8; 65,4; 102,0; 108,4; 114,2; 116,4; 119,5; 121,5; 131,7; 131,9; 133,1; 138,6; 143,3; 164,0; 165,8; 166,2; 192,2.

1.9 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(4-bromofenil)prop-2-en-1-ona
(12)

Sólido amarelo

RMN de ^1H (600 MHz; DMSO- d_6), δ_{H} em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,73 (s) e 1,76 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,44 (t; 6,6), 6,53 (d; 2,4), 6,57 (dd; 2,4 e 9,0), 7,68 (d; 8,4), 7,79 (d; 15,6), 7,88 (d; 8,4), 8,05 (d; 15,6), 8,27 (d; 9,0).

1.10 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(2,4-diclorofenil)prop-2-en-1-ona
(13)

Sólido amarelo

¹H NMR (600 MHz; DMSO-*d*₆), δ_H em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,73 (s) e 1,76 (s), 4,64 (d; 6,6), 5,43 (t; 6,6), 6,53 (d; 2,4), 6,57 (dd; 2,4 e 9,0), 7,57 (d; 8,4), 7,76 (d; 1,8), 8,04 (d; 15,6), 8,10 (d; 15,6), 8,25–8,29 (d), 13,2 (s).

1.11 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(2,6-diclorofenil)prop-2-en-1-ona **(14)**

Sólido verde

RMN de ¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), δ_H em ppm (multiplicidade; *J* em Hz): 1,72 (s) e 1,76 (s), 4,63 (d; 7,2), 5,43 (t; 7,2), 6,54 (d; 2,4), 6,56 (dd; 2,4 e 9,0), 7,44 (dd; 7,8), 7,60 (d; 7,8), 7,77 (d; 15,6), 7,91 (d; 15,6), 7,99 (d; 9,0), 12,89 (s).

RMN de ¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆), δ_C em ppm: 18,5 e 25,9; 65,5; 102,2; 108,7; 114,4; 119,4; 129,6; 130,6; 131,6; 132,5; 133,0; 134,6; 136,9; 138,7; 165,7; 166,0; 191,3.

1.12 (2*E*)-1-(4-(3-metilbut-2-eniloxi)-2-hidroxifenil)-3-(4-(trifluorometil)fenil)prop-2-en-1-ona **(15)**.

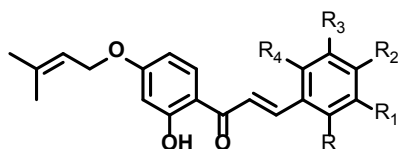
Sólido amarelo

RMN de ¹H (600 MHz; DMSO-*d*₆), δ_H em ppm (multiplicity; *J* em Hz): 1,73 (s) e 1,76 (s), 4,65 (d; 7,2), 5,44 (t; 7,2), 6,54 (d; 2,4), 6,58 (dd; 2,4 e 9,0), 7,83 (d; 8,4), 7,87 (d; 15,6), 8,14 (d; 8,4), 8,15 (d; 15,6), 8,29 (d; 9,0), 13,3 (s).

RMN de ¹³C (150 MHz; DMSO-*d*₆), δ_C em ppm (multiplicity; *J*_{C,F} em Hz): 18,5 e 25,9; 65,5; 102,0; 108,4; 114,2; 119,5; 124,5; 124,6; 126,2; 130,0; 132,6; 133,3; 138,7; 139,0; 142,4; 165,9; 166,2; 192,0.

As chalconas foram avaliadas contra *H. pylori*, sendo a atividade antibacteriana expressa como valores de CIM em µg/mL (Tabela 1). A substância **1** foi ativa contra *H.*

pylori, demonstrando um valor de CIM de 62,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A investigação da atividade antibacteriana dos análogos chalcônicos permitiu a inferência de dados preliminares de relação estrutura-atividade. A comparação dos valores de CIM entre **1** e seu análogo chalcônico com anel B não-substituído (**5**, CIM = 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$) evidenciou que a hidroxila no anel B é fundamental para a bioatividade. A atividade antibacteriana de **6** (CIM de 125 $\mu\text{g mL}^{-1}$), que é um regioisômero de **5**, confirmou a importância da hidroxila no anel B para a bioatividade. Contudo, a mudança da hidroxila da posição 4 para a posição 3 reduziu, modestamente, a atividade antibacteriana, sugerindo que a extensão de um sistema de ligações duplas conjugadas entre os pares de elétrons não-ligantes da hidroxila e a cetona poderia ser importante para a bioatividade. Dessa forma, análogos com grupos eletrodoadores na posição 4 foram avaliados, incluindo a chalcona 4-monometoxilada **7**, 3,4-dimetoxilada **8**, 3,4,5-trimetoxilada **9** e 4-metilchalcona **10**, as quais exibiram valores de CIM $\geq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. A fraca atividade das chalconas com anel B substituído por grupos eletrodoadores **7–10** sugeriu que a extensão do sistema de elétrons π deslocalizados não é um fator crucial para a bioatividade. Por outro lado, o anel fenólico das chalconas antibacterianas **1** e **6** pode estar colaborando com um hidrogênio ácido, principalmente na posição 4, conduzindo a atividade antibacteriana. Cinco chalconas com anel B substituído por eletroaceptores **11–15**, demonstraram valores de CIM $\geq 1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ confirmando que a deslocalização extendida de elétrons π em um sistema conjugado de ligações duplas carbon-carbono não é um fator essencial para a atividade contra *H. pylori*.



Substância	R	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	CIM ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
1	H	H	OH	H	H	62,5
5	H	H	H	H	H	1000
6	H	OH	H	H	H	125
7	H	H	OCH ₃	H	H	1000
8	H	OCH ₃	OCH ₃	H	H	1000
9	H	OCH ₃	OCH ₃	OCH ₃	H	1000
10	H	H	CH ₃	H	H	> 1000
11	H	H	F	H	H	1000
12	H	H	Br	H	H	1000
13	Cl	H	Cl	H	H	> 1000
14	Cl	H	H	H	Cl	> 1000
15	H	H	CF ₃	H	H	1000
tetraciclina	-	-	-	-	-	1,5

Tabela 1. Atividade contra *Helicobacter pylori* de 4-hidroxicordoína (**1**) e seus análogos **5–15** expressa em valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Fonte: autor

O espectro de ação antibacteriano das chalconas bioativas **1** e **6** foi investigado contra outras espécies Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*) e Gram-positivas (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Enterococcus faecalis*) (Tabela 2). A chalcona **1** mostrou-se inativa contra todas as espécies testadas (CIM > 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$). A substância **6** foi ativa contra *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis* (CIM = 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Contudo, a avaliação contra o painel de bactérias indicou que **1** e **6** não possuem espectro de ação antibacteriano amplo, havendo uma maior susceptibilidade de *H. pylori* em comparação a outras espécies. Os valores de CIM de **1** contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* estão de acordo com os dados obtidos por Ávila e colaboradores (ÁVILA et al, 2008), que indicaram uma CIM de 2000 $\mu\text{g mL}^{-1}$, obtida pelo método de microdiluição em caldo.

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
1	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400	> 400
6	> 400	> 400	400	400	400	400
tetraciclina	5,9	1,5	0,7	0,09	> 5,9	1,5

Tabela 2. Atividade antibacteriana de 4-hidroxicordoína (**1**) e seu análogo **6** expressa em valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Fonte: autor

As propriedades *drug-likeness* podem ser caracterizadas como um conjunto de características estruturais e físico-químicas que indicam se uma substância apresenta similaridade com fármacos biodisponíveis por via oral, sugerindo o potencial dessa substância como candidato a fármaco (WALTERS & MURCKO, 2002; TIAN et al., 2015). Inúmeros filtros de *drug-likeness* foram desenvolvidos em companhias farmacêuticas com o intuito de reunir as propriedades têm sendo utilizados para investigar esse Lipinski (Pfizer®) (Lipinski et al., 1997), Veber (GSK®) (Veber et al., 2002), Muegge (Bayer®) (Muegge et al., 2001; Muegge 2003) e Ghose (Amgen®) (Ghose et al., 1999), Egan (Pharmacia®) (Egan et al., 2000). As substâncias **1**, **6** e os fármacos de primeira linha e segunda linha utilizados no tratamento contra *H. pylori* tiveram suas propriedades estruturais e físico-químicas preditas pelo SwissADME®, as quais foram comparadas aos intervalos de permissividade segundo os filtros de Lipinski, Veber, Muegge, Ghose e Egan (LVMGE), indicando o número de violações (Tabela 3). As chalconas **1** e **6** exibiram valores de propriedades estruturais muitos similares e não violaram nenhum dos parâmetros dos filtros LVMGE. A regras de Lipinski incluem os seguintes valores limites para propriedades *drug-likeness*: massa molecular (MM) $\leq 500 \text{ g mol}^{-1}$, logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) ≤ 4.1 , número de aceptores de hidrogênio (NAH) ≤ 10 e número de doadores de hidrogênio (NDH) ≤ 5 . As substâncias **1** e **6** apresentam MM = 324 g mol^{-1} , NAH = 4 e NDH = 2. Os valores de $\log P$ de **1** e **6** foram 3,83 e 3,92, respectivamente. O filtro de Ghose indica como intervalos: $160 \leq \text{MM} \leq 480$, $-0,4 \leq \log P \leq 5,6$, refratividade molar RM ($40 \leq \text{RM} \leq 130$). As substâncias **1** e **6** exibiram valores de MM, $\log P$ e RM = 95,54, estando de acordo com o filtro de Ghose. Veber e colaboradores sugeriram como parâmetros *drug-likeness*, o número de ligações rotacionáveis (NLR) ≤ 10 e área

superficial topológica polar (ASTP) ≤ 140 Å. Muegge e colaboradores indicam, adicionalmente, como parâmetros estruturais *drug-likeness*: número de anéis (NA) ≤ 7 , número de átomos de carbono (NC) > 4 , número de heteroátomos (NH) > 1 . As substâncias **1** e **6** apresentam NA = 2, NX = 20 e NH = 1, estando dentro dos limites de Muegge. A claritromicina e amoxicilina, dois fármacos utilizados na primeira linha de tratamento contra *H. pylori*, violaram 5 e quatro dos filtros LVGME. Dos fármacos utilizados na segunda linha, levofloxacino, tinidazol e furazolidona não violaram nenhum dos filtros LVGME. O metronidazol, tetraciclina e doxiciclina violaram 1, 5, 5 dos filtros LVGME. A solubilidade em água é um importante parâmetro no desenvolvimento de substâncias bioativas que são ensaiadas como candidatas a fármaco (BERGSTRÖM et al., 2007; LARSSON, 2017) (COAN & SHOICHET, 2008; POHJALA & TAMMELA, 2012).

A ferramenta SwissADME® foi utilizada para a obtenção de valores de logaritmo da solubilidade ($\log S$), o qual foi estabelecido pelo método Estimating Aqueous Solubility Directly from Molecular Structure (DELANEY, 2004). Os valores de $\log S$ de **1** e **6** foram de -4,98, classificando-as como moderadamente hidrossolúveis.

	Log P	MM	NAH	NDH	RM	ASTP	NLR	NA	NC	NH	Log S	Lipinski	Ghose	Veber	Muegge	Egan
1	3,83	324,37	4	2	95,54	66,76 Å	6	2	20	1	-4,98	0	0	0	0	0
6	3,92	324,37	4	2	95,54	66,76 Å	6	2	20	1	-4,98	0	0	0	0	0
claritromicina	2,28	747,95	14	4	194,09	182,91 Å	8	2	38	2	-5,94	2	3	1	3	1
amoxicilina	-0,29	365,40	6	4	94,59	158,26 Å	5	3	16	3	-0,70	0	1	1	1	1
levofloxacino	1,15	361,37	6	1	101,23	75,01 Å	2	4	18	3	-1,99	0	0	0	0	0
metronidazol	-0,23	171,15	4	1	43,25	83,87 Å	3	1	6	2	-1,00	0	0	0	1	0
tinidazol	0,07	247,27	5	0	60,66	106,16 Å	5	1	8	3	-1,05	0	0	0	0	0
tetraciclina	-0,34	444,43	9	6	110,79	181,62 Å	2	4	22	2	-2,77	1	1	1	2	1
doxiciclina	-0,28	444,43	9	6	110,79	181,62 Å	2	4	22	2	-2,94	1	1	1	2	1
furazolidona	0,15	225,16	6	0	56,97	100,86 Å	3	2	8	2	-1,24	0	0	0	0	0

MM = massa molar (g mol^{-1}), log P = logaritmo do coeficiente de partição, NAH = número de aceptores de hidrogênio, NDH = número de doadores de hidrogênio; RM = refratividade molar; ASTP = área superficial topológica polar (Å); NLR = número de ligações rotacionáveis; NA = número de anéis; NC = número de carbonos e NH = número de heteroátomos

Tabela 3. Predições *in silico* de propriedades *drug-likeness*.

Fonte: autor

6. CONCLUSÕES

O presente trabalho realizou a síntese de **1**, em quatro etapas e com rendimento global de 37%. O intermediário **2a** da rota sintética para a obtenção de **1** foi empregado na síntese de onze análogos com grupos eletrodoadores e eletroceptores no anel B, com rendimentos globais de 16 a 54%. As investigações de atividade antibacteriana confirmaram a atividade de **1** e **6** contra *H. pylori*, uma bactéria Gram-negativa que é um desafio para a antibioticoterapia. Os estudos *in silico* indicaram que **1** e **6** apresentam propriedades *drug-likeness* adequadas e que não violaram os filtros de Lipinski, Veber, Muegge, Ghose e Egan, bem como exibiram hidrossolubilidade moderada. A atual contribuição corrobora o potencial de produtos naturais, principalmente aqueles de estrutura com características *drug-likeness* e síntese relativamente simples para a descoberta de fármacos antibacterianos.

7. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao suporte financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Processos: 471129/2013-5; 306251/2016-7, 429322/2018-6 e 309957/2019-2), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp, Processos: 2014/18330-0 e 2018/15083-2), Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biodiversidade e Produtos Naturais (INCT- BioNat; Processo CNPq 465337/2014-0 e Fapesp 2014/50926-0). Os autores também gostariam de agradecer ao Centro de Inovação Biomolecular do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (CMIB, Processo Fapesp 2009/53989-4) pela realização dos experimentos de RMN.

REFERÊNCIAS

- ALGOOD, H. M. S.; COVER, T. L. *Helicobacter pylori* persistence: an overview of interactions between *H. pylori* and host immune defenses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 19, p. 597–613, 2006.
- BODET, C. et al. Antibacterial Activities of Oxyprenylated Chalcones and Naphthoquinone against *Helicobacter pylori*. **Natural Products Communications**, v. 9, p. 1299–1301, 2014.
- BERGSTROM, C. A. et al. Poorly soluble marketed drugs display solvation limited solubility. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 5858–5862, 2007.
- CLEMENTINA, M. M. S.; SILVA, A. M. S. The Antioxidant Activity of Prenylflavonoids. **Molecules**, v. 25, p. 696, 2020.
- COAN, K. E. & SHOICHET, B. K. Stoichiometry and physical chemistry of promiscuous aggregate-based inhibitors. **Journal of the American Chemical Society**, v. 130, p. 9606–9612, 2008.
- COELHO, L.G. V. et al. IVth Brazilian Consensus Conference on *Helicobacter pylori* infection. **Archives of Gastroenterology**, v. 55, p. 97–121, 2018.
- CAMARGO, M. C. et al. The Problem of *Helicobacter pylori* Resistance to Antibiotics: A Systematic Review in Latin America. **American Journal of Gastroenterology**, v. 109, p. 485–495, 2014.
- COSME A. et al. Antimicrobial susceptibility-guided therapy versus empirical concomitant therapy for eradication of *Helicobacter pylori* in a region with high rate of clarithromycin resistance. **Helicobacter**, v. 21, p. 29–34, 2015.
- DUNN, B. E; COHEN, H; BLASER, M. J. *Helicobacter pylori*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, , p. 720-734, 1997.

FELDMAN, M. et al. Antibacterial and anti-inflammatory activities of 4-hydroxycordoin: potential therapeutic benefits. **Journal of Natural Products**, v. 74, p. 26–31, 2011.

FIORITO, S. et al. Recent acquisitions on oxyprenylated secondary metabolites as anti-inflammatory agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 153, p. 116–122, 2017.

FUHRMANN, E. et al. Synthesis of Alkyl Aryl Ethers by Catalytic Williamson Ether Synthesis with Weak Alkylation Agents. **Organic Process Research & Development**, v. 9, p. 206–211, 2005.

JAWETZ, MELNICK & ADELBERG. **Microbiologia Médica**, ed. 25, 2012.

KIM, B. T. et al. Synthesis of dihydroxylated chalcone derivatives with diverse substitution patterns and their radical scavenging ability toward DPPH free radicals. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 29, p. 1125–1130, 2008.

KIM, H. J. et al. Synthesis of 4-(2- amino)ethoxy- 3',4'-dihydroxychalcones and their antioxidant and cytotoxic effects on human tumor cells. **Bulletin of the Korean Chemical Society**, v. 36, p. 1335–1339, 2015.

LACASSE et al. Experimental oral candidosis in the mouse: microbiological and histological aspects. **Journal of Pathology & Medicine**, v. 19, p. 136–141, 1990.

LAI, C. et al. Identification of 3',4',5'-trimethoxychalcone analogues as potent inhibitors of *Helicobacter pylori*-induced inflammation in human gastric epithelial cells. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 20, p. 5462–5465, 2010.

LARSSON, P. et al. Molecular structuring and phase transition of lipid-based formulations upon water dispersion: a coarse-grained molecular dynamics simulation approach. **Molecular Pharmaceuticals**, v. 14, p. 4145–4153, 2017.

LOPEZ-MARTINEZ. Candidosis, a new challenge. **Clinics in Dermatology**, v. 28, p. 178–184, 2010.

MARQUES, B. C. et al. Methoxychalcones: Effect of Methoxyl Group on the Antifungal, Antibacterial and Antiproliferative Activities. **Medicinal Chemistry**, v. 16, p. 881–891, 2020.

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

MORÃO, L. G. et al. Investigating the Modes of Action of the Antimicrobial Chalcones BC1 and T9A. **Molecules**, v. 25, p. 4596, 2020.

PANDURANGAN N. A Rapid, Solvent-Free Deprotection of Methoxymethyl (MOM) Ethers by *p*TSA; An Eco-Friendly Approach. **Letters in Organic Chemistry**, v 14, p. 231–235, 2017.

POHJALA, L. & TAMMELA, P. Aggregating behavior of phenolic compounds—a source of false bioassay results? **Molecules**, v. 17, p. 10774–10790, 2012.

SCOTT, D. R. et al. Gene expression in vivo shows that *Helicobacter pylori* colonizes an acidic niche on the gastric surface. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, p. 7235–7240, 2007

SPÓSITO, L. et al. *In vitro* and *in vivo* anti-*Helicobacter pylori* activity of Casearia sylvestris leaf derivatives. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 233, p. 1–12., 2019.

SARKER, S.D., et al. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurin as an indicator of cell growth, and its application in the *in vitro* antibacterial screening of phytochemicals. **Methods**, v. 42, p. 321–324, 2007.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B.R.; CASE, C. L. **Microbiology**, ed. 10, 2012.

APÊNDICE A – Espectros de RMN de ^1H e ^{13}C das chalconas sintetizadas

Figura 1S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **1** (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).

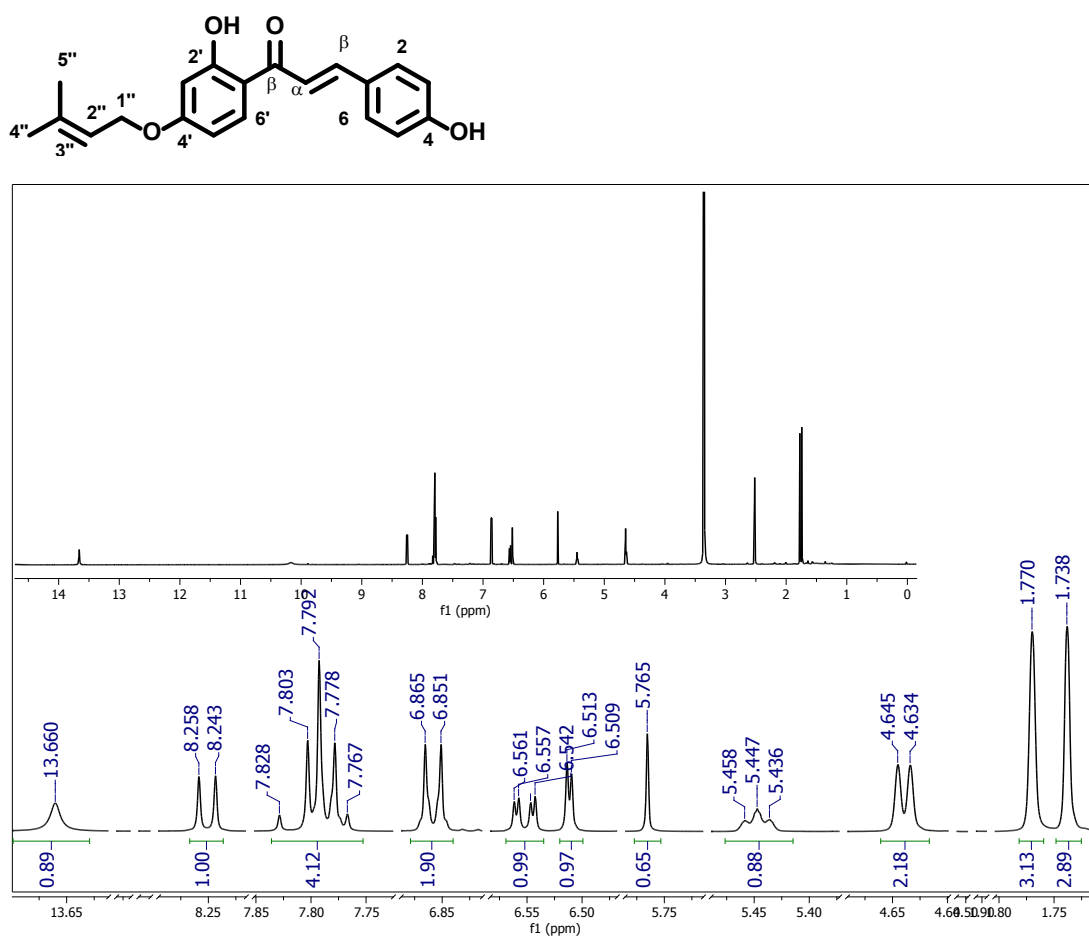


Figura 2S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **1** (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).

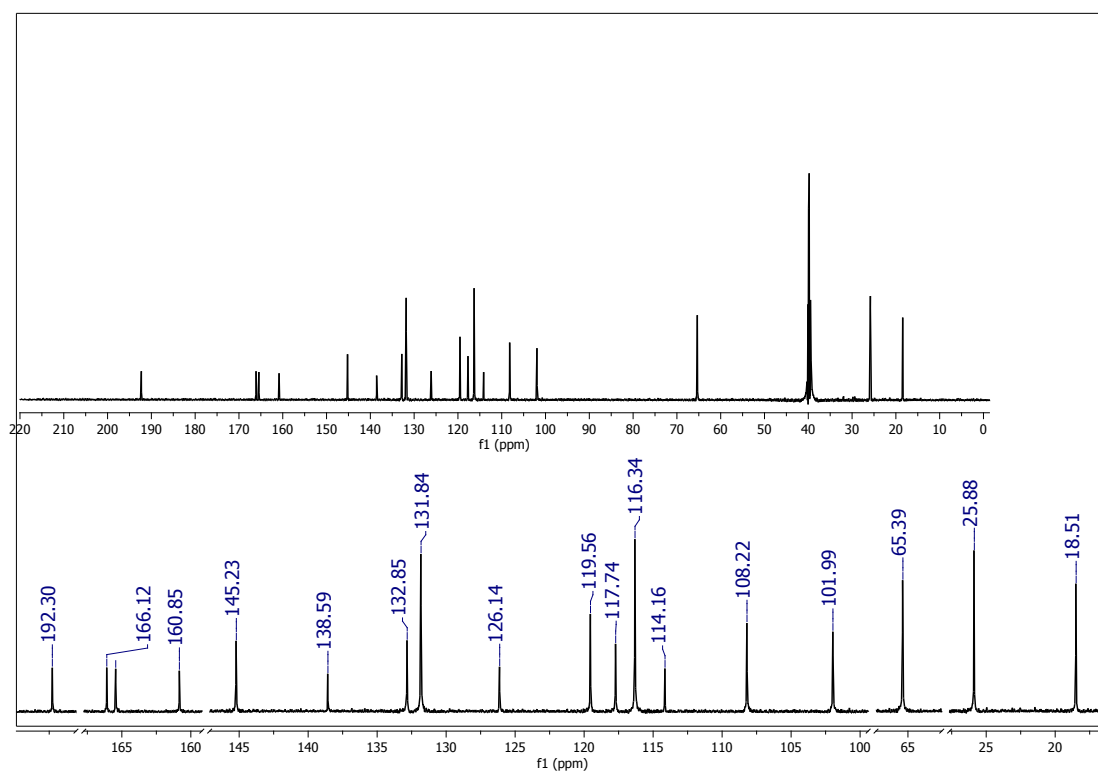


Figura 3S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **5** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

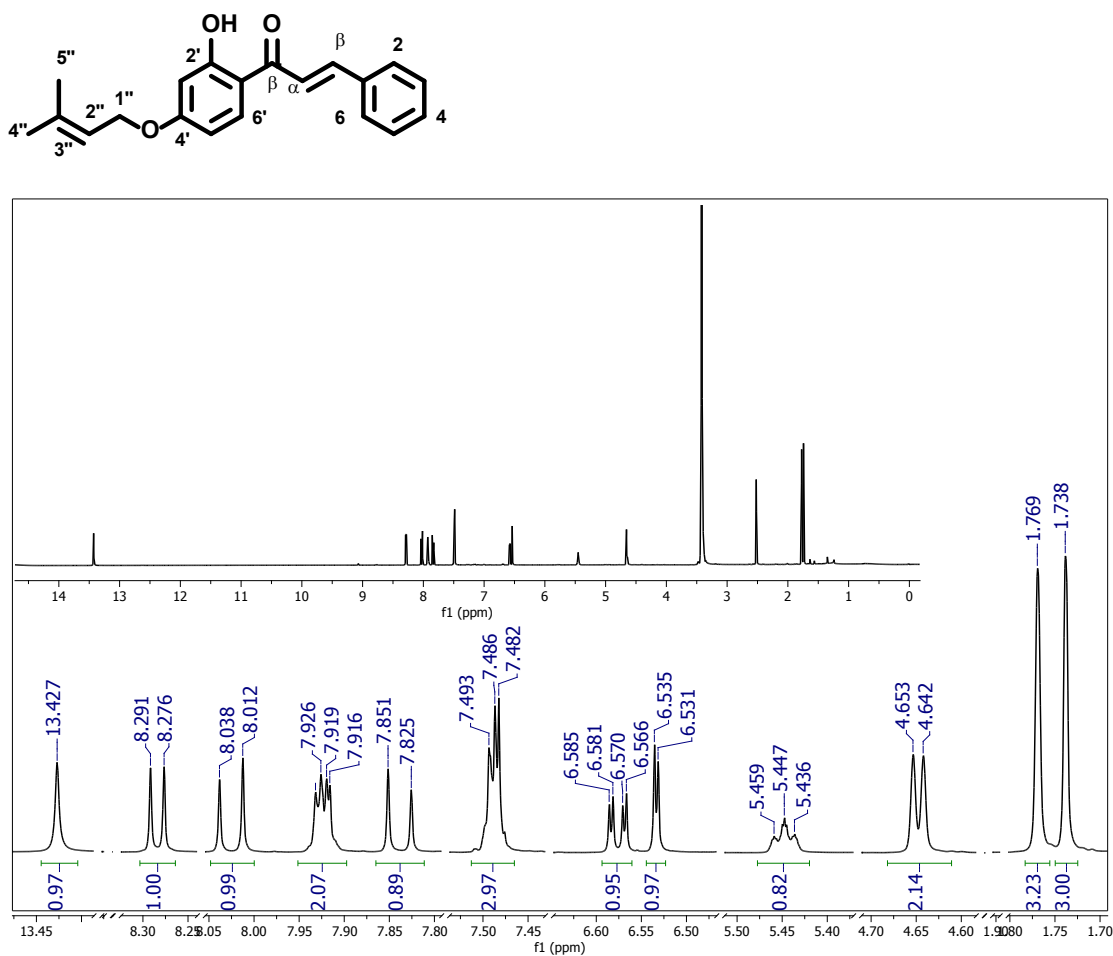


Figura 4S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **5** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

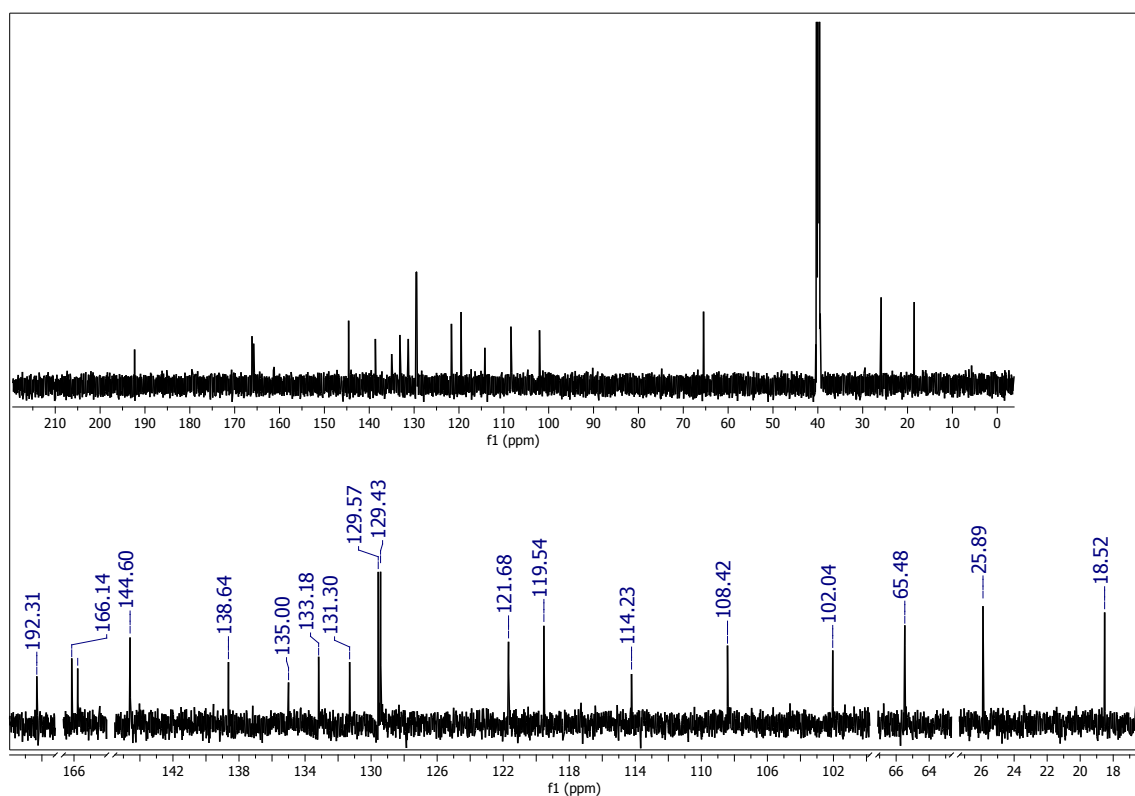


Figura 5S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **6** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

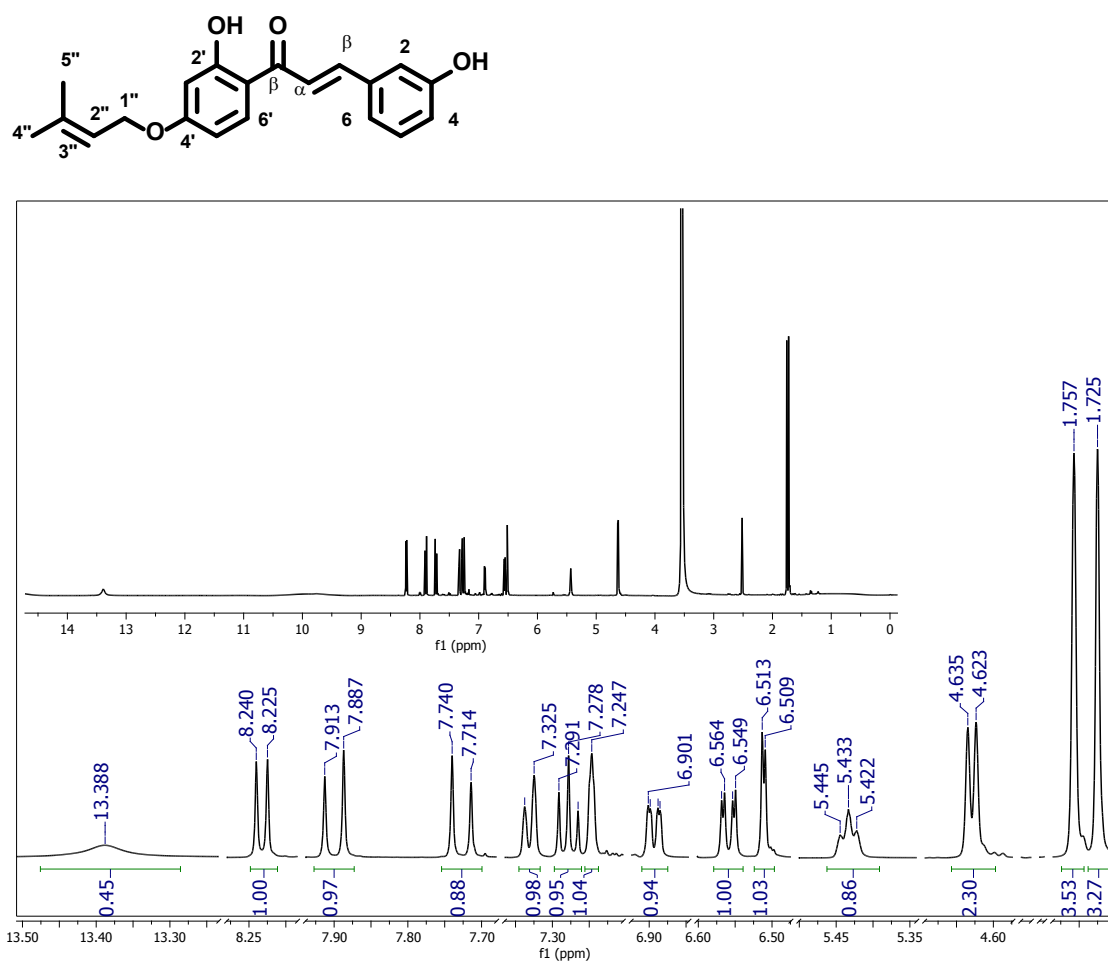


Figura 6S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **6** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

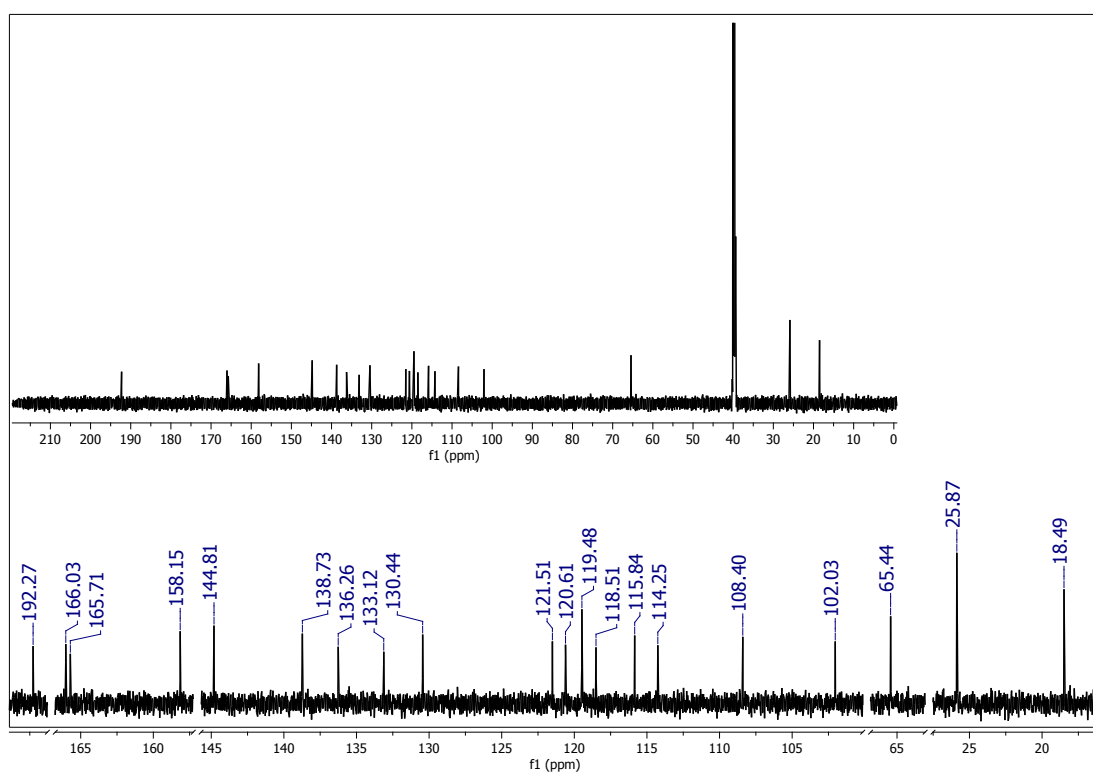


Figura 7S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **7** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

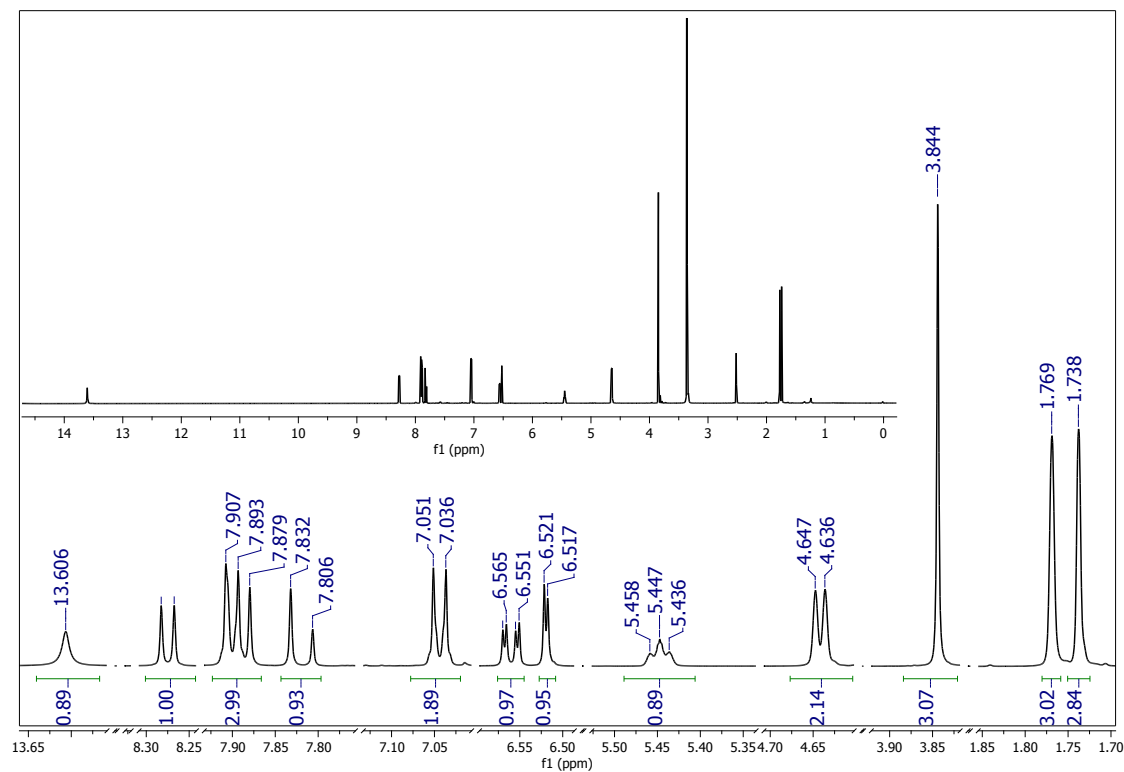
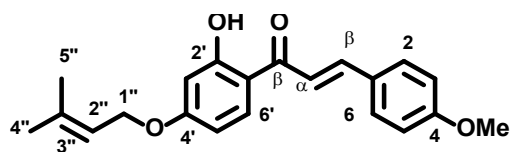


Figura 8S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **7** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

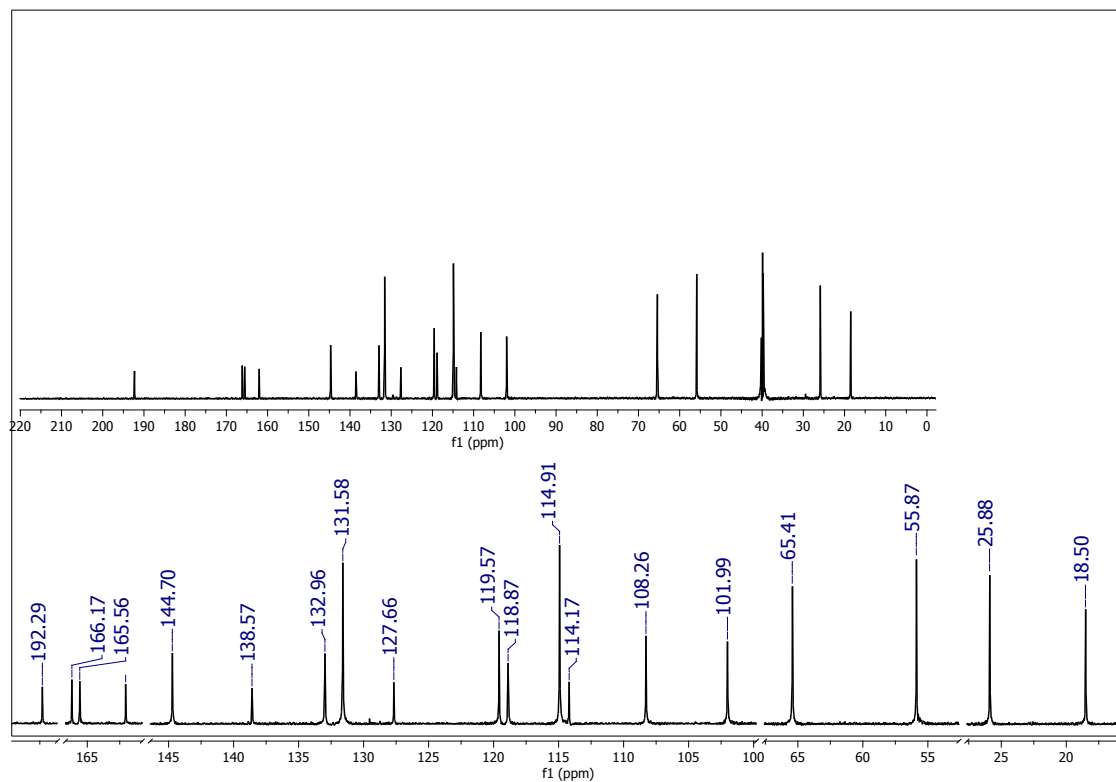


Figura 9S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **8** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

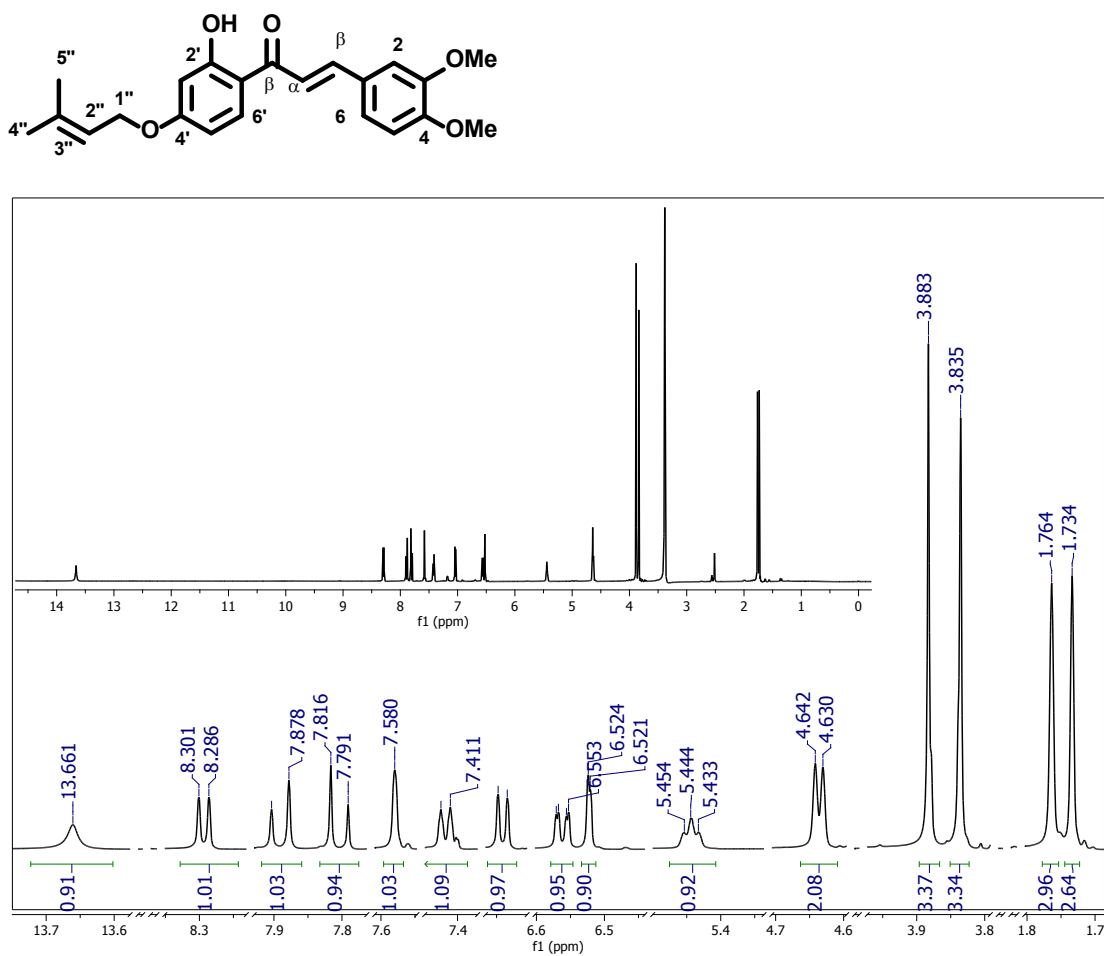


Figura 10S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **8** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

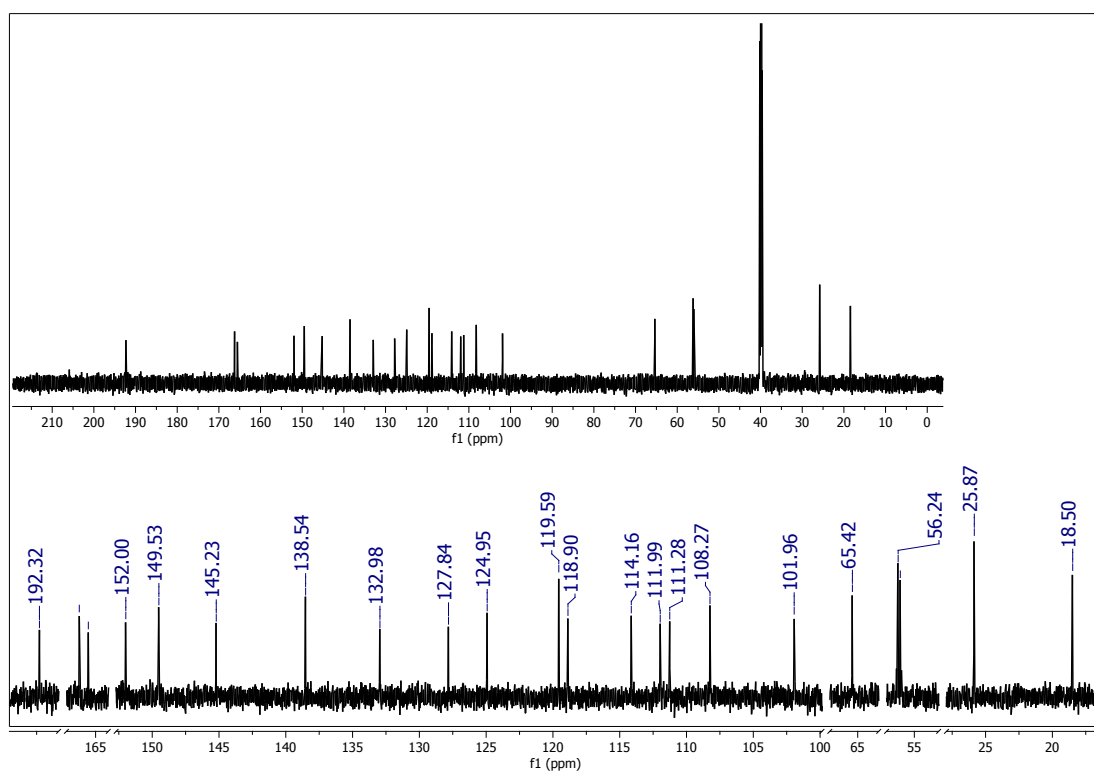


Figura 11S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **9** (600 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).

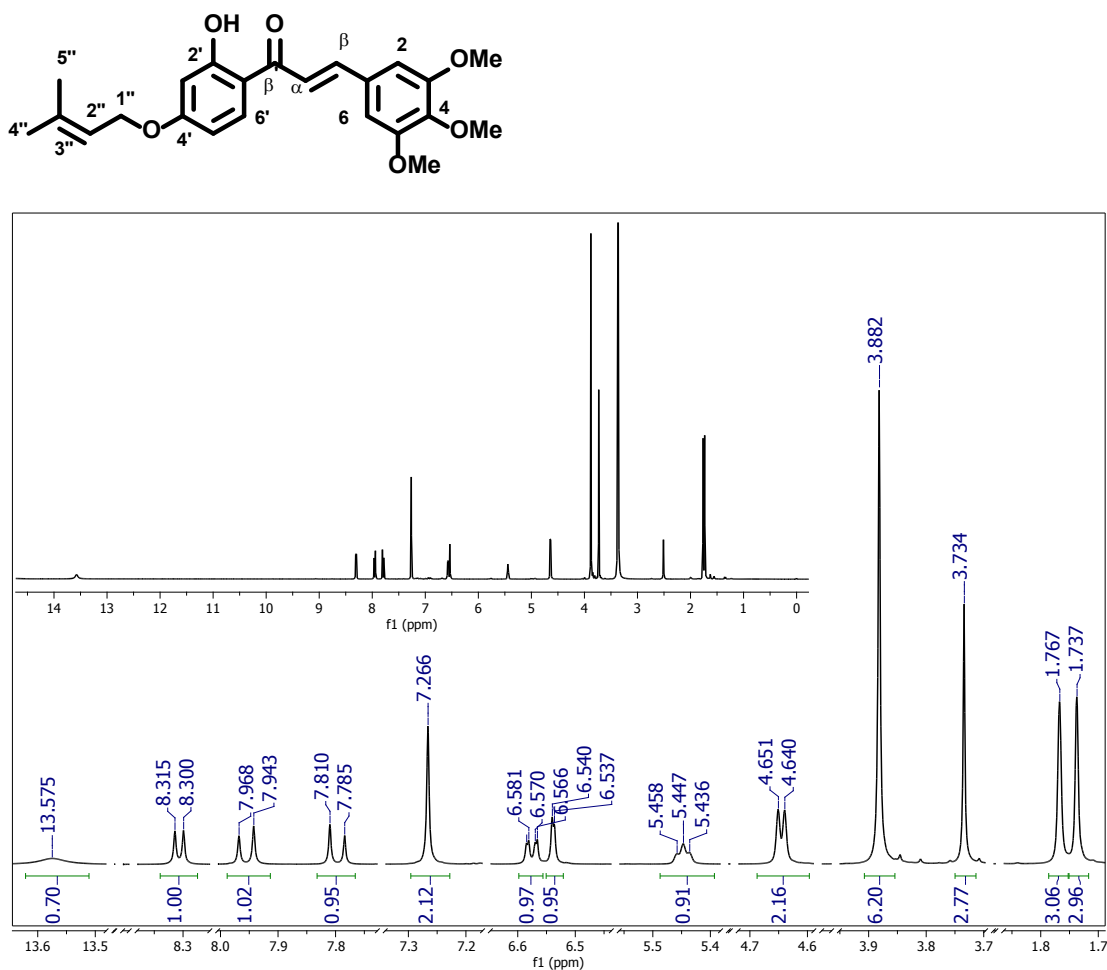


Figura 12S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **9** (150 MHz; $\text{DMSO-}d_6$).

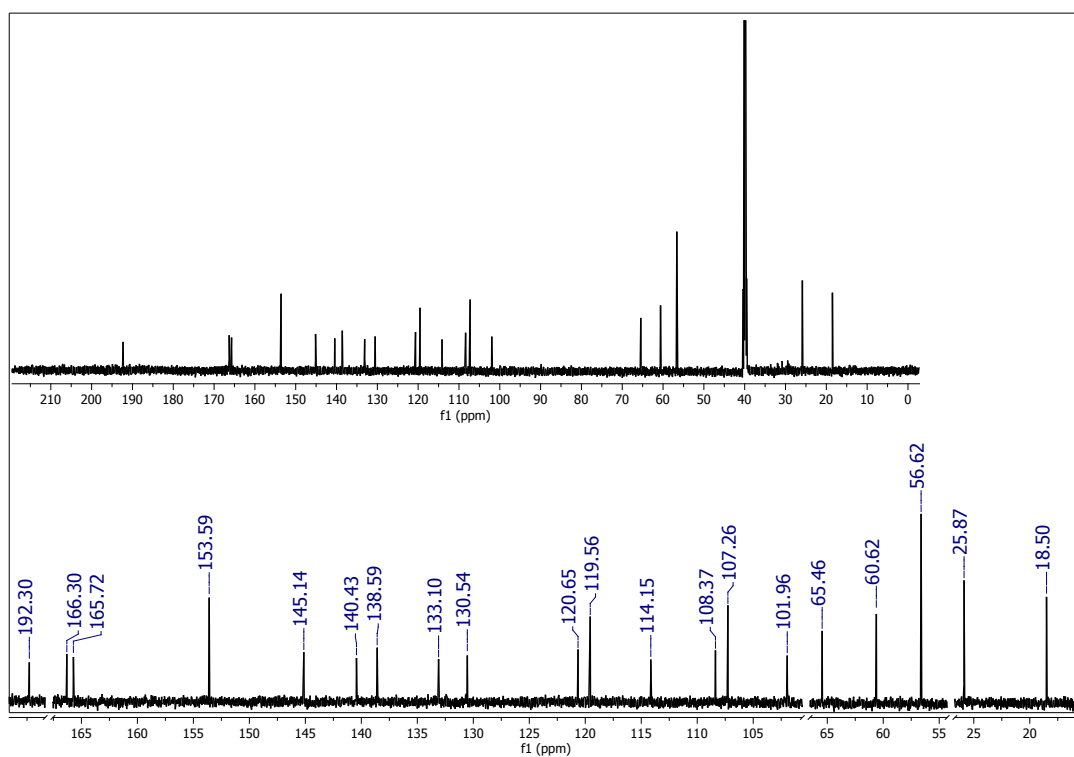


Figura 13S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **10** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

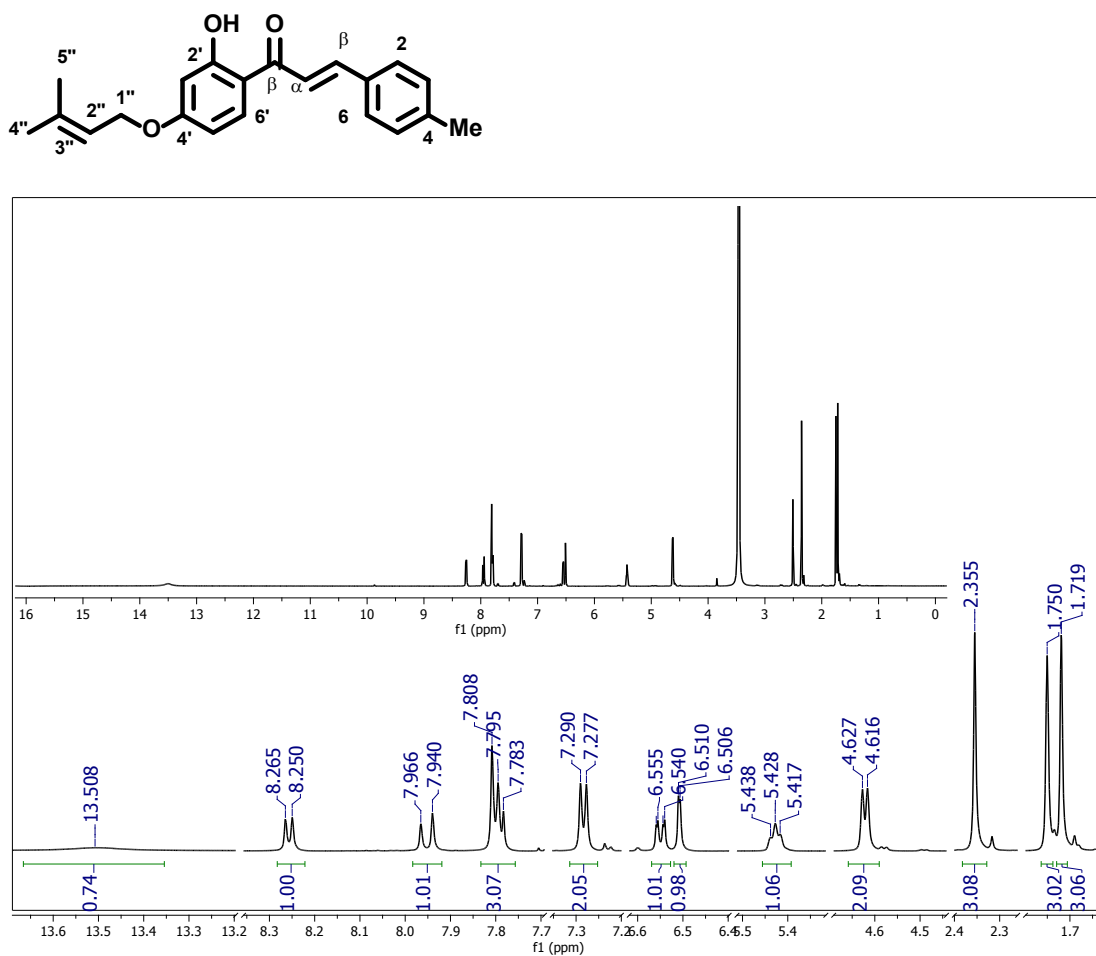


Figura 14S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **10** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

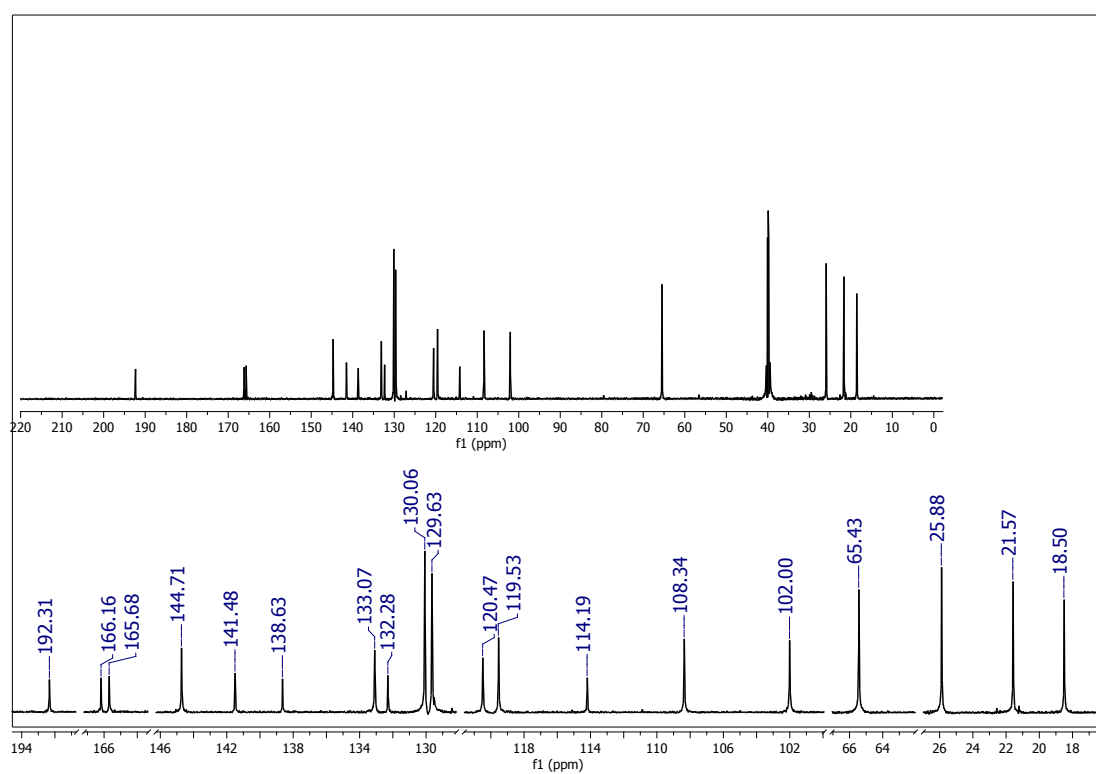


Figura 15S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **11** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

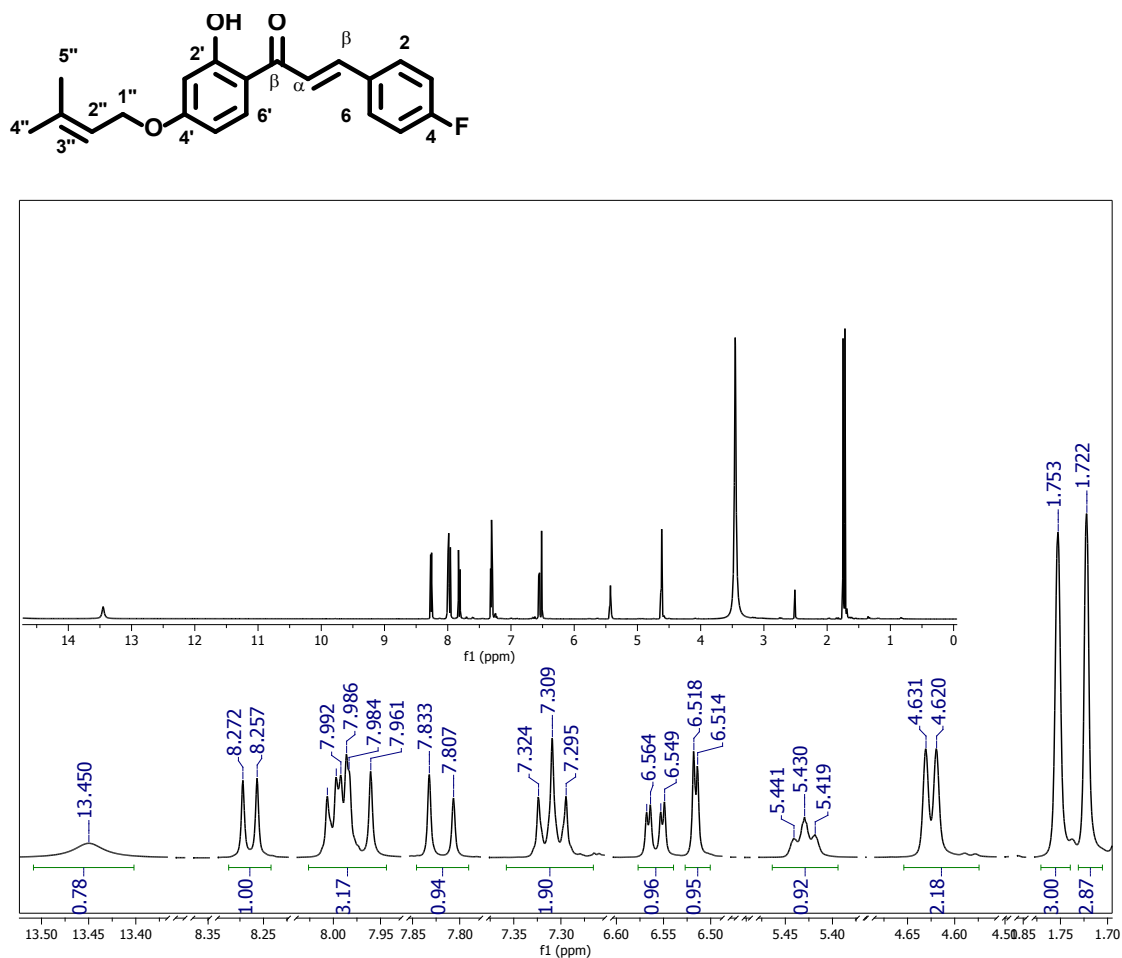


Figura 16S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **11** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

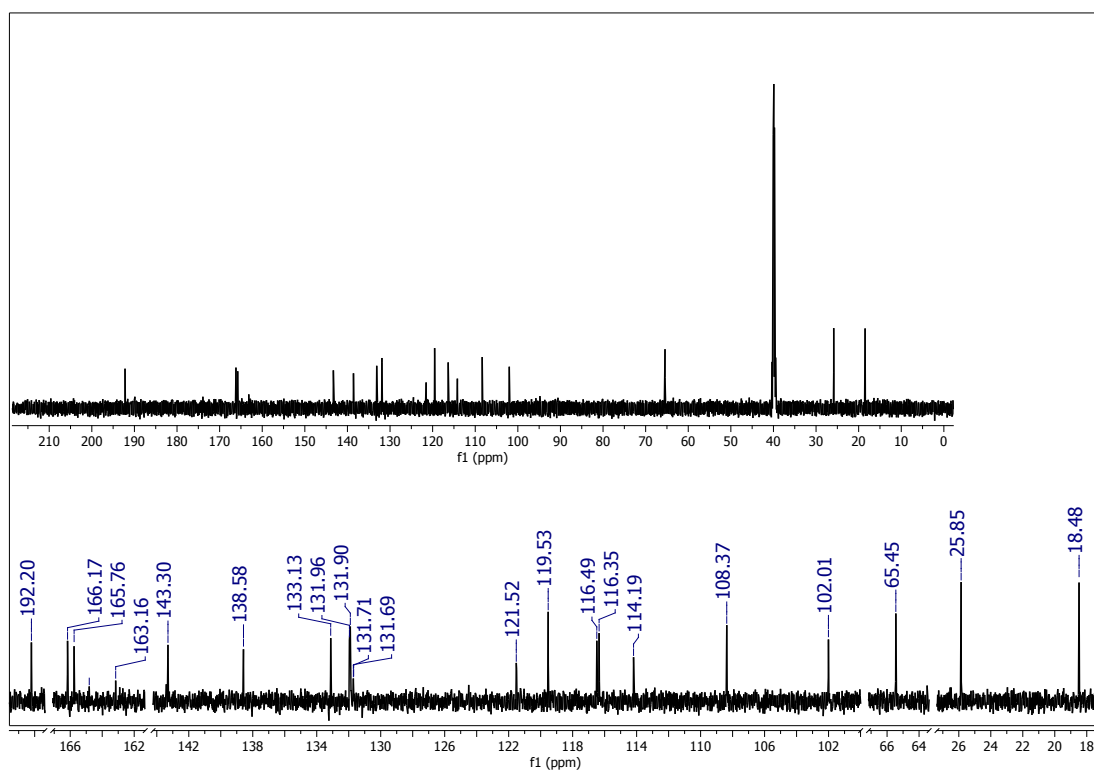


Figura 17S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **12** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

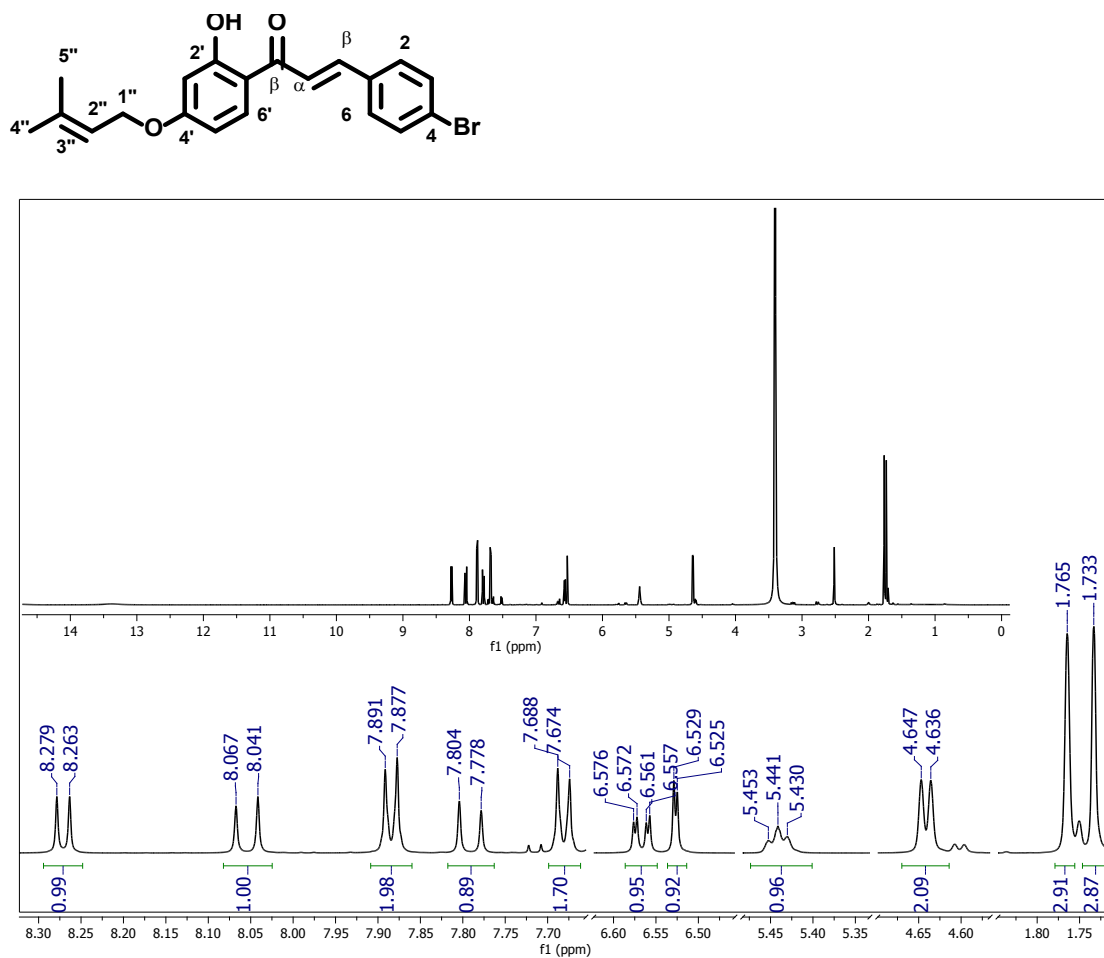


Figura 18S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **13** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

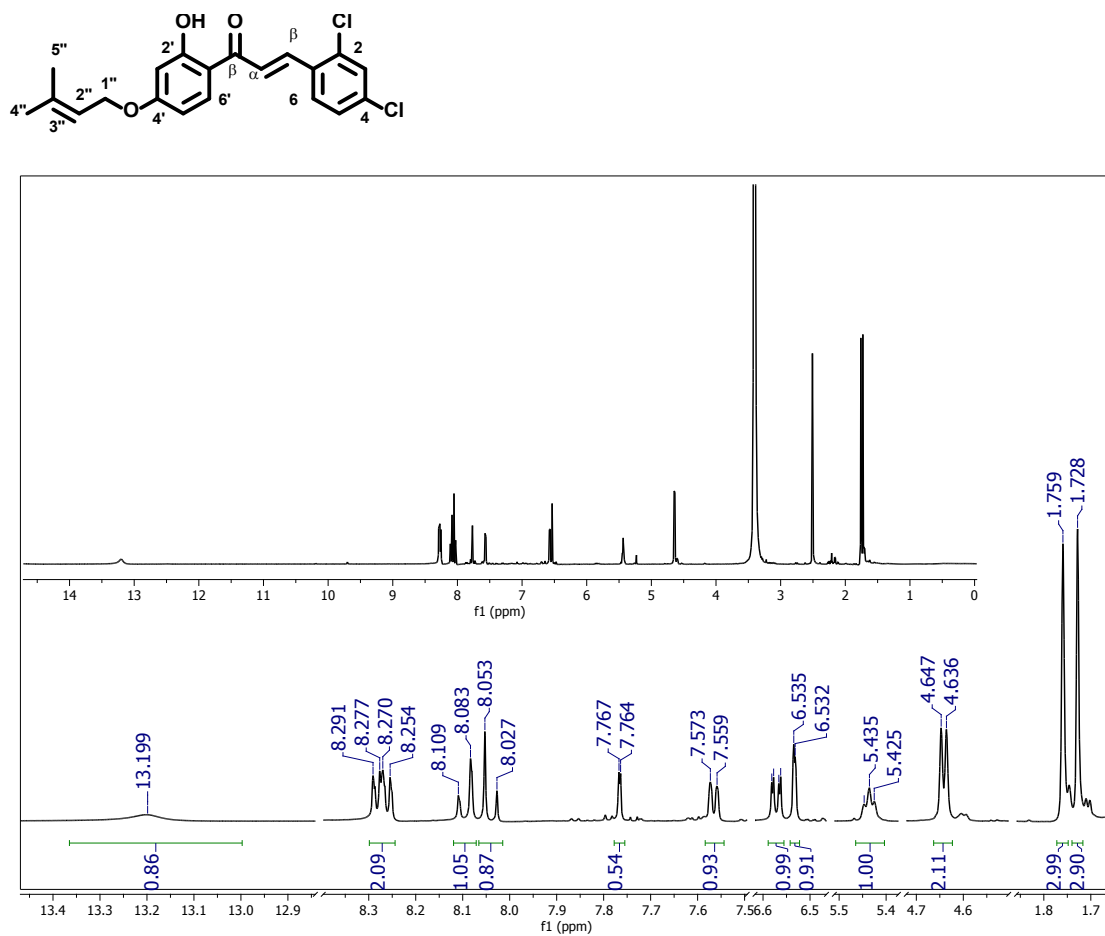


Figura 19S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **14** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

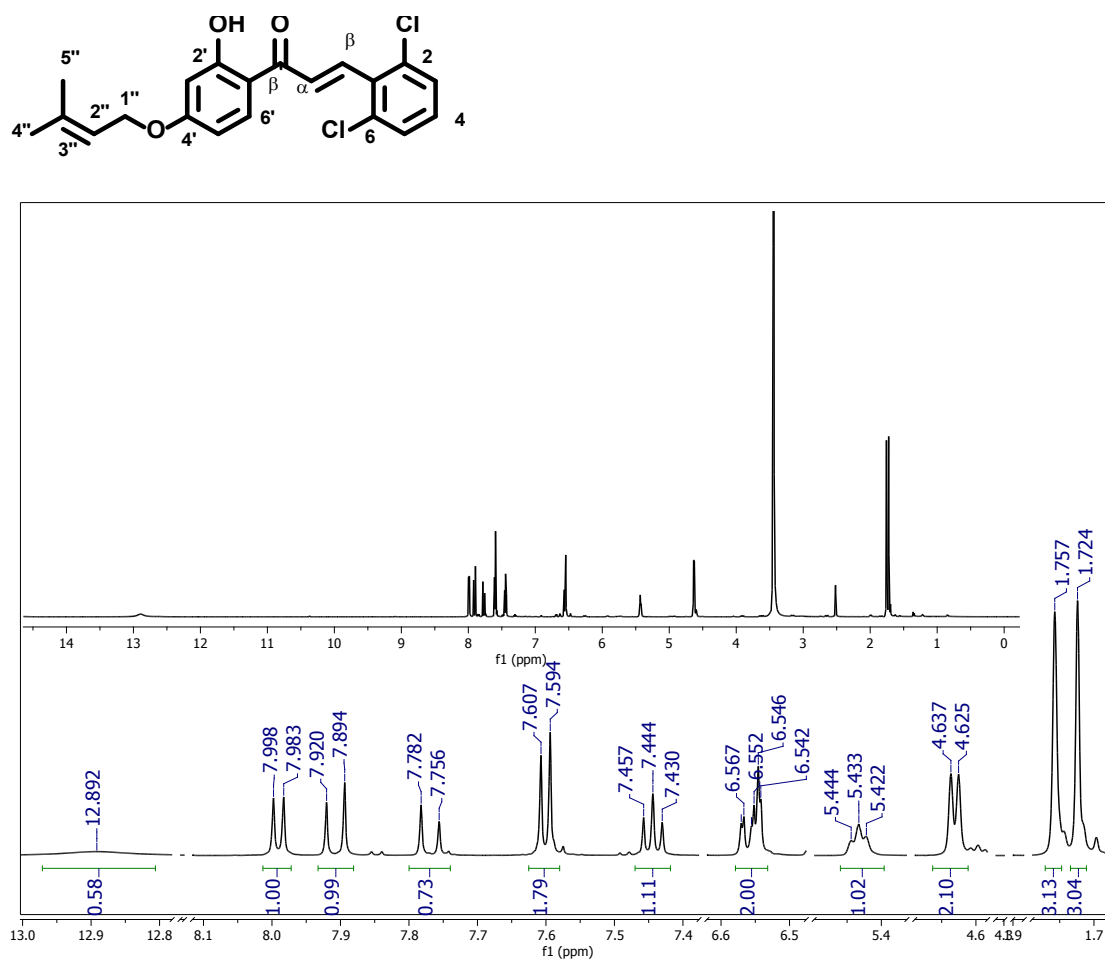


Figura 20S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **14** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$).

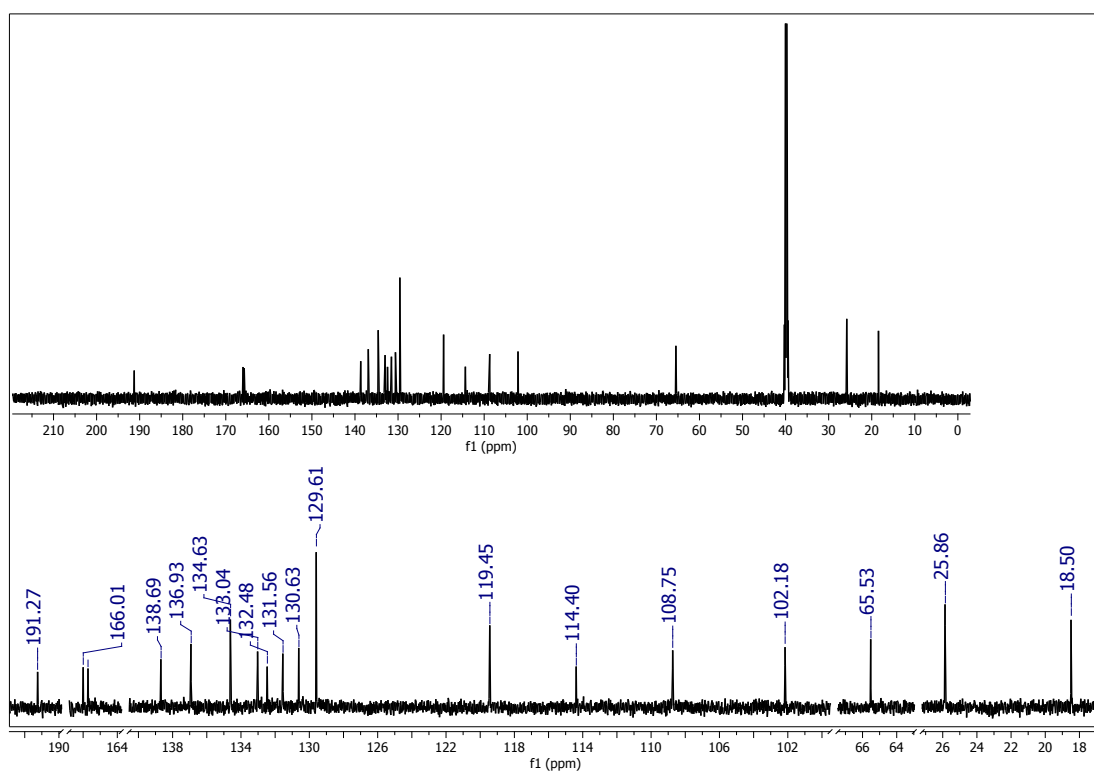


Figura 21S. Espectro de RMN de ^1H da chalcona **15** (600 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

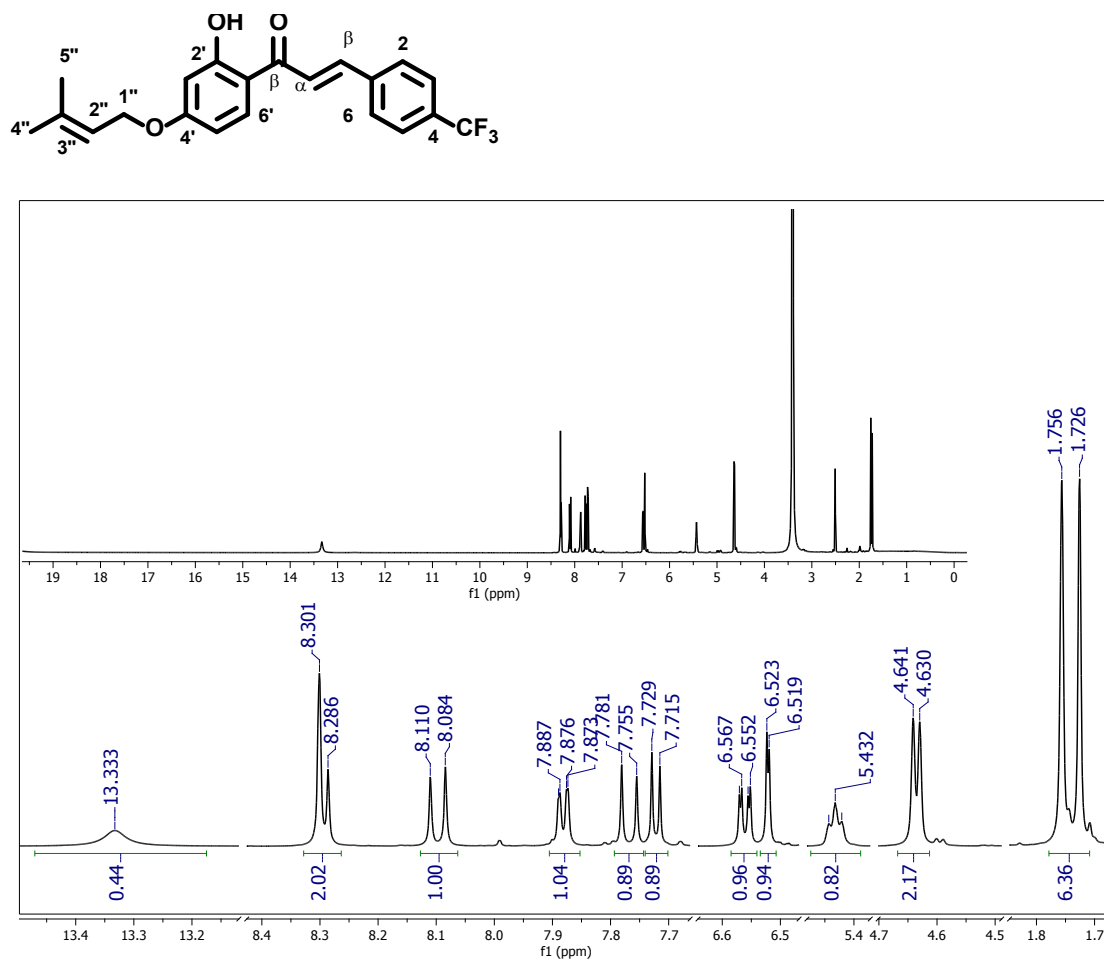


Figura 22S. Espectro de RMN de ^{13}C da chalcona **15** (150 MHz; $\text{DMSO}-d_6$)

