



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

Patrick Rombola Ozanique

**Síntese e avaliação de licochalcona C (LCC) e seus análogos como potenciais agentes
antibacterianos e antimicobacterianos**

São José do Rio Preto

2022

Patrick Rombola Ozanique

Síntese e avaliação de licochalcona C (LCC) e seus análogos como potenciais agentes antibacterianos e antimicobacterianos

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

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

São José do Rio Preto

2022

O99s

Ozanique, Patrick Rombola

Síntese e avaliação de licochalcona C (LCC) e análogos como potenciais agentes antibacterianos e antimicobacterianos / Patrick Rombola Ozanique. -- São José do Rio Preto, 2022

50 p. : il., tabs.

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

Orientador: Luis Octavio Regasini

1. Licochalcona C. 2. Iodação. 3. Acoplamento de Suzuki. 4. Bactérias. 5. Micobactérias. 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.

Patrick Rombola Ozanique

Síntese e avaliação de licochalcona C (LCC) e seus análogos como potenciais agentes antibacterianos e antimicobacterianos

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

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientador

Prof^a. Dr^a. Adriana Karla Cardoso Amorim Reis
UNIFESP – Campus Diadema

Prof. Dr. Gustavo Metzker
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
08 de abril de 2022

Dedico este trabalho à memória de meus avós,
Lourdes de Souza e Dyonisio Ozanique.

AGRADECIMENTOS

Aos meus **pais**, por me estimularem e apoiarem a decisão de ingressar na universidade e pós-graduação, fornecendo todo o apoio necessário para chegar até aqui,

À minha companheira de vida, **Priscila**, com quem compartilhei os momentos mais difíceis da minha formação, e permaneceu ao meu lado a cada passo percorrido,

À minha filha, **Emily**, que sempre me motiva a melhorar pessoalmente e profissionalmente, por me levar a almejar o melhor futuro possível para minha família,

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Luis Octavio Regasini**, por possibilitar a realização do meu projeto no Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos e lutar por minha bolsa,

Ao **Dr. Gustavo Metzker**, à **Dr^a. Adriana Amorim**, à **Dr^a. Lilian Bernardes**, à **Dr^a Silvania Lanfredi**, ao **Dr. Nailton do Nascimento** e à **Dr^a. Vera Aparecida**, por todo apoio e disponibilidade para contribuir com o presente trabalho,

A todos meus **amigos e família**, pela força que me foi dada dia após dia para continuar minha formação, desde o ensino fundamental, até a pós-graduação. Especialmente ao **Alvaro Helena** e ao **Thomas Brito**, que não me deixaram desistir frente aos problemas na universidade,

Ao **IBILCE** e toda a **UNESP**, pela minha graduação e pós-graduação, onde tive contato com professores e funcionários excepcionais,

Ao **Prof. Dr. Carlos Henrique Gomes Martins**, da Universidade Federal de Uberlândia, Laboratório de Ensaio Antimicrobianos – LEA, pelos ensaios antimicrobianos contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e Micobactérias,

Ao Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP/São José do Rio Preto, especialmente ao **Dr. Fábio Moraes**, pela realização dos experimentos de Ressonância Magnética Nuclear. A **Me. Dani Oliveira Lisboa** e ao Laboratório de Bioenergia (BioEn), pelas análises de HPLC,

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (**CAPES**) – Número do processo: 88887.612533/2021-00, pelo financiamento do projeto, mais especificamente o Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – Biodiversidade e Produtos Naturais (**INCT – BIONAT**), e agradeço à **FAPESP**, pelo financiamento do Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ).

RESUMO

O recrudescimento de bactérias e micobactérias fármaco-resistentes representam desafios à descoberta de novos agentes antibacterianos. Dessa forma, esforços são prementes para descobrir e desenvolver fármacos com padrões estruturais e mecanísticos inovadores. O presente trabalho teve como objetivo a síntese e avaliação de licochalcona C (LCC), uma chalcona C-prenilada com atividade antimicobacteriana inexplorada e atividade antibacteriana descrita como promissora. Também, serão sintetizadas duas séries de análogos chalcônicos de LCC, sendo as séries I e II com análogos modificados nos anéis A e B, respectivamente. A estratégia sintética incluiu reações de iodação e acoplamento de Suzuki, as quais permitiram regiosseletividade da C-prenilação na posição 3. A atividade antibacteriana e antimicobacteriana de LCC foi avaliada contra espécies Gram-positivas, Gram-negativas e micobactérias, exibindo valores de Concentração Inibitória Mínima de: *Staphylococcus aureus* MSSA (185 μ M), *Staphylococcus aureus* MSRA (185 μ M), *Staphylococcus epidermidis* (18 μ M), *Enterococcus faecalis* (148 μ M), *Staphylococcus pneumoniae* (148 μ M), *Streptococcus sanguinis* (18 μ M), *Streptococcus sobrinus* (37 μ M), *Streptococcus mutans* (37 μ M), *Helicobacter pylori* (74 μ M), *Pseudomonas aeruginosa* (> 1.000 μ M), *Klebsiella pneumoniae* (> 1.000 μ M), *Escherichia coli* (> 1.000 μ M), *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (92 μ M), *Mycobacterium kansasii* (369 μ M) e *Mycobacterium avium* (185 μ M).

Palavras-chave: Licochalcona C. Iodação. Acoplamento de Suzuki. Bactérias. Micobactérias.

ABSTRACT

The resurgence of drug-resistant bacteria and mycobacteria pose challenges to the discovery of new antibacterial agents. Thus, efforts are urgent to discover and develop drugs with innovative structural and mechanistic patterns. The present work aimed at the synthesis and evaluation of licochalcone C (LCC), a C-prenylated chalcone with unexplored antimycobacterial activity and antibacterial activity described as promising. Also, two series of chalconic analogues of LCC will be synthesized, with modified analogues in rings A and B. The synthetic strategy included iodination and Suzuki coupling reactions, which allowed regioselectivity of C-prenylation at position 3. The antibacterial and antimycobacterial activity of LCC was evaluated against Gram-positive, Gram-negative and mycobacterial species, exhibiting Minimal Inhibitory Concentration values of: *Staphylococcus aureus* MSSA (185 μ M), *Staphylococcus aureus* MSRA (185 μ M), *Staphylococcus epidermidis* (18 μ M), *Enterococcus faecalis* (148 μ M), *Staphylococcus pneumoniae* (148 μ M), *Streptococcus sanguinis* (18 μ M), *Streptococcus sobrinus* (37 μ M), *Streptococcus mutans* (37 μ M), *Helicobacter pylori* (74 μ M), *Pseudomonas aeruginosa* (> 1,000 μ M), *Klebsiella pneumoniae* (> 1,000 μ M), *Escherichia coli* (> 1000 μ M), *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (92 μ M), *Mycobacterium kansasii* (369 μ M) and *Mycobacterium avium* (185 μ M).

Keywords: Licochalcone C. Iodination. Suzuki coupling. Bacteria. Mycobacteria.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura da pretomanida, eravaciclina e delafloxacino	12
Figura 2 - Estrutura Geral do Núcleo Chalcônico	13
Figura 3 - Estrutura de retrochalconas	14
Figura 4 - Estruturas de LCA, LCB, LCD e LCF	14
Figura 5 - Estrutura da licochalcona C (LCC)	15
Figura 6 - Espectro de RMN de ¹ H de LCC	40
Figura 7 - Espectro de RMN de ¹ H de LCC – Ampliado de 6,7 a 8,1 ppm	41
Figura 8 - Espectro de RMN de ¹ H de LCC – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm	41
Figura 9 - Espectro de RMN de ¹ H de 11	42
Figura 10 - Espectro de RMN de ¹ H de 11 – Ampliado de 6,5 a 8,2 ppm	42
Figura 11 - Espectro de RMN de ¹ H de 11 – Ampliado de 1,7 a 5,5 ppm	43
Figura 12 - Espectro de RMN de ¹ H de 14	41
Figura 13 - Espectro de RMN de ¹ H de 14 – Ampliado de 6,6 a 8,2 ppm	44
Figura 14 - Espectro de RMN de ¹ H de 14 – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm	44
Figura 15 - Espectro de RMN de ¹ H de 15	45
Figura 16 - Espectro de RMN de ¹ H de 15 – Ampliado de 6,6 a 8,1 ppm	45
Figura 17 - Espectro de RMN de ¹ H de 15 – Ampliado de 1,7 a 5,5 ppm	46
Figura 18 - Espectro de RMN de ¹ H de 16	46
Figura 19 - Espectro de RMN de ¹ H de 16 – Ampliado de 6,6 a 8,3 ppm	47
Figura 20 - Espectro de RMN de ¹ H de 16 – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm	47
Figura 21 - Espectro de RMN de ¹ H de 17	48
Figura 22 - Espectro de RMN de ¹ H de 17 – Ampliado de 6,7 a 8,1 ppm	48
Figura 23 - Espectro de RMN de ¹ H de 17 – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm	49
Figura 24 - Espectro de RMN de ¹ H de 21	49
Esquema 1 - Planejamento Molecular dos Análogos Chalcônicos de LCC	17
Esquema 2 - Planejamento Molecular dos Análogos da Série I	18
Esquema 3 - Planejamento Molecular dos Análogos da Série II	18
Esquema 4 - Rota Sintética para LCC Descrita por Wang	19
Esquema 5 - Estratégia sintética 1 para a obtenção de LCC	20
Esquema 6 - Estratégia sintética 2 para obtenção de LCC	21

Esquema 7 - Rota sintética aplicada para obtenção de LCC	21
Esquema 8 - Rota sintética aplicada para obtenção de 21	22
Esquema 9 - Mecanismo da reação de proteção	24
Esquema 10 - Mecanismo parcial proposto para a reação de iodação	25
Esquema 11 - Mecanismo da reação de condensação de Claisen-Schmidt	25
Esquema 12 - Mecanismo proposto para a reação de metilação	26
Esquema 13 - Mecanismo da reação de Acoplamento de Suzuki	27
Esquema 14 - Mecanismo da reação de desproteção	27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimento obtido por etapa na síntese de LCC	24
Tabela 2 - Progresso na síntese e avaliação dos compostos propostos	28
Tabela 3 - Resultados dos ensaios biológicos realizados com LCC e ECH	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LCC	Licochalcona C
LCH	Licochalcona H
ECH	Equinatina
OMS	Organização Mundial da Saúde
TB	Tuberculose
CIM	Concentração inibitória mínima
MSSA	Staphylococcus aureus suscetível à meticilina
MRS	Staphylococcus aureus resistente à meticilina
ATCC	American Type Culture Collection
CCD	Cromatografia em camada delgada
PdCl₂(dppf)	<i>1,1'</i> -Bis(diphenylphosphino)ferrocene] dichloropalladium(II)
EtOH	Etanol
MeOH	Metanol
AcOEt	Acetato de etila
Hex	Hexano
THF	Tetraidrofurano

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	Infecções bacterianas e micobacterianas	12
1.2	Chalconas	13
1.2.1	Licochalcona C (LCC)	14
2	OBJETIVO	17
3	METODOLOGIA	17
3.1	Planejamento Molecular dos Análogos Chalcônicos de LCC	17
3.2	Modificações no anel A	17
3.3	Modificações no anel B	18
3.4	Estratégias Sintéticas para Obtenção de LCC	18
3.4.1	Estratégia Sintética 1	19
3.4.2	Estratégia Sintética 2	20
3.4.3	Estratégia Sintética 3 – Rota Sintética	21
3.5	Ensaio biológico	22
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1	Problemas da primeira estratégia sintética	22
4.2	Problemas da segunda estratégia sintética	23
4.3	Estratégia sintética 3 – rota utilizada	23
4.4	Ensaio biológico	29
5	CONCLUSÃO	30
6	PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS	31
6.1	Síntese dos compostos	31
6.2	Ensaio biológico	35
6.2.1	Ensaio antibacteriano	35
6.2.2	Ensaio antimicobacteriano	36
6.2.3	Ensaio contra <i>Helicobacter pylori</i>	37

INTRODUÇÃO

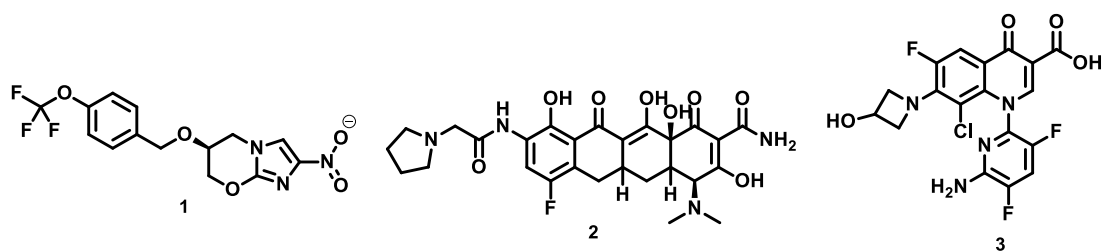
1.1. Infecções bacterianas e micobacterianas

A tuberculose (TB) foi durante muitos anos a doença infecciosa responsável pelo maior número de mortes no mundo, sendo superada em 2020 pelas infecções causadas pelo Covid-19. Até 2019, TB foi considerada como uma das 10 principais causas de óbitos no planeta. TB saiu desse ranking, ocupando agora a 13ª posição. Porém, esses dados não refletem diminuição na mortalidade ou transmissão da doença, nem um avanço no combate à tuberculose. Junto a atual pandemia de Covid-19, houve um aumento na negligência em relação à tuberculose, com diminuição de aproximadamente 25% dos testes diagnósticos para TB, o que levou, pela primeira vez em décadas, a um aumento no número de óbitos causados pela infecção, sendo em 2020 novamente pontuada no relatório anual da Organização Mundial da Saúde (OMS) como prioridade global para pesquisa e desenvolvimento (WHO, 2021)

Junto a tuberculose, são citadas como críticas as infecções causadas por vários patógenos conhecidos, como *Helicobacter pylori*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus pneumoniae*, bactérias responsáveis por um amplo espectro de infecções, desde a mais simples erupção cutânea, até quadros letais de sepse. Porém, o que mais preocupa a Organização Mundial da Saúde, é surgimento constante de novas cepas resistentes aos fármacos convencionais, estimando que aproximadamente 700.000 pessoas morrem todos os anos por infecções causadas por tais bactérias (WHO, 2020).

Desde 2017, 11 novos tipos de antibióticos, incluindo a pretomanida **1**, utilizada no tratamento de tuberculose, foram aprovados, sendo a maioria derivada de classes já conhecidas e utilizadas, como quinolonas **2** e tetraciclinas **3**. A busca por novas alternativas de tratamento é incessante, principalmente visando a utilização de diferentes classes químicas, na tentativa de diversificar os mecanismos de ação aplicados nos microrganismos, capazes de superar seu processo evolutivo de defesa (WHO, 2020).

Figura 1. Estrutura da pretomanida (**1**), eravaciclina (**2**) e delafloxacino (**3**).



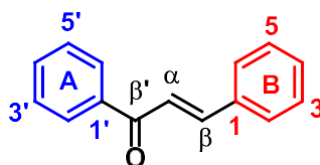
Fonte: Elaborado pelo autor.

Os produtos naturais vêm se mostrando como grandes aliados à Química Medicinal na busca de tratamentos alternativos para as formas resistentes de bactérias e micobactérias. Seus derivados apresentam-se como potenciais agentes terapêuticos contra patógenos humanos (DAI, 2020), com amplo espectro de atividades biológicas. Por esse motivo, o Laboratório de Antibióticos e Quimioterápicos (LAQ) do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP / São José do Rio Preto explora compostos naturais e sua atividade biológica, buscando a otimização estrutural de potenciais fármacos inéditos, planejando e desenvolvendo análogos derivados de produtos naturais, muitas vezes mais eficientes que os protótipos estudados.

1.2. Chalconas

Chalconas são produtos naturais presentes em inúmeras plantas, e constituem uma das maiores subclasses de flavonoides, sendo precursores centrais de tais polifenóis (DI CARLO, 1999). Estruturalmente são formadas por duas unidades fenílicas (anéis A e B), separadas por uma cetona α,β -insaturada (**Figura 2**) (Dewick, 2009). As chalconas são consideradas compostos privilegiados pela Química Medicinal, por apresentarem amplo espectro de bioatividade e possuírem estruturas que permitem sínteses simples e versáteis (ZHUANG, 2017).

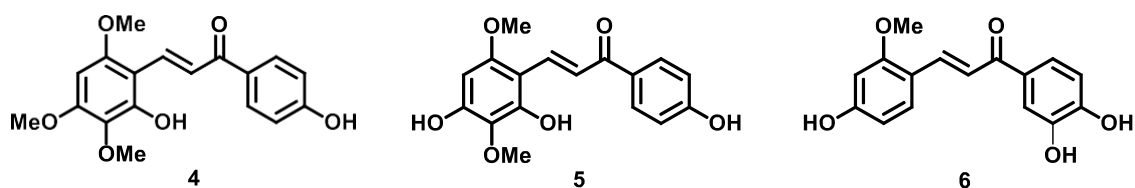
Figura 2. Estrutura geral do núcleo chalcônico.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Dentre elas, destaca-se a subclasse das retrochalconas (**4-6**), polifenóis que não apresentam o grupo OH nas posições orto do anel A, mas possuem um grupo metoxila no C2, e hidroxilas nas posições C4 e C'4, diferente das demais chalconas (MITTAL, 2021).

Figura 3. Estrutura de retrochalconas.

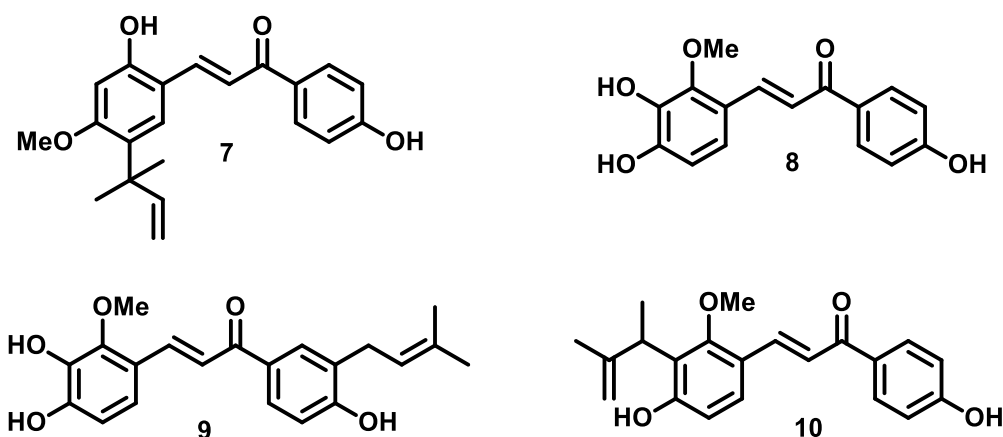


Fonte: Elaborado pelo autor.

1.2.1. Licochalcona C

Extratos das raízes e rizomas de plantas do gênero *Glycyrrhiza*, mais especificamente *G. glabra*, *G. echinata*, *G. inflata* e *G. Uralensis* (MITTAL, 2021), são utilizados na medicina tradicional chinesa há séculos, principalmente por sua ação anti-inflamatória, antitussígena, antibiótica e de desintoxicação. Atualmente, as raízes e rizomas são utilizados pela indústria alimentícia como adoçantes e saborizantes, e vêm ganhando visibilidade dentro da indústria farmacêutica, devido seu amplo espectro de benefícios. Com o estudo da composição desses produtos naturais, buscando entender a fonte de tais propriedades farmacológicas, foi possível isolar e identificar um grupo de retrochalconas presentes nos extratos, as licochalconas (7-10), incluindo a licochalcona C (LCC).

Figura 4. Estruturas de licochalcona A (7), licochalcona B (8), licochalcona D (9) e licochalcona F (10).

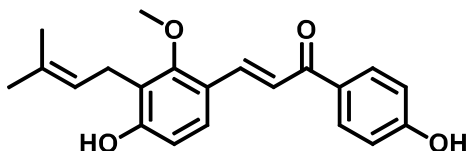


Fonte: Elaborado pelo autor.

LCC possui estrutura relativamente simples, pela ausência de centros estereogênicos, com alta versatilidade para a construção de uma biblioteca de análogos com ampla quimiodiversidade. Sua estrutura chalcônica conta com uma hidroxila na

posição para do anel A, e possui um anel B orto-metoxilado, meta-C-prenilado e para-hidroxiado, caracterizando-a como uma retrochalcona.

Figura 5. Estrutura da licochalcona C (**LCC**).



Fonte: Elaborado pelo autor.

LCC apresenta um amplo espectro de atividades biológicas já registrados, variando de atividade antimicrobiana, antitumoral, anti-inflamatória e antioxidante, à diversas inibições enzimáticas. Discute-se a possibilidade da isoprenila no anel B de LCC possuir contribuição farmacofórica por aumentar sua capacidade de permeação na membrana plasmática, possibilitando sua atuação em inúmeros processos bioquímicos (HARAGUCHI, 1998).

LCC teve sua atividade antimicrobiana explorada contra bactérias, fungos e protozoários. Destacou-se por sua ação contra bactérias Gram-positivas, incluindo *Bacillus subtilis* e *Micrococcus luteus* (HARAGUCHI, 1998) com valores de concentração inibitória mínima (CIM₉₀) de 36,9 µM, e ação contra *Staphylococcus aureus* sensível a metilicina (MSSA) e resistente à metilicina (MRSA) com valores de CIM₉₀ de 11,8 µM (WU, 2019). Haraguchi e colaboradores descreveram o mecanismo de ação antibacteriana de LCC, a qual foi capaz de inibir a cadeia de transporte de elétrons, atuando entre a coenzima Q e citocromo c. Contudo, LCC não apresentou atividade contra espécies Gram-negativas (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*). Haraguchi também realizou testes sobre a atividade antifúngica de LCC, indicando valores de CIM₉₀ 147,8 µM e 295,5 µM contra *Saccharomyces cerevisiae* e *Mucor pusillus*, respectivamente (HARAGUCHI, 1998). A atividade antiparasítica de LCC foi testada por Nielsen, indicando que a inibição do crescimento de *Leishmania major* foi inibida em 93% na presença de 295,5 µM de LCC (NIELSEN, 1995).

LCC teve sua ação citotóxica avaliada contra células de câncer na boca, esôfago, bexiga, pulmão e mama. Em concentrações de 132,9 µM, LCC foi capaz de inibir 68%, 47% e 40% da proliferação de células provenientes de câncer na bexiga, mamas e pulmão, respectivamente (WANG, 2015). Quando testada em carcinoma de células escamosas orais e do esôfago, notou-se que LCC provocou inibição da proliferação e apoptose das

células por diversos mecanismos biológicos, incluindo, possivelmente, a supressão da via *JAK2/STAT3* (OH, 2018), indução a liberação do citocromo *c* e diminuição do potencial da membrana mitocondrial (KWAK, 2020).

LCC é visada como um potencial protetor cardiovascular, devido seus benefícios contra isquemia miocárdica, trombose e outras condições danosas ao coração. Zhou evidenciou que **LCC** auxilia na recuperação da função cardíaca, suas funções antioxidantes e anti-inflamatórias, protegendo o sistema cardíaco contra isquemia e danos no miocárdio (ZHOU, 2015). Tal ação anti-inflamatória pode ser resultado da repressão do complexo κB (*NF- κB*), e da óxido nítrico sintase induzível, descritas por Franceschelli (FRANCESCHELLI, 2017). Além de prevenir danos diretos ao coração, **LCC** apresentou-se como um potencial agente terapêutico contra trombose, pois é um inibidor moderado da trombina humana ($IC_{50} = 26,64 \text{ mM}$) (SHI & CHEN, 2020).

Além de atuar como protetor cardiovascular, **LCC** já foi reportada como um potencial protetor gastrointestinal. Song identificou que **LCC**, quando associada ao irinotecano (medicamento comumente administrado no tratamento de câncer colorretal, que causa efeitos adversos principalmente ao estômago e intestino), pode diminuir sua toxicidade, inibindo a carboxilesterase 2 (*CES2*), enzima responsável por hidrolisar o medicamento e formar um metabólito citotóxico, o SN-38, que pode induzir a diarreia severa e dores abdominais. Os resultados demonstram que **LCC** pode inibir a *CES2* em células com IC_{50} de $0,39 \text{ }\mu\text{M}$, evidenciando sua capacidade de atuar no tratamento dos efeitos colaterais causados por metabólitos de fármacos que são metabolizados por *CES2* (SONG, 2020).

Com um espectro de bioatividade tão amplo, a toxicidade de **LCC** pode ser questionada, e, até então, há poucos dados referentes a testes de possíveis danos ao sistema biológico humano. Há relatos de ensaios de citotoxicidade realizados em células HT-1080, resultando em valores de IC_{50} de $72,8 \text{ }\mu\text{M}$ (YOON, 2005). Porém, é possível encontrar resultados da biotransformação de **LCC** por fungos, simulando sua farmacocinética. Utilizando o fungo *Absidia coerulea*, realizou-se a biotransformação de **LCC** em um composto sulfatado na posição 4 do anel B (HAN, 2021), enquanto obteve-se um composto glicosilado na mesma posição ao expor **LCC** ao fungo *Mucor hiemalis* (XIAO, 2020). Tais processos podem ser associados ao mecanismo da fase 2 do metabolismo de mamíferos, indicando uma suscetibilidade de **LCC** a formar os metabólitos possíveis nas vias metabólicas dos humanos. Além disso, os produtos obtidos

pela biotransformação de **LCC** por microrganismos podem ser utilizados como padrões em testes futuros, visando identificar seus metabólitos em testes biológicos.

2. OBJETIVOS

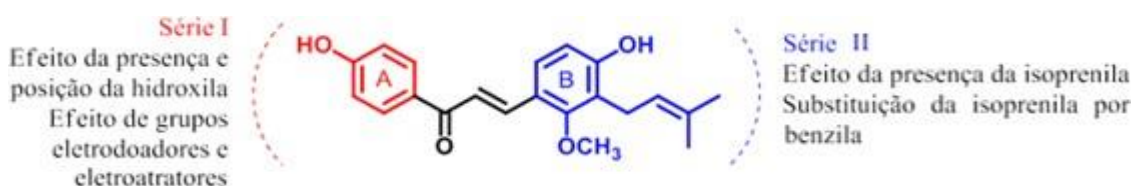
O presente estudo tem como objetivo geral a síntese de **LCC** e duas séries de análogos chalcônicos com modificações nos anéis A e B, e sua avaliação contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e micobactérias.

3. METODOLOGIA

3.1. Planejamento Molecular dos Análogos Chalcônicos de LCC (Séries I e II)

Foram planejadas duas séries de análogos chalcônicos de **LCC** (**Esquema 1**), sendo as séries I e II com modificações no anel A e B, respectivamente.

Esquema 1. Planejamento Molecular dos Análogos Chalcônicos de **LCC** das Séries I e II.

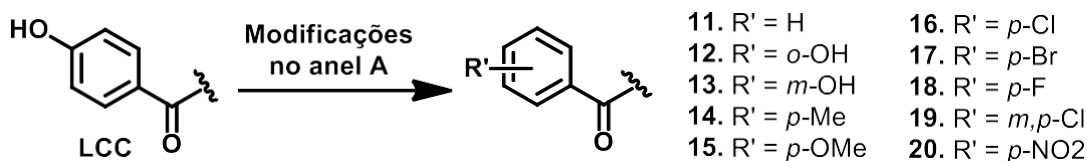


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.2. Modificações no Anel A (Série I)

A série I será constituída por **LCC** e dez análogos chalcônicos com anel B 2-metoxilado-3-isoprenilado-4-hidroxilado e modificações no anel A (**Esquema 2**). Inicialmente, foram planejados análogos com anel B fenílico não-substituído (**11**) e com hidroxila em orto (**12**) e meta (**13**), visando identificar a influência da presença e posição da hidroxila no anel A sobre a bioatividade. Serão avaliados outros grupos eletrodoadores para-posicionados com maior hidrofobicidade [metila (**14**) e metoxila (**15**)]. Posteriormente serão selecionados análogos substituídos por átomos/grupos eletroatratores, incluindo halogênios (**16-19**) e nitro (**20**).

Esquema 2. Planejamento Molecular dos Análogos da Série I.

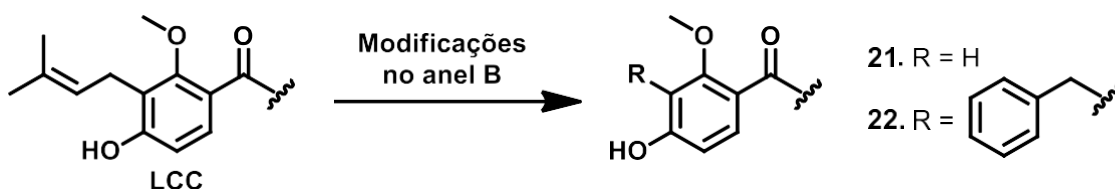


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3. Modificações no Anel B (Série II)

A série II será constituída por dois análogos chalcônicos de **LCC** com anel A p-hidroxilado e modificações no anel B (**Esquema 3**). Inicialmente foi planejado o análogo não-prenilado de ocorrência natural, denominado de equinatina (**ECH**, **21**). A comparação de **LCC** e **21** permitirá evidenciar a importância da presença da isoprenila para a bioatividade. O outro análogo contará com a substituição da isoprenila por benzila (elétrons π deslocalizados) em **22**, irá corroborar a obtenção de um análogo possivelmente mais estável que **LCC**.

Esquema 3. Planejamento Molecular dos Análogos da Série II.



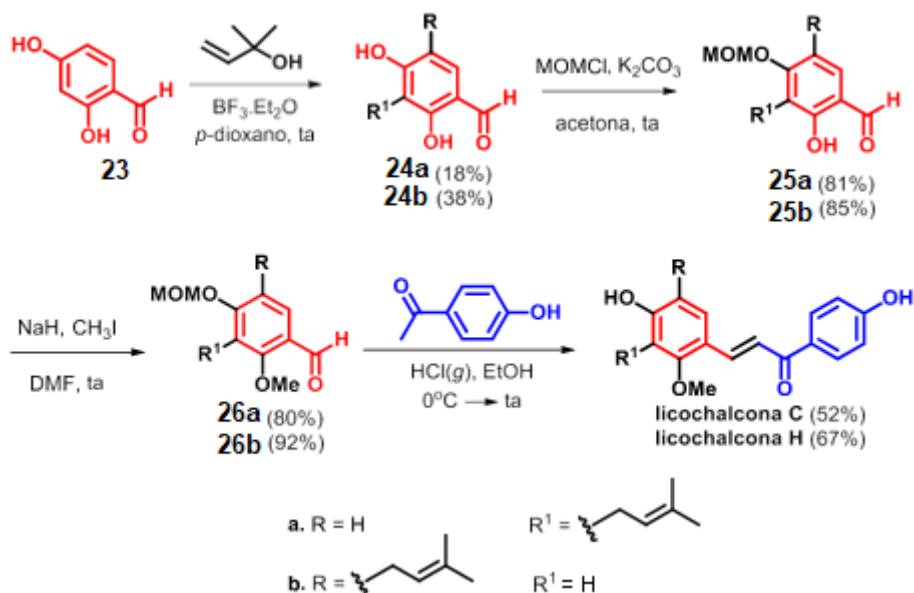
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4. Estratégias Sintéticas para Obtenção de LCC

A síntese de **LCC** foi descrita por Wang e colaboradores (WANG, 2013), que obtiveram também licochalcona H (**LCH**), um regioisômero isoprenilado na posição 5 (anel B), com rendimento global de apenas 6 % para **LCC** e 20 % para seu regioisômero. Apesar da rota sintética ser concisa a quatro etapas, a ausência de regioseletividade na primeira etapa foi a grande responsável pelos rendimentos globais baixos (**Esquema 4**). A primeira etapa envolveu a reação de C-prenilação da 2,4-di-hidroxibenzaldeído (material de partida, **23**). Os derivados benzaldeídicos isoprenilados na posição 3' (**24a**) e 5' (**24b**) foram submetidos à reação de proteção, com cloreto de metoximetila (MOMCl), conduzindo à obtenção dos derivados benzaldeídicos **25a** e **25b**, respectivamente. A terceira etapa foi constituída pela metilação da hidroxila na posição

2', culminando nos aldeídos **26a** e **26b**. A última etapa envolveu a condensação aldólica de **26a** e **26b** com 4'-hidroxiacetofenona, na presença de cloreto de hidrogênio, fornecendo as **licochalconas C** e **H**, respectivamente.

Esquema 4. Rota Sintética para **LCC** Descrita por Wang e co-autores (WANG, 2013).



Fonte: Elaborado pelo autor.

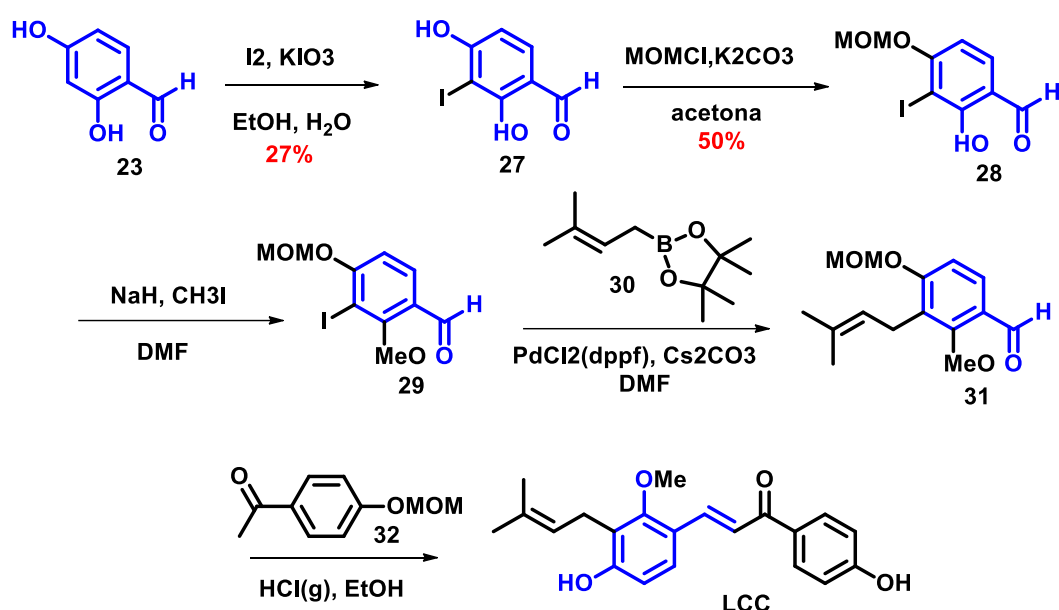
Para transpor o desafio da regioseletividade, foi inicialmente proposta uma rota sintética para **LCC** em cinco etapas, utilizando reações de iodação e acoplamento de Suzuki (**Esquema 5**). Porém, ao avaliar os rendimentos de formação dos intermediários, surgiu a necessidade de buscar alternativas para aumentar ainda mais a regioseletividade da iodação na posição desejada. Na tentativa de otimizar a síntese de **LCC**, foram desenvolvidas três estratégias sintéticas, onde duas (3.4.1. e 3.4.2.) foram descartadas após testes experimentais, chegando à terceira (3.4.3.), que foi adotada como a rota para obter o **LCC** e análogos.

3.4.1. Estratégia sintética 1

Utilizou-se **23** como material de partida, o qual foi submetido a uma reação de iodação regioseletiva com iodo molecular e iodato de potássio. Wang e colaboradores conseguiram esse controle de regioseletividade na reação entre 2',4'-di-hidroxiacetofenona (estrutura similar a **23**) e I₂ e KIO₃, com rendimento de 98% (WANG, 2013; 2015). O derivado benzaldeídico iodado **27** foi submetido a reação de proteção com o grupo metoximetila (MOM), fornecendo o intermediário **28**. A terceira etapa envolveu

a reação de metilação da hidroxila na posição 2, utilizando iodeto de metila e hidreto de sódio, formando o intermediário **29**. A quarta etapa incluiu a reação de acoplamento de Suzuki (ISHIYAMA; MIYAURA, 1995) com o éster pinacólico de ácido borônico-isoprenílico **30** e PdCl₂(dppf), culminando no benzaldeído isoprenilado **31**. A última etapa envolveu a reação de condensação aldólica de **31** com 4'-hidroxiacetofenona **32** presença de cloreto de hidrogênio, obtendo LCC como produto.

Esquema 5. Estratégia sintética 1 para a obtenção de LCC.

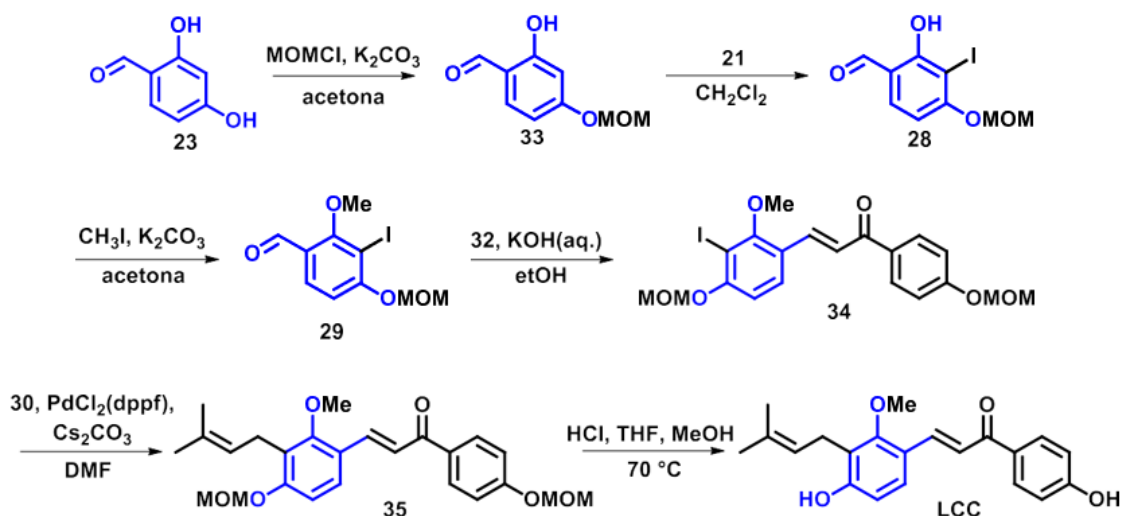


Fonte: Elaborado pelo autor.

3.4.2. Estratégia sintética 2

Utilizou-se *N*-iodosuccinamida (NIS) como agente iodante buscando regiosseletividade, devido a interação eletrostática dos oxigênios presentes em sua estrutura com o hidrogênio dos grupos OH (RACYS, 2015). Na tentativa de aumentar ainda mais a regiosseletividade da reação para a posição 3, realizou-se previamente a reação de proteção da *p*-hidroxila, deixando apenas a *o*-hidroxila disponível.

Esquema 6. Estratégia sintética 2 para obtenção de LCC.



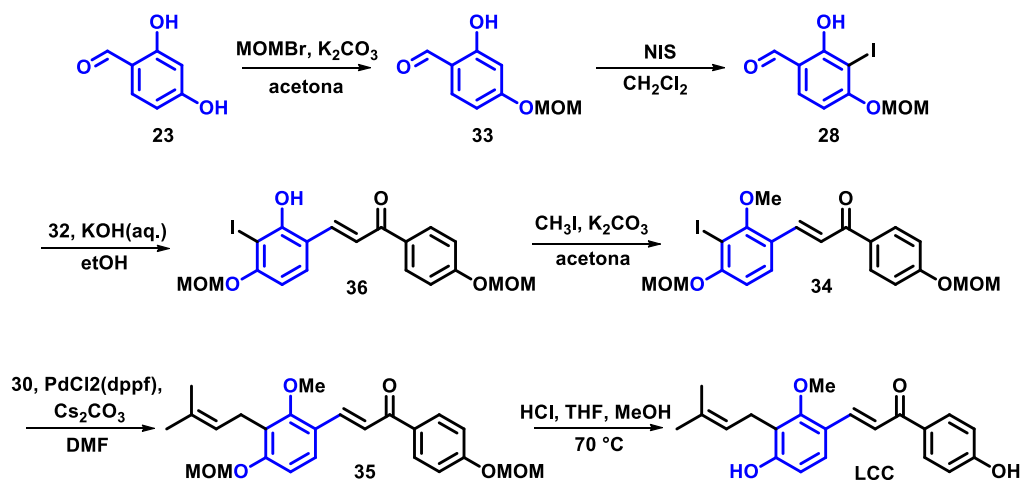
Fonte: Elaborado pelo autor.

Na etapa seguinte, realizou-se uma reação de metilação, para formação do grupo *o*-OMe, obtendo-se o composto **29**, que foi responsável por mais uma mudança da estratégia, devido sua instabilidade e dificuldade de manuseio.

3.4.3. Estratégia sintética 3 – Rota sintética utilizada

Devido à instabilidade do composto **29**, houve a necessidade de modificar novamente a estratégia sintética, para evitar sua formação e degradação durante a rota. Optou-se por realizar a condensação de Claisen-Schmidt do intermediário **36** com **32**, com posterior metilação na chalcona, como apresentado no **esquema 7**.

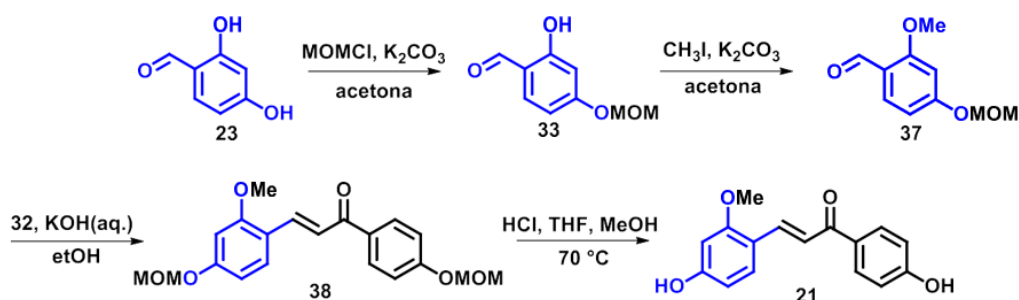
Esquema 7. Rota sintética aplicada para obtenção de LCC.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A síntese de **21** foi feita por uma rota alternativa, por se tratar de um análogo sem a presença da isoprenila. Dessa forma, as etapas de iodação e acoplamento de Suzuki não são necessárias. A rota é mais concisa que de **LCC**, contando apenas com reações de proteção, metilação, condensação e desproteção, como indicado no **esquema 8**.

Esquema 8. Rota sintética aplicada para obtenção de **21**.



Fonte: Elaborado pelo autor.

3.5. Ensaios biológicos

Foram usadas cepas bacterianas padrão da American Type Culture Collection (ATCC). As cepas foram preservadas sob criogenia a -20 °C na coleção de culturas do Laboratório de Ensaios Antimicrobianos (LEA) do Instituto de Ciências Biomédicas, da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), com colaboração do Professor Dr. Carlos Henrique Gomes Martins. Os testes foram realizados com as bactérias *Staphylococcus aureus* ATCC (6538), *Staphylococcus aureus* ATCC (BAA44), *Staphylococcus epidermidis* ATCC (14990), *Enterococcus faecalis* ATCC (1299), *Staphylococcus pneumoniae* ATCC (6305), *Streptococcus sanguinis* ATCC (10556), *Streptococcus sobrinus* ATCC (33478), *Streptococcus mutans* ATCC (25175), *Helicobacter pylori* ATCC (43526), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC (27853), *Klebsiella pneumoniae* ATCC (13883) e *Escherichia coli* ATCC (35218) e micobactérias *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv (ATCC 27294), *Mycobacterium kansasii* (ATCC 12478) e *Mycobacterium avium* (ATCC 25291).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Problema da estratégia sintética 1

A reação de iodação de **23** com KIO₃ e I₂ foi acompanhada por CCD, podendo-se identificar a formação de dois produtos **27a** e **27b**, além de não apresentar consumo

total do material de partida. Devido à dificuldade de purificar os dois compostos **27a** e **27b**, que apresentavam fator de retenção extremamente semelhante, ambos foram submetidos à próxima etapa da estratégia (reação de proteção com MOM). Após o work-up, os produtos foram purificados em coluna cromatográfica de gel de sílica, e enviados para análise de RMN ^1H para confirmar a posição dos substituintes. Estima-se que o produto de interesse **28** apresentou menos de 30 % de rendimento logo na primeira etapa (reação de iodação), instigando a busca por uma rota com maior regioseletividade para tal reação.

4.2. Problema da estratégia sintética 2

A reação de metilação composto **28** foi acompanhada por CCD, e o material de partida foi, aparentemente, totalmente consumido, com formação de apenas um produto, mais apolar que **28**. Porém, após o work-up da reação notou-se por análise de CCD que o produto **29** formado não era mais visível na placa, nem o material de partida, mas podia se identificar a presença de pelo menos três pontos, referentes a compostos mais polares que o **28** e **29**. O produto obtido apresentava aspecto oleoso, de coloração preta, e ficou retido no celite durante uma tentativa de purificação de cada componente por coluna cromatográfica de gel de sílica. A reação foi refeita, e apresentou os mesmos resultados. Ao analisar a reação passo a passo, notou-se que tal reação de degradação de **29** ocorria durante o work-up, no momento que o aldeído entrava em contato com a água. A reação então foi refeita, porém para retirar o K_2CO_3 utilizou-se um processo de filtragem ao invés de partição. O produto então foi pesado, indicando 94% de rendimento.

Parte do produto **29** foi reservada no freezer em um vial selado, outra parte foi submetida a reação de condensação de Claisen-Schmidt. Acompanhando a reação por CCD, notou-se que não houve formação de chalconas, porém, após alguns minutos do início da reação, os três pontos característicos da degradação do aldeído voltaram a aparecer. O mesmo padrão de degradação foi identificado no dia seguinte, no material armazenado no freezer. A **estratégia sintética 3** foi planejada para evitar a formação do composto **29**, de alta instabilidade.

4.3. Estratégia sintética 3 – rota utilizada

A estratégia sintética 3 foi realizada sem grandes problemas para LCC, sendo adotada como a rota sintética a ser aplicada na síntese dos análogos planejados. Os

rendimentos de cada etapa da rota foram apresentados na **tabela 1**, referentes as reações feitas na síntese de LCC.

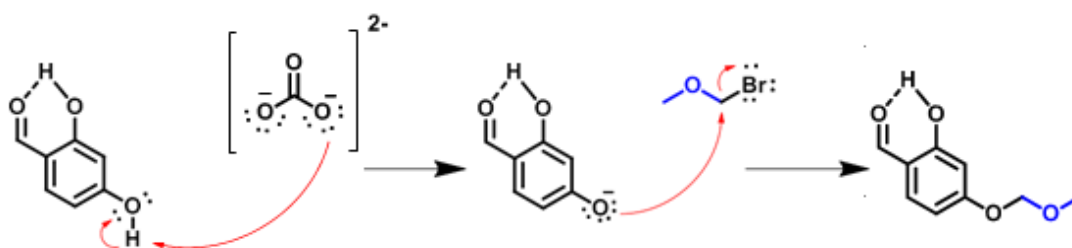
Tabela 1. Rendimento obtido por etapa na síntese de LCC.

Reação (LCC)	Rendimento (%)
Proteção	67
Iodação	71
Condensação de Claisen-Schmidt	68
Metilação	93
Acoplamento de Suzuki	61
Desproteção	61
Rendimento global	11

Fonte: Elaborado pelo autor.

A reação de proteção de **23** apresentou formação de dois produtos protegidos: o produto de interesse, com proteção na hidroxila da posição 4, e um coproduto, com ambas as hidroxilas protegidas, nas posições 2 e 4 (rendimento inferior a 5%). Tal regioseletividade para a proteção apenas da posição para se deve a dificuldade de desprotonar a hidroxila da posição 2 com o catalisador K_2CO_3 , uma vez que tal grupo se mantém menos disponível eletronicamente, devido a interação de hidrogênio entre o grupo OH e o oxigênio da carbonila, formando um pseudo-anel. O produto **33** purificado foi cristalizado como um sólido branco.

Esquema 9. Mecanismo da reação de proteção.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A reação de iodação com NIS em **33** é regioseletiva para a posição 3, devido a interação eletrostática entre os oxigênios da estrutura química do agente iodante e a hidroxila da posição 2 do anel aromático. Ocorre a formação do aldeído iodado na posição

5, porém com rendimento inferior a 7%. Após a purificação do produto desejado **28**, obteve-se um sólido cristalino de cor bege.

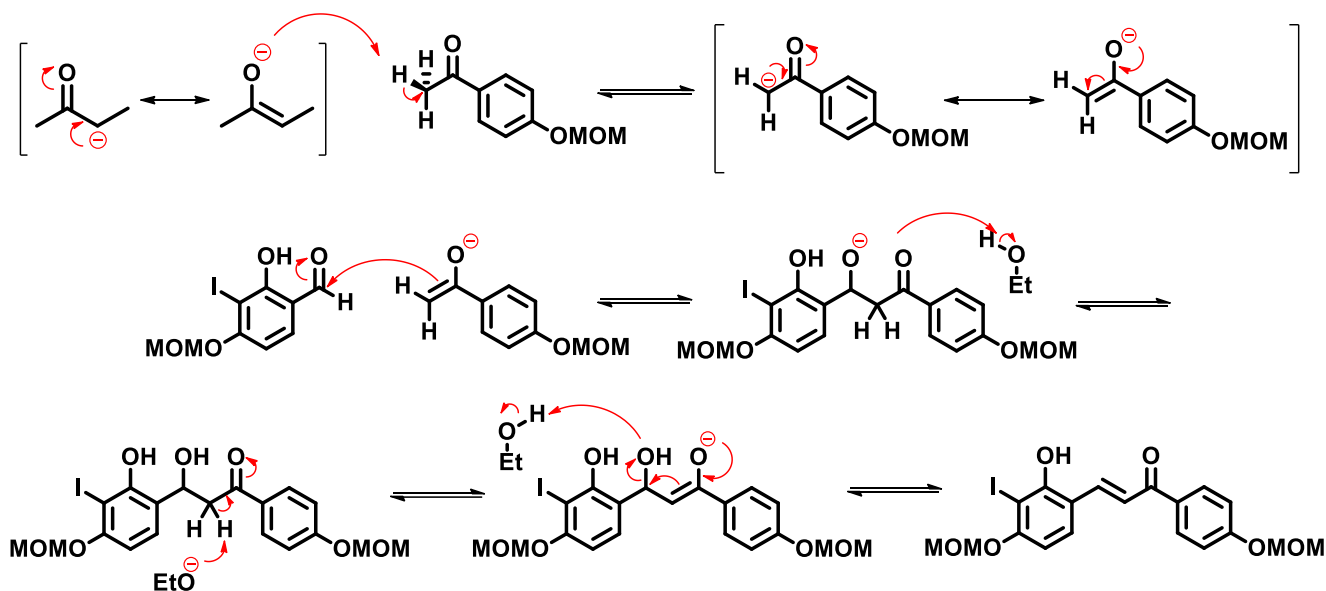
Esquema 10. Mecanismo parcial proposto para a reação de iodação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Durante a reação de condensação de Claisen-Schmidt, notou-se melhora de rendimento ao adicionar o aldeído **28** em pequenas porções entre intervalos de tempo. Além de facilitar que o material de partida seja propriamente solubilizado, a adição parcial impediu a formação de fases oleosas dentro do balão reacional, onde grande parte da acetofenona permanecia sem reagir. Tal procedimento conciliado a redução de temperatura do meio reacional resultaram em menos formação de coprodutos que dificultavam a purificação do produto desejado **36**, que ao ser purificado, apresentou aspecto sólido, de cor amarela.

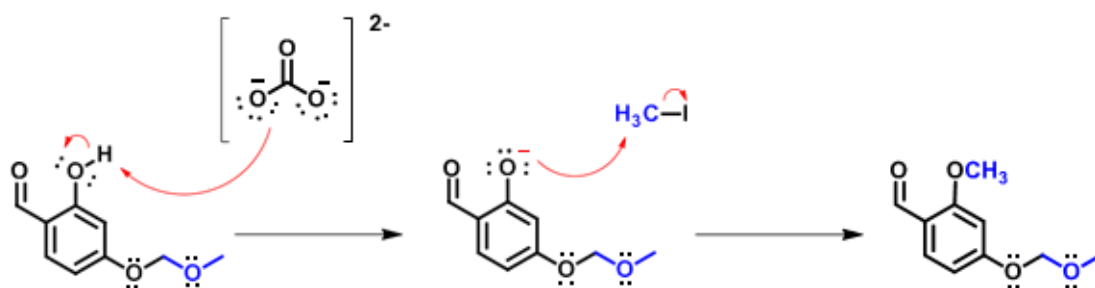
Esquema 11. Mecanismo da reação de condensação de Claisen-Schmidt.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Posteriormente, foi realizada a reação de metilação, para converter a hidroxila da posição 2 em metoxila. Tal reação seria inicialmente realizada no aldeído, antes da condensação à chalcona, porém seria responsável pela formação do composto **29**, que se mostrou altamente instável e de difícil manuseio. A reação de metilação na chalcona apresentou total consumo do material de partida **36** ao produto desejado, descartando a necessidade de outros processos de purificação após o work-up da reação. **34**, ao contrário dos intermediários de síntese anteriores, apresentou aspecto de um óleo incolor.

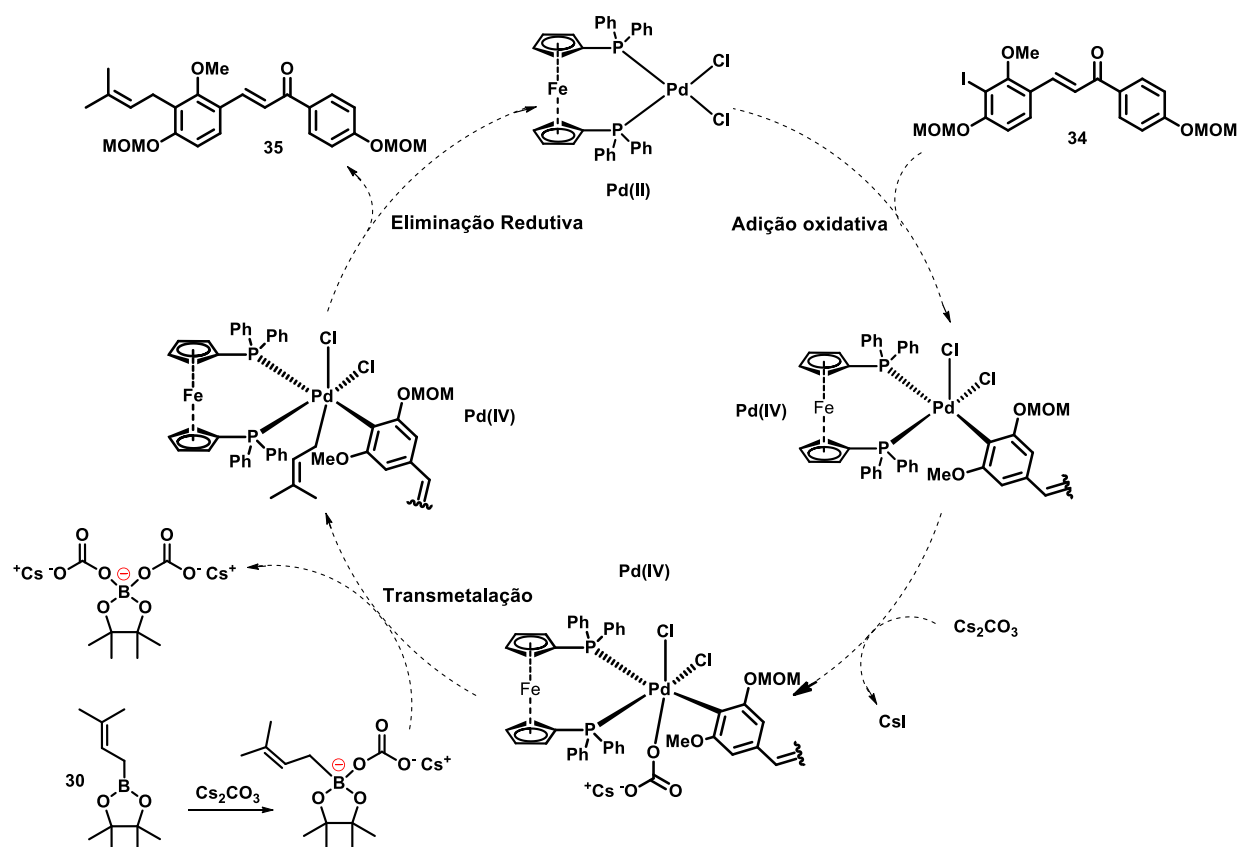
Esquema 12. Mecanismo proposto para a reação de metilação.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A reação de acoplamento de Suzuki se trata de uma reação de formação de ligações carbono-carbono, dependente de um catalisador de paládio. Existem diversos catalisadores possíveis para a reação, sendo que todos devem ser cautelosamente manuseados, uma vez que o paládio reage facilmente em contato com o oxigênio, formando a PdO, que não apresenta efeito catalítico no ciclo de Suzuki. Para melhorar o rendimento da reação, o meio reacional teve sua atmosfera substituída por atmosfera de N₂, e a solução orgânica foi purgada com o gás inerte, na tentativa de eliminar o máximo de O₂ possível a entrar em contato com o catalisador. Todavia, após alguns minutos de reação o meio reacional apresentou mudança de coloração, tornando-se preto, o que pode indicar a quebra do complexo de paládio e formação de seu óxido. 30 minutos após tal mudança de cor, não houve mudança no consumo de material de partida **34** e formação de produtos, segundo a análise feita em CCD. Após purificação do produto desejado **35**, obteve-se um óleo amarelo.

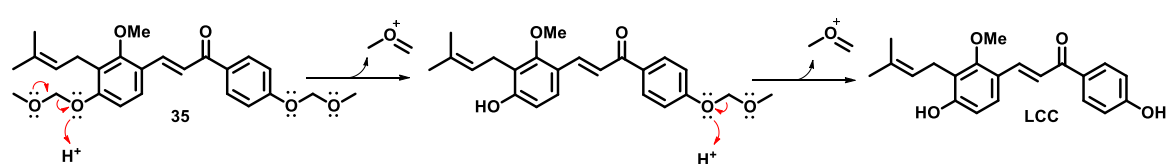
Esquema 13. Mecanismo da reação de Acoplamento de Suzuki.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A última etapa da síntese se trata de uma reação de desproteção, para retirar o MOM e expor novamente as hidroxilas da estrutura química. **LCC** e seus análogos hidroxilados **12** e **13** possuem dois grupos OH protegidos em sua estrutura, enquanto os demais análogos, apenas um. Durante a reação de desproteção na síntese de **LCC**, notou-se que ocorre a formação de dois produtos majoritários pela análise em CCD: **LCC** e **LCC** mono-protegida, porém, com o passar do tempo durante a reação, o ponto referente a **LCC** mono-protegida indicou que o composto fora cada vez mais consumido, até o produto totalmente desprotegido ser majoritário no meio reacional. Após aproximadamente 6h de reação, não se constatou mais consumo de material de partida **35**, nem formação do produto.

Esquema 14. Mecanismo proposto para a reação de desproteção.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A purificação do produto por coluna cromatográfica de gel de sílica apresentou problemas, pela alta taxa de coeluição de subprodutos e coprodutos, mesmo com a realização de vários estudos de fase móvel e substituição da fase estacionária para gel de sílica flash. Então, a purificação foi realizada em CCD preparativa, com fase móvel 70% hexano: 20% acetato : 10% acetona, onde após quatro eluições foi possível recortar uma faixa visualmente pura do produto desejado. A sílica foi ressuspensa em MeOH grau HPLC para dessorção do produto.

Tabela 2. Progresso na síntese e avaliação dos compostos propostos.

Análogo	Inédito	Síntese	RMN ¹ H	Ensaio	Rendimento
LCC	Não	Sim	Sim	Sim	11 %
11	Sim	Sim	Sim	Não	8 %
12	Sim	Não	Não	Não	-
13	Sim	Não	Não	Não	-
14	Sim	Sim	Sim	Não	12 %
15	Sim	Sim	Sim	Não	8 %
16	Sim	Sim	Sim	Não	7 %
17	Sim	Sim	Sim	Não	5 %
18	Sim	Não	Não	Não	-
19	Sim	Sim	Não	Não	6 %
20	Sim	Sim	Não	Não	9 %
21	Não	Sim	Sim	Sim	22 %
22	Sim	Não	Não	Não	-

Fonte: Elaborado pelo autor.

A elucidação dos espectros de RMN de ¹H confirmou a síntese de **LCC** e dos análogos que foram analisados, porém, além dos sinais esperados para os compostos, alguns os espectros dos compostos halogenados apresentaram sinais observáveis que podem indicar a presença de impurezas nas amostras. Todavia, os análogos halogenados (**16** e **17**) foram purificados por CCD em placa preparativa, assim como os demais produtos, onde não foi possível identificar visualmente a presença de coprodutos na faixa de sílica coletada.

No espectro de **16**, nota-se alargamento das bandas dos sinais, o que pode indicar a presença de material particulado na amostra analisada. O material particulado

possivelmente presente na amostra teria duas explicações plausíveis, que seriam elas a baixa solubilidade de 16 no solvente utilizado, ou a presença de gel de sílica. A presença de sílica seria proveniente do extravasamento de solvente sobre o papel filtrante, utilizado justamente para reter o gel suspenso após a dessorção do analito da fase estacionária da placa preparativa.

No espectro de **17**, além dos sinais esperados e dos sinais observados referentes a possíveis impurezas, nota-se a duplicidade do sinal característico do H^{2''} (hidrogênio ligado ao carbono 2 da isoprenila), sendo a banda duplicada referente a um hidrogênio mais desblindado que H^{2''} no anel B. Isso indica que, junto ao análogo **17**, tem-se a presença de um coproduto com duas isoprenilas. Por se tratar de um composto que conta com a presença de um átomo de bromo no anel A, conclui-se que além do iodo, Br também foi substituído por uma isoprenila durante a reação de Acoplamento de Suzuki, por também se tratar de um grupo de saída em potencial. O fator de retenção de ambos compostos em gel de sílica com fase móvel de Acetato/Hexano/Acetona se mostrou extremamente próximo, sendo impossível noticiar a presença de uma segunda chalcona na placa. Mesmo a molécula acoplada a duas isoprenilas sendo mais apolar/lipofílica, a tentativa de purificação foi feita baseada na interação analito-sílica, que aparentou ser semelhante para os dois substituintes.

Com os resultados provenientes dos espectros de RMN de ¹H, identifica-se a necessidade de um método de purificação alternativo para os análogos halogenados, (pelo flúor ser um grupo de saída mais eficiente que o bromo, espera-se que em sua síntese haja ainda mais formação de um coproduto com duas isoprenilas, caso seja feita nas mesmas condições). Há a possibilidade de realizar a purificação por coluna cromatográfica de Sephadex[®], que realiza a separações dos compostos baseados no tamanho das moléculas. A purificação também poderá ser feita por coluna cromatográfica com fase estacionária de C₁₈, separando os compostos pelas interações C-C.

4.4. Ensaios biológicos

Até o momento, apenas **LCC** e **ECH** puderam ser submetidas a ensaios biológicos, não sendo possível concluir com exatidão a relação entre a atividade biológica e as estruturas moleculares. Porém, os resultados (**tabela 3**) indicam que os compostos causam efeitos inibitórios consideráveis em *Mycobacterium* e numa variedade de bactérias gram-positivas, o que torna a investigação da bioatividade dos análogos ainda

mais promissora. No entanto, a inibição de **LCC** causada em micobactérias foi menor ou semelhante que a de **ECH**, podendo dar indícios que a isoprenila do protótipo não desempenhou a função imaginada, referente ao auxílio na permeação pela barreira de ácidos micólicos, peptidoglicanos e arabinogalactanos anexados a membrana plasmática dos bacilos.

Tabela 3. Resultado dos ensaios biológicos com **LCC** e **ECH**.

Testes de CIM ₉₀ (µM)			
Espécies	LCC	ECH	C.P.
<i>Mycobacterium avium</i>	184,7	115,6	7,3
<i>Mycobacterium kansasii</i>	369,4	231,2	7,3
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	92,3	115,6	3,6
<i>Staphylococcus aureus</i> MSSA	36,9	184,9	0,2
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	36,9	184,9	13,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	18,5	92,5	13,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	147,8	-	3,3
<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	147,8	-	0,4
<i>Streptococcus sanguinis</i>	18,5	184,9	1,8
<i>Streptococcus sobrinus</i>	36,9	369,9	3,6
<i>Streptococcus mutans</i>	36,9	369,9	0,9
<i>Helicobacter pylori</i>	73,9	115,6	3,3
<i>Escherichia coli</i>	-	-	1,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	13,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	3,3
Controle positivo (C.P.) = tetraciclina (<i>S. a.</i> MSSA, <i>S. a.</i> MRSA, <i>E. f.</i> , <i>P. a.</i> , <i>K. p.</i> , <i>E. c.</i> , <i>S. p.</i> , <i>H. p.</i>); clorexidina (<i>S. sa.</i> , <i>S. so.</i> , <i>S. m.</i>); isoniazida (micobactérias)			
- : Não apresentou atividade inibitória dentro do intervalo de diluição analisado			

Fonte: Elaborado pelo autor.

5. CONCLUSÃO

Os análogos planejados estão sendo sintetizados com sucesso a partir da rota sintética desenvolvida, com rendimentos globais entre 5-13%. A rota sintética é inédita para a síntese de **LCC**, com rendimento superior a síntese realizada por Wang e colaboradores (6%). A c-prenilação de Wang resulta em um acoplamento de uma

isoprenila na posição 3 com rendimento de 18%, enquanto a realizada no presente trabalho apresenta rendimento de 42 a 49%, baseado no rendimento das etapas de iodação e acoplamento de Suzuki, cumprindo a proposta de encontrar uma rota mais regioseletiva para LCC.

Serão necessários dados de ensaios biológicos realizados com mais análogos para compreender o mecanismo dos compostos e sua relação estrutura-atividade, havendo a possibilidade de encontrar compostos extremamente ativos, superando até LCC.

6. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

6.1. Síntese dos compostos

Síntese de acetofenona protegida **32**: solubilizou-se 7,4 mmol de 4-hidroxiacetofenona em 15 mL de acetona e adicionou-se 22,2 mmol de K_2CO_3 . A mistura foi mantida sob e agitação constante e banho de gelo, e gotejou-se 0,72 mL de MOMBr. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada após 16 h. No work-up, a solução obtida foi submetida a uma partição com AcOEt/H₂O para retirada do carbonato. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica (fase móvel: 80% Hex e 20% AcOEt), obtendo um óleo incolor. **CAS Number**: 85699-00-9

Síntese de **33**: solubilizou-se 7,2 mmol de 23 em 15 mL de acetona e adicionou-se 21,6 mmol de K_2CO_3 . A mistura foi mantida sob agitação constante e banho de gelo, e gotejou-se 0,7 mL de MOMBr. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada após 12 h. No work-up, a solução obtida foi submetida a uma partição com AcOEt/H₂O para retirada do carbonato. O produto obtido foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica (fase móvel: 80% Hex/ 20% AcOEt) para obtenção de um sólido branco. **CAS Number**: 95332-26-6

Síntese de **28**: solubilizou-se 2,7 mmol de 33 em 5 mL de Cl_2CH_2 e adicionou-se, sob agitação constante e banho de gelo, 3,0 mmol de NIS em 6 porções, com intervalos de 20 minuto entre cada adição. A reação foi acompanhada por CCD, e finalizada 12 h após a última adição de NIS. O work-up foi feito com adição de 1 mL de solução saturada de tiosulfato de sódio, e a solução foi vertida no gelo, onde foi deixada por 12 h. Após esse tempo, filtrou-se o produto precipitado, que foi purificado por recristalização com AcOEt/Hex, obtendo um sólido bege.

Síntese de **36**: solubilizou-se 1,05 mmol de **32**, ou da respectiva acetofenona referente ao análogo desejado, em 5 mL de EtOH, sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 2 mL de solução 60% de KOH. Adicionou-se 1,0 mmol de **28** em 6 porções, com intervalos de 30 minutos entre cada adição para facilitar que o aldeído seja solubilizado. A reação foi acompanhada por CCD, e finalizada 48 h após a última adição de **28**. O pH da solução foi ajustado com ácido acético glacial até 6, para protonar a *o*-OH e diminuir a solubilidade do produto em água. No work-up da reação, realizou-se uma partição AcOEt/H₂O com a mistura obtida. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica (fase móvel: Hex 75% / 25% AcOEt), obtendo um sólido amarelo.

Síntese de **34**: solubilizou-se 0,7 mmol de **36** em 4 mL de acetona, sob agitação constante e banho de gelo. Adicionou-se 2,1 mmol de K₂CO₃ e 1,0 mmol de CH₃I. Após 12 h de reação, todo o material de partida foi consumido. No work-up, a solução obtida foi submetida a uma partição com AcOEt/H₂O para retirar o carbonato, obtendo-se um óleo amarelado após evaporação do solvente.

Síntese de **35**: solubilizou-se 0,7 mmol de **34** em 4 mL de DMF, num balão sob atmosfera de N₂. Adicionou-se 1,4 mmol de Cs₂CO₃, seguido de 0,07 mmol de PdCl₂(dppf), seguido de 1,4 mmol de **30**. O balão da reação foi acoplado num sistema de refluxo e a temperatura foi elevada a 70 °C. A mudança de cor da reação para preto indicou a oxidação do paládio presente no catalisador e formação irreversível do óxido PdO. Aproximadamente 30 minutos após a mudança de cor, a reação foi interrompida e o sistema de aquecimento desligado. Ao atingir temperatura ambiente, a solução foi filtrada em pastilha de celite para remover o óxido da mistura, utilizando acetato de etila como eluente. A solução filtrada foi submetida ao processo de partição com AcOEt/H₂O. Purificou-se o produto em coluna cromatográfica de gel de sílica (fase móvel: Hex 80 % / 20 % Ac), obtendo-se um óleo amarelo.

Síntese de **LCC**: solubilizou-se 0,5 mmol de **35** em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada após aproximadamente 6 h. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1

(Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **LCC**, um óleo amarelado. **CAS number:** 144506-14-9 .

¹H NMR (600 MHz, Acetona-d₆) δ 8.04 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.99 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.68 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.80 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.28 – 5.22 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.37 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.78 (s, 3H), 1.66 (s, 3H).

Síntese de 11: solubilizou-se 0,5 mmol da chalcona precursora (síntese semelhante a **35**, alterando apenas a acetofenona na etapa de condensação) em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 4 h após atingir a temperatura máxima. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1 (Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **11**, um óleo amarelado.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 10.20 (s, 1H), 8.06 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 8.04 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 7.69 (d, J = 15.3 Hz, 1H), 7.60 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 7.54 – 7.51 (m, 2H), 6.77 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.74 (d, J = 8.5 Hz, 3H), 5.29 – 5.24 (m, J = 6.0 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.51 – 3.45 (m, J = 7.7 Hz, 2H), 1.86 (s, 3H), 1.78 (s, 3H).

Síntese de 14: solubilizou-se 0,5 mmol da chalcona precursora (síntese semelhante a **35**, alterando apenas a acetofenona na etapa de condensação) em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 4 h após atingir a temperatura máxima. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1 (Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **14**, um óleo amarelado.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 10.20 (s, 1H), 8.05 (d, J = 15.8 Hz, 1H), 7.96 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.53 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.51 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.74 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.30 – 5.24 (m, J = 6.9, 5.5, 1.4 Hz, 1H), 3.78 (s, 3H), 3.48 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 2.45 (s, 3H), 1.84 (d, J = 11.4 Hz, 3H), 1.77 (s, 3H).

Síntese de **15**: solubilizou-se 0,5 mmol da chalcona precursora (síntese semelhante a **35**, alterando apenas a acetofenona na etapa de condensação) em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 4 h após atingir a temperatura máxima. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1 (Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **15**, um óleo alaranjado.

¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.07 – 8.05 (m, 2H), 8.03 (d, J = 15.5 Hz, 1H), 7.54 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.50 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.01 – 6.99 (m, 2H), 6.73 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 5.29 – 5.25 (m, J = 6.9, 5.6, 2.7, 1.3 Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.78 (s, 3H), 3.48 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.86 (s, 3H), 1.78 (s, 3H).

Síntese de **16**: solubilizou-se 0,5 mmol da chalcona precursora (síntese semelhante a **35**, alterando apenas a acetofenona na etapa de condensação) em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 4 h após atingir a temperatura máxima. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1 (Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **16**, um óleo amarelado.

¹H NMR (600 MHz, Acetona-d₆) δ 8.16 – 8.09 (m, J = 5.9, 2.3 Hz, 2H), 8.04 (d, J = 15.7 Hz, 1H), 7.72 – 7.65 (m, J = 17.4, 5.0 Hz, 1H), 7.61 – 7.57 (m, J = 5.5, 2.8 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 5.29 – 5.21 (m, J = 13.6 Hz, 1H), 3.77 (s, 2H), 1.79 (s, 3H), 1.66 (s, 3H).

Síntese de **17**: solubilizou-se 0,5 mmol da chalcona precursora (síntese semelhante a **35**, alterando apenas a acetofenona na etapa de condensação) em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 4 h após atingir a temperatura máxima. No work-up,

fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em placa cromatográfica preparativa de gel de sílica, com fase móvel 7:2:1 (Hex:AcOEt:AcO) para obtenção de **17**, um óleo alaranjado.

¹H NMR (600 MHz, Acetona-d₆) δ 10.14 (s, 1H), 8.07 – 8.05 (m, 2H), 8.03 (d, J = 15.6 Hz, 1H), 7.77 – 7.75 (m, 1H), 7.70 – 7.67 (m, 1H), 7.37 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 6.82 – 6.79 (m, J = 8.5, 4.2 Hz, 1H), 5.32 – 5.23 (m, 1H), 3.81 – 3.79 (m, J = 0.9 Hz, 3H), 3.41 (d, J = 6.9 Hz, 2H), 1.80 (s, 3H), 1.68 (d, J = 1.0 Hz, 4H).

Síntese de **21**: solubilizou-se 1,05 mmol de **32** em 5 mL de EtOH, sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 2 mL de solução 60% de KOH. Adicionou-se 1,0 mmol de , 2-metoxi-4-(metoximetoxi)benzaldeído em 6 porções, com intervalos de 30 minutos entre cada adição para facilitar que o aldeído seja solubilizado. A reação foi acompanhada por CCD, e finalizada 48 h após a última adição do benzaldeído. O pH da solução foi ajustado com ácido acético glacial até 6, para protonar a o-OH e diminuir a solubilidade do produto em água. No work-up da reação, verteu-se o produto bruto em gelo triturado, e filtrou-se o precipitado (sólido amarelo, 80%). Depois de seco, 0,5 mmol do material precipitado foi solubilizado em 2 mL de uma mistura de MeOH e THF (proporção 1:1) sob agitação constante e banho de gelo. Gotejou-se 1 mL de uma solução de HCl (1 mol L⁻¹). 10 minutos depois, retirou-se o banho de gelo e o balão de reação foi acoplado a um sistema de refluxo. A reação foi acompanhada por CCD e finalizada aproximadamente 6 h após atingir a temperatura máxima. No work-up, fez-se uma partição com AcOEt/H₂O para extrair todo o produto para a fase orgânica. O produto foi purificado em coluna cromatográfica de gel de sílica, com fase móvel 6:4 (Hex:AcOE) para obtenção de **21**, um sólido amarelo alaranjado. **CAS number:** 34221-41-5.

RMN ¹H (600 MHz, DMSO) δ 7.99 (d, J = 8.8 Hz, 2H), δ 7.92 (d, J = 15.6 Hz, 1H), δ 7.76 (d, J = 8.5 Hz, 1H), δ 7.65 (d, J = 15.6 Hz, 1H), δ 6.88 (d, J = 8.7 Hz, 2H), δ 6.47 (d, J = 2.2 Hz, 1H), δ 6.44 (dd, J = 8.4, 2.2 Hz, 1H), δ 3.84 (s, 3H).

6.2. Ensaios biológicos

6.2.1. Ensaios antibacterianos

A concentração inibitória mínima (CIM₉₀) contra espécies de bactérias Gram-positivas e Gram-negativas foi determinada em triplicata, usando o método de microdiluição em caldo em 96 microplacas, usando resazurina como indicador

colorimétrico da viabilidade da célula. LCC foi solubilizada em DMSO (Synth, Diadema-SP, Brasil), com concentração 1 mg mL^{-1} , seguida por uma diluição em caldo de infusão cérebro coração (BHI – Difco, Detroit-MI, EUA) para atingir concentrações finais variando entre 0,195 e $400,0 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. O conteúdo final de DMSO era de 5% (v/v), e foi utilizada como controle negativo. O inóculo foi ajustado para cada microorganismo, para atingir concentração celular de 5×10^5 unidades de formação de colônia (CFU mL^{-1}), como recomendado pelo Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais, com modificações no meio de cultura. O controle de crescimento e de esterilidade também foram inclusos. Tetraciclina e clorexidina foram utilizadas como controle positivo, com concentrações entre 0,115 e $5,9 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, e 0,115 e $59 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. As microplacas de 96 poços foram seladas com plástico filme e incubadas a 37°C por 24 h. Após esse período, 30 μL de uma solução 0,02% de resazurina foi adicionada as microplacas, que foram incubadas por mais 15 minutos a 37°C . A CIM₉₀ foi definida como a menor concentração capaz de inibir mais de 90% do crescimento dos microorganismos, indicado pela mudança da cor azul da resazurina para rosa.

6.2.2. Ensaio antimicobacteriano

A CIM de LCC contra micobactérias foi determinado utilizado o Ensaio de Resazurina em Microplaca, método de Palomino, com breves modificações. Um estoque da solução de LCC foi preparado em DMSO e diluído no caldo Middlebrook 7H9 (DidcotTM, Detroit-MI, EUA) para obter concentrações de 7,8 a $1.000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$. Isoniazida foi dissolvida em DMSO e utilizada como droga padrão, a concentrações de 0,015 a $1,0 \text{ } \mu\text{g.mL}^{-1}$. O inóculo foi preparado introduzindo colônias cultivadas em Ogawa-Kudoh (LaborClin) em um tubo com contas de vidro com 500 μL de água esterilizada. Uma alíquota de 200 μL foi transferida para um tubo contendo 2 mL de caldo 7H9, incubado a 37°C por 7 dias e comparado com a escala 1 McFarland (3×10^8 células. mL^{-1}). Após o inóculo ser padronizado, foi diluído em placas de 96 poços, numa relação 1:25 com o caldo 7H9 contendo as substâncias testadas. Os controles de crescimento e esterilidade também foram incluídos. As placas de 96 poços (Kasvi[®]) foram incubadas a 37°C por 7 dias. Após esse período, 30 μL de uma solução aquosa de 0,02% de resazurina (Sigma- Aldrich[®]) foi adicionada a cada poço da placa. Após 18 h, a solução de resazurina adquiriu coloração azul, indicando que não havia crescimento de microorganismos (a cor rosa indica a presença de microorganismos viáveis). O valor de

CIM, expressado em $\mu\text{g mL}^{-1}$, foi definido como a menor concentração das substâncias capaz de inibir 90 % do crescimento micobacteriano. O ensaio foi realizado em triplicata.

6.2.3. Ensaio contra *Helicobacter pylori*

O ensaio de microdiluição em caldo, utilizou caldo Mueller Hinton médio, suplementado com 10 % de sêrum fetal bovino. As substâncias foram solubilizadas em DMSO em placas de 96 poços, com concentrações entre 0,48 e 1.000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A concentração do inóculo foi ajustada para $5 \times 10^5 \text{ CFU mL}^{-1}$. As placas foram preparadas em triplicata, e incubadas a 37 °C por três dias, sob atmosfera de 10% de CO_2 . Utilizou-se DMSO e tetraciclina como controle negativo e positivo, respectivamente. Uma solução aquosa de resazurina (30 μL , 0,01 %) foi adicionada a cada poço. A presença da coloração rosa indica a presença de células metabolicamente ativas, enquanto a presença da coloração azul indica células com metabolismo desativado. A menor concentração a cada mudança de cor foi observada, e a média do valor, definida como a CIM.

7. REFERÊNCIAS

- ☼ DAI, J. et al. Recent progress of antibacterial natural products: future antibiotics candidates. *Bioorganic Chemistry*. v. 101, 2020.
- ☼ DEWICK, P. M. *Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach*. John Wiley & Sons LTD, 2^a ed., 2009.
- ☼ DI CARLO, G. et al. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.*, v. 65, p. 337–353, p. 1999.
- ☼ FRANCESCHELLI, S. et al. Biological Effect of Licochalcone C on the Regulation of PI3K/Akt/eNOS and NF- κ B/iNOS/NO Signaling Pathways in H9c2 Cells in Response to LPS Stimulation. *Molecular Science*. 18, 690, 2017.
- ☼ HAN, F. et. al. Microbial Conjugation Studies of Licochalcones and Xanthohumol. *Molecular Science*. 22. 6893, 2021.
- ☼ HARAGUCHI, H. et al. Antioxidative Components of *Psoralea corylifolia* (Leguminosae). *Phytother. Res.*, v. 16, p. 539–544, 2002.
- ☼ HARAGUCHI, H. et al. Mode of antibacterial action of retrochalcones from *Glycyrrhiza inflata*. *Phytochemistry*, v. 48, p. 125–129, 1998.

- ☼ ISHIYAMA, T.; MURATA, M.; MIYAURA, N. Palladium⁰-Catalyzed Cross-Coupling Reaction of Alkoxydiboron with Haloarenes: A Direct Procedure for Arylboronic Esters. *J. Org. Chem.* v. 60, p. 7508–7510, 1995.
- ☼ KWAK, A. Licochalcone C induces cell cycle G1 arrest and apoptosis in human esophageal squamous carcinoma cells by activation of the ROS/MAPK signaling pathway. *Journal of Chemotherapy*. 2020. DOI: 10.1080/1120009X.2020.1721175.
- ☼ LI, T., HUA, S., MA, J. Spectrum-Effect Relationships of Flavonoids in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. *Analytical Methods in Chemistry*, 8838290, 2020.
- ☼ MITTAL, A. et al. A theoretical assessment of the structural and electronic features of some retrochalcones. *Int J Quantum Chem.*, 26797, 2021.
- Phenotypic and genotypic methods. *Biomed. Pharmacother.*, v. 65, p. 456–459, 2011.
- ☼ MIYAURA, N.; SUZUKI, A. Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chem. Rev.*, v. 95. p. 2457–2483, 1995.
- ☼ NIELSEN, S. et al. Synthesis of Antiparasitic Licorice Chalcones. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 5,449-452, 1995.
- ☼ OH, H. et al. Licochalcone C induced apoptosis in human oral squamous cell carcinoma cells by regulation of the JAK2/STAT3 signaling pathway. *J Cell Biochem*. 1-13. 2018.
- ☼ RACYS, D. T. et al. Highly Regioselective Iodination of Arenes via Iron (III)-Catalyzed Activation of N-Iodosuccinimide. *Organic Letters.*, v. 17, p. 4782–4785, 2015.
- ☼ SHI, C., CHEN, T. et al. Inhibition of human thrombin by the constituents of licorice: inhibition kinetics and mechanistic insights through in vitro and in silico studies. *Royal Society of Chemistry*. 10, 3626–3635, 2020.
- ☼ SONG, Y. et al. Discovery of hCES2A inhibitors from *Glycyrrhizae Inflatae* via combination 4 of docking-based virtual screening and fluorescence-based inhibition assays. *Food Funct.*, 2020, DOI: 10.1039/D0FO02140G.
- ☼ WANG, H. et al. Identification wild and cultivated licorice by multidimensional analysis. *Food Chemistry*, 339, 128111, 2021.

- ☀ WANG, P. et al. Licochalcone C induces apoptosis via B-cell lymphoma 2 family proteins in T24 cells. *Molecular Medicine Reports*. 12: 7623-7628, 2015.
- ☀ WANG, Z. et al. Concise synthesis of licochalcone C and its regioisomer, licochalcone H. *Arch. Pharm. Res.*, v. 36, p. 1432–1436, 2013.
- ☀ WANG, Z. F. et al. A review: The anti-inflammatory, anticancer and antibacterial properties of four kind of licorice flavonoids isolated from licorice. *Curr. Med. Chem.*, v. 27, p. 1997–2011, 2020.
- ☀ WHO, World Health Organization. *Global Tuberculosis Report*. Geneva: 2017. Disponível em: < http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/> Acesso em: 30 jun 2020.
- ☀ WHO, World Health Organization. *Global Tuberculosis Report*. Geneva: 2021. Disponível em: < http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/> Acesso em: 15 jan 2022.
- ☀ WHO, World Health Organization. *Global 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis*. Geneva: 2020. Disponível em: < <https://www.who.int/publications/i/item/9789240021303/>> Acesso em: 15 jan 2022.
- ☀ WU, S. C. et al. Antibacterial effect and mode of action of flavonoids from licorice against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Front. Microbiol.* 10:2489, 2019. 881–884, 2003.
- ☀ XIAO, Y. et al. Microbial Transformation of Licochalcones. *Molecules*. 25, 60, 2020.
- ☀ YOON, G. et al. Cytotoxic Allyl Retrochalcone from the Roots of *Glycyrrhiza inflata*. *Chem. Pharm. Bull.* 53, 694—695, 2005.
- ☀ YOON, G. et al. Inhibitory effect of chalcones and their derivatives from *Glycyrrhiza inflata* on protein tyrosine phosphatase 1B. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 19, 5155–5157, 2009.
- ☀ ZHANG, F. et al. Inhibition of drug-metabolizing enzymes by Jingyin granules: implications of herb–drug interactions in antiviral therapy. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021. DOI: 10.1038/s41401-021-00697-2

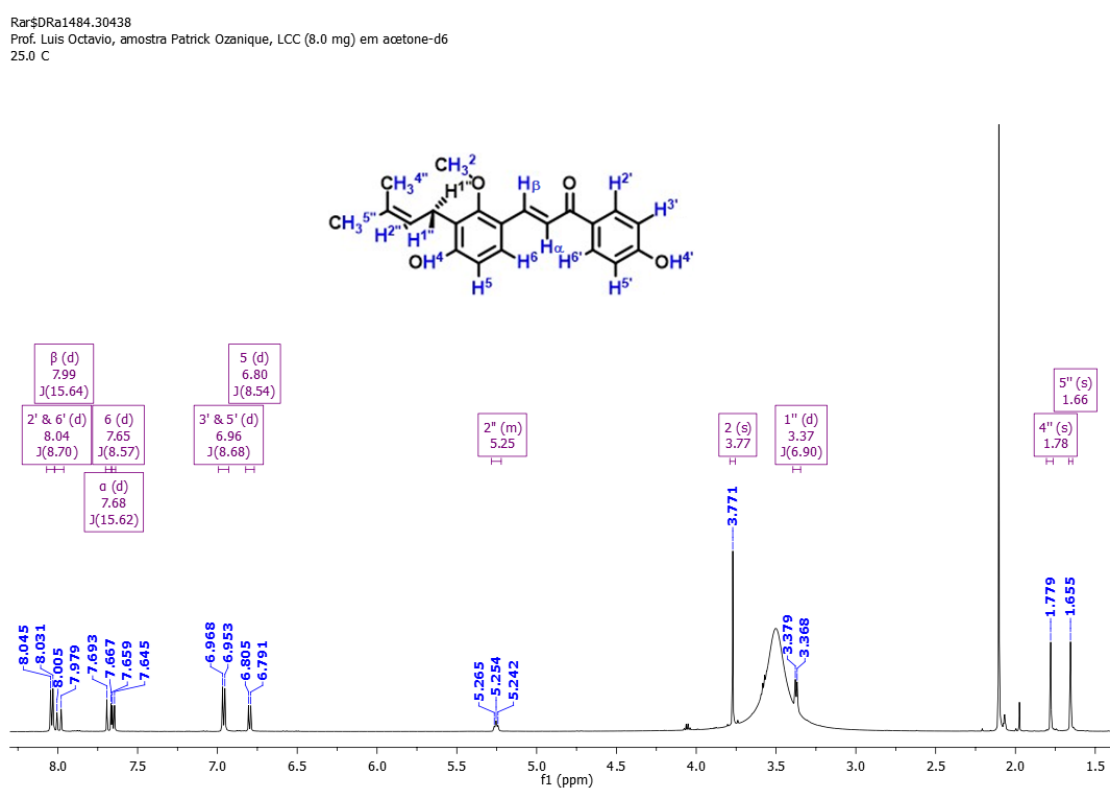
☀ ZHOU, M. et al. Role of licochalcone C in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury of isolated rat heart via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic activities. Life Sciences. 132, 27-33, 2015.

☀ ZHUANG, C. et al. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. Chem. Rev., v. 117, p. 7762–7810, 2017.

8. MATERIAL SUPPLEMENTAR

8.1. Espectros de RMN de ^1H (600 MHz)

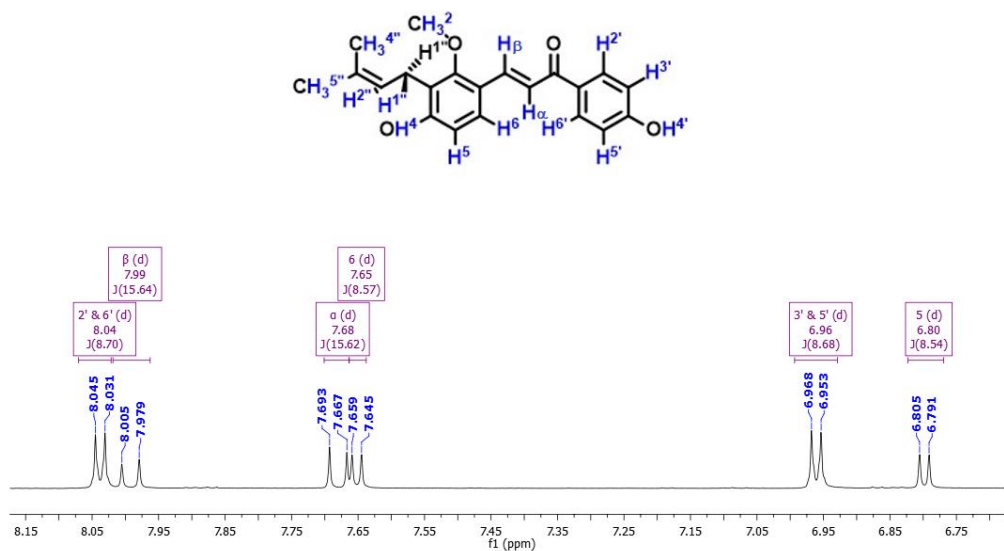
Figura 6. Espectro de RMN de ^1H de LCC.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 7. Espectro de RMN de ^1H de LCC – Ampliado de 6,7 a 8,1 ppm.

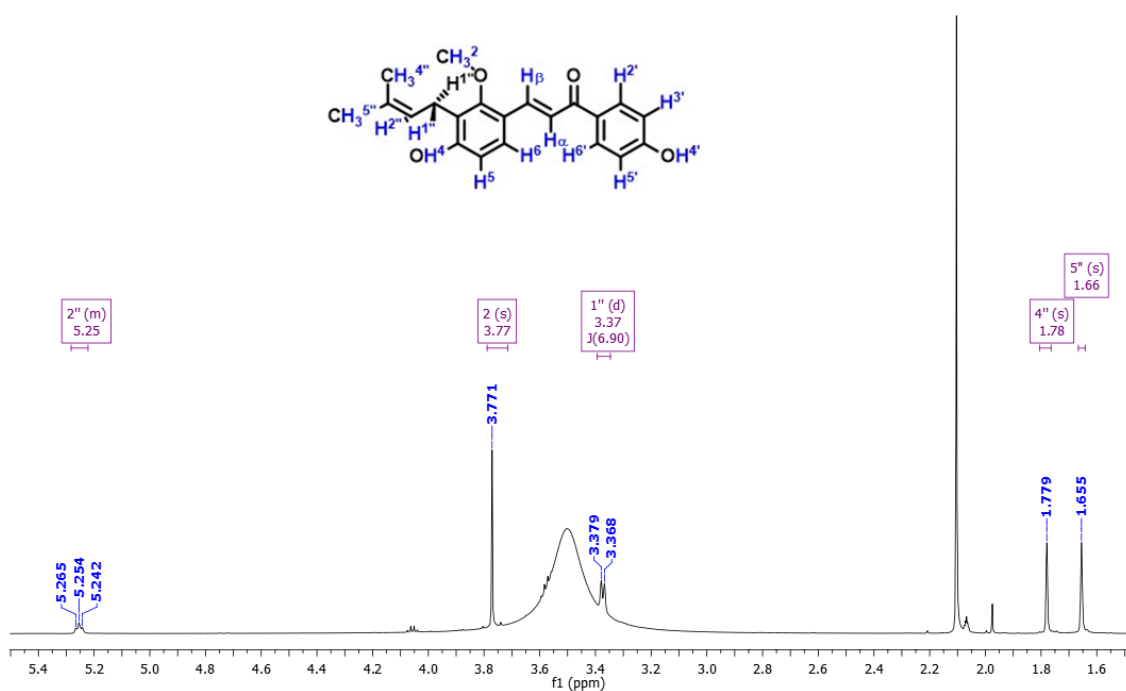
Rar\$DRa1484.30438
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick Ozanique, LCC (8.0 mg) em acetone- d_6
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 8. Espectro de RMN de ^1H de LCC – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm.

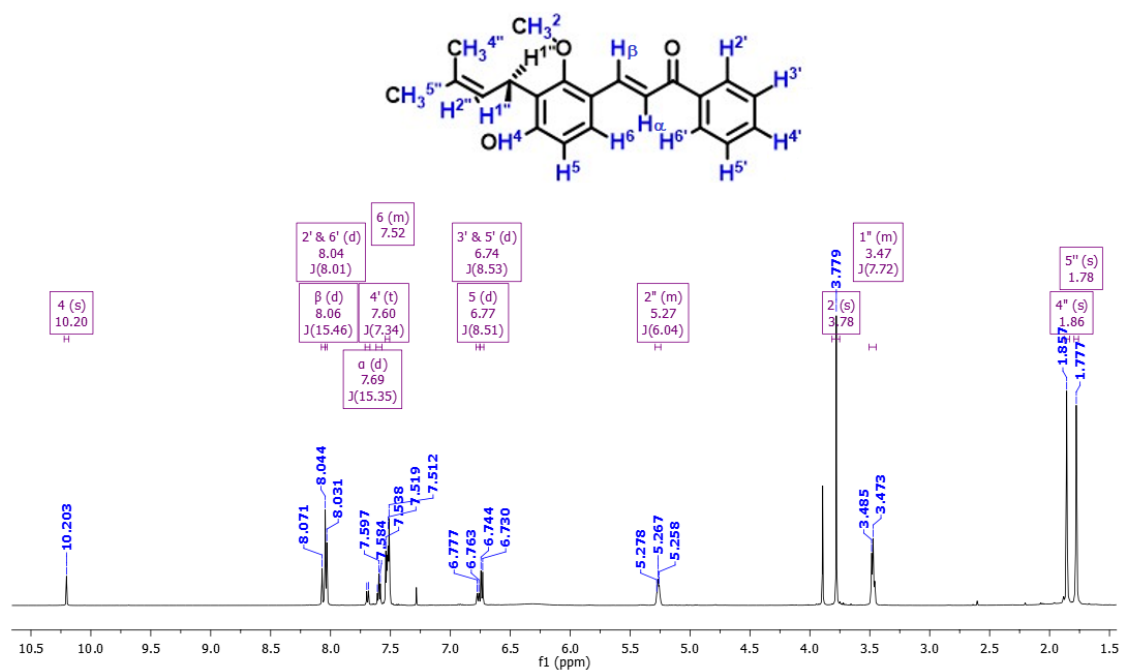
Rar\$DRa1484.30438
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick Ozanique, LCC (8.0 mg) em acetone- d_6
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 9. Espectro de RMN de ^1H de **11**.

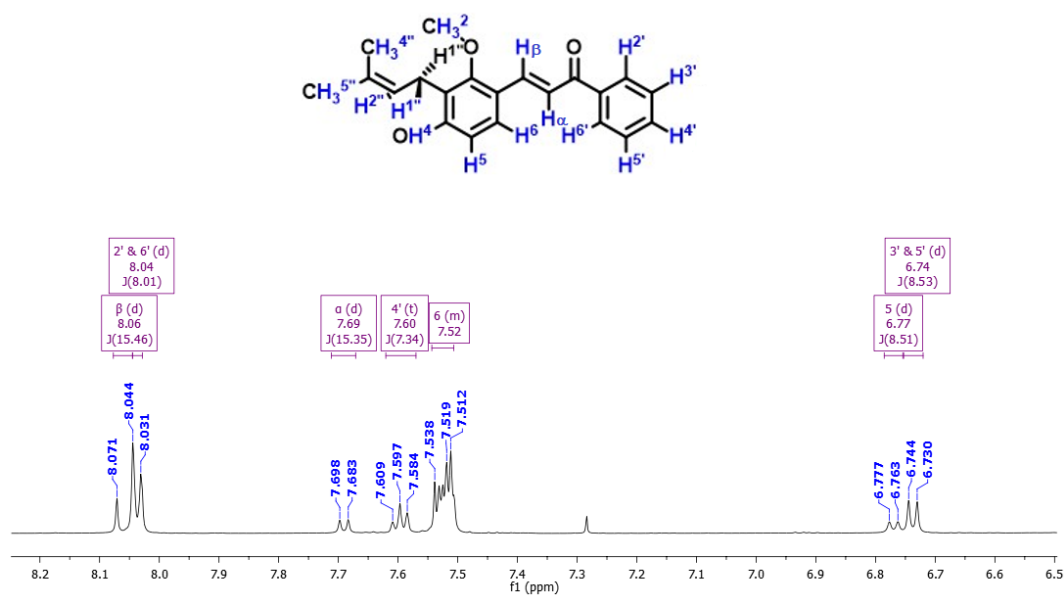
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, H (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 10. Espectro de RMN de ^1H de **11** – Ampliado de 6,5 a 8,2 ppm.

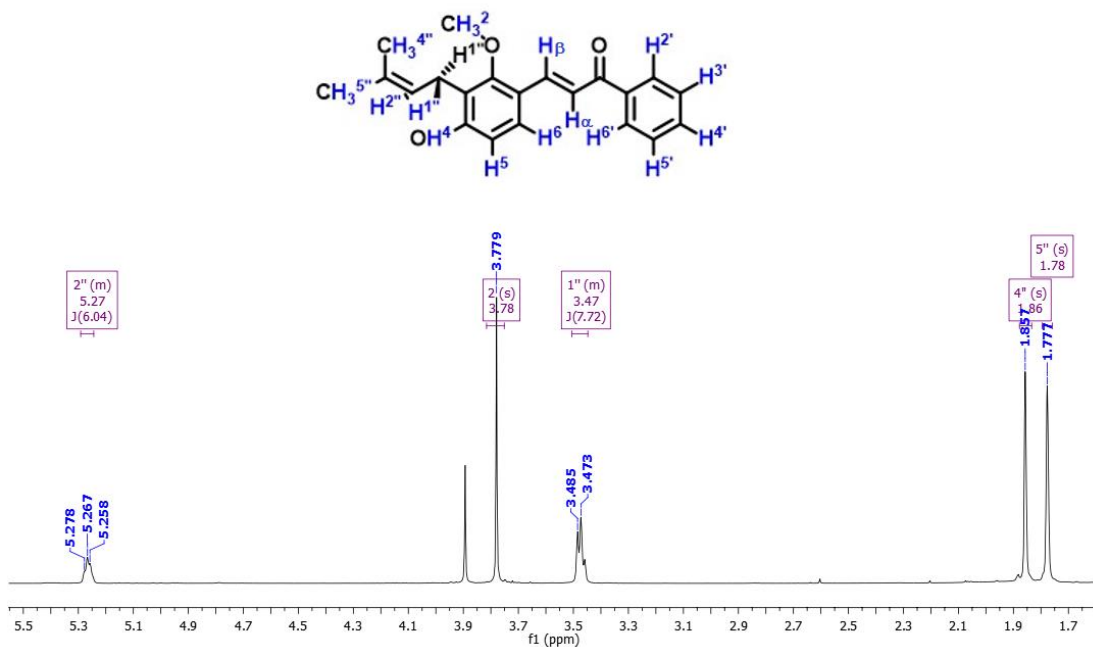
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, H (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 11. Espectro de RMN de ^1H de **11** – Ampliado de 1,7 a 5,5 ppm.

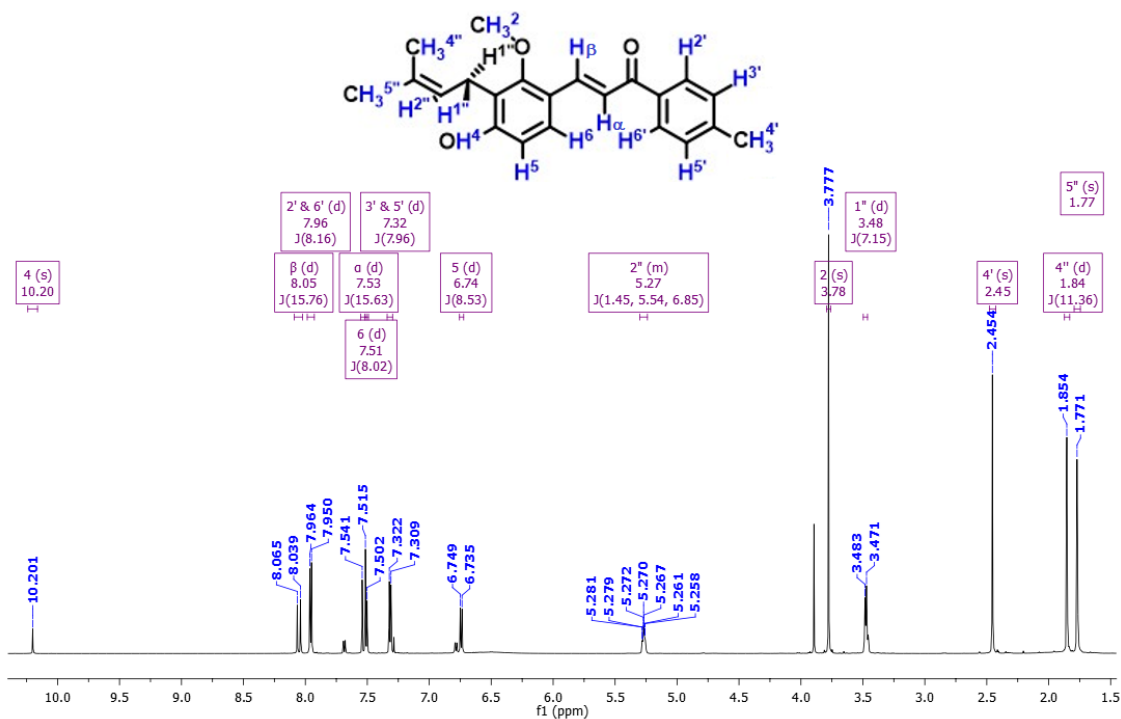
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, H (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 12. Espectro de RMN de ^1H de **14**.

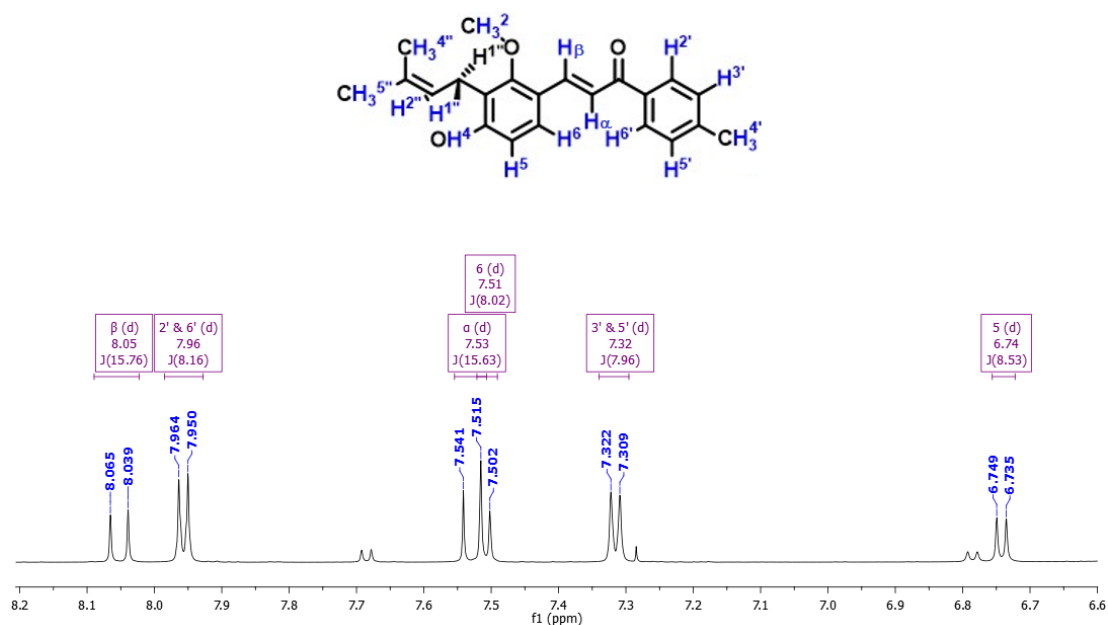
RMN
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, CH₃ (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 13. Espectro de RMN de ^1H de **14** – Ampliado de 6,6 a 8,2 ppm.

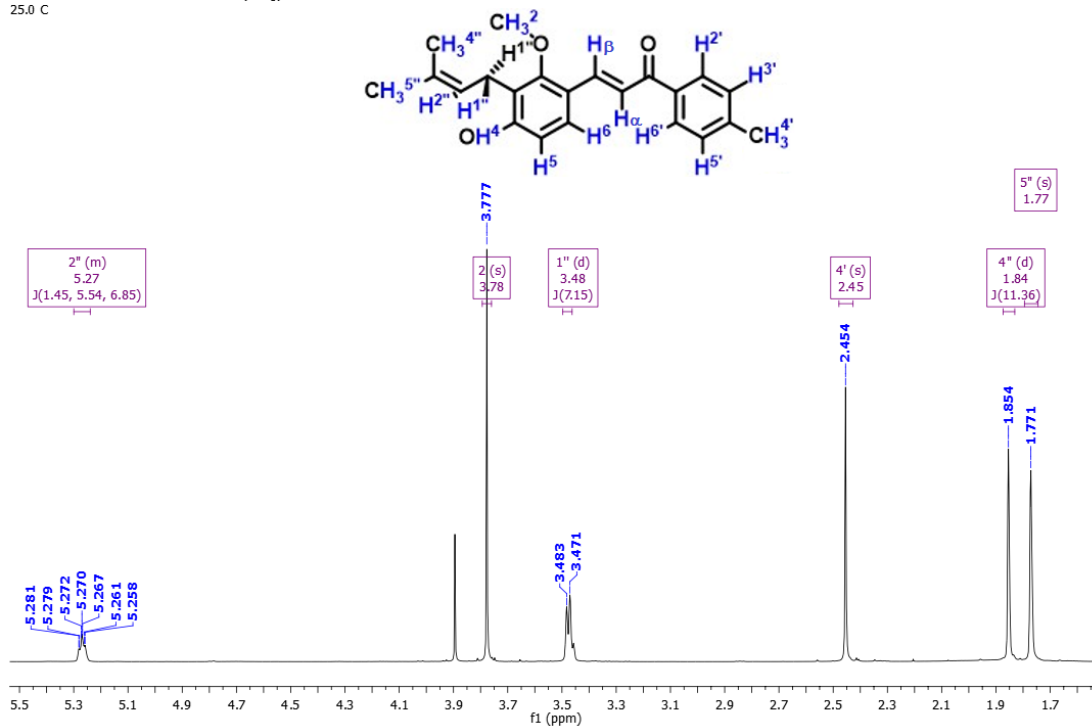
RMN
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, CH3 (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 14. Espectro de RMN de ^1H de **14** – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm.

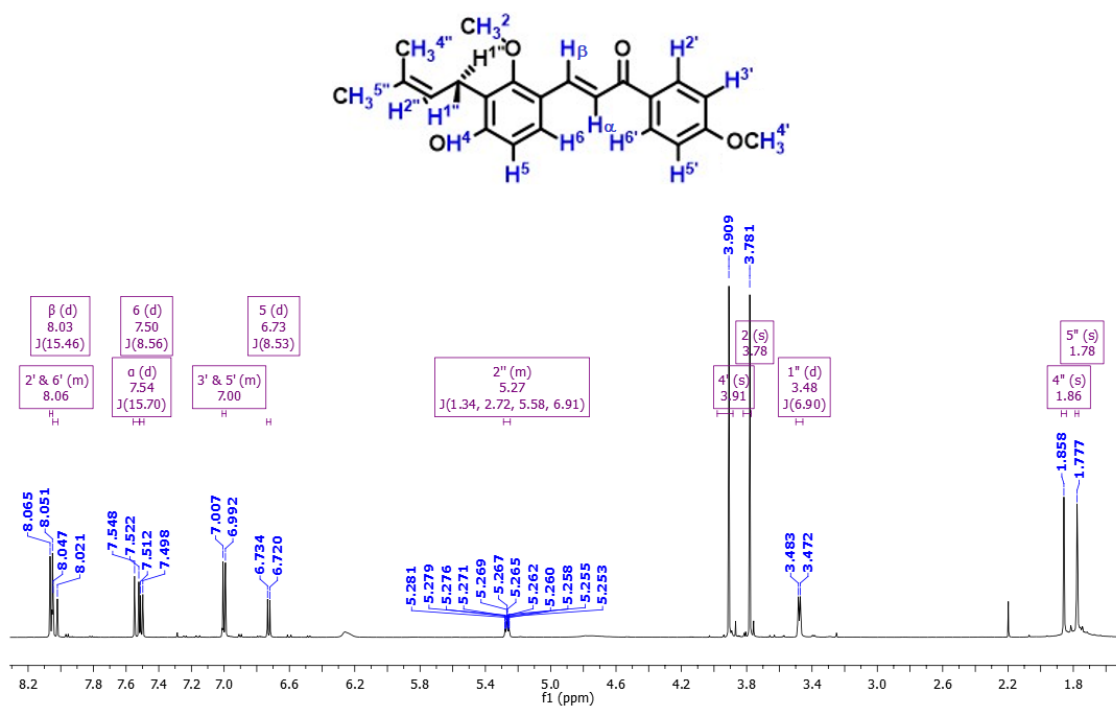
RMN
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, CH3 (8 mg) em CDCl_3
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 15. Espectro de RMN de ^1H de **15**.

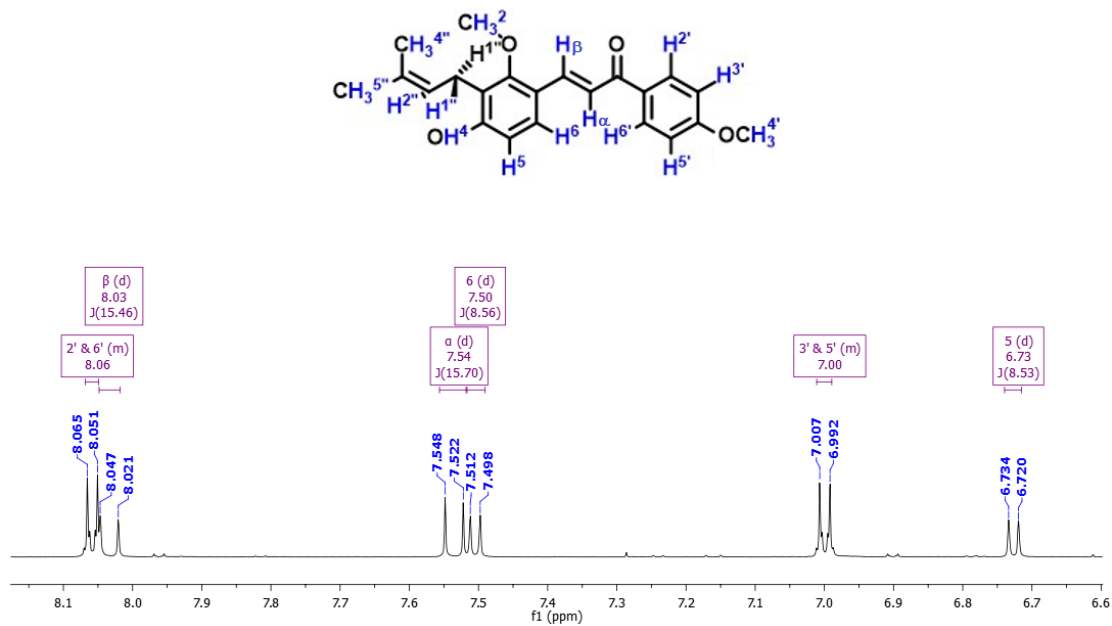
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, OCH₃(8 mg) em CDCl₃
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 16. Espectro de RMN de ^1H de **15** – Ampliado de 6,6 a 8,1 ppm.

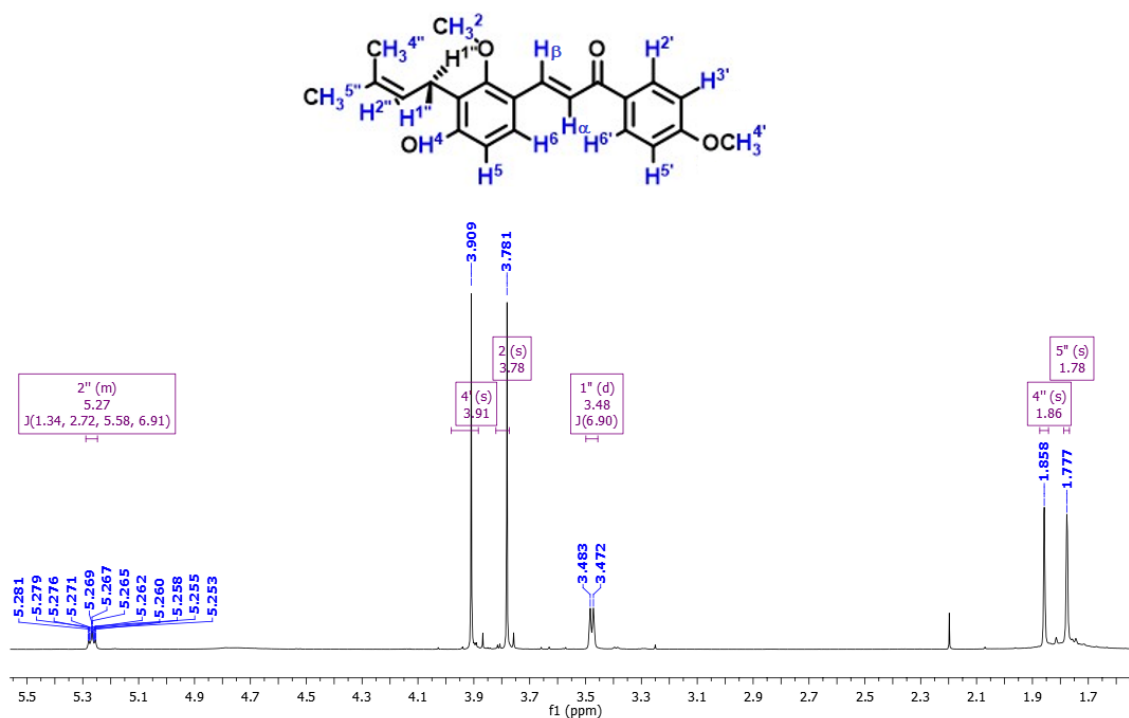
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, OCH₃(8 mg) em CDCl₃
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 17. Espectro de RMN de ^1H de **15** – Ampliado de 1,7 a 5,5 ppm.

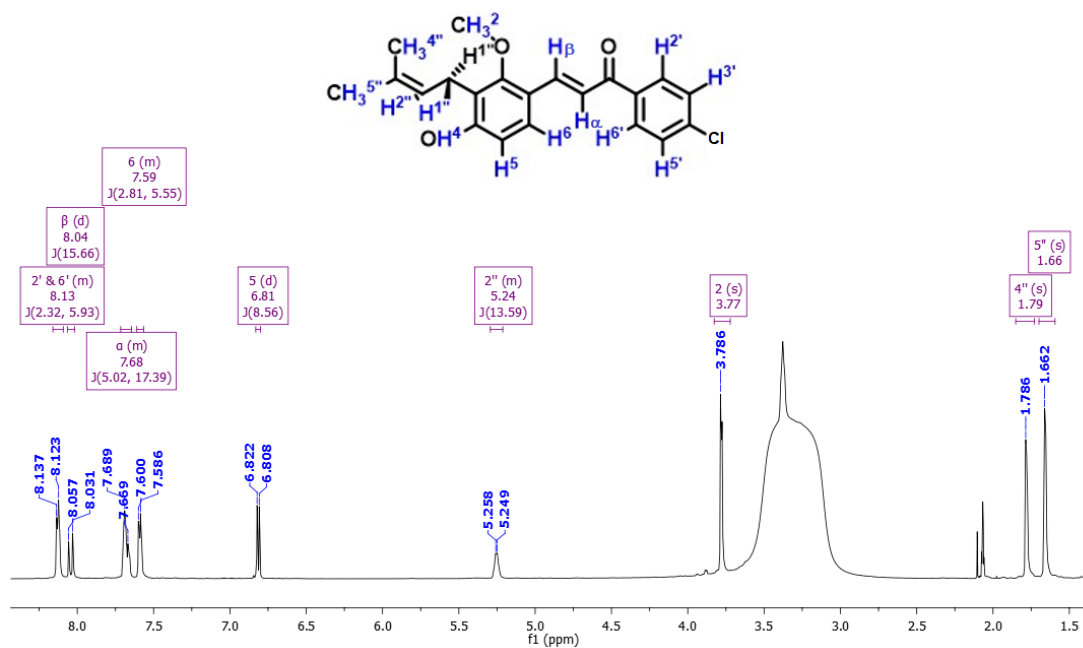
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, OCH₃(8 mg) em CDCl₃
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 18. Espectro de RMN de ^1H de **16**.

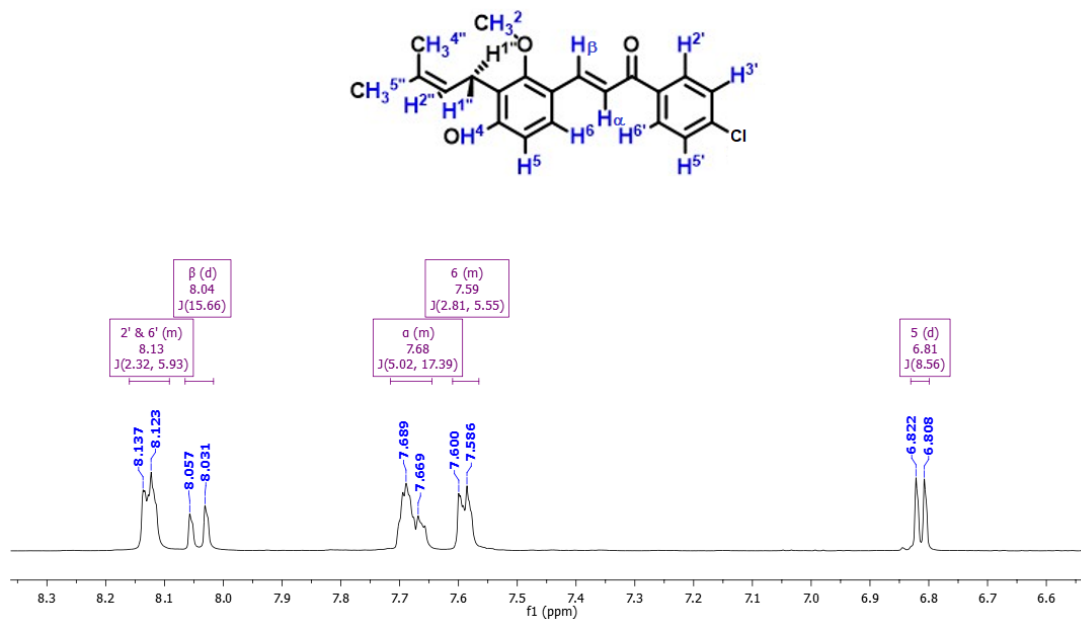
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Cl (7 mg) em acetone-d₆
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 19. Espectro de RMN de ^1H de **16** – Ampliado de 6,6 a 8,3 ppm.

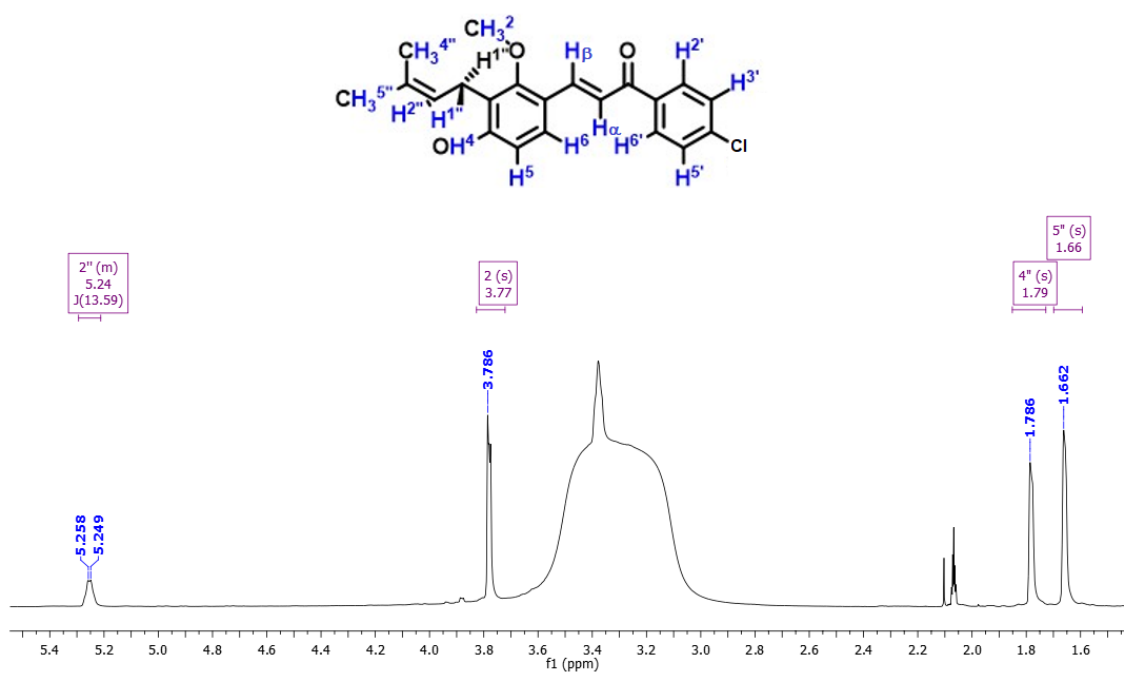
Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Cl (7 mg) em acetone-d₆
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 20. Espectro de RMN de ^1H de **16** – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm.

Rar\$DRa13492.15775
Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Cl (7 mg) em acetone-d₆
25.0 C

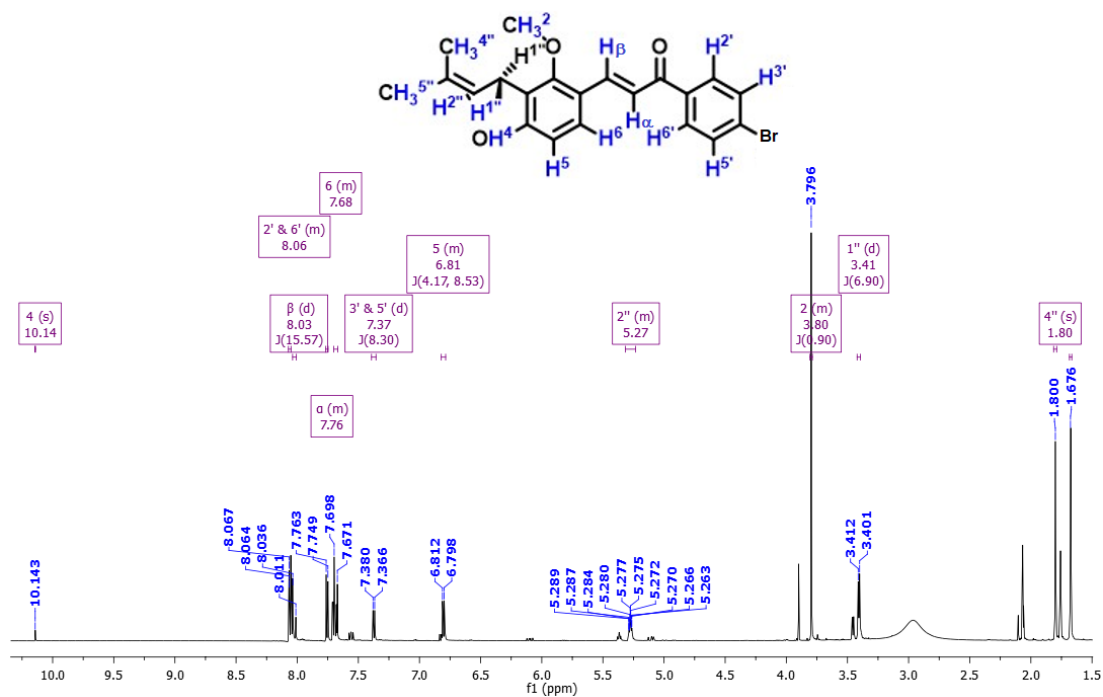


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 21. Espectro de RMN de ^1H de 17.

Rar\$DRa13492.15775

Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Br (5.5 mg) em acetone- d_6
25.0 C

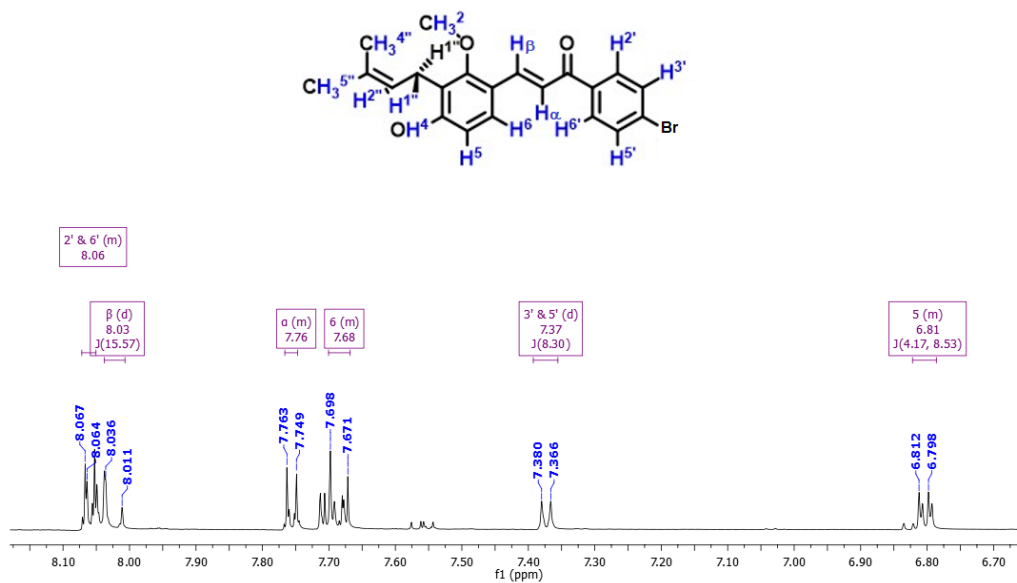


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 22. Espectro de RMN de ^1H de 17 – Ampliado de 6,7 a 8,1 ppm.

Rar\$DRa13492.15775

Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Br (5.5 mg) em acetone- d_6
25.0 C

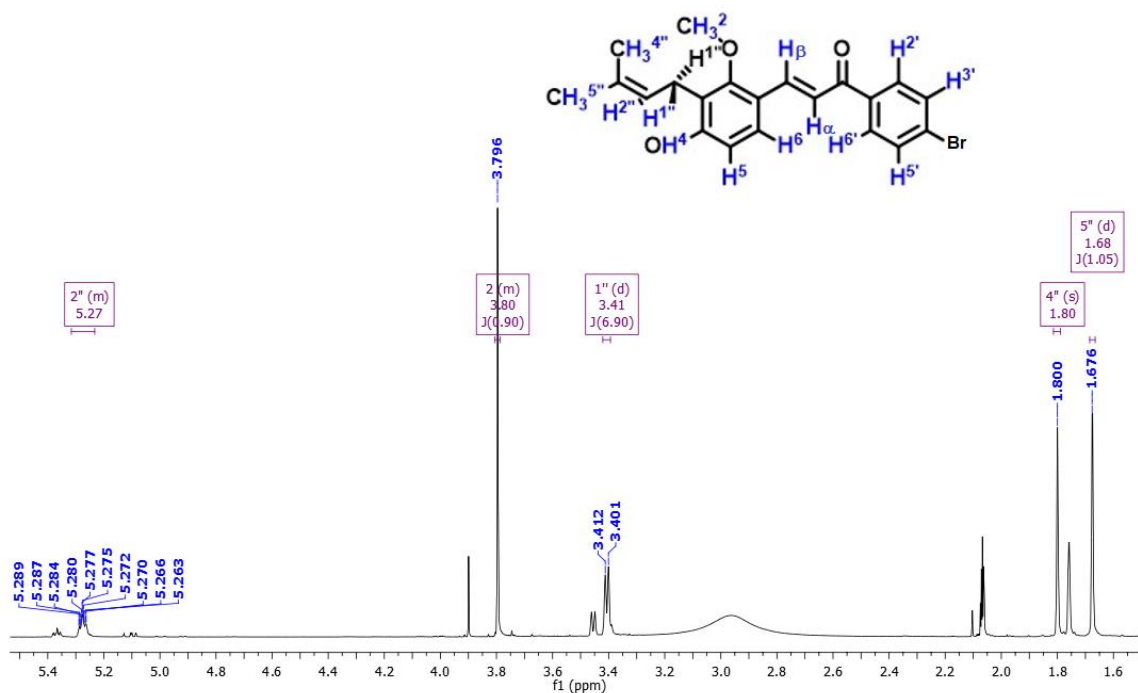


Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 23. Espectro de RMN de ^1H de **17** – Ampliado de 1,6 a 5,4 ppm.

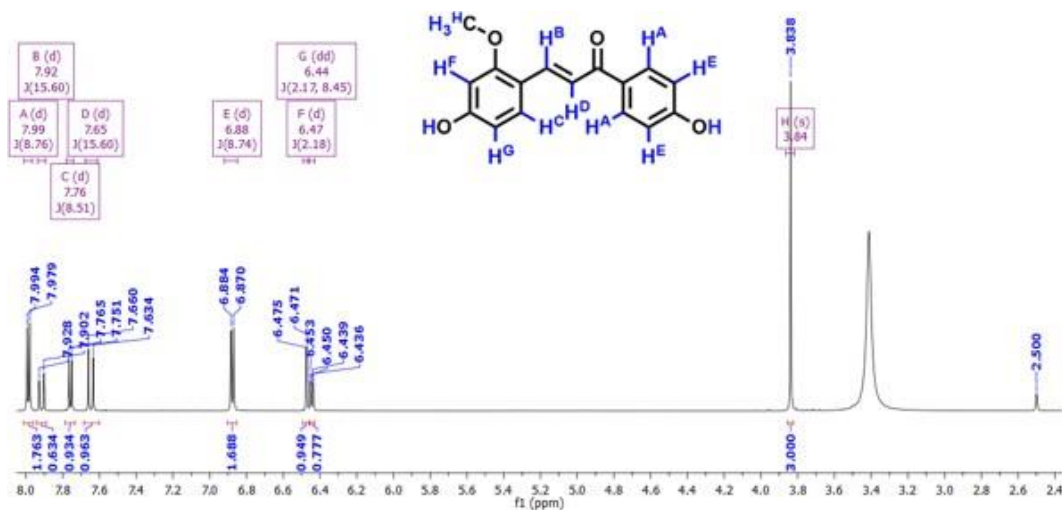
Rar\$DRa13492.15775

Prof. Luis Octavio, amostra Patrick, Br (5.5 mg) em acetone- d_6
25.0 C



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 24. Espectro de RMN de ^1H de **21**.



Fonte: Elaborado pelo autor.