



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS – UEG
CÂMPUS ANÁPOLIS DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLÓGICAS – CCET
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM CIÊNCIAS APLICADAS
A PRODUTOS PARA SAÚDE (PPG-CAPS)

MILENA ARAÚJO AGRA

**SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
BIOLÓGICA DE DERIVADOS FLUORADOS DE CHALCONAS**

Anápolis – GO

2022

MILENA ARAÚJO AGRA

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DOS DERIVADOS FLUORADOS DE CHALCONAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Aplicadas a Produtos Para Saúde (nível mestrado), da Universidade Estadual de Goiás como exigência para obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino.

Coorientador: Prof. Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves.

Anápolis – GO

2022

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AAR66 Araujo, Milena
3s SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
 BIOLÓGICA DE DERIVADOS FLUORADOS DE CHALCONAS / Milena
 Araujo; orientador Gilberto Lúcio Benedito de Aquino;
 co-orientador Plínio Lázaro Faleiro Naves. -- Anápolis,
 2022.
 73 p.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
 Mestrado Acadêmico em Ciências Aplicadas a Produtos
 para Saúde) -- Câmpus Central - Sede: Anápolis - CET,
 Universidade Estadual de Goiás, 2022.

 1. chalconas sintéticas. 2. atividade antitumoral.
 3. Pseudomonas aeruginosa. 4. novos fármacos. I. Lúcio
 Benedito de Aquino, Gilberto , orient. II. Lázaro
 Faleiro Naves, Plínio, co-orient. III. Título.



TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL (BDTD)

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Estadual de Goiás a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UEG), regulamentada pela Resolução, **CsA n.1087/2019** sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

Dados do autor (a)

Nome Completo: Milena Araújo Agra

E-mail: milenaaraujoagra@gmail.com

Dados do trabalho

Título: Síntese, Caracterização e Avaliação da Atividade Biológica de Derivados Fluorados de Chalconas.

Tipo

() Tese (x) Dissertação

Curso/Programa: Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde

Concorda com a liberação documento [x] SIM

[] NÃO¹

Anápolis, 27 / 03 / 2023

Local

Data



Documento assinado digitalmente

MILENA ARAUJO AGRA

Data: 29/05/2023 12:11:39-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do autor (a)



Documento assinado digitalmente

GILBERTO LUCIO BENEDITO DE AQUINO

Data: 31/05/2023 12:12:37-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do orientador (a)

¹ Casos de impedimento:

- Período de embargo é de um ano a partir da data de defesa
- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Universidade
Estadual de
Goiás



ESTADO DE GOIÁS
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG

CERTIFICADO

Certificamos que a Banca Examinadora de Defesa de Mestrado da discente **Milena Araújo Agra**, cujo trabalho intitula-se "**Síntese, caracterização e avaliação da atividade biológica dos derivados fluorados de chalcona**" foi composta pelos seguintes examinadores:

Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino – Presidente (UEG)
Profa. Dra. Giulliana Muniz Vila Verde Safadi – Examinadora externa (UEG)
Prof. Dr. Lucas Danilo Dias – Examinador interno (UEG)
Profa. Dra. Eliete Souza Santana – Suplente interna (UEG)
Prof. Dr. Hamilton Barbosa Napolitano – Suplente externo (UEG / UNIEVANGÉLICA)

ANAPOLIS, aos 30 dias do mês de setembro de 2022.

Prof. Dr. Flávio Monteiro Ayres
Coordenador do PPGCAPS



Documento assinado eletronicamente por **FLAVIO MONTEIRO AYRES, Coordenador (a)**, em 23/11/2022, às 18:26, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1 informando o código verificador **000035691567** e o código CRC **7FB53E0F**.

COORDENAÇÃO STRICTO SENSU - CIÊNCIAS APLICADAS A PRODUTOS PARA SAÚDE
RODOVIA BR 153 S/N Qd.ÁREA Lt., KM 99 - Bairro ZONA RURAL - ANAPOLIS - GO - CEP
75132-903 - (62)3328-1162.



Referência: Processo nº 202100020016320



SEI 000035691567

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus pelo dom da vida e Nossa Senhora, por nunca desamparar seus filhos.

Agradeço em seguida a minha mãe Shirley de Araújo Agra, que foi a pessoa que mais contribuiu para que eu chegasse até aqui. Nos momentos mais difíceis ela me deu palavras de conforto, coragem e jamais permitiu que eu desistisse. Mãe, obrigada pelas orações diárias, sem você nada disso teria se realizado.

Aos meus amigos e familiares que me proporcionaram momentos de descontração, palavras de incentivo e força, a vocês, o meu muito obrigado.

Ao meu companheiro Victor Miquelito Toniolo pela compreensão em todos os momentos, obrigada por toda ajuda.

A meu orientador Gilberto Lúcio Benedito de Aquino que me aceitou neste projeto, mesmo sabendo de todas as dificuldades e com todo carinho me ajudou com seus conhecimentos para a realização deste trabalho.

Ao meu coorientador Plínio Lázaro Faleiro Naves por seus conhecimentos e ensinamentos que possibilitaram a realização da etapa microbiológica e continuidade no mestrado. Nos momentos de desespero sempre me tranquilizava, dando palavras de incentivo e força. Um exemplo de ser humano.

Ao meu amigo e colega de mestrado Osvaldo Gomes Pinto que me ajudou ativamente com seus conhecimentos nos ensaios biológicos e palavras de incentivo.

Aos meus colegas de mestrado Stephany Marques, Reuber, Elizabeth, Ester, Isadora, Tati, obrigada pela parceria nas aulas, seminários e laboratório, vocês tornaram essa caminhada mais leve. A Amanda Correia que gentilmente disponibilizou seu tempo para auxiliar na realização da técnica de CMI.

Ao CAPS que me permitiu realizar este mestrado.

Aos professores da banca examinadora, que aceitaram participar, e são peças fundamentais para a concretização desta tese. Muito obrigada!

“A persistência é o caminho do êxito”

Charles Chaplin

SUMÁRIO

Introdução	13
Capítulo 1 - Síntese e Caracterização de Derivados Fluorados de Chalcona.....	16
Capítulo 2 - Efeito de chalconas na formação de biofilme por isolados clínicos de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36
Capítulo 3 - Avaliação da Atividade Antitumoral de Derivados de Chalconas.....	55
Capítulo 4 - Avaliação da toxicidade de derivados de chalconas em <i>Artemia salina</i> ...	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 01

Figura 01 – Representação estrutural do núcleo das chalconas.....	19
Figura 02 – Rota biossintética de chalconas.....	20
Figura 03 – Espécie <i>Carthamus tinctorius</i> L, fenótipo vermelho/laranja.....	21
Figura 04 – Chalcona isolada de extrato vegetal.....	21
Figura 05 – Esquema da reação de acetofenona (6) e benzaldeído (7) substituídos para formar a chalcona (8).....	22
Figura 06 – Mecanismo da reação de condensação de Claisen-Schmidt.....	23
Figura 07 – Mecanismo proposto para reação de Claisen-Schmidt catalisada por protonação ácida da função carbonil cetona.....	24
Figura 08 – Compostos 9a e 9b	25
Figura 09 – Esquema da reação de 6a e 7a para formar o composto 8a.....	27
Figura 10 – Esquema da reação de 6b e 7b para formar o composto 8b.....	28
Figura 11 – Esquema da reação de síntese do derivado pirazólico 9a	29
Figura 11a – Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, Acetona-d ₆) do composto 9a....	30
Figura 11b – Espectro de RMN de ¹³ C (126 MHz, acetona-d ₆) do composto 9a....	30
Figura 12 – Esquema da reação de síntese do derivado pirazólico 9b.....	31
Figura 12a – Espectro de RMN de ¹ H (500 MHz, Acetona-d ₆) do composto 9b....	32
Figura 12b – Espectro de RMN de ¹³ C (126 MHz, Acetona-d ₆) do composto 9b..	32

Capítulo 02

Figura 01 – Síntese de (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona (B1)	41
Figura 02 – Síntese de (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (C1).....	42
Figura 03 – Síntese de (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona(C4)	42
Figura 04 – Diluição dos compostos de chalcona no ensaio de biofilme.....	43
Figura 05 – Determinação da biomassa total de biofilme de <i>P. aeruginosa</i> pelo método cristal violeta frente aos derivados de Chalconas.....	45

Capítulo 03

Figura 01 – Estruturas químicas de chalconas anticânceres obtidas de fonte natural.....	56
Figura 02 – Técnica do ensaio de disco de batata (<i>Solanum tuberosum</i>).....	58
Figura 03 – Preparo do inóculo bacteriano <i>R. radiobacter</i> ATCC 4720.....	59

Figura 04 – Aspectos macroscópicos dos discos batata expostos aos derivados de chalconas.....	61
Figura 05 – Controle de técnica dos derivados de chalcona nos discos de batata frente a <i>R. radiobacter</i>	61
Capítulo 04	
Figura 01 – Estrutura das chalconas.....	64
Figura 02 – Aplicações dos compostos derivados de chalconas.....	65
Figura 03 – Náuplio de <i>A. salina</i>	66
Figura 04 – Diluição das chalconas para ensaio de <i>Artemia Salina</i>	67
Figura 05 – Ensaio de letalidade de <i>Artemia Salina</i> para os derivados de chalconas.....	68

ÍNDICE DE TABELAS E QUADROS

Capítulo 02

Quadro 01 – Estrutura Molecular dos Derivados de Chalconas.....	46
Tabela 01 – Índice e categoria de formação de biofilme de <i>P. aeruginosa</i>	47
Tabela 02 – Índice de formação de biofilme de <i>P. aeruginosa</i> na presença dos derivados de Chalconas.....	48

Capítulo 03

Tabela 01 – Média e porcentagem dos resultados do bioensaio de disco de batata dos derivados B1 e B2.....	59
--	----

Capítulo 04

Quadro 01 – Estrutura da chalcona e grupos substituintes dos derivados de chalcona.....	69
Tabela 01 – Concentração letal (CL50) dos derivados de chalconas para <i>Artemia salina</i>	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANOVA: Análise de Variância

ATCC: *American Type Culture Collection*

BHI: *Brain Heart Infusion*

CC: Cromatografia em Coluna

CCD: Cromatografia em Camada Delgada

CDC: Centro de Controle de Doenças

CG/EM: Cromatógrafo Gasoso acoplado a Espectrômetro de Massas

CG: Cromatografia gasosa

CLSI: *Clinical and Laboratory Standards Institute*

CMI: Concentração Mínima Inibitória

CMB: Concentração Mínima Bactericida

DMSO: Dimetilsulfóxido

EGFR: *Epidermal growth factor*

ESKAPE: *Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, P. aeruginosa* e espécies de *Enterobacter*.

EtOH: Etanol; Álcool Etílico

FM: Fórmula Molecular

GHz: Giga-hertz

Hz: Hertz

IPTSP: Instituto de Patologia e Saúde Tropical

IV: Infravermelho

J: Constante de acoplamento

KBr: Brometo de Potássio

KCl: Cloreto de Potássio

kHz: kilo-Hertz

LPBIOS: Laboratório de Pesquisa em Bioprodutos e Síntese

m/z: Relação massa carga dos íons

m: Multiplete

µg: Micrograma

MeOH: Metanol; Álcool Metílico

MH: Mueller-Hinton

MHz: Mega-hertz

N₂: Nitrogênio

NaCl: Cloreto de Sódio

NaOH: Hidróxido de Sódio

NTT: Número de Tumores Tratados

NTC: Número de Tumores Controles

OMS: Organização Mundial da Saúde

pH: Potencial de Hidrogênio

QS: *Quorum Sensing*

RMN: Ressonância Magnética Nuclear

RMN de ¹H: RMN de Próton

RMN de ¹³C: RMN de Carbono 13

Si-G: Sílica Gel

SFE: Solução Fisiológica Estéril

UEG: Universidade Estadual de Goiás

UFC: Unidades Formadoras de Colônias

UFG: Universidade Federal de Goiás

UV₂₅₄: Ultravioleta a 254 nm

δ: Deslocamento químico em partes por milhão

RESUMO

Chalconas são substâncias caracterizadas por um sistema carbonílico α , β -insaturado que une dois anéis aromáticos formando o núcleo central de muitos compostos biológicos importantes. São os precursores biogénicos de flavonóides e isoflavonóides encontrados abundantes nas plantas. A classe das chalconas têm atraído muito interesse não só sob as perspectivas sintética e biossintética, mas também devido a suas amplas atividades biológicas. Neste contexto, o presente trabalho propõe a síntese e caracterização de compostos derivados de chalcona (9a e 9b), avaliação do efeito de chalconas (B1, C1, C2 e C4) na formação de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*, na triagem da atividade antitumoral através da técnica do bioensaio de discos de batatas dos derivados B1 e B2 e na toxicidade dos quatro derivados de Chalconas em *Artemia salina*. Os compostos pirazólicos 1-(5-(2,6-difluorofenil)-4,5-di-hidro-3-p-tolilpirazol-1-il)etenona (**9a**) e 1-(5-(2,6-difluorofenil)-3-(furan-2-il)-4,5-dihidropirazol-1-il)etanona (**9b**) foram sintetizados a partir das respectivas chalconas pela reação de condensação aldólica do tipo Claisen-Schmidt, utilizando aldeídos aromáticos e cetonas aromáticas, em seguida foram caracterizados por espectrometria na região do infravermelho (IV), ultravioleta visível (UV), espectrometria de massas (CG-EM) e espectrometria de ressonância magnética (RMN) de ^1H e ^{13}C tendo suas atividades biológicas avaliadas. Os compostos **B1**, **C2** e **C4** não apresentaram atividade antibiofilme significativa contra *P. aeruginosa* com exceção do composto C1 que apresentou inibição para a cepa Pa06. A triagem da atividade antitumoral resultou em valores variando de 85,06% - 24,14% para o composto B1 e 73,56% - 27,59% para o composto B2 indicando uma possível atividade antitumoral. A triagem da toxicidade dos derivados de chalcona revelaram toxicidade frente a *Artemia Salina*.

Palavras-chave: chalconas sintéticas, atividade antitumoral, *Pseudomonas aeruginosa*, novos fármacos.

ABSTRACT

Chalcones form the core of many α , β -unsaturated aromatics that form the core of many aromatics. They are the biogenetic precursors of flavonoids and isoflavonoids found abundantly in plants. The chalcone class has attracted much interest not only from a biosynthetic perspective, but also because of its broad biological activities. In this context, the present work of synthesis and characterization of chalcone components (9a and 9b), evaluation of the effect of chalcones (B1, C1, C2 and C4) in the formation of biofilm isolated by clinicians of *Pseudomonas aeruginosa*, in the screening of antitumor activity through the potato disk bioassay technique of results B1 and B2 and on the toxicity of the four results of Chalconas in *Artemia salina*. The pyrazole compounds 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-3-p-tolylpyrazol-1-yl)ethanone (9a) and 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-3-(furan-2-yl)-4,5-dihydropyrazol-1-yl)ethanone (9b) were from the single chalcones by the Claisen-Schmidt type aldol reaction, using some aromatic reactions and aromatic ketones, then they were characterized by spectrometry in the infrared region (IR), magnetic mass spectrometry (NMR) and magnetic mass spectrometry (NMR) of ^1H and ^{13}C having their biological activities. Compounds B1, C2 and C4 did not show *P. aeruginosa* antifilm activity, with the exception of compound C1, which had an effect on the Pa06 strain. The activity of antitumor activity resulted in values ranging from 85.06% - 24.1% for compound B1 and 73,56% - 27,59% for compound B2, indicating a possible antitumor activity. Toxicity screening of chalconity results revealed toxicity against *Artemia Salina*.

Keywords: synthetic chalcones, antitumor activity, *Pseudomonas aeruginosa*, new drugs.

INTRODUÇÃO

Compostos com estruturas químicas privilegiadas têm sido amplamente utilizados como modelos eficazes, na química medicinal, para a descoberta de novos fármacos. Neste contexto, os compostos derivados de “chalconas” têm mostrado inúmeras atividades biológicas interessantes, com potencial clínico contra várias doenças (ZHUANG et al., 2017).

As chalconas, estruturalmente, consistem de dois anéis aromáticos conectados por um grupo carbonil α , β -insaturado, pertencentes à classe dos metabólitos secundários dos vegetais. Essas substâncias têm atraído o interesse da comunidade científica devido às suas propriedades farmacológicas, na qual exibem atividades: antibacteriana, antimalárica, antifúngica, antiviral, anti-inflamatória, imunomodulatória e antimicrobiana. Possuem também uma atividade citotóxica significativa contra várias células cancerosas (KURT et al., 2017).

As diversas propriedades biológicas das chalconas, conhecidas como cetonas α , β -insaturadas, são atribuídas a parte olefínica ($-\text{HC}=\text{CH}-$) conjugada a cetona e ao padrão de substituição de seus anéis aromáticos, resultando em moléculas e estruturas distintas (UŠJAK et al., 2019; QUEIROZ., 2018). A relação da estrutura química dos derivados de chalconas e a sua atividade antimicrobiana, é explicada pela porção cetona α , β -insaturada, essencial para a inibição das cepas bacterianas. Dessa forma, várias porções bioativas podem ser introduzidas nos anéis A ou B para desenvolvimento de potenciais antibacterianos (DAN; DAI, 2020).

A atividade antitumoral de chalconas sintéticas, naturais e derivados de chalconas foram reportadas em diversas literaturas (RUDRAPAL et al., 2021; OUYANG et al., 2021) Por sua atividade antiproliferativa é frequentemente devido a inibição da tubulina e a ruptura dos microtúbulos, que é vital para a regulação da forma celular e funções celulares (MIRZAEI et al., 2019). Dentre os vários mecanismos relacionados ao crescimento de tumores é citado o “*epidermal growth*” *factor receptor* (EGFR), que é um receptor tirosina quinase que regula a proliferação celular. Através de estudos constatou-se que existe interação de chalconas e o receptor EGFR através de ligações de hidrogênio e π -cátion (OLIVEIRA, 2019; PRASAD et al., 2021).

Assim, o presente trabalho propôs realizar a síntese e caracterização de derivados fluorados de chalconas avaliando a atividade biológica na inibição do biofilme contra as cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, atividade antiumoral por meio da triagem com a técnica do disco de batata e pôr fim avaliação da toxicidade preliminar com o ensaio de letalidade de *Artemia salina*

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar e avaliar a atividade biológica de derivados fluorados de chalconas.

Objetivos Específicos

Capítulo 1 – Sintetizar dois derivados fluorados de chalconas através do método de reações de condensação aldólica de Schmidt e caracterizar com espectroscopia na região do Infravermelho, ultravioleta visível, espectrometria de massas, espectrometria de ressonância magnética e espectroscopia de raio-X

Capítulo 2 – Avaliar o efeito das chalconas obtidas na formação de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*.

Capítulo 3 – Realizar a triagem da atividade anti-tumoral de dois derivados de chalconas por meio da técnica do bioensaio em disco de batata e correlacionar a estrutura dos compostos com as atividades biológicas avaliadas.

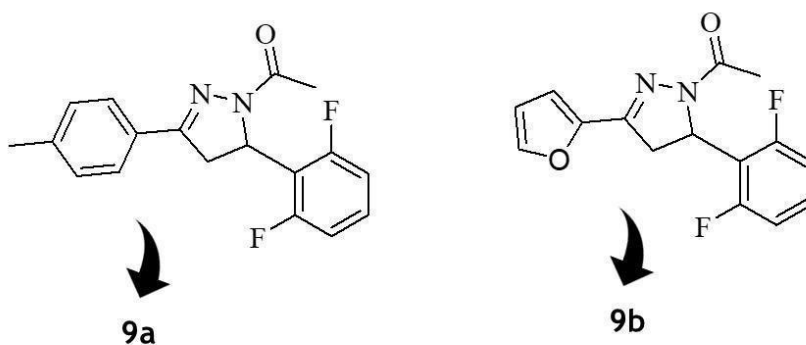
Capítulo 4 – Avaliar a toxicidade preliminar e a correlação estrutura/atividade de quatro derivados de chalconas com o ensaio de letalidade de *Artemia salina*.

CAPÍTULO 1: SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DOS DERIVADOS FLUORADOS DE CHALCONAS.

Submetido à " Revista Virtual de Química" (conforme "print" de confirmação de e-mail recebido) como publicação interdisciplinar.

Qualis CAPES: B2 Interdisciplinar Triênio 2013-2016 segundo Plataforma Sucupira.

Síntese e Caracterização dos Derivados Fluorados de Chalconas



The purpose of this work was to carry out the synthesis and characterization of the fluorinated compounds of chalcone 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-3-p-tolylpyrazol-1-yl)ethanone (9a) and 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-3-(furan-2-yl)-4,5-dihydropyrazol-1-yl)ethanone (9b) by Claisen-Schmidt type aldol condensation reaction .

Síntese e Caracterização de Derivados Fluorados de Chalconas.

Synthesis and Characterization of Fluorinated Derivatives of Chalconas.

**Milena Araújo Agra^{a,*}, Jaqueline Evangelista de Queiroz^a, Plínio Lazáro Faleiro Naves^a,
Gilberto Lúcio Benedito de Aquino^a.**

^aPrograma de Pós-graduação Ciências Aplicadas em Produtos de Saúde da Universidade Estadual de Goiás (UEG), Anápolis-GO.

*milenaaraujoagra@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-2422-8782>

Abstract

Chalcones are substances formed by an α , β -unsaturated carbonyl system that joins two aromatic rings forming the central core of many important biological compounds. They are the biogenetic precursors of flavonoids and isoflavonoids found abundantly in plants. The chalcone class is of great interest not only from a biosynthetic perspective, but also because of its broad biological activities. In this, the present work of synthesis and characterization of two components constitutes the context of chalcone 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-3-p-tolylpyrazol-1-yl)ethenone (9a) and 1-(5-(2,6-difluorophenyl)-3-(furan-2-yl)-4,5-dihydropyrazol-1-yl)ethanone (9b) by Claisen-Schmidt type aldol condensation reaction, using aromatic aldehydes and aromatic ketones, were then characterized by infrared (IR), ultraviolet visible (UV) spectrometry, mass spectrometry (GC-MS) and ¹H and ¹³C magnetic image spectrometry (NMR).

Keywords: Chalcones, claisen-schmidt, aromatic ketones.

1. Introdução

A busca de medicamentos menos tóxicos resultou no final do século XIX, na introdução de substâncias sintéticas utilizadas na terapêutica, nas quais foram amplamente disseminadas no século XX. O conhecimento inicialmente estava centrado em produtos

naturais isolados de plantas e animais, mas à medida que se difundiu o conhecimento e os avanços tecnológicos, uma ampla faixa de compostos de origem sintética passaram a ser utilizados para fins terapêuticos. Na literatura relata-se que cerca de 85% dos fármacos disponíveis na terapêutica moderna são de origem sintética.¹⁻²

A criação de um novo medicamento geralmente envolve as etapas de descoberta e desenvolvimento. Durante a etapa de descoberta, uma pesquisa intensiva é realizada para encontrar pequenas moléculas farmacologicamente ativas com propriedades farmacocinéticas e toxicológicas aceitáveis. Ou seja, nessa etapa o foco é a descoberta de alvos terapêuticos, desenho e seleção de moléculas líderes para o alvo pretendido e otimizações na molécula visando o seu desenvolvimento como candidato a fármaco.²⁻³

Com o avanço das tecnologias, as indústrias farmacêuticas bem como os centros de pesquisa passaram a utilizar os recursos da química combinatória, de modo a testar milhares de amostras candidatas a fármacos. Ao mesmo tempo em que reduziu, em parte, o tempo da descoberta de novas drogas, fez com que os custos de desenvolvimento de um novo medicamento aumentassem significativamente⁴.

A cada 30.000 moléculas sintetizadas, cerca de 20.000 entram na fase de estudos pré-clínicos, onde duzentas entram na fase I de estudos clínicos; quarenta passam para a fase II, doze entram na fase III e somente 9 são aprovadas pelos órgãos regulatórios. Por causa dos aumentos crescentes dos gastos necessários para se desenvolver novos medicamentos inovadores, associados aos elevados riscos envolvidos no processo como: baixa biodisponibilidade, ausência de eficácia, detecção efeitos tóxicos e razões de mercado, muitas indústrias farmacêuticas realizam grandes esforços visando encontrar novos usos para os medicamentos já aprovados/registrados⁴⁻⁵.

Durante o processo de identificação e seleção de compostos capazes de interagir com o alvo é possível explorar o grande espaço da química medicinal, de forma a correlacionar as estruturas químicas com o espaço biológico. Dentre as técnicas temos, ensaio virtual, estudo das relações entre estrutura e atividade entre outros.⁴⁻⁵

Neste contexto, a química medicinal serve de alicerce para o desenvolvimento de medicamentos ou síntese de compostos biologicamente ativos abrangendo diversas especialidades, tais como química orgânica, bioquímica, farmacologia, informática, biologia molecular e estrutural, entre outras. Além da descoberta de moléculas bioativas, a química medicinal também incorpora os estudos do metabolismo e das relações entre a estrutura química e atividade.³⁻⁵⁻⁶

1.1. CHALCONAS

Chalconas são cetonas α , β -insaturadas, que apresentam o núcleo 1,3 diarilprop-2-en-1-ona e o esqueleto C6-C3-C6, formado por dois anéis aromáticos conectados por uma cadeia de três carbonos considerado privilegiado no desenho de fármacos (figura 01). As chalconas têm ampla distribuição em vegetais, frutas, chás e outras plantas, principalmente nas pétalas das flores, possuindo importante papel na polinização das plantas. Sua coloração amarela atrai insetos e pássaros que assim, polinizam outras plantas.⁷ As chalconas são uma importante subgrupo de pequenos compostos aromáticos com várias propriedades e aplicações biológicas.

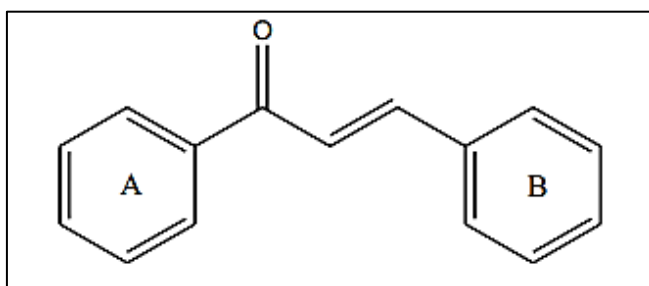


Figura 01. Representação estrutural do núcleo das chalconas.

O subgrupo das chalconas têm atraído muito interesse não só das perspectivas sintética e biossintética, mas também devido a suas amplas atividades biológicas. As aplicações terapêuticas dos chalconas remontam a milhares de anos ao longo do uso de plantas e ervas para o tratamento de diferentes distúrbios, como câncer, inflamação e diabetes. Vários compostos à base de chalcona foram aprovados para uso clínico.⁷

Acredita-se que a presença da dupla ligação conjugada à função carbonila em um sistema elétron- π , como os anéis de benzeno, é responsável pela atividade biológica das chalconas, embora a presença de grupos substituintes nos anéis aromáticos contribui para melhorar o efeito da atividade. A ação biológica dos chalconas inclui atividades tais como: antimalária, anticâncer, antiprotozoária, antiinflamatória, antibacteriana, antifúngica, antimicrobiana, larvicida, anticonvulsivante e antioxidante.⁸

1.2. BIOSÍNTESE DE CHALCONAS

As chalconas são os primeiros metabólitos intermediários chave na biossíntese de flavonóides, isoflavonóides, antocianidinas, proantocianidinas e outros compostos polifenólicos. Dessa forma, a principal rota biossintética para a obtenção das chalconas ocorre por meio do aminoácido aromático conhecido como fenilalanina. Esse aminoácido aromático, provém da via do ácido chiquímico. precursor biossintético de muitos alcaloides, aminoácidos aromáticos e flavonoides. A junção do ácido chiquímico e uma molécula de fosfoenolpiruvato formaram o ácido corísmico, que por sua vez, geram os aminoácidos triptofano, fenilalanina e tirosina.⁷⁻⁸

Para a obtenção das chalconas a partir do aminoácido Fenilalanina **1**, são necessárias, no mínimo, 7 etapas. Para a formação do intermediário *p*-Coumaroil-CoA **2**, inicialmente, tem-se três enzimas. Esse intermediário reage com três equivalentes do Malonil-CoA **3** para formar a trihidroxichalcona **4**.⁹ A rota biossintética é ilustrada abaixo:

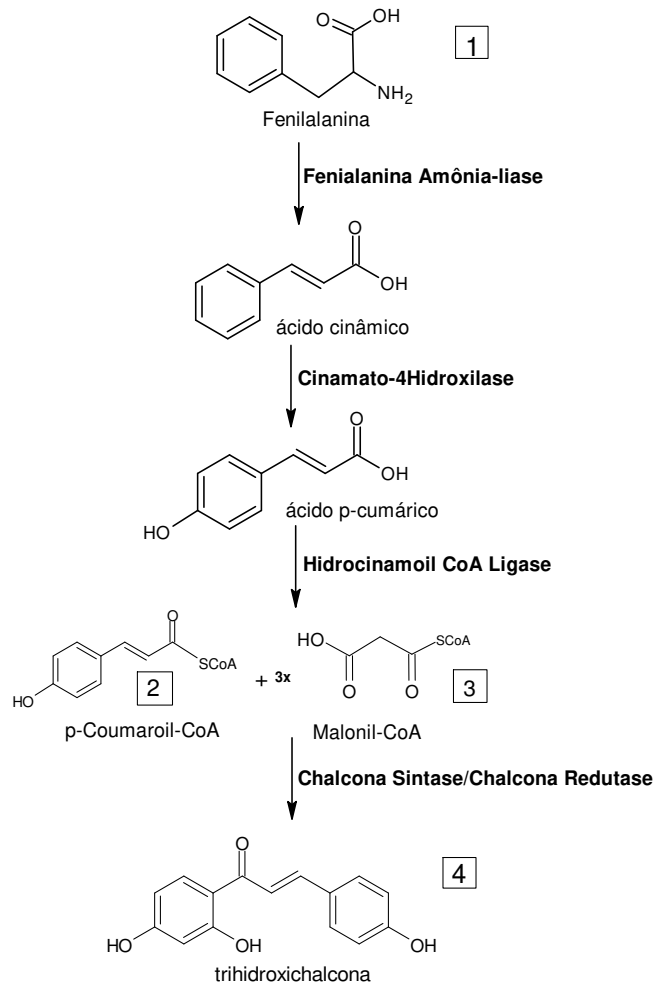


Figura 02. Rota biossintética de chalconas.

Os flavonóides constituem um dos principais pigmentos das plantas, como as antocianinas (pigmentos vermelhos, laranja, azuis e roxos), chalconas e auronas (pigmentos

amarelos) e flavonóis e flavonas (pigmentos brancos e amarelo-claros), que conferem às plantas uma grande variedade de cores. Nas plantas, os flavonóides também podem atuar como moléculas sinalizadoras, atraindo insetos para polinização.⁸

Os primeiros relatos de isolamento de chalconas vegetais foram em 1910, através da manipulação de extratos da espécie *Carthamus tinctorius* L., comumente conhecido como cártamo¹⁰ ou flores de açafrão (figura 03) no qual foi obtida a chalcona cartamidina⁹ (figura 04)



Figura 03. Espécie *Carthamus tinctorius* L, fenótipo vermelho/laranja

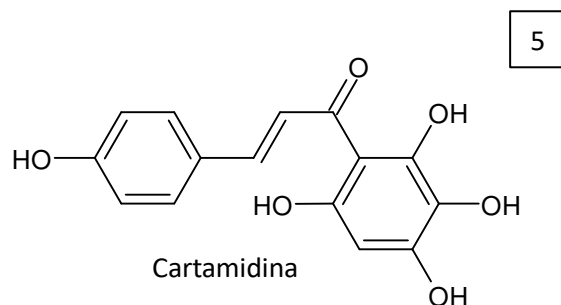


Figura 04. Chalcona isolada de extrato vegetal.

O cártamo, *Carthamus tinctorius* L., é um membro da família de plantas Compositae ou Asteraceae, e é cultivado principalmente por suas sementes, que são comestíveis, ou suas flores, que podem ser usadas para colorir, aromatizar alimentos ou como propósito de medicamentos. Na medicina popular o cártamo é utilizado como analgésico, remédio antitrombótico e anti-hipertensivo. Em algumas regiões da África e da Ásia, são utilizados como antídoto para venenos, laxantes, adoçante e antipirético.¹¹⁻¹²

A exibição natural atraente de cores de flores é atribuível a antocianinas, betalaínas e carotenóides. Os pigmentos de cártamo são únicos em flores de cártamo, que incluem pigmentos amarelos solúveis em água e pigmentos vermelhos insolúveis em água. No entanto, atualmente apenas três compostos de cártamo pigmento vermelho, cartamina, neocartamina e carthamona foram encontrados, dos quais a cartamina é o principal componente e são classificados na família quinochalcona de flavonóides.¹²⁻¹³⁻¹⁴

Mais de 200 compostos diversos, isolados de *C. tinctorius* L., incluindo os ácidos graxos, esteróides, flavonóides, cumarinas, polissacarídeos, têm inúmeras propriedades biológicas, como anti-inflamatória, analgésica, antitrombótica, antioxidante, hepatoprotetora, antidiabética, antimicrobianas bem como antifúngica. A semente do óleo de cártamo tem efeitos benéficos na osteoporose, devido aos altos níveis de ácido linoleico. Possui também efeito anticoagulante e são usadas para promover a circulação sanguínea. O *C. tinctorius* L. contém substâncias fenólicas e flavonóides e exibe eliminação de radicais e oxigênio propriedades absorventes de radicais e, como o extrato de cártamo reduz o estresse oxidativo, é usado para prevenir e tratar algumas doenças cardíacas¹⁴⁻¹⁵.

Desde então, várias outras foram isoladas, dentre as quais podemos destacar a isoliquiritigenina, obtida a partir de extratos do alcaçuz e a buteína extraída da casca do fruto de *Dipteryx lacunifera*, que possuem propriedades anticânceres.¹⁶

1.3. Síntese de Chalconas

Várias metodologias são propostas para a síntese das chalconas e seus derivados, entretanto o principal método citado na literatura e obtido mais facilmente é através da reação de condensação aldólica do tipo Claisen-Schmidt, utilizando aldeídos aromáticos e cetonas aromáticas¹⁷, conforme esquema geral abaixo:

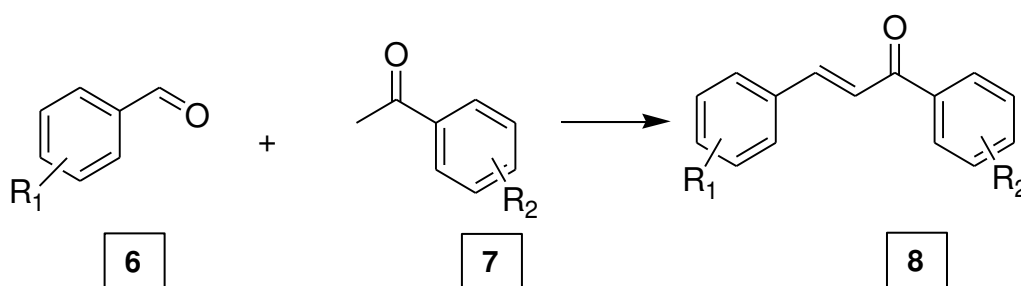


Figura 05 – Esquema da reação de acetofenona (6) e benzaldeído (7) substituídos para formar a chalcona (8).

A primeira etapa da reação de condensação de Claisen-Schmidt é a desprotonação

da cetona. A base utilizada na reação abstrai o hidrogênio ácido da molécula, formando um carbânion, que é estabilizado por ressonância com o oxigênio (íon enolato). Em seguida, ocorre o ataque nucleofílico da ligação dupla ao carbono carbonílico do aldeído, formando um intermediário tetraédrico (íon alcóxido). A reação ocorre por meio da protonação do íon alcóxido, gerando o produto da adição (aldol) e regenerando a base. Após isso, a base regenerada retira um dos hidrogênios ácidos do produto de adição e forma outro íon enolato, que, por equilíbrio, elimina o grupo OH⁻, formando o núcleo de chalcona α, β -insaturada. O mecanismo para essa reação é citado na literatura como principal método de obtenção das chalconas⁹, e está detalhado na figura 06:

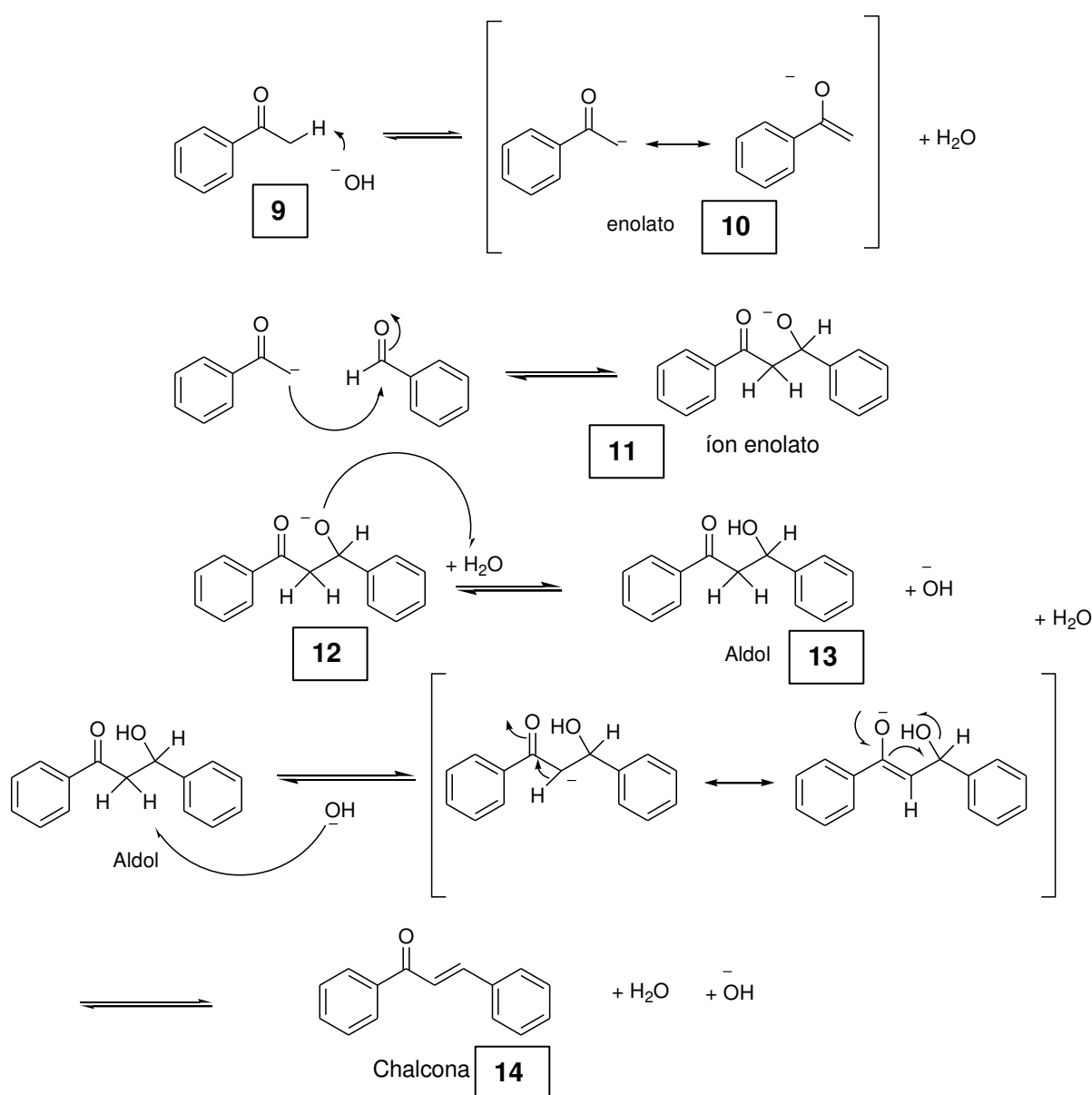


Figura 06: Mecanismo da reação de condensação de Claisen-Schmidt.

Como citado anteriormente a reação de condensação aldólica do tipo Claisen-Schmidt (CSC) mais comum, geralmente segue o processo catalisado por uma base. Contudo,

segundo os autores Yadav e Wagh (2020) é possível obter chalconas por de CSC envolvendo catalisadores ácido ou ácido-base. O mecanismo catalisado por ácido é iniciado pela protonação de cetona (função carbonil) seguida de abstração de prótons do carbono da cetona para a forma enol ativa (figura 07). Este intermediário condensa ainda com aldeído. O produto condensado então sofre desidratação para gerar a chalcona. O grupo carbonila aldeído é ativado por formação do complexo de transição. O enol facilita a formação de cetona que sofre adição nucleofílica. Por fim, a desidratação ocorre pela perda da molécula de água.

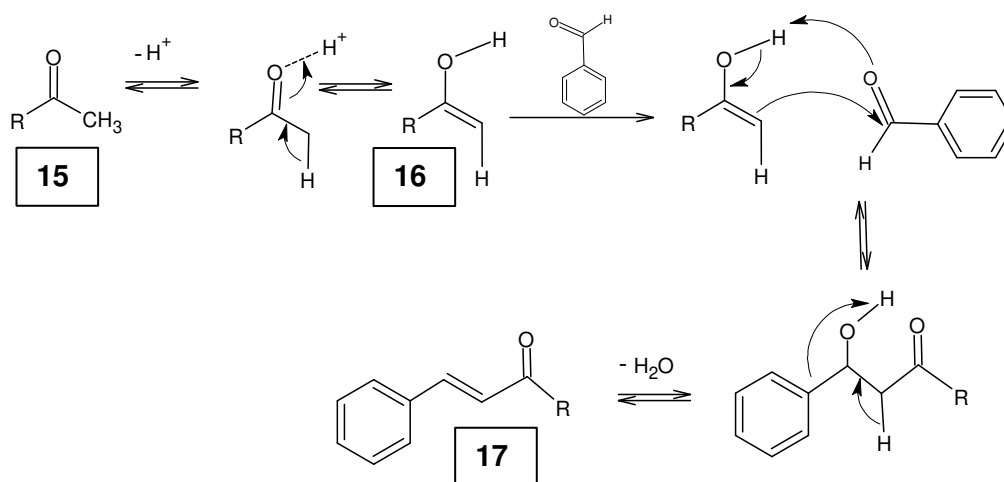


Figura 07- Mecanismo proposto para reação de Claisen-Schmidt catalisada por protonação ácida da função carbonil cetona.

Estratégias mais recentes para a obtenção de chalconas a partir de materiais de partida facilmente acessíveis foram descritos na literatura por Halpani e Mishra (2020). Recentemente, catalisadores de metais alcalino-terrosos, devido à sua ampla abundância natural, baixo custo e natureza segura, foram estabelecidos como alternativas aos metais de transição dos catalisadores à base de lantanídeos. Entre eles, os sais de cálcio contendo uma base conjugada dura, como íons triflato, eram altamente estáveis à umidade e ao ar e demonstraram ser uma alternativa aos metais de transição e catalisadores à base de lantanídeos. No entanto, poucos relatos estão disponíveis sobre as aplicações de $Ca(OTf)_2$ em síntese.

Halpani e Mishra (2020) propuseram a síntese de uma série de chalconas aromáticas usando o sistema catalisado por cálcio à base de ácido de Lewis sob condições livres de solventes, livres de base, operação suave e ampla tolerância ao substrato para fornecer produtos correspondentes em rendimentos moderados a bons. Foi empregado $Ca(OTf)_2$ em combinação com $NBu_4 \cdot BF_4$ formando um sistema de catalisador eficiente para condensação de Claisen-Schmidt sob condições puras. Neste trabalho os autores

apresentaram um método que foi eficiente e de amplo espectro para a síntese de chalconas por Claisen Schmidt de acetofenonas e aldeídos aromáticos na presença de $\text{Ca}(\text{OTf})_2/\text{Bu}_4\text{NPF}_6$, obtendo rendimentos bons a excelentes e disponibilidade econômica do catalisador. A estratégia é uma alternativa atraente e ecologicamente correta aos métodos existentes para a síntese de chalconas.

2. Experimental

2.1. Síntese e Cristalização dos Compostos

Os compostos pirazólicos, 1-(5-(2,6-difluorofenil)-4,5-di-hidro-3-p-tolilpirazol-1-il)etenona (9a) e 1-(5-(2,6-difluorofenil)-3-(furan-2-il)-4,5-dihidropirazol-1-il)etanona (9b), foram preparados pela reação da chalcona 8a e 8b, respectivamente, hidrazina 80% (1,2 equiv.) (fabricante Merck) e 1 mL de ácido acético. A reação foi realizada sob aquecimento assistido por micro-ondas a temperatura de 100°C por 5 minutos utilizando ácido acético como solvente, a reação foi completada e o precipitado obtido foi coletado por filtração a vácuo e posteriormente purificado por cristalização etanol absoluto. O progresso da reação foi monitorado usando placas de TLC (silica gel 60 UV254).

Para o crescimento dos cristais de pirazóis, a amostra em pó fino foi adicionada em um frasco cônico com um volume conhecido de acetona, em seguida, a solução foi recristalizada por difusão de vapor de hexano em uma solução de acetona e mantida em temperatura ambiente por evaporação lenta por 48 h até a formação do cristal, conforme figura 08.

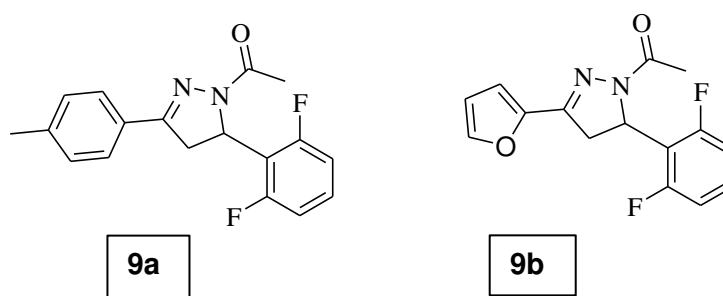


Figura 08 – Compostos 9a e 9b

2.2. Caracterização dos Compostos

Os compostos foram caracterizados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas (CG/EM), Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de ^1H -próton e de ^{13}C -Carbono.

2.2.1. Análise por CCD

Cromatofolhas de alumínio com sílica gel 60, Alugram® Xtra Sil G, com indicador UV₂₅₄ (20x20cmx0,20mm) da Macherey-Nagel foram utilizadas para monitoramento das reações de síntese dos compostos, utilizando como fase móvel, o sistema de solventes hexano/acetato de etila (90:10; 80:20, 70:30 e 60:40). As manchas foram visualizadas utilizando câmera de radiação na região do UV (254 e 360 nm) e/ou cuba de iodo. Solução de vanilina 5% em ácido sulfúrico foi utilizada como solução reveladora.

2.2.2. Caracterização por CG/EM

Para caracterização dos compostos e verificação da pureza foi utilizado um cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas (CG/EM), marca Shimadzu, modelo QP2010 Ultra, equipado com coluna capilar CBP-5 (30 m de comprimento x 0,25 µm de diâmetro interno x 0,25 mm de espessura do filme), volume de injeção de 1,0 µL, no modo Split e Hélio como gás de arraste com fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura do injetor foi mantida em 280°C e do detector da fonte de ionização em 310°C. A temperatura inicial do forno foi de 100 °C, mantida por 2 minutos, seguida por uma rampa de aquecimento de 30 °C/min até 300 °C, mantida por 10 min. A espectroteca NIST11 / 2011 / EPA / NIH para verificação dos picos das massas dos compostos obtidos no EM foi utilizada. Esse método foi utilizado para todos os compostos sintetizados.

2.2.3. Caracterização por IV

Para caracterização dos compostos a espectroscopia na região de absorção do infravermelho foi utilizada. A leitura foi realizada no espectrômetro PerkinElmer, modelo Frontier FT-IR. A análise foi realizada por 32 varreduras na região de 4000 cm⁻¹ a 400 cm⁻¹ (2,5 µ a 25µ) em pastilha de KBr.

3. Resultados e Discussão

3.1. Síntese dos derivados de Chalcona

Inicialmente foi realizado a síntese das chalconas (e)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona 8a e (e)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona 8b que darão origem aos compostos 9a e 9b respectivamente.

Para a caracterização As moléculas obtidas foram caracterizadas por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (400 MHz), que indicaram a presença de dois dupletos na região de 7 a 8 ppm, integrando para 1 hidrogênio, indicando a presença dos hidrogênios

olefínicos com constante de acoplamento no valor aproximado de 15,5, caracterizando o acoplamento trans. Outro sinal apareceu na região de 2,44 ppm como um singlete, garantindo a presença do grupo metila na chalconas **8a** e sinais em 7.91 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H) indicando a estereoquímica trans para dupla ligação. Os dados espectroscópicos referentes aos espectros de RMN ^1H estão organizados segundo a convenção: δ (deslocamento químico), número de hidrogênios (integração), constante de acoplamento em Hz e a multiplicidade dos picos. As abreviações das multiplicidades dos sinais nos espectros de RMN ^1H foram utilizadas segundo: s (simpleto), d (duplete), dd (duplo duplete) e m (multiplete).

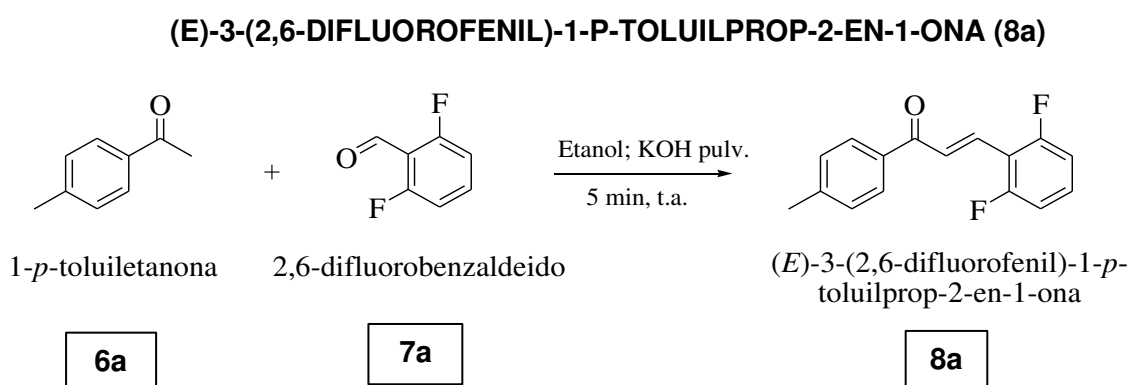


Figura 09 – Esquema da reação de **6a** e **7a** para formar o composto **8a**.

- Síntese: 2 mmol de 1-*p*-toluiletanona **6a** ($\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$, $134,07 \text{ g.mol}^{-1}$, 0,2680 g) e 2 mmol de 2,6-difluorobenzaldeído **7a** ($\text{C}_7\text{H}_4\text{F}_2\text{O}$, $142,02 \text{ g.mol}^{-1}$; 0,2840 g). Produto: (*E*)-3-(2,6-difluorofenil)-1-*p*-toluilprop-2-en-1-ona **8a** ($\text{C}_{16}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{O}$, $258,09 \text{ g.mol}^{-1}$); sólido de coloração branca; cristal branco em diclorometano; 88% de rendimento.
- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas: tempo de retenção em 7,16 min; fragmentações em 65, 91, 119, 239 e 258 (valores acima de 30%); pico base em 119; íon molecular em 258 (m/z).
- Infravermelho (KBr): 1650 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1580 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$; 1450 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{F})$; 1400 cm^{-1} (vibração C–O); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 860 cm^{-1} (substituições para); 770 cm^{-1} (anéis aromáticos orto-substituídos); 750 cm^{-1} (anéis aromáticos meta-substituídos) e 700 cm^{-1} (anéis aromáticos monossubstituídos).
- Ressonância Magnética Nuclear: deslocamentos químicos para RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) em δ 8.00 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.91 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.81 (d, $J = 16.2$ Hz, 1H), 7.55 (tt, $J = 8.4, 6.6$ Hz, 2H), 7.40 (d, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.20 – 7.14 (m, 1H), 2.44 (s, 3H); e para RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) em δ 188.57 (s), 161.74 (dd, $J = 253.4,$

7.1 Hz), 132.02 (t, $J = 11.4$ Hz), 129.45, 128.95, 128.54, 127.61 (t, $J = 8.2$ Hz), 112.08 (dd, $J = 20.7, 4.4$ Hz), 20.69 (s).

(E)-3-(2,6-DIFLUOROFENIL)-1-(FURAN-2-IL)PROP-2-EN-1-ONA (**8b**)

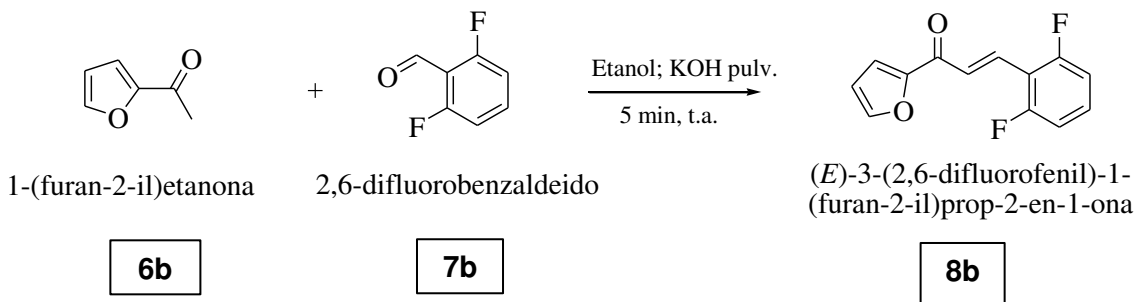


Figura 10 – Esquema da reação de 6b e 7b para formar o composto 8b.

- Síntese: 2 mmol de 1-(furan-2-il)etanona **6b** ($C_6H_6O_2$, $110,04 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, 0,220g) e 2 mmol de 2,6-difluorobenzaldeído **7b** ($C_7H_4F_2O$, $142,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$; 0,2840 g). Produto: (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona ($C_{13}H_8F_2O_2$, $234,05 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$) **8b**; sólido de coloração branca; 92% de rendimento.
- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas: tempo de retenção em 6,32 min; fragmentações em 99, 119, 139, 186, 215 e 234 (valores acima de 30%); pico base em 234; íon molecular em 234 (m/z).
- Infravermelho (KBr): 1600 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1500 cm^{-1} $\nu(\text{C}=\text{C})$; 1400 cm^{-1} $\nu(\text{C}-\text{F})$; 1350 cm^{-1} (vibração C–O); 1300 cm^{-1} (estiramento C–O); 850 cm^{-1} (substituições para); 790 cm^{-1} (anéis aromáticos orto-substituídos) e 700 cm^{-1} (anéis aromáticos di-substituídos).
- Ressonância Magnética Nuclear: deslocamentos químicos para RMN de ^1H (500 MHz, CDCl_3) em δ 8.06 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J = 15.6$ Hz, 1H), 7.01 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H), 6.81 (d, $J = 2.3$ Hz, 1H), 6.55 (t, $J = 2.3$ Hz, 1H), 3.92 (s, 1H), 3.87 (s, 2H); e para RMN de ^{13}C (126 MHz, CDCl_3) em δ 188.71, 163.46, 161.07, 143.94, 137.02, 131.07, 130.83, 122.47, 113.86, 106.29, 102.55, 77.27, 77.02, 76.76, 55.49, 55.47

1-(5-(2,6-DIFLUOROFENIL)-4,5-DI-HIDRO-3-P-TOLILPIRAZOL-1-IL)ETENONA (**9a**)

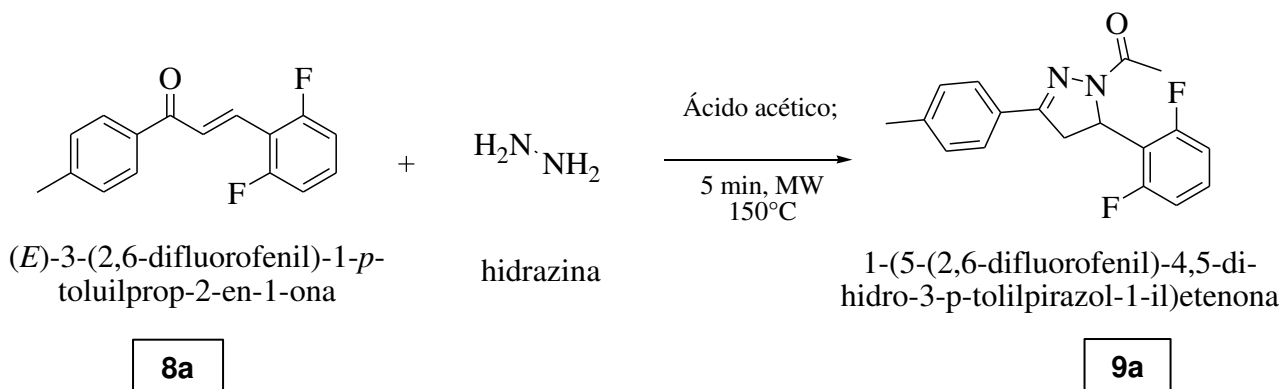


Figura 11 – Esquema da reação de síntese do derivado pirazólico 9a

- Síntese: 1 mmol de (*E*)-3-(2,6-difluorofenil)-1-*p*-toluilprop-2-en-1-ona **8b** ($\text{C}_{16}\text{H}_{14}\text{F}_2\text{O}$, 260,14 g.mol⁻¹, 0,4861g) e 1 mmol de hidrazina ($\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_2$, 32,05 g.mol⁻¹; 0,0740 g). Produto: 1-(5-(2,6-difluorofenil)-4,5-di-hidro-3-*p*-tolilpirazol-1-il)etenona **9a** ($\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}$, 314,12 g.mol⁻¹); sólido de coloração branca; ponto de fusão: 112,2°C; 78% de rendimento.
- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas: tempo de retenção em 8,7 min; fragmentações em 91,115, 229 e 244 (valores acima de 30%); pico base em 229; íon molecular em 314 (*m/z*).
- Infravermelho (KBr): 1690 cm⁻¹ $\nu(\text{C}=\text{N})$; 1650 cm⁻¹ $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1400 cm⁻¹ (vibração C–O); 1300 cm⁻¹ (estiramento C–O); 860 cm⁻¹ (substituições para); 790 cm⁻¹ (anéis aromáticos orto-substituídos); 750 cm⁻¹ (anéis aromáticos meta-substituídos); 700 cm⁻¹ (anéis aromáticos monossubstituídos).
- Ressonância Magnética Nuclear: deslocamentos químicos para RMN de ¹H (500 MHz, Acetona) δ 7.72 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.34 (ddd, J = 8,4 e 6,4 Hz, 1H), 7.29 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 6.97 (dd, J = 8.4 e 8,4 Hz, 1H), 5.84 (dd, J = 12.7, 6.3 Hz, 1H), 3.89 (dd, J = 17.9, 12.7 Hz, 1H), 3.32 (dd, J = 17.9, 6.3 Hz, 1H), 2.38 (3, 2H), 2.24 (s, 3H). e para RMN de ¹³C (126 MHz, Acetone) δ 167.38 (s), 160.93 (dd, J = 248.3, 8.0 Hz), 153.58, 140.25, 129.51 (t, J = 10.8 Hz), 129.30, 128.96, 126.50, 111.48 (d, J = 25.6 Hz), 49.90, 39.74, 28.95 (dt, J = 38.8, 19.4 Hz), 20.85 (s, J = 41.3 Hz), 20.52.

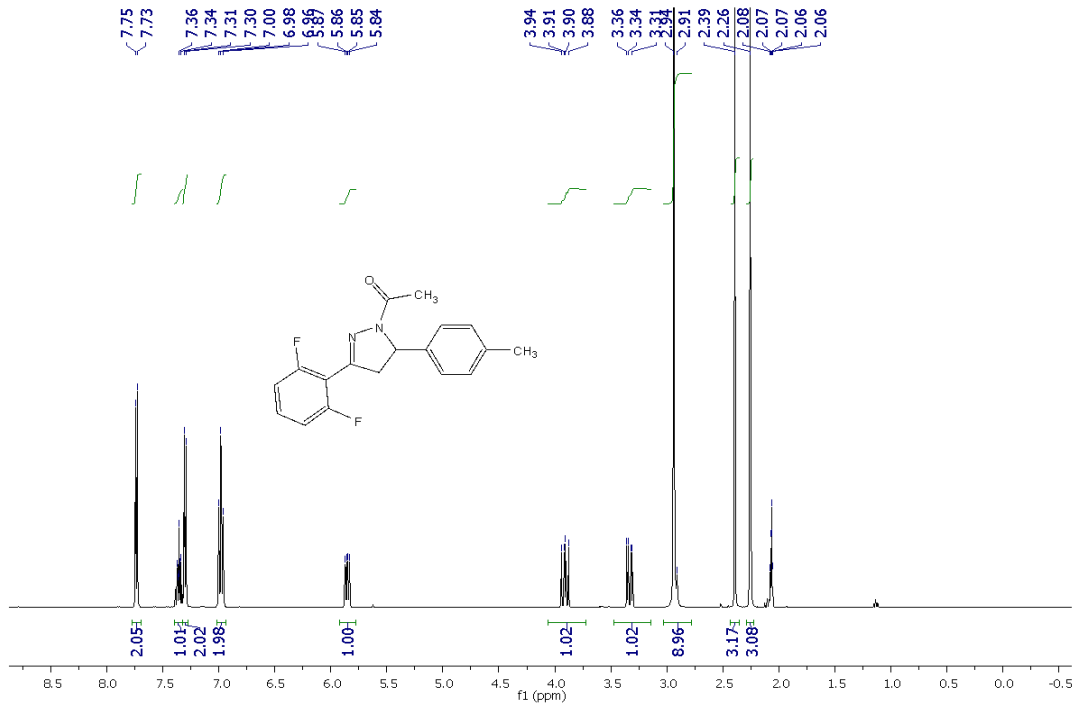


Figura 11a – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) do composto **9a**

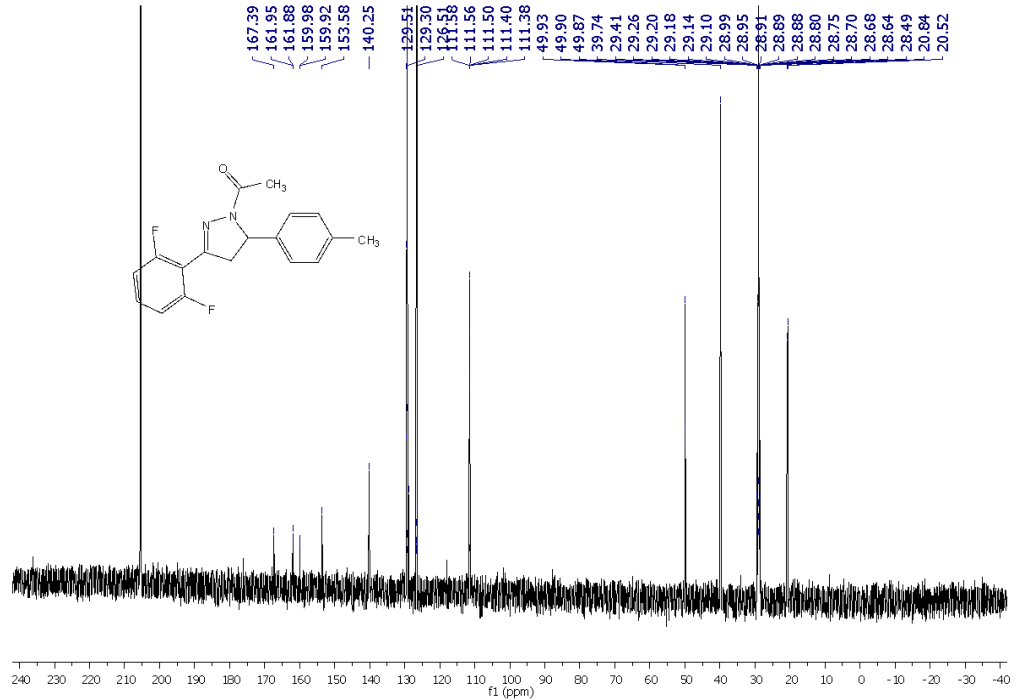


Figura 11b – Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, acetona- d_6) do composto **9a**

1-(5-(2,6-DIFLUOROFENIL)-3-(FURAN-2-IL)-4,5-DI-HIDROPIRAZOL-1-IL)ETANONA (**9b**)

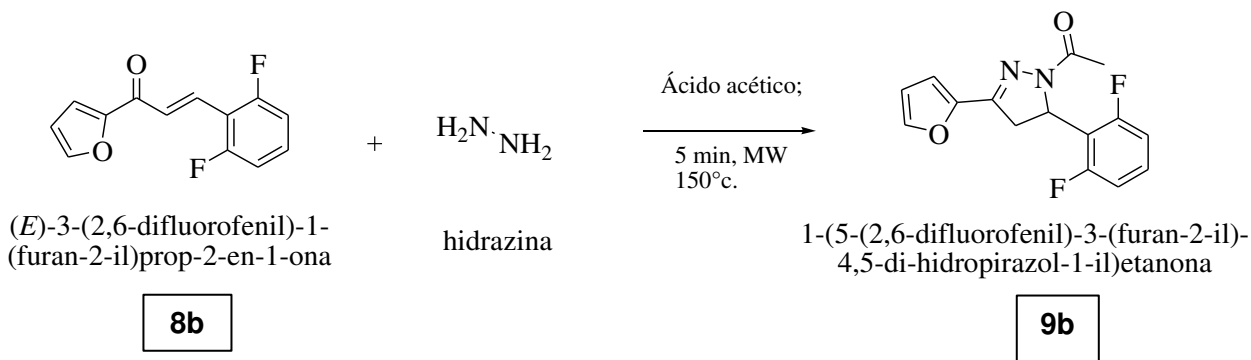


Figura 12 – Esquema da reação de síntese do derivado pirazólico **9b**.

- Síntese:** 1 mmol de (*E*)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)prop-2-en-1-ona **8b** ($\text{C}_{13}\text{H}_8\text{F}_2\text{O}_2$, 234,05 g.mol⁻¹, 0,1340g) e 1 mmol de hidrazina (H_4N_2 , 32,05 g.mol⁻¹; 0,0740 g. Produto: 1-(5-(2,6-difluorofenil)-3-(furan-2-il)-4,5-di-hidropirazol-1-il)etanona ($\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{F}_2\text{N}_2\text{O}_2$, 290,09 g.mol⁻¹) **9b**; sólido de coloração branca; ponto de fusão: 102,1°C; 72% de rendimento.
- Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massas:** tempo de retenção em 7,55 min; fragmentações em 127, 171, 91 e 220 (valores acima de 30%); pico base em 220, íon molecular em 290 (*m/z*).
- Infravermelho (KBr):** 1700 cm⁻¹ $\nu(\text{C}=\text{N})$; 1600 cm⁻¹ $\nu(\text{C}=\text{O})$; 1450 cm⁻¹ (vibração C–O); 1350 cm⁻¹ (estiramento C–O); 770 cm⁻¹ (substituições orto); 700 cm⁻¹ (anéis aromáticos di-substituídos).
- Ressonância Magnética Nuclear:** deslocamentos químicos para **RMN de ¹H** (500 MHz, Acetona-*d*₆) δ 7.76 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 7.37 (tt, *J* = 8.4, 6.4 Hz, 2H), 6.99 (t, *J* = 8.7 Hz, 2H), 6.94 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H), 6.64 (dd, *J* = 3.4, 1.8 Hz, 1H), 5.85 (dd, *J* = 12.8, 6.3 Hz, 1H), 3.88 (dd, *J* = 17.8, 12.8 Hz, 1H), 3.27 (dd, *J* = 17.8, 6.3 Hz, 1H), 2.22 (s, 3H). e para **RMN de ¹³C** (126 MHz, Acetone) δ 167,47, 160,91 (dd, *J* = 248,4, 8,2 Hz), 147,07, 144,88, 129,64 (t, *J* = 10,6 Hz), 112,46, 111,90, 111,51 (dd, *J* = 22,5, 2,9 Hz), 49,53, 39,51, 20,82.

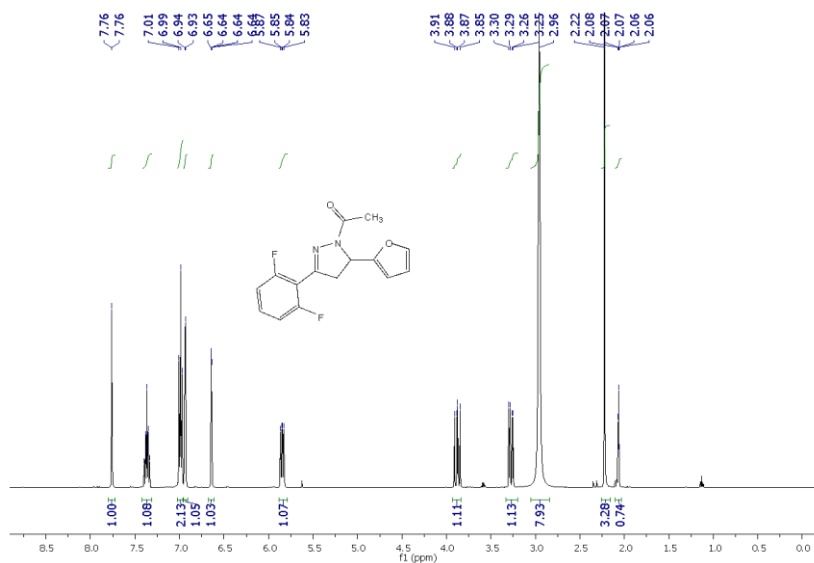


Figura 12a – Espectro de RMN de ^1H (500 MHz, Acetona- d_6) do composto **9b**

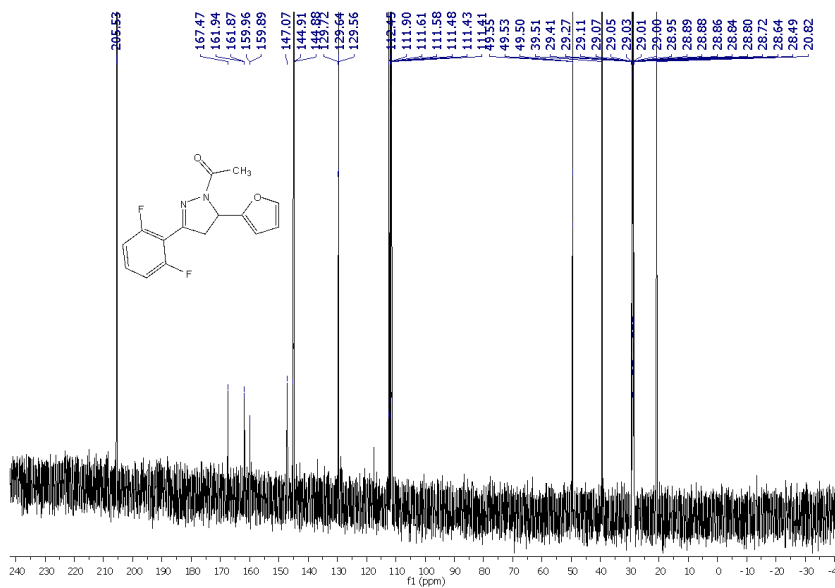


Figura 12b – Espectro de RMN de ^{13}C (126 MHz, Acetona- d_6) do composto **9b**

4. Conclusões

Através do presente trabalho foi possível concluir que a reação de Claisen-Schmidt, empregando benzaldeído e derivados da acetofenona nas condições descritas, conduz à formação dos produtos desejados. Os produtos foram obtidos com rendimentos satisfatórios, por meio das análises de RMN de ^1H e de ^{13}C .

5. Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos ao Professor Dr. Gilberto Aquino pela orientação, à Universidade Estadual de Goiás (UEG) e ao Programa de Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde pelo incentivo à pesquisa científica.

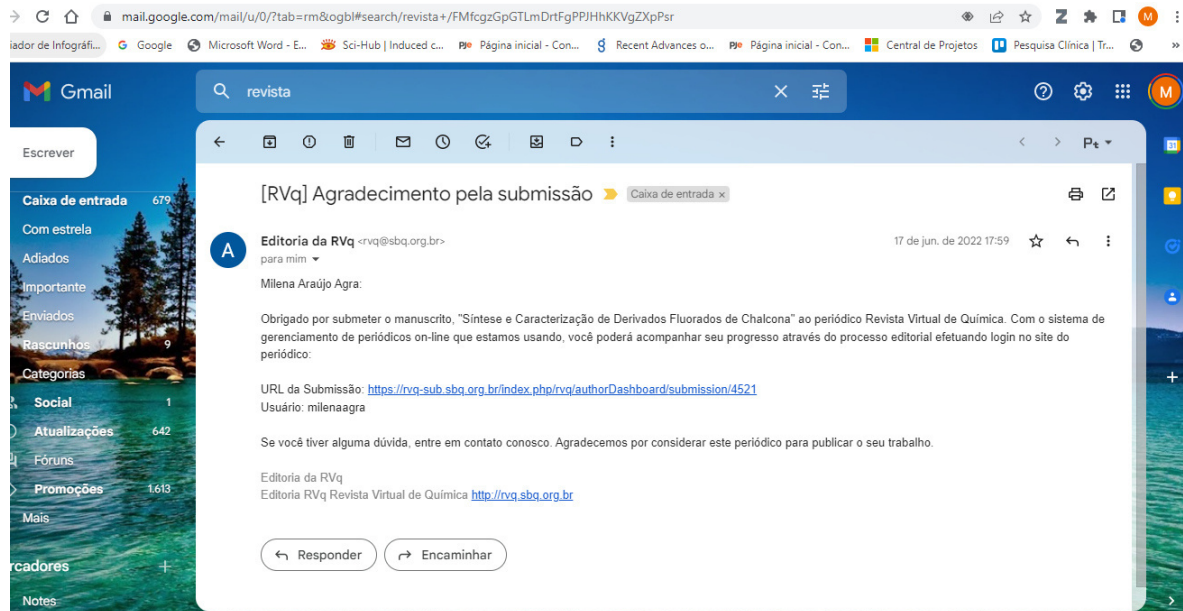
6. Referências Bibliográficas

1. RAMALHO, S. D. Síntese e avaliação do potencial bioativo de derivados de chalconas. **2011**. 122p. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares). Universidade Estadual de Goiás – UEG, Anápolis-GO.
2. SILVA, A. D. Síntese e caracterização de derivados da L-fenilalanina e L-tirosina alinhada à “Química Verde” e avaliação da toxicidade. **2020**. 34f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) - Campus Universitário do Araguaia-UFMT, Barra do Garças - MT 2020.
3. GOMES, M. N.; MURATOV, E. N.; PEREIRA, M.; PEIXOTO, J. C.; ROSSETO, L. P.; CRAVO, P. V. L.; ANDRADE, C.H.; NEVES, B. J. Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. *Molecules*. v. 22, 1210, **2017**.
4. PINTO, ANGELO C. E BARREIRO, ELIEZER J. Desafios da indústria farmacêutica brasileira. *Química Nova*. **2013**, v. 36, n. 10 , pp. 1557-1560.
5. SALUM, L,D B. Estudos in Sílico no planejamento de candidatos a novos fármacos na terapia do câncer de mama e de reposição hormonal. **2007**. 148 f. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo, SP.
6. GUIDO, RAFAEL V. C., ANDRICOPULO, ADRIANO D. E OLIVA, GLAUCIUS Planejamento de fármacos, biotecnologia e química medicinal: aplicações em doenças infecciosas. *Estudos Avançados [online]*. **2010**, v. 24, n. 70, pp. 81-98.
7. ZHUANG, C.; ZHANG, W.; SHENG, C.; ZHANG, W.; XING, C.; MIAO, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical reviews*, v. 117, 7762-7810, **2017**.
8. SILVA, P. T.; XAVIER, J. C.; FREITAS, T. S.; OLIVEIRA, M. M.; COUTINHO, H. D.M.; LEAL, A. L. A. B.; BARRETO, H. M.; BANDEIRA, P. N.; NOGUEIRA, C. E. S.; JUNIOR, D. M. S.; NETO, F. W. Q. A.; MARINHO, E. S.; SANTOS, H. S.; TEIXEIRA, A. M. R. Synthesis, spectroscopic characterization and antibacterial evaluation by chalcones derived of acetophenone isolated from *Croton anisodontus* Müll.Arg. *Journal of Molecular Structure*, v. 1226, 129403, **2021**.

9. MARAVALHO, I. V. S. Síntese de chalconas e seus derivados heterocíclicos com potencial fotofísico. **2019**. 45f. Trabalho de Conclusão do Curso (Bacharelado em Química) - Universidade de Brasília, Brasília –DF, 2019.
10. ASGARPANA, J., & KAZEMIVASH, N. (2013). Phytochemistry, pharmacology and medicinal properties of *Carthamus tinctorius* L. *Chinese journal of integrative medicine*, 19(2), 153–159.
11. LIU W, FENG Y, YU S, FAN Z, LI X, LI J, YIN H. The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. *Int J Mol Sci*. **2021** Nov 26;22(23):12824. doi: 10.3390/ijms222312824. PMID: 34884627; PMCID: PMC8657439.
12. RUDRAPAL, M., KHAN, J., DUKHYIL, A., ALAROUSY, R., ATTAH, E. I., SHARMA, T., KHAIRNAR, S. J., & BENDALE, A. R. (2021). Chalcone Scaffolds, Bioprecursors of Flavonoids: Chemistry, Bioactivities, and Pharmacokinetics. *Molecules* (Basel, Switzerland), 26(23), 7177. <https://doi.org/10.3390/molecules26237177>
13. LULIN, H., XIAO, Y., PEI, S., WEN, T., & SHANGQIN, H. (2012). The first Illumina-based de novo transcriptome sequencing and analysis of safflower flowers. *PloS one*, 7(6), e38653. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038653>
14. TURGUMBAYEVA, A; USTENOVA G; DATKHAYEV U; RAHIMOV K; ABRAMAVICIUS S; TUNAITYTE A; ZHAKIPBEKOV K; KOZHANOVA K; TULEMISSOV S; USTENOVA O; DATKAYEVA G; STANKEVICIU E. Safflower (*Carthamus Tinctorius* L.) a Potential Source of Drugs against Cryptococcal Infections, Malaria and Leishmaniasis. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*. Vol.89, No.1, **2020**, pp.137-146, doi:10.32604/phyton.2020.07665
15. QIANG T, LIU J, DONG Y, MA Y, ZHANG B, WEI X, LIU H, XIAO P. Transcriptome Sequencing and Chemical Analysis Reveal the Formation Mechanism of White Florets in *Carthamus tinctorius* L. *Plants* (Basel). **2020** Jul 4;9(7):847. doi: 10.3390/plants9070847. PMID: 32635570; PMCID: PMC7412316.
16. MOHAMED, M. F. A.; ABUO-RAHMA, G. E. D. A. Molecular targets and anticancer activity of quinoline–chalcone hybrids: literature review. *RSC Advances*, v. 10, p. 31139-31155, **2020**.
17. QUEIROZ, J. E. Síntese e avaliação da atividade antioxidante e antitumoral de chalconas. **2018**. 138p. Dissertação (Mestrado em Ciências Moleculares) - Universidade Estadual de Goiás – UEG, Anápolis – GO, 2018.
18. YADAV G.G ; WAGH D.P. Claisen-Schmidt Condensation using Green Catalytic Processes: A Critical Review. *Chemistry Select* **2020**, 5, 9059 –9085.
19. HALPANI, C. G; MISHRA, S. Lewis Acid Catalyst System for Claisen-Schmidt Reaction under Solvent Free Condition. *Tetrahedron Letters*, **2020**, 152175.

7. ANEXO I

E-mail confirmatório de submissão do manuscrito à equipe editorial da Revista Virtual de Química Qualis CAPES: B2



CAPÍTULO 2: Efeito de chalconas na formação de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa*

Milena Araújo Agra
Plínio Lázaro Faleiro Naves
Gilberto Lúcio Benedito de Aquino

1. INTRODUÇÃO

As infecções associadas aos cuidados de saúde são uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. Na última década, bactérias Gram-negativas, multirresistente incluindo *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, têm sido implicadas em infecções graves associadas aos cuidados de saúde e a sua ocorrência tem aumentado de forma constante (UŠJAK et al., 2019).

Assim, os antibióticos são as soluções primárias para essas infecções microbianas. No entanto, o uso contínuo e excessivo desses antibióticos levou à seleção de cepas resistentes a vários medicamentos. Além disso, as drogas farmacológicas existentes também são caras ou resistentes, além dos efeitos adversos. Dessa forma, há uma emergência para desenvolver novos agentes antibióticos com novos alvos para a extensão das bactérias resistentes nos últimos anos. A descoberta de novas estruturas químicas com uma nova abordagem de ação é essencial para a sobrevivência bacteriana (SANTOSH et al., 2018).

Lima e colaboradores (2020) testaram as atividades antimicrobiana de derivados de chalconas contra *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Candida albicans*. Os autores constataram que as chalconas foram ativas contra estafilococos e cândidas. Em contraste, todas as espécies Gram-negativas não mostraram suscetibilidade na faixa de concentrações testadas.

Recentemente, foi descrito por Meier e colaboradores (2019) a atividade antibacteriana da chalcona xantoangelol (1) isolada de frutos de *Amorpha fruticosa* L. em diferentes concentrações contra diferentes bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Verificou-se que a chalcona exibiu efeitos antibacterianos em baixa concentração micromolar contra patógenos bacterianos Gram-positivos tais como

Staphylococcus aureus resistente à metilina (MRSA), *Enterococcus faecium* e *Enterococcus faecalis*.

Foi demonstrado que o tratamento com xantoangelol contra bactérias Gram-positivas afeta a integridade da membrana bacteriana e leva a um vazamento de metabólitos intracelulares, levando a um colapso rápido do potencial de membrana e resultando em um rápido e forte efeito bactericida. O xantoangelol perturba especificamente a membrana de bactérias gram-positivas potencialmente formando poros resultando em lise celular. As bactérias Gram-negativas testadas *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* não foram afetadas pelo composto. Dessa forma, os autores concluíram que a chalcona testada exibe ampla atividade antibacteriana especificamente contra bactérias Gram-positivas, mas não em bactérias Gram-negativas (MEIER et al., 2019).

1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

A primeira descrição de *P. aeruginosa* como uma espécie bacteriana distinta foi feita no final do século XIX, após o desenvolvimento de meios de cultura estéreis por Pasteur. Embora a capacidade de *P. aeruginosa* de produzir infecções tenha sido observada em 1889. Sua importância como patógeno humano, principalmente em pacientes hospitalizados, só surgiu na segunda metade do século XX (BOTZENHART; DÖRING, 1993).

Membros da família *Pseudomonaceae* são onipresentes na natureza (solo, plantas e ambientes aquáticos, comumente habitam outros ambientes, principalmente clínicos). *P. aeruginosa* é a causa mais comum de infecções em humanos e animais de sangue quente (por exemplo, infecções do trato urinário, mastite e endometrite em gado e animais de companhia) (SILVA, 2018).

P. aeruginosa é um micro-organismo não fastidioso que não requer condições especiais de cultivo. Cresce bem na maioria dos meios não seletivos (Mueller-Hinton, ágar Nutriente, ágar sangue etc.), embora haja alguns meios que são usados especificamente para propagação seletiva de *Pseudomonas* (por exemplo, ágar cetrimida). Enquanto alguns micro-organismos crescem melhor a 37°C, as pseudomonas também podem sobreviver em uma ampla faixa de temperatura (4-40°C) (BEHZADI; BARÁTH; GAJDÁC, 2021).

Entre os fenotípicos característicos de *P. aeruginosa*, o odor característico (descrito como semelhante a uma flor, “suco de uva”, ou “tortilha fresca”), β -hemólise (em ágar sangue) e cor das colônias (em meios de cultura apropriados) permite sua rápida identificação organoléptica. *P. aeruginosa* e outros membros do gênero são conhecidos por produzir vários pigmentos, incluindo pioverdina/fluoresceína (um pigmento fluorescente verde-amarelo solúvel em água produzido por 70-80% dos isolados, que também atua como um sideróforo em condições de baixo teor de ferro), piocianina (um pigmento derivado de fenazona solúvel em lipídios verde-azul, com papéis no metabolismo do ferro, na manutenção do equilíbrio redox em torno da bactéria e na comunicação célula-célula) entre outros. (BEHZADI; BARÁTH; GAJDÁC, 2021).

Na última década, bactérias Gram-negativas multirresistentes como a bactéria *P. aeruginosa* têm sido implicadas em infecções graves associadas aos cuidados de saúde e a sua ocorrência tem aumentado de forma constante. A *P. aeruginosa* é de grande preocupação para a saúde pública, pois está seriamente envolvida em infecções pulmonares em pacientes hospitalizados, o que representa um problema significativo porque muitas das infecções são causadas por cepas resistentes à maioria dos antibióticos (UŠJAK et al., 2019).

As terapias convencionais com antibióticos contra infecções por *P. aeruginosa* têm se tornado cada vez mais ineficazes devido ao aumento de cepas multirresistentes. As opções terapêuticas atuais para o tratamento são o uso de diferentes combinações de antibióticos e o desenvolvimento de novos antibióticos. (PANG et al., 2019).

P. aeruginosa é um dos patógenos “ESKAPE” - *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *P. aeruginosa* e espécies de *Enterobacter* enfatizando seu impacto nas infecções hospitalares e a capacidade destes micro-organismos em “escapar” da atividade de drogas antibacterianas. Esta espécie também está na categoria de prioridade crítica da Organização Mundial da Saúde (OMS) lista de patógenos bacterianos para os quais pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos são necessários com urgência. O Centro de Controle de Doenças (CDC) dos Estados Unidos sinalizou *P. aeruginosa* multirresistente como uma ameaça séria e como um dos patógenos ESKAPE que mais causam infecções nosocomiais em todo o mundo. (BOTELHO; GROSSO; PEIXE, 2019; GUTIÉRREZ, 2019).

A versatilidade metabólica, a produção de uma série de fatores de virulência, a formação de biofilmes e a resistência aos antibióticos compreendem os traços críticos que contribuem para a patogenicidade de *P. aeruginosa* (BOTELHO; GROSSO; PEIXE, 2019).

Uma rede ampla de fatores de transcrição, detecção do *quorum sensing* (QS), sistemas reguladores, RNA não codificantes e sinais ambientais não identificados controlam a expressão dessas características. QS é o mecanismo regulador central, controlando a formação de biofilme, sistemas de secreção, bombas de efluxo, motilidade e resistência aos antibióticos de forma dependente da densidade populacional. A produção de vários fatores de virulência, tais como alginato, toxinas, proteases e sideróforos também são regulados por QS. O QS controla a expressão de múltiplos fatores de virulência de uma maneira dependente da população e é ativado por vários reguladores (BOTELHO; GROSSO; PEIXE, 2019). Segundo Silva (2019), o QS induz a um comportamento sincrônico das cepas bacterianas, ativando a expressão de genes de fatores de virulência, inclusive o biofilme.

Além disso, *P. aeruginosa* pode facilmente mudar de um estilo planctônico a um estilo de vida sésil em resposta às mudanças ambientais, levando à formação de biofilmes, a marca registrada da progressão da doença (BOTELHO; GROSSO; PEIXE, 2019).

A produção de biofilme é uma característica importante de *P. aeruginosa*. O biofilme torna essas bactérias extremamente resistentes a antibióticos e desinfetantes, que permite que eles persistam em dispositivos médicos residentes e nos tecidos do hospedeiro, causando doenças como a pneumonia crônica e fibrose cística (UŠJAK et al., 2019).

Alguns dos estudos recentes foram direcionados para os efeitos das concentrações subinibitórias de agentes antimicrobianos, uma vez que eles poderiam modificar a transcrição do gene, o que poderia, por sua vez, resultar em expressão alterada de vários fatores de virulência, incluindo a produção de biofilme (UŠJAK et al., 2019).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Isolados bacterianos

Um total de 13 *Pseudomonas aeruginosa* foi avaliado, sendo 11 isolados clínicos gentilmente cedidos pela profa. Lilian Carneiro do Laboratório de Biotecnologia de Micro-organismos do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás e 2 cepas padrão do tipo *American Type Culture Collection* - *P. aeruginosa* ATCC 27853 e ATCC 9027 da coleção do Laboratório de Bioensaios do Centro de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Estadual de Goiás (CPPG/UEG).

As bactérias foram armazenadas em caldo de infusão de cérebro e coração (BHI) + glicerol, em *freezer* a -20 °C no Laboratório de Bioensaios. O descongelamento foi realizado em temperatura ambiente e as alíquotas dos micro-organismos foram reativadas em ágar cetrimide (Kasvi, Espanha) suplementado com 10% de glicerina PA (Synth, São Paulo, Brasil) a 35,5° C por 24 horas e o aspecto macroscópico das colônias e pureza das amostras foram checados antes do início dos testes.

2.2. Chalconas

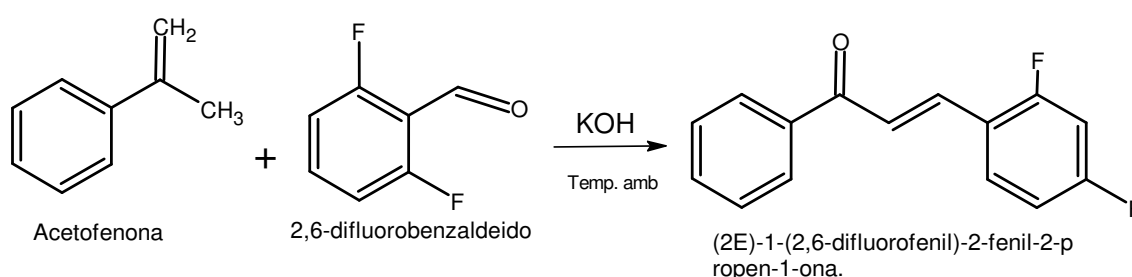
As chalconas (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona, (codificada como B1), (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (codificada como C1), e (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona (codificada como C4) foram sintetizadas por meio da condensação aldólica de Schmidt no Laboratório de Pesquisa em Bioprodutos e Síntese (**LPBioS**) da Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Anápolis. A chalcona 1-(4-Fluorofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona (codificada como C2), faz parte da biblioteca de compostos Laboratório de Pesquisa em Bioprodutos e Síntese (**LPBioS**), Câmpus Anápolis - GO e foi gentilmente cedida para a realização deste trabalho.

2.2.1. Procedimento para a síntese de (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona (B1)

O derivado (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona foi preparado por reação equimolar de 4-metilacetofenona e 2,6-difluorobenzaldeído (figura 01) em uma quantidade mínima de etanol absoluto (0,5 mL). Em seguida, adicionou-se KOH pulverizado. A reação foi realizada em temperatura ambiente, e após a adição de KOH e alguns minutos de agitação manual contínua, a reação foi completada e o

precipitado obtido foi coletado por filtração a vácuo e purificada adicionalmente por cristalização em etanol absoluto. Um produto branco foi obtido com 81% de rendimento. Foi realizada análise por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Foi utilizado diclorometano como solvente para para a recristalização. Em um balão cônico com volume conhecido do solvente, foi adicionada a amostra em pó. Em seguida, a solução foi mantida em temperatura ambiente para evaporação lenta por 72 horas até a formação do cristal.

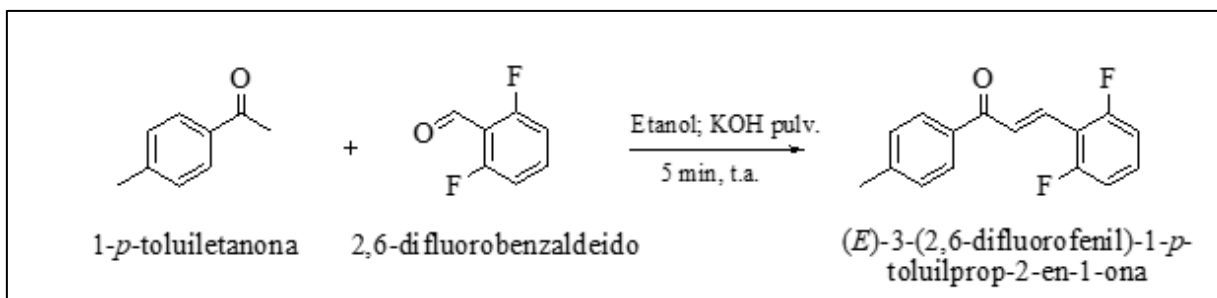
Figura 01 - Síntese de (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona (B1)



Fonte: Autoria própria, 2022.

2.2.2. Procedimento para a síntese de (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (C1)

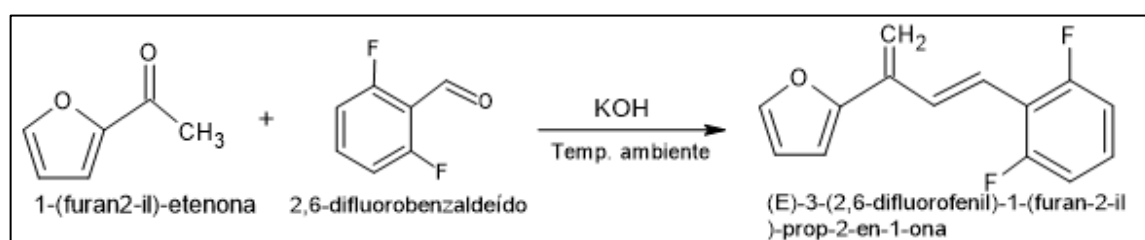
O derivado (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona foi preparado por reação equimolar de 4-metilacetofenona e 2,6-difluorobenzaldeído (figura 02) em uma quantidade mínima de etanol absoluto (0,5 mL). Em seguida, adicionou-se KOH pulverizado. A reação foi realizada em temperatura ambiente, e após a adição de KOH e alguns minutos de agitação manual contínua, a reação foi completada e o precipitado obtido foi coletado por filtração a vácuo e purificada adicionalmente por cristalização em etanol absoluto. Um produto branco foi obtido com 81% de rendimento. Foi realizada a espectroscopia infravermelha de transformada de Fourier (FTIR). Foi utilizado diclorometano como solvente para os monocristais. Em um balão cônico com volume conhecido do solvente, foi adicionada a amostra em pó. Em seguida, a solução foi mantida em temperatura ambiente para evaporação lenta por 72 horas até a formação do cristal.

Figura 02 - Síntese de (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-*p*-toluilprop-2-en-1-ona (C1)

Fonte: Autoria própria.

2.2.3. Procedimento para a síntese (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona (C4)

O derivado (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona foi preparado por reação equimolar de 1-(furan-2-il)-etanona e 2,6-difluorobenzaldeído (figura 03) em uma quantidade mínima de etanol absoluto (0,5 mL). Em seguida, adicionou-se KOH pulverizado. A reação foi realizada em temperatura ambiente, e após a adição de KOH e alguns minutos de agitação manual contínua, a reação foi completada e o precipitado obtido foi coletado por filtração a vácuo e purificada adicionalmente por cristalização em etanol absoluto. Um produto branco foi obtido com 64% de rendimento. Foi realizada a espectroscopia infravermelha de transformada de Fourier (FTIR). Foi utilizado diclorometano como solvente para os monocristais. Em um balão cônico com volume conhecido do solvente, foi adicionada a amostra em pó. Em seguida, a solução foi mantida em temperatura ambiente para evaporação lenta por 72 horas até a formação do cristal.

Figura 03- Síntese de (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona (C4).

Fonte: Autoria própria.

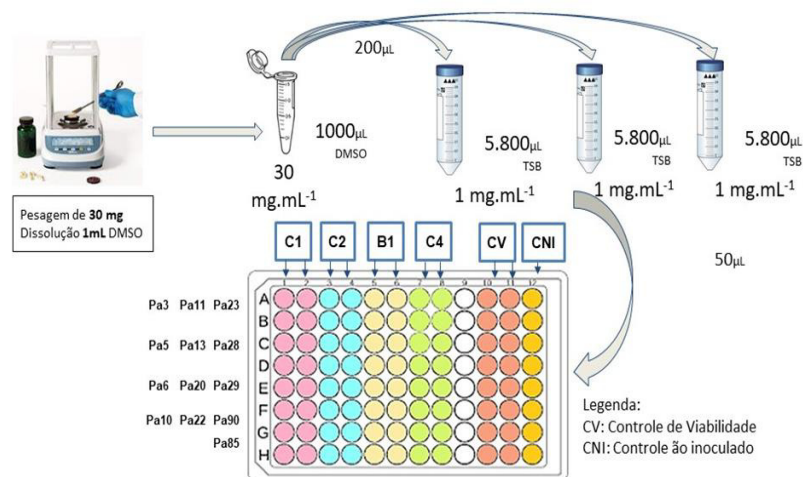
2.3. Ponto de Fusão das Chalconas

É importante salientar que os pontos de fusão das referidas chalconas foram obtidos no Laboratório de Ponto de Fusão - Sala 102 do Instituto de Química da Universidade Federal do Goiás, Campus Samambaia. Para tanto, utilizou-se alguns cristais sobre uma lâmina de vidro e, em seguida, colocou-se outra lâmina sobre os mesmos, de forma que os cristais da amostra assumiram uma posição centro-interlaminar. A lâmina contendo a amostra foi posicionada no equipamento ao qual acoplou-se um termômetro de extremidade térmica inferior igual a -10°C e de topo térmico igual a 300°C . Em todos os casos, após a submissão da amostra à rampa de aquecimento, acompanhou-se, ocularmente, por alguns minutos o início e fim das respectivas fusões. É importante esclarecer que o equipamento utilizado apresenta em sua extremidade superior um microscópio monocular, sendo possível acompanhar a mudança de estado físico da amostra com relativa exatidão.

2.4. Preparação dos Compostos

Os compostos foram inicialmente pesados e diluídos em DMSO (figura 04). Em seguida, realizou-se diluição em caldo TSB a fim de obter na placa de 96 poços uma concentração final de $0,5\text{ mg/mL}^{-1}$. As concentrações finais de DMSO em cada poço foram inferiores a 10%.

Figura 04 - Diluição dos Compostos de Chalcona no ensaio de Biofilme.



Fonte: Autoria própria.

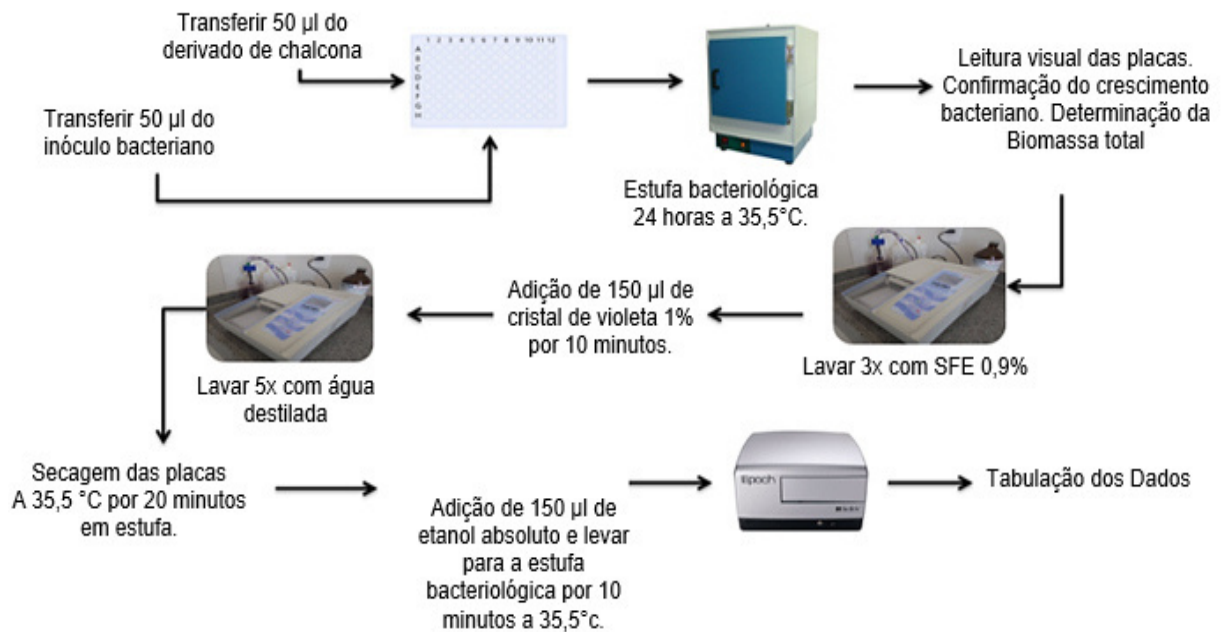
2.7 Ensaio de Formação de Biofilme

Os ensaios de formação de biofilme foram realizados com a quantificação da biomassa total dos biofilmes pelo método do cristal violeta conforme descrito por Stepanović *et al.* (2007) com algumas modificações.

Resumidamente, após a incubação em ágar cetrimida, três a cinco colônias típicas foram dissolvidas em solução fisiológica estéril (SFE 0,9%) e a turbidez da suspensão foi ajustada com a escala 0,5 de McFarland. Em seguida, 0,1 mL das suspensões bacterianas foram transferidos para tubos com 9,9 mL de caldo triptona soja (TSB) (Kasvi). A partir desta solução microbiana, 50 μL foram colocados em poços de uma microplaca de poliestireno de 96 poços com fundo plano contendo 50 μL das chalconas por poço, perfazendo um inóculo bacteriano inicial de $1,5 \times 10^5$ ufc por poço e a concentração de $0,5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, e a microplaca foi incubada a $35,5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Posteriormente, foram realizadas leituras visuais das microplacas e processamento foi realizado segundo metodologia descrita por Naves *et al.* (2008) com modificações. O caldo TSB foi retirado e os poços foram lavados três vezes com 150 μL com SFE em lavadora automática de microplacas Aquari® (MA 615, Brasil) para a remoção das células não aderidas. Em seguida, foram adicionados 150 μL do corante cristal violeta 1% nas placas por 10 minutos. Após este período, o corante foi desprezado e os poços lavados cinco vezes com 200 μL de água destilada, com o descarte do volume total e secagem das placas a $35,5 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos em estufa. Em seguida foram adicionados 150 μL de etanol absoluto (Neon) em cada poço para a coloração das bactérias aderidas, a microplaca foi incubada durante 10 minutos a temperatura ambiente e foram realizadas as leituras das densidades ópticas (DO) dos poços a 492 nm no espectrofotômetro de microplacas BioTech Epoch™. O experimento está esquematizado na abaixo:

Figura 05 - Determinação da biomassa total de biofilme de *P. aeruginosa* pelo método cristal violeta.



Fonte: Adaptado Correia, 2022.

As leituras das DO permitiram a classificação das bactérias quanto à formação de biofilme em quatro categorias: não formadora (NF), formadora débil (FD), formadora moderada (FM) e formadora forte (FF) de acordo com as seguintes fórmulas (Stepanović *et al.* 2007):

$$NF = DO_{BA} \leq DO_{CNI}$$

$$FD = DO_{BA} > DO_{CNI} \leq 2x DO_{CNI}$$

$$FM = DO_{BA} > 2x DO_{CNI} \leq 4x DO_{CNI}$$

$$FF = DO_{BA} > 4x DO_{CNI}$$

Sendo que DO_{CNI} = densidade óptica do poço controle não inoculado e DO_{BA} = densidade óptica da bactéria aderida.

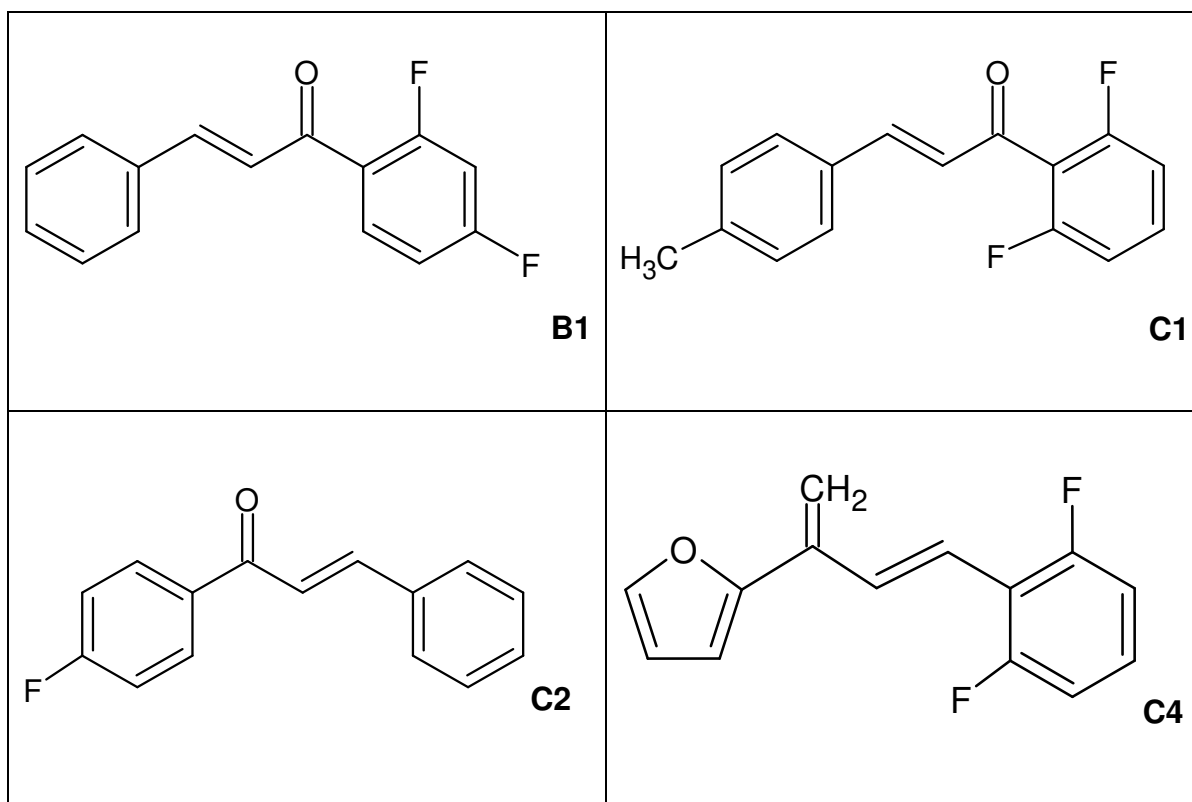
O impacto das chalconas na formação de biofilme por *P. aeruginosa* foi obtido com a comparação dos resultados na presença dos compostos com os controles não tratados e foi expressado como porcentagem. A significância das diferenças foi avaliada com o teste t de Student ($p \leq 0,05$). Todos os testes foram realizados em

triplicatas independentes. Foram incluídos controles de viabilidade e de esterilidade para cada condição testada.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da síntese foi possível obter os compostos: (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona (B1), (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (C1) e (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona (C4), com suas respectivas faixas de fusão: 212° a 214°C, 111°C a 113°C e 95° a 97°C. As estruturas moleculares são apresentadas no quadro abaixo:

Quadro 01- Estrutura Molecular dos Derivados de Chalconas.



Fonte: Autoria própria.

A tabela a seguir apresenta o índice e a categoria de formação de biofilme das *P. aeruginosa*.

Tabela 01- Índice e categoria de formação de biofilme de *P. aeruginosa*.

Cepas	DO _{492nm}		Categoria de Formação de Biofilme
	MED	DP	
Pa3	0,142	0,069	Moderada
Pa5	0,356	0,109	Forte
Pa6	0,394	0,082	Forte
Pa10	0,256	0,067	Forte
Pa11	0,142	0,018	Moderada
Pa13	0,192	0,063	Moderada
Pa20	1,077	0,442	Forte
Pa22	0,166	0,068	Moderada
Pa23	0,265	0,072	Forte
Pa28	1,676	1,153	Forte
Pa29	0,983	0,731	Forte
ATCC 9027	0,246	0,103	Forte
ATCC 27853	0,170	0,051	Forte
CNI	0,061	0,011	Não aplicável

Fonte: Autoria própria.

Legenda: **Pa** = *Pseudomonas aeruginosa*; **ATCC** = American type culture collection; **DO_{492nm}** = Densidade óptica a 492 nanômetros; **MED** = Média **DP** = desvio padrão; **CNI** = Controle não inoculado.

Das 13 cepas bacterianas, nove foram classificadas como formadoras fortes de biofilme (69,2%), quatro foram classificadas como moderadas (30,7%) e nenhuma foi classificada como fraca.

Caixeta e colaboradores (2019) avaliaram a formação de biofilmes de *P. aeruginosa* e verificaram que a cepa padrão ATCC 9027 apresentou um desempenho melhor na produção de biofilme, em comparação a cepa padrão ATCC 27853, corroborando nossos resultados.

Lima e colaboradores (2017), avaliaram a capacidade de *P. aeruginosa* em produzir biofilme em 20 isolados clínicos, sendo 19 provenientes de amostras clínicas de aspirado traqueal e uma de lavado broncoalveolar. A avaliação foi verificada por duas técnicas, sendo uma qualitativa e outra quantitativa. A técnica qualitativa (teste do ágar vermelho congo) mostrou que apenas 15% dos isolados foram considerados produtores de biofilme, enquanto que a quantitativa (Ensaio de formação de biofilme, método Stepanovic) demonstrou que 75% dos isolados foram produtores de biofilme. Os isolados produtores de biofilme obtiveram o seguinte perfil de suscetibilidade: 53,3% eram multidroga-resistentes e 46,7% eram multidroga-sensíveis.

3.1 Efeito das Chalconas no Biofilme de *P. aeruginosa*

Os resultados da formação de biofilme de *P. aeruginosa* na presença dos derivados de Chalconas estão dispostos na tabela 02.

Tabela 02 - Índice de formação de biofilme de *P. aeruginosa* na presença dos derivados de Chalconas.

Cepas	C1		C2		B1		C4		CV		P*
	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	
Pa3	0,146	0,153	0,204	0,080	0,226	0,050	0,170	0,053	0,142	0,069	-

(Continua)

(Conclusão)

Tabela 02 - Índice de formação de biofilme de *P. aeruginosa* na presença dos derivados de Chalconas.

Cepas	C1		C2		B1		C4		CV		P*
	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	MED	DP	
Pa5	0,477	0,153	0,642	0,208	0,505	0,199	0,307	0,242	0,356	0,109	-
Pa6	0,297*	0,140	0,347	0,155	0,939	0,041	0,508	0,226	0,394	0,082	0.0361*
Pa10	0,312	0,076	0,431	0,118	0,334	0,158	0,273	0,043	0,256	0,067	-
Pa11	0,391	0,054	0,445	0,250	0,213	0,128	0,279	0,071	0,142	0,018	-
Pa13	0,233	0,040	0,251	0,079	0,288	0,178	0,201	0,105	0,192	0,063	-
Pa20	1,863	0,687	2,789	0,608	2,668	0,340	2,817	0,453	1,077	0,442	-
Pa22	0,171	0,082	0,180	0,060	0,202	0,108	0,164	0,049	0,166	0,068	-
Pa23	0,115	0,032	0,103	0,035	0,133	0,046	0,175	0,091	0,265	0,072	-
Pa28	1,993	0,644	1,504	0,568	2,489	0,878	1,899	0,853	1,676	1,153	-
Pa29	1,864	0,479	2,216	0,420	2,422	0,267	2,661	0,522	0,983	0,731	-
ATCC9027	0,286	0,076	0,313	0,029	0,622	0,088	0,173	0,037	0,246	0,103	-
ATCC27853	1,068	0,464	0,846	0,482	1,507	0,339	1,919	0,490	0,170	0,051	-
CNI	0,142	0,056	0,124	0,069	0,121	0,066	0,079	0,016	0,061	0,011	N/A

Fonte: Autoria própria.

Legenda: **C1**: (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona; **C2**: 1-(4-Fluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona; **B1**: (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona; **C4**: 1-(2,6-Difluorofenil)-3-furano-2-propen-1-ona; **CV** = Controle de viabilidade; **CNI**: Controle não inoculado; **Pa** = *Pseudomonas aeruginosa*; **MED** = Média; **DP** = Desvio Padrão; **ATCC** = *American type culture collection*. * = Diferença significativa ($p < 0,05$); N/A = não aplicável

Em geral, os derivados fluorados de chalconas não apresentaram inibição na produção de biofilme de *P. aeruginosa*. Apesar disso, foi possível observar uma diminuição no número de células viáveis nas bactérias Pa23 na presença dos

derivados de chalcona, sendo que, apenas a bactéria Pa06 apresentou inibição significativa ($P \geq 0,05$).

P. aeruginosa pertencem a classe de bactérias Gram-negativas, cuja parede celular é considerada mais resistente, mesmo que menos espessa do que a parede das bactérias Gram-positivas. A resistência se deve ao fato das bactérias Gram-negativas apresentarem, na parede celular, uma membrana externa exclusiva que contém lipopolissacarídeos e fosfolipídeos adquirindo, portanto, maior resistência. Além disso, há a presença de porinas, que são proteínas com função seletiva para a passagem de moléculas pequenas (ÁVILLA, 2008).

Uma das razões do aumento do número de células associadas ao biofilme tratados com as diferentes chalconas pode estar relacionado com a resistência adaptativa de *P. aeruginosa*. Dado que, este patógeno muda entre diferentes estilos de vida para sobreviver em ambientes tóxicos e condições desfavoráveis. No entanto, patógenos como *P. aeruginosa*, não só desenvolvem tolerância a condições ambientais tão adversas, mas também prosperam neles. Das estratégias para sobreviver em condições ambientais, a formação de biofilme é relatada como uma das principais táticas (AHMED et al., 2022).

Pseudomonas possui uma forte tendência a desenvolver biofilme, o que auxilia na sua persistência em diferentes superfícies. A capacidade de formação de biofilme está diretamente relacionada à letalidade do organismo e oferece resistência ao sistema imunológico do hospedeiro, quimioterapia e desinfetantes. A matriz de biofilme suporta a ancoragem dessas células em várias superfícies e os ajuda a sobreviver em condições ambientais hostis e desfavoráveis. (AHMED et al., 2022).

Os biofilmes são congregações heterogêneas de microrganismos associados à superfície, encapsulados dentro de uma matriz polimérica autoproduzida, consistindo de polissacarídeos, proteínas e DNA. A matriz atua como uma barreira física contra compostos antimicrobianos e proporciona um nicho ecológico protetor para a sobrevivência de microrganismos. Uma única espécie de bactéria ou consórcios de micróbios multiespécies podem existir dentro de um biofilme. (AHMED et al., 2022).

Os biofilmes representam sérios problemas de saúde, devido à natureza recalcitrante dos micróbios em relação a drogas antimicrobianas e respostas imunes do hospedeiro. Além disso, os biofilmes evitam o sistema imunológico através de suas matrizes e arranjos de exopolímeros. A evasão imunológica aliada a resistência a múltiplas drogas pode efetivamente complementar a virulência de um patógeno. Portanto, a prevenção e supressão da formação de biofilme é de extrema importância. (AHMED et al., 2022).

Assim como verificado no estudo de Meier *et al.*, (2019), em que se avaliou a atividade antibacteriana da chalcona xantoangelol contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas em diferentes concentrações. Os resultados obtidos desse estudo mostraram que a chalcona perturbava especificamente a membrana de bactérias gram-positivas, formando poros e resultando em lise celular. Enquanto que, para as bactérias Gram-negativas testadas *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* não foram afetadas pelo composto. Diante disso, os autores concluíram que a chalcona testada exibia ampla atividade antibacteriana especificamente contra bactérias Gram-positivas, mas não Gram-negativas. Outra hipótese é que a presença dos substituintes pode ter influenciado na baixa bioatividade desses compostos. É possível que esses substituintes dificultem a provável interação intramolecular na estrutura das chalconas, não proporcionando atividade antibacteriana desses compostos (MEIER *et al.*, 2019).

Sobre as propriedades antibacterianas das chalconas, uma relação causa-efeito foi estabelecida entre a estrutura molecular e a atividade das chalconas. Foi sugerido que chalconas fluoradas e chalconas cloradas são potentes contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas, enquanto chalconas contendo ligantes nitrogenados são mais potentes contra cepas Gram-negativas (FERRAZ *et al.*, 2020).

Esta observação foi consistente com os resultados encontrados pelos autores Ferraz *et al* (2020), nos quais o único efeito relevante foi em uma estirpe de *E. coli*. Quando o tipo e a localização dos ligantes foram alterados em uma série de análogos de chalcona, os efeitos antibacterianos mais significativos foram exibidos pelas chalconas contendo um átomo de cloro na presença ou ausência de flúor contra cepas Gram-positivas e Gram-negativas.

4. CONCLUSÃO

Os resultados encontrados demonstraram que na concentração subinibitória testada os derivados de chalcona não apresentaram atividade contra a formação de biofilme de isolados clínicos de *P. aeruginosa*, com ressalva do derivado C1 que teve inibição de biofilme para a Pa06.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMED F, MIRANI ZA, MIRANI PN, IMDAD MJ, KHAN FZ, KHAN MN, KHAN AB, LI Y, ZHAO Y. *Pseudomonas aeruginosa* Response to Acidic Stress and Imipenem Resistance. *Applied Sciences*. 2022; 12(16):8357. <https://doi.org/10.3390/app12168357>

BEHZADI, P.; BARÁTH, Z.; GAJDÁCS, M. It's Not Easy Being Green: A Narrative Review on the Microbiology, Virulence and Therapeutic Prospects of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, **Antibiotics**, v.10. n.1

BOTELHO, J.; GROSSO, F.; PEIXE, L. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - Mechanisms, epidemiology and Evolution. **Resist Updat**, v.44, 100640. PMID: 31492517.

BOTZENHART, K.; DÖRING, G. Ecology and Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. In: CAMPA, M. (Ed). ***Pseudomonas aeruginosa as an Opportunistic Pathogen***, Plenum Press, New York, v. 1, p. 1-18, 1993.

CHAVES, R. A. D. C.; RIBEIRO, D. M. L.; ZAIA, J. E.; ALVES, E. G.; SOUZA, M. G. M. D.; MARTINS, C. H. G.; MESTRINER, S. F. Avaliação de soluções antibacterianas na descontaminação de escovas dentais de pré-escolares. **Rev. odontol. UNESP**, p. 29-33, 2007.

GUTIÉRREZ, S.; CORREA, A.; GÓMEZ, H. C.; CADENA, E.; PALLARES, C.; VILLEGAS, M. V. Detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: Evaluation of the carbapenem inactivation method (CIM). **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 37, p. 648-651, 2019.

LI, Ruilian et al. Synthesis and evaluation of a chitosan oligosaccharide-streptomycin conjugate against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Marine drugs**, v. 17, n. 1, p. 43, 2019.

LIMA, W. G.; ANDRADE, J.T.; SANTOS, F. R. S.; PALUMBO, J. M. C.; HERRERA, K. M. S.; CASTRO, L. E.; MORAIS, F. B.; SILVA, M. K. P.; VILLAR, J. A. F. P.; FERREIRA, J. M. S. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of chalcone-bearing tetrahydropyranyl and 2,4-dihydroxyl moieties. **Rev. colomb. cienc. quim. farm**, v. 49, p. 218-233, 2020.

LIMA, J. L. C, et al. Análise da produção de biofilme por isolados clínicos de *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes com pneumonia associada à ventilação mecânica. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. 2017, v. 29, n. 3 , pp. 310-316.

LIU, Yuhong et al. Inhibition of bacterial adhesion and biofilm formation of sulfonated chitosan against *Pseudomonas aeruginosa*. **Carbohydrate polymers**, v. 206, p. 412-419, 2019.

MEIER, D.; HERNÁNDEZ, V. M.; GEELLEN, V. L.; MUHARINI, R.; PROKSCH, P.; BANDOW, J. E.; KALSCHEUER, R. The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.27, n.23, 115151, 2019.

MORADALI, M. Fata; GHODS, Shirin; REHM, Bernd HA. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 7, p. 39, 2017.

PANG, Z.; RAUDONIS, R.; GLICK, B. R.; LIN, T. J.; CHENG, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. **Biotechnology Advances**, v.37, n.1, p. 177-192, 2019.

SANTOSH, R.; SELVAM, M. K.; KANEKAR, S. U.; NAGARAJA, G. K. Synthesis, Characterization, Antibacterial and Antioxidant Studies of Some Heterocyclic Compounds from Triazole-Linked Chalcone Derivatives. **ChemistrySelect**, v.3, p. 990-996, 2018.

SILVA, M. P. **Influência de concentrações subinibitórias do diclofenaco de sódio na produção de biofilme por *Staphylococcus aureus***. 2019, 80f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biomedicina) – Área de Microbiologia - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

SILVA, S. K. G D. **Efeito de nanopartículas de óxido de ferro funcionalizadas com ácido cítrico no crescimento de *Pseudomonas aeruginosa***. 2018. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde) - Universidade Estadual de Goiás, 2018.

STEPANOVIĆ S, VUKOVIĆ D, HOLA V, DI BONAVENTURA G, DJUKIĆ S, CIRKOVIĆ I, RUZICKA F. Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007 Aug;115(8):891-9.

THI, Minh Tam Tran; WIBOWO, David; REHM, Bernd HA. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 22, p. 8671, 2020.

UŠJAKA, D.; IVKOVIĆB, B.; BOŽIĆA, D.B.; BOŠKOVIĆC, L.; MILENKOVIĆA, M. Antimicrobial activity of novel chalcones and modulation of virulence factors in hospital strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial pathogenesis**, v. 131, p.186-196, 2019.

Capítulo 3: Avaliação da Atividade Antitumoral dos Derivados de Chalconas

Milena Araújo Agra¹, Osvaldo Gomes Pinto², Plínio Lázaro Faleiro Neves³, Gilberto Lúcio Benedito de Aquino⁴

Pós-graduanda Stricto Sensu em Ciências Aplicadas em Produtos de Saúde da Universidade Estadual de Goiás (UEG). Endereço: BR-153 3105 Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - Goiás, Brasil - 75132-903.

² Mestre em Ciências Aplicadas em Produtos de Saúde da Universidade Estadual de Goiás (UEG). Endereço: BR-153 3105 Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - Goiás, Brasil - 75132-903.

³ Doutor em Microbiologia e Parasitologia pela Universidade Complutense de Madrid, Espanha

⁴ Doutor em Química pela Universidade de São Paulo (USP), Brasil.

RESUMO: O câncer é uma doença anormal do ciclo celular, caracterizada pela rápida proliferação de células normais. Embora se tenha uma extensa pesquisa em fármacos com eficácia antitumoral, há uma necessidade emergente em novos fármacos para aumentar a eficácia e diminuir os efeitos colaterais dos medicamentos usados atualmente. Neste sentido, estruturas químicas privilegiadas como os derivados de chalconas têm ganhado atenção de muitos pesquisadores, devido a suas propriedades biológicas, entre elas a antitumoral. Neste trabalho, foi investigado o efeito antitumoral dos derivados de chalconas contra cepas de *Rhizobium radiobacter* usando a metodologia do disco de batata. As chalconas B1 e B2 apresentaram resultados promissores que permitem concluir que houve uma inibição significativa da atividade tumoral de *R. radiobacter*.

PALAVRAS CHAVES: Chalconas, disco de batata.

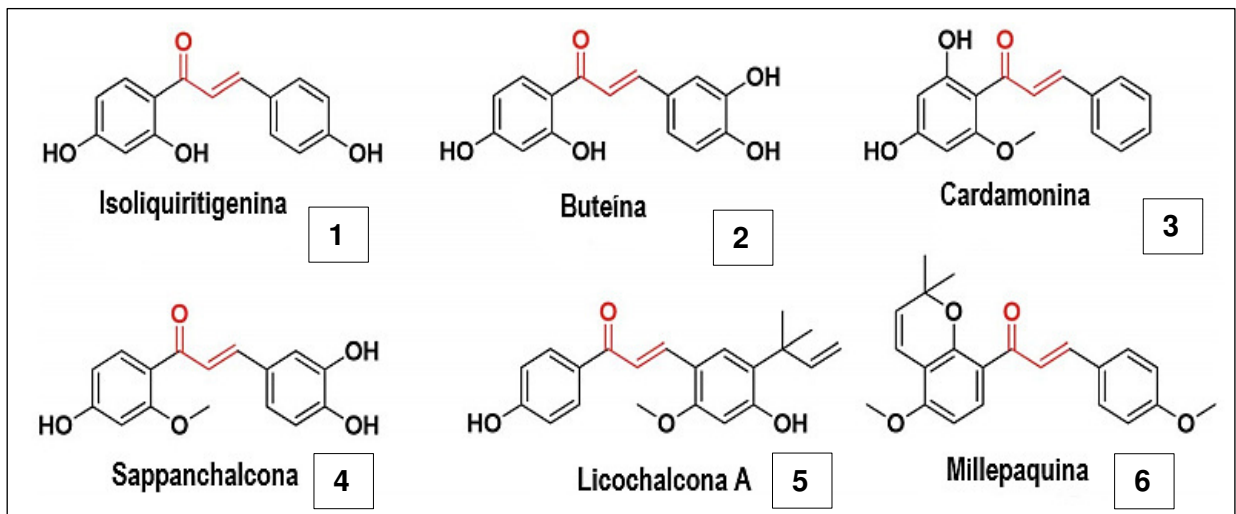
1. INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença anormal do ciclo celular causada pelo crescimento descontrolado das células. O câncer foi classificado como a segunda principal causa de morte em todo o mundo, precedido apenas pelas doenças cardiovasculares [1]. Uma variedade de estratégias é aplicada aos tratamentos anticancerígenos, incluindo cirurgia, quimioterapia e radioterapia usados isoladamente ou em combinação. No entanto, a resistência a múltiplas drogas (MDR) e os efeitos colaterais constituem os principais impedimentos para uma terapia eficaz contra o câncer [1-2].

Dezenas de candidatos anticâncer estão em testes clínicos, mas o número ainda não é suficiente. Nesse sentido as chalconas, substâncias precursoras dos flavonóides e isoflavonóides, apresentam heterogeneidade estrutural e podem atuar sobre vários alvos de drogas. Na última década, compostos à base de chalcona foram relatados como inibidores da tubulina, além de vários outros possíveis alvos moleculares que as chalconas interagem [2-3]

Há um grande número de chalconas obtidas de fontes naturais com propriedades anticânceres, como: Isoliquiritigenina **1** (anticâncer, quimiopreventivo do câncer, antioxidante e antiinflamatório), Buteína **2** (anticâncer e antiinflamatório), Cardamonina **3** (ATP difosfohidrolase), Sappanchalcona **4** (antiinflamatório), Licochalcona A **5** (antiinflamatório e anticâncer), e Millepaquina **6** (anticâncer) (figura 08). Assim, a porção chalcona é um modelo útil para o desenvolvimento de novos agentes anticâncer [1-2]

Figura 01 - Estruturas químicas de chalconas com atividade antitumoral obtidas de fonte natural.



Fonte: Adpatado, MOHAMED; RAHMA, 2020.

A literatura sobre chalconas destaca o emprego de três estratégias direcionadas para aumento das propriedades anticâncer, são elas: manipulação estrutural de ambos os anéis de arila, substituição de anéis de arila por estruturas de heteroarila e hibridização molecular por meio de conjugação com outras estruturas de interesse farmacológico para aumento das propriedades anticâncer [4].

Segundo KARTHIKEYAN e colaboradores (2015) às substituições de metoxi em ambos os anéis de arila (A e B) das chalconas, dependendo de suas posições nos anéis de arila, parecem influenciar propriedades anticâncer e outras atividades biológicas. Da mesma forma, os anéis heterocíclicos, quer como anel A ou B nas chalconas, também influenciam a atividade anticâncer mostrada por esta classe de compostos. Chalconas híbridas formuladas ligando quimicamente a outras estruturas anticâncer proeminentes, como pirrol, benzodiazepínicos, benzotiazóis, imidazolonas, demonstraram atividades farmacológicas sinérgicas ou aditivas. A aplicação bem-sucedida dessas três estratégias direcionadas para a descoberta de novos agentes anticâncer com base na estrutura de chalcona resultou em muitas chalconas novas e quimicamente diversas com potencial aplicação terapêutica para muitos tipos de câncer [4].

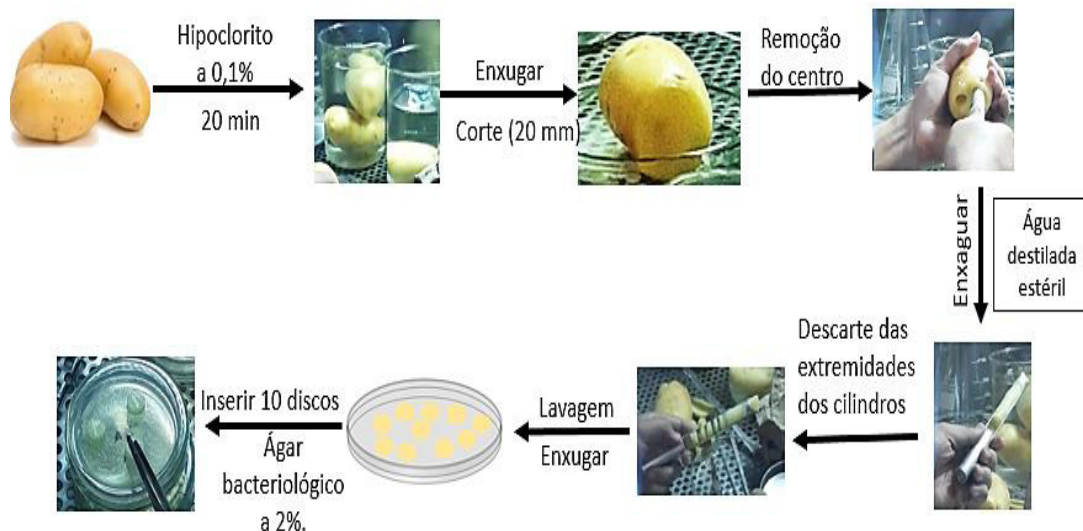
A bactéria *Rhizobium radiobacter* causa rápida proliferação em algumas espécies de plantas, culminando em tumores formação. Por causa de sua composição de ácido nucleico e histologia semelhante aos cânceres de animais e humanos, é usado como bioteste para novos compostos antitumorais [5]. Os testes de bioensaio desempenham um papel relevante na exploração de agentes antitumorais clinicamente úteis. O bioensaio em disco de batata (*Solanum tuberosum*) permite verificar as propriedades antitumorais de bioativos biológicos e sintéticos por ser rápido, barato, simples e confiável [6]. É uma bactéria gram-negativa, habitante natural do solo, responsável por causar tumores em plantas e infecções oportunistas em humanos. A presente pesquisa teve como objetivo observar e quantificar o efeito antitumoral das chalconas de (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona (B1) e (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona (B2) em discos de batata inoculados com *R. radiobacter*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio do disco de batata foi realizado usando o método adaptado de Coker et al., (2003) e Nge (2016). As chalconas, B1 e B2 fazem parte da biblioteca de compostos Laboratório de Pesquisa em Bioprodutos e Síntese (*LPBioS*), Câmpus Anápolis-GO e foram utilizadas para a avaliação da atividade antitumoral. As batatas de médio porte foram adquiridas em um Mercado local. No laboratório, as batatas foram lavadas com água e secas. Em seguida, tiveram suas superfícies desinfetadas

por imersão em 0,1% solução de hipoclorito de sódio por 20 minutos. As pontas da batata foram removidas seguida de imersão em 0,1% solução de hipoclorito de sódio por mais 10 minutos (Figura 2). Um núcleo de tecido cilíndrico de 10 mm foi extraído de cada batata com o auxílio de uma broca metálica estéril. Ao final de cada núcleo cilíndrico, 20 mm foram removidos e então descartados. Com um bisturi estéril, discos de 5 mm de espessura foram removidos do restante núcleo cilíndrico. Posteriormente, dez discos de batata foram depositados em Placas de Petri contendo ágar bacteriológico a 2%, que receberam a adição do inóculo da bactéria *R. radiobacter* preparado em conjunto com os compostos B1 e B2.

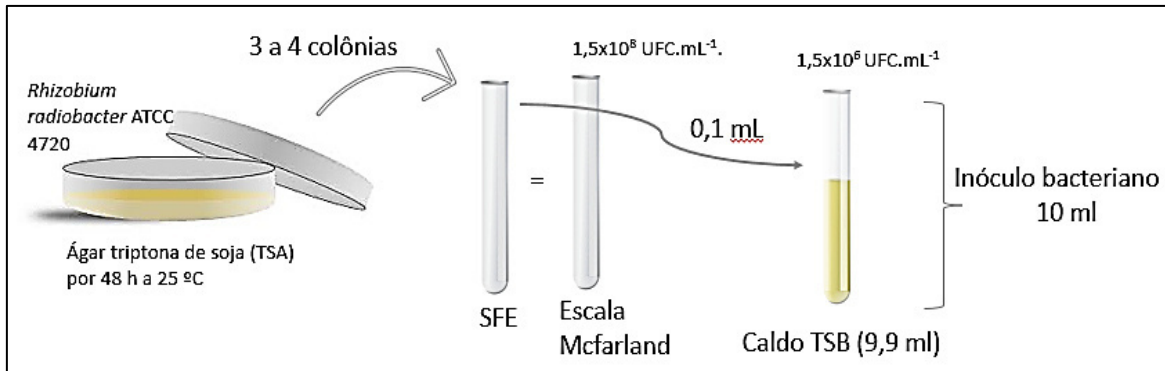
Figura 02 – Técnica do ensaio de disco de batata (*Solanum tuberosum*).



Fonte: Autoria própria, 2021.

A bactéria *R. radiobacter* foi cultivada em meio *Tryptone Soy Agar* (TSA) por 48 horas a uma temperatura de 25 °C (Figura 4). Então 3 a 4 cepas típicas e determinadas foram removidas, e com elas uma suspensão foi preparada comparando a com uma escala de 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹) em caldo de soja triptona (TSB) que foi incubado por 48 horas a 25°C. Em seguida, o inóculo foi reajustado novamente para 1,5x10 escala McFarland 0,5 e diluição de 1:100, obtendo-se um inóculo com $1,5 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ (figura 03).

Figura 03 – Preparo do inóculo bacteriano *R. radiobacter* ATCC 4720.



Fonte: Autoria própria, 2021.

Posteriormente, os inóculos bacterianos foram expostos a concentrações de 2,0, 1,0, 0,5, 0,25 e 0,125 mg.mL⁻¹ dos derivados B1 e B2 e dissolvido em DMSO a 5% e em caldo TSB durante 30 minutos em temperatura ambiente. Em seguida, 50 µL das amostras foram homogeneizadas e inoculadas nos discos de batata. Foram incluídos controles de crescimento de tumor com inoculação de 50 µL da suspensão bacteriana não exposta aos derivados de chalconas, controle de técnica com exposição dos inóculos bacterianos a camptotecina nas concentrações de 100, 10 e 1 µg.mL⁻¹. Controle dos discos de batata, não inoculados com as bactérias e não tratados com nenhuma substância.

A viabilidade bacteriana foi verificada com a inoculação de 100 µL de cada suspensão exposta às concentrações dos derivados de chalcona, em placas de Petri com TSA incubadas a 25 °C por 48 h, para se certificar que os derivados A1 e B1 não inibiram o crescimento das cepas de *R. radiobacter*.

Os discos de batata foram incubados durante 21 dias a 25 °C. Após esse período, fez-se a contagem dos tumores formados por *R. radiobacter* nos discos de batata, posteriormente, a coloração com 1 mL de solução de Lugol (5% I₂ e 10% KI) cobrindo todo o disco por 1 minuto. Os discos de batatas corados foram analisados com auxílio de estereomicroscópio binocular (Leica) para contagem dos tumores.

Os resultados foram calculados com a seguinte fórmula:

$$R\% = \frac{100 - NTT}{NTC} \times 100, \text{ na qual } R\% \text{ é resultado em porcentagem, NTT é número de tumores observados nas amostras tratadas e NTC o número de tumores observados nos controles não tratados.}$$

A atividade antitumoral foi considerada significativa quando foi detectada uma diferença igual ou superior a 20% nos discos tratados com

os derivados de chalcona, em relação à contagem nos discos não tratados (COKER *et al.*, 2003; TRIGUI *et al.*, 2013).

O bioensaio usando discos de batata foi feito em triplicata. O efeito antitumoral no método do disco de batata é definido com base na redução de 20% ou mais no número de tumores causados por *Rhizobium radiobacterem* comparação com um disco de controle negativo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com base nos resultados obtidos, os derivados de chalcona B1 e B2 mostraram inibição significativa na formação de tumores nos discos de batata em todas as concentrações, mostrando valores semelhantes para as duas concentrações menores (0,25 mg.mL⁻¹ e 0,125 mg.mL⁻¹). Nas concentrações de 2,0 mg.mL⁻¹, 1,0 mg.mL⁻¹ e 0,5 mg.mL⁻¹ a porcentagem de inibição para o composto B1 foi maior comparado ao composto B2, conforme observado na tabela 01.

Tabela 01 – Média e porcentagem de inibição de tumores em disco de batatas para os derivados B1 e B2.

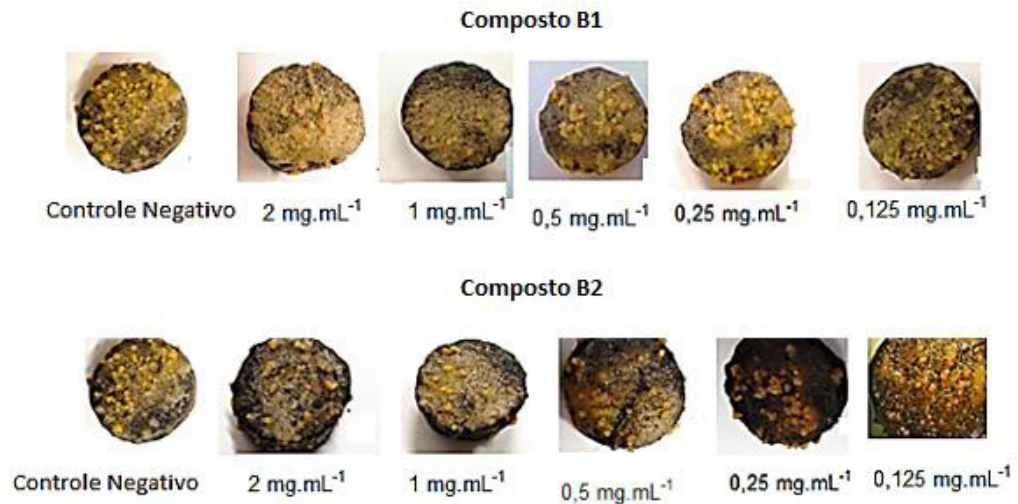
		Composto B1					
		Concentrações (mg.mL⁻¹)					
	Controle	2,0	1,0	0,5	0,25	0,125	
Média	14,50	2,17	2,33	6,67	9,50	11,00	
% Inibição	0,00	85,06	83,91	54,02	34,48	24,14	

		Composto B2					
		Concentrações (mg.mL⁻¹)					
	Controle	2,0	1,0	0,5	0,25	0,125	
Média	14,50	3,8	4,5	8,2	9,7	10,5	
% Inibição	0,00	73,56	68,97	43,68	33,33	27,59	

Fonte: Autoria própria, 2021

A figura 04 mostra que houve uma elevada redução de tumores nos discos de batatas nas concentrações de 2 mg.mL⁻¹, 1 mg.mL⁻¹, dos derivados de chalcona quando comparado com o controle negativo.

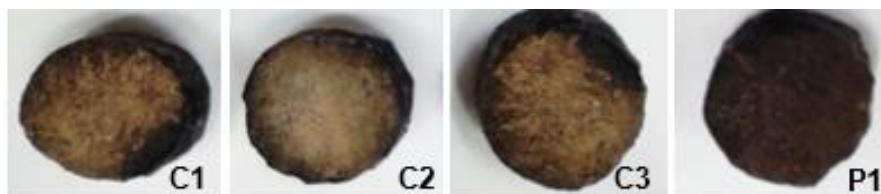
Figura 04 - Aspectos macroscópicos dos discos de batata expostos aos derivados de chalconas.



Fonte: Autoria própria, 2021

Os discos de batata com camptotecina nas concentrações de 100, 10 e 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, não apresentaram crescimento, (imagens C1, C2 e C3), bem como, nos discos de batatas sem nenhum tipo de inóculo (imagem P1), conforme mostra a figura 06.

Figura 05 – Controle de técnica dos derivados de chalcona nos discos de batata frente a *R. radiobacter*.



Fonte: Autoria própria, 2021. **Legenda:** **C1** - Controle de camptotecina de 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, **C2** - Controle camptotecina 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, **C3** - Controle camptotecina 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. **P1** - Controle de disco de Batatas sem inóculo.

Resultados semelhantes foram encontrados nos trabalhos de Noudeh *et al* 2012, onde os autores utilizaram o método de disco de batata para investigar a atividade antitumoral de dois derivados de chalcona nas concentrações de 56, 3,125, 6,25, 12,5, 25 e 50 μg . A inibição foi expressa como porcentagem de aparecimento do tumor nos discos versus os controles, tendo os valores de 52,3 e 53,9% de inibição

do crescimento de tumores na concentração mais alta (50 µg) .Os resultados indicaram um efeito inibitório na formação de tumores nos discos de batata frente aos derivados de chalcona.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Concluiu-se no presente trabalho que os tratamentos B1 e B2 apresentaram efeito inibitório na formação de tumores nos discos de batata. Ademais, as concentrações testadas dos tratamentos foram proporcionais a inibição dos tumores. Mais estudos são necessários para identificar e avaliar a relação da estrutura química e sua atividade farmacológica. Com mais provas, os derivados de chalconas utilizados neste trabalho podem ser fontes potentes como agentes tumorais para o desenvolvimento de novos fármacos.

5. AGRADECIMENTO

Meus sinceros agradecimentos aos professores Dr. Gilberto Aquino pela orientação e ao professor Dr. Plínio Lázaro Faleiro Naves pela coorientação. Por fim à Universidade Estadual de Goiás (UEG) e ao Programa de Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde pelo incentivo à pesquisa científica.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MOHAMED, M. F. A.; ABUO-RAHMA, G. E. D. A. Molecular targets and anticancer activity of quinoline–chalcone hybrids: literature review. *RSC Advances*, v. 10, p. 31139-31155, 2020.

GAO, F.; HUANG, G.; XIAO, J. Chalcone hybrids as potential anticancer agents: Current development, mechanism of action, and structure-activity relationship. *Med Res Rev*, p.1-36, 2020.

OUYANG Y, LI J, CHEN X, FU X, SUN S, WU Q. Chalcone Derivatives: Role in Anticancer Therapy. *Biomolecules*. 2021;11(6):894. Published 2021 Jun 16. doi:10.3390/biom11060894

KARTHIKEYAN, C.; MOORTHY N. S. H.; RAMASAMY, S.; VANAM, U.; MANIVANNAN, E.; KARUNAGARAN, D.; TRIVEDI, P. Advances in chalcones with anticancer activities, *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, v.10 p.97-115, 2015.

ZHUANG, C.; ZHANG, W.; SHENG, C.; ZHANG, W.; XING, C.; MIAO, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. *Chemical reviews*, v. 117, 7762-7810, 2017.

NOUDEH, G. D.; MOSHAFI, M. H.; NOUDEH, A. D.; REZAPOUR, M. Evaluation of the anti-bacterial and anti-tumour activity of two Chroman -4- one derivatives. *African Journal of Microbiology Research*, vol. 6, p. 6319-6324, 2012.

Silva KRX, Almeida SS, Santos YQ, Caldeira AJ, Bailão EFLC, Ayres FM (2018). Evaluation of the antiproliferative potencial of *Stryphnodendron adstringens* (Mart.) coville in the model *Allium cepa*. VI Fundamental aspects of DNA repair and mutagenesis, São Paulo: Universidade de São Paulo

Trigui F, Pigeon P, Jalleli K, Top S, Aifa S, El Arbi M (2013). Selection of a suitable disc bioassay for the screening of antitumor molecules. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*. 4:230–236.

COKER, P. S.; RADECKE, C. G.; CAMPER, N. D. Potato disc tumor induction assay: A multiple mode of drug action assay. *Phytomedicine*, v. 10, p.133-138, 2003.

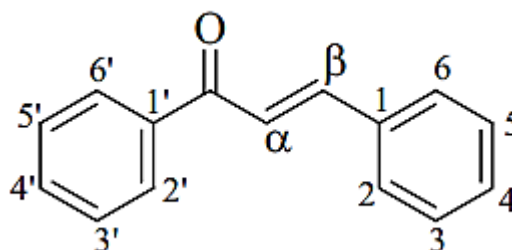
Capítulo 4 - Avaliação da toxicidade preliminar e correlação estrutura/atividade de derivados de chalconas com ensaio de letalidade de *Artemia salina*

1. INTRODUÇÃO

As chalconas são compostos que ocorrem naturalmente em um grande número de plantas comestíveis. Pertencem à família dos flavonóides e também são considerados um dos principais precursores na biossíntese de vários heterociclos biologicamente essenciais, como benzotiazepinas, pirazolinas, pirimidinas, flavonóides, isoflavonóides e flavonas (ZHUANG et al., 2017).

Chalconas são 1,3-difenil-2-propen-1-onas, em que dois anéis de benzeno são conectados por uma estrutura carbonil altamente eletrofílica de três carbonos α,β -insaturados (figura 01). Além disso, as chalconas são intermediários importantes em muitas reações de nucleófilos devido a indução da polarização do grupo carbonila na posição β (ZHUANG et al., 2017).

Figura 01. Estrutura das Chalconas.



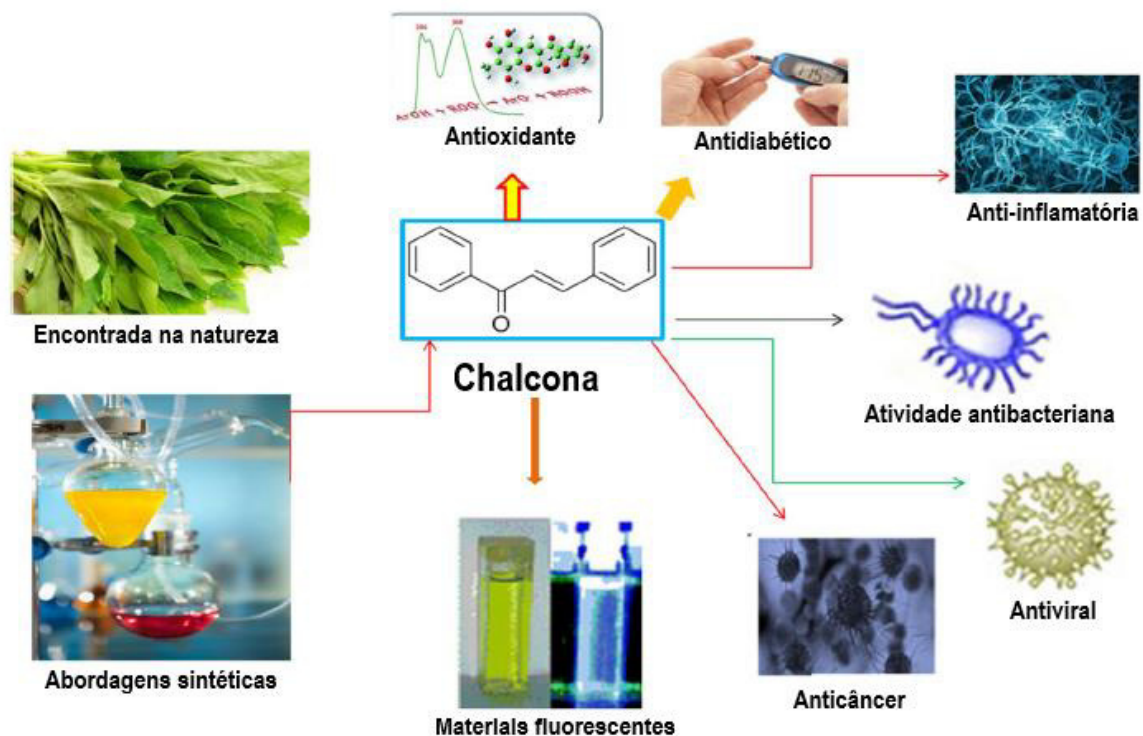
Fonte: PERDANA; ERYANTI; ZAMRI, 2015.

A obtenção das chalconas é uma atração que desperta o interesse de muitos pesquisadores, dentre os fatos podemos citar: modelo de cadeia aberta, cuja simplicidade de estrutura, facilidade na síntese e o recurso de modificação do esqueleto permitem produzir novas classes de compostos orgânicos (FARIAS, 2017; RAMMOHAN et al., 2020).

Os compostos derivados de chalcona exibem uma ampla gama de atividades terapêuticas. Dentre as atividades terapêuticas encontradas, temos anticâncer,

antioxidante, anti-inflamatórios, antimalárico, antiúlcera, antiviral, antiprotozoal, atividade cardiovascular e propriedades mutagênicas (figura 02). Os dois anéis aromáticos das chalconas e o sistema carbonil eletrofílico α , β -insaturado estão em conjugação contínua, isso pode ser a explicação para o baixo potencial redox, estabilidade e as reações de transferência de elétrons, características importantes para suas promissoras atividades biológicas. Assim, chalconas são uma classe inovadora de compostos com potencial terapêutico significativo contra várias doenças. (FARIAS, 2017; XU et al., 2019; RAMMOHAN et al., 2020).

Figura 02 – Aplicações dos compostos derivados de Chalcona.



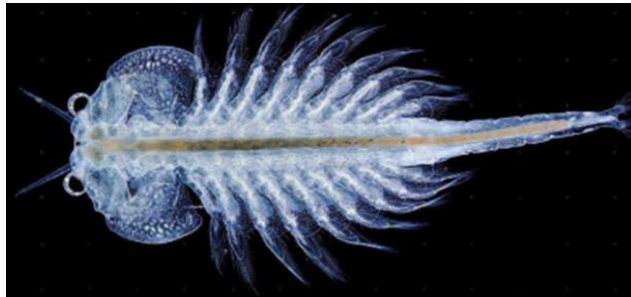
Fonte: Adaptado de RAMMOHAN et al., 2020.

Ensaio de letalidade *in vivo* em um organismo zoológico simples, como o teste de letalidade de artemia, tem sido aplicado como uma ferramenta simples e útil para triagem preliminar de toxicidade de extratos vegetais fisiologicamente ativos ou compostos sintetizados, detecção de toxinas de fungos, metais pesados, pesticidas e também teste de citotoxicidade de materiais dentários. Este bioensaio geral é rápido, confiável e tem usado por mais de trinta anos em toxicologia estudos. No entanto, tem sido demonstrado que existe uma relação positiva entre letalidade de artêmia e

carcinoma humano. Assim, o teste de letalidade de artêmia também pode ser extrapolado para células toxicidade de linha e atividade antitumoral.

A. salina (figura 03) é um zooplâncton invertebrado de água salgada, que possui um papel fundamental no fluxo da cadeia alimentar marinha. Alimentam-se principalmente de fitoplâncton, sendo assim importantes consumidores primários da base da cadeia alimentar marinha. Os cistos de *A. salina* possuem baixo custo e facilidade de obtenção no comércio, além do fato de serem estáveis e resistentes por meses, quando não eclodidos. Essas características contribuem para um modelo adequado para os bioensaios toxicológicos em laboratório (ZHU et al., 2017).

Figura 03 - Náuplio de *A. salina*.



Fonte: AGUIAR, 2021.

Devido ao bioensaio envolvendo *a. salina* ser comumente utilizado como indicador de toxicidade aguda, este se torna essencial para estudos de substâncias que possam indicar uma possível atividade biológica, sendo importante para a descoberta de novos fármacos (AGUIAR, 2021).

O princípio deste método foi baseado na capacidade de certos compostos em matar náuplios de Artemia cultivados em laboratório. O teste de letalidade de artemia é uma das respostas biológicas mais simples para monitorar a letalidade, pois há apenas um critério: ou morto ou vivo. Tem sido mostrado que a artêmia é altamente vulnerável a toxinas nos estágios iniciais de desenvolvimento e supostamente exibem sua maior sensibilidade para compostos de teste.

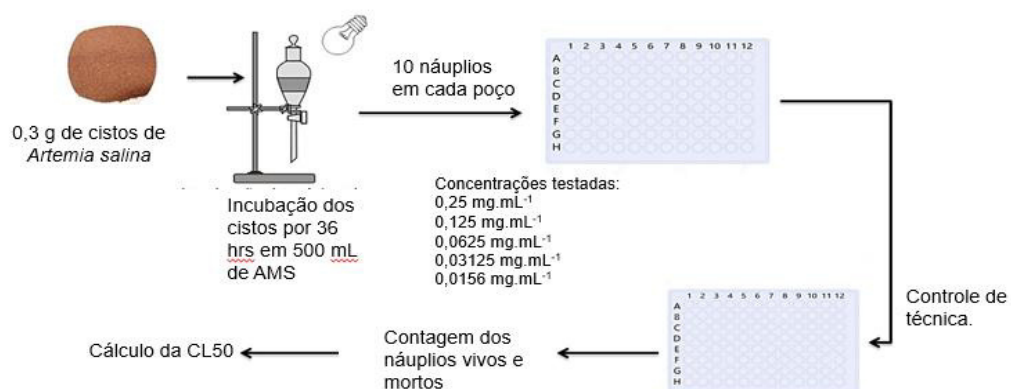
Conforme citado anteriormente, a classe das chalconas têm provocado grande interesse para possíveis usos terapêuticos, ou seja, há uma busca por novas moléculas eficientes e com alto perfil de segurança. Por isso, no presente estudo

o pH para 8.5 com 0,1 M Na₂CO₃. Para a incubação dos cistos, foi pesado 0,3 g de cistos de *A. salina* e incubou em 500 mL de AMS por 36 horas na estufa, ao abrigo da luz, a temperatura de 25°C e com oxigenação constante. Após a eclosão, os náuplios foram atraídos por fonte de luz, pipetados e transferidos para uma placa de Petri com 5 mL de AMS renovada.

Para a realização do ensaio, foi utilizado uma microplaca de poliestireno de 96 poços de fundo plano. Em cada poço foram adicionados 10 náuplios com 100 µL de AMS nova e 100 µL de compostos dissolvidos em AMS. Para os compostos C1, C2 e C4, foram feitas as diluições para obter as seguintes concentrações de 0,25, 0,125 mg.mL⁻¹, 0,0625 mg.mL⁻¹, 0,03125 mg.mL⁻¹ e 0,0156 mg.mL⁻¹. Para o composto B1, foram obtidas as seguintes concentrações: 0,02 mg.mL⁻¹, 0,002mg.mL⁻¹ e 0,0002 mg.mL⁻¹. Foram adicionados também poços contendo DMSO a 10%. Como controle de execução da técnica foram incluídos com a adição de 100 µL de AMS nova com 10 náuplios mais 100 µL da dissolução de dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) nas concentrações de 0,25; 0,125 e 0,0625 mg.mL⁻¹. As microplacas foram incubadas na estufa a uma temperatura de 25°C por 24h.

Ao final, as artêmias mortas foram contadas em cada poço, o número total de artêmia foi computado e os resultados anotados, conforme esquema abaixo:

Figura 05- Ensaio de letalidade de *Artemia salina* para os derivados de chalconas C1,C2 e C4.



Fonte: Adaptado, Correia 2022.

2.4 Análise Estatística

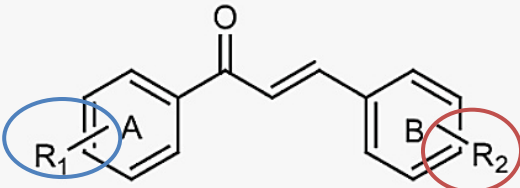


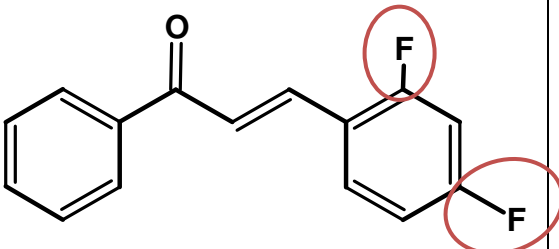

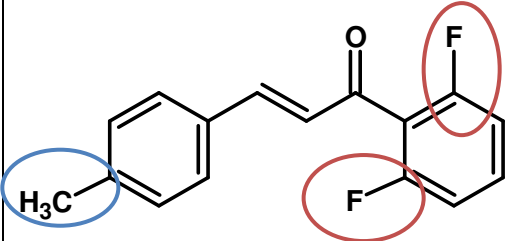


O ensaio foi realizado em triplicata. Para obtenção dos valores da concentração letal para matar 50% dos náuplios (CL50), foi utilizada a análise no software R com a função Probit.

A classificação das substâncias tóxicas e atóxicas seguiu conforme proposto por Meyer e seus colaboradores, onde estabeleceram uma relação entre o grau de toxicidade e a dose letal média, CL50, sobre larvas de *Artemia salina*. Desde então, considera-se que quando são verificados valores acima de $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$, estas são consideradas atóxicas e quando menor que $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ são consideradas tóxicas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As estruturas dos derivados de chalcona e seus substituintes estão apresentados no quadro abaixo:

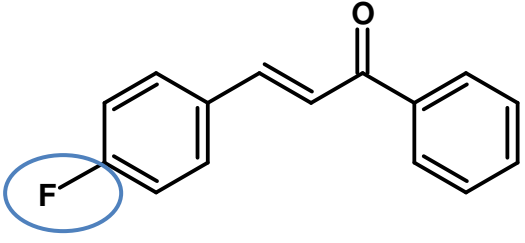

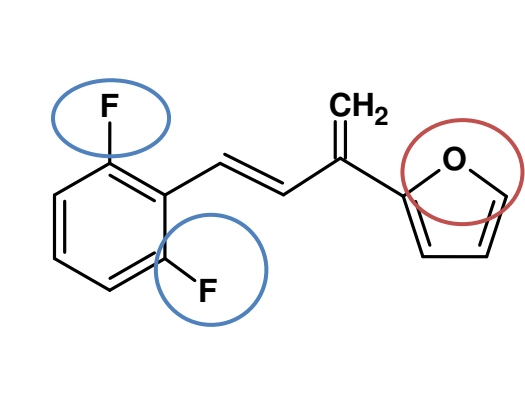


Quadro 1 – Estrutura da chalcona e grupos substituintes dos derivados de chalcona.

Estruturas	Descrição dos Grupos Substituintes
	<p> R1 – Anel A da Chalcona</p> <p> R2 – Anel B da Chalcona</p>
	<p>B1: (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona.</p> <p> Grupo substituinte da porção R2: Flúor. Grupo substituinte doador de elétrons por ressonância e retiradores de elétrons por efeito indutivo.</p>
	<p>C1: (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona</p> <p> Grupo substituinte da porção R2: Flúor. Grupo substituinte doador de elétrons por ressonância e retiradores de elétrons por efeito indutivo</p> <p> Grupo substituinte da porção R1: Metil. Grupo substituinte doador de elétrons.</p>

(Continua)

(Conclusão)

Quadro 1 – Estrutura da Chalcona e grupos substituintes dos derivados de Chalcona.

Estruturas	Descrição dos Grupos Substituintes
	<p>C2: 1-(4-Fluorofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona</p> <p> Grupo substituinte da porção R1: Flúor. Grupo substituinte doador de elétrons por ressonância e retiradores de elétrons por efeito indutivo.</p>
	<p>C4: (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-(furan-2-il)-prop-2-en-1-ona</p> <p> Grupo substituinte da porção R1: Flúor. Grupo substituinte doador de elétrons por ressonância e retiradores de elétrons por efeito indutivo</p> <p> Grupo substituinte da porção R2: Furano. Grupo substituinte retirador de elétrons</p>

Fonte: Autoria própria, 2022.

Os resultados do teste de letalidade dos derivados de Chalcona são apresentados na Tabela 01.

Tabela 01 - Concentração Letal (CL50) dos derivados de chalconas para *Artemia salina*.

Compostos testados	CL ₅₀ (mg.mL) ⁻¹	95% CL
B1	*	**
C1	0,021	**
C2	0,0926	0,081 - 0,109
C4	0,0194	**

Fonte: Autoria própria, 2022.

Legenda: **C1**: (E)-3-(2,6-difluorofenil)-1-p-toluilprop-2-en-1-ona; **C2**: 1-(4-Fluorofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona; **B1**: (2E)-1-(2,6-Difluorofenil)-2-fenil-2-propen-1-ona; **C4**: 1-(2,6-Difluorofenil)-3-furano-2-propen-1-ona; *: Não foi possível calcular a CL50 no programa R, na função Probit. **: Não foi possível calcular o intervalo de confiança no programa R, na função Probit.

Os resultados deste estudo revelaram que os derivados fluorados de chalcona foram altamente tóxicos para *Artemia salina*, sendo o C4 considerado como o mais tóxico com CL50 de 0,0194 mg.mL⁻¹. Este composto possui em sua estrutura nas posições meta e para do anel A átomos de Flúor e no anel B, um grupamento furano. As possíveis interações intramoleculares desses substituintes podem estar relacionadas a toxicidade elevada. O derivado B1 não teve seus valores calculados pelo software R.

O derivado C1 obteve menor toxicidade quando comparado aos demais. O derivado possui em sua estrutura, no anel A, na posição meta o grupamento metil e no anel B, nas posições orto e meta átomos de flúor. A inserção do grupamento metil pode ter influenciado na atividade do grupo farmacológico, diminuindo o efeito tóxico. Quando comparado ao composto C2 que possuía o substituinte no anel A, na posição meta, o mesmo foi mais tóxico que o C1. Deste modo, a ordem de toxicidade encontrada foi C4>C2>C1.

Resultados semelhantes foram reportados no trabalho de Abbas e colaboradores (2013), onde uma série de chalconas foram sintetizadas e avaliou-se a toxicidade frente a artemia salina. Neste estudo os autores verificaram que as chalconas contendo átomos de flúor apresentaram alto grau de toxicidade, atribuindo ao efeito eletromérico contribuído pelo grupo fluoro estar situado na posição para ao grupo carbonila no anel aromático.

Os controles de viabilidade e de técnica apresentaram resultados esperados (ausência de mortalidade espontânea) e o controle com dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇) obteve valores referentes ao controle interno do laboratório com CL₅₀ de 0,03456 mg.mL⁻¹ para A. salina.

Este ensaio biológico é considerado como uma triagem preliminar, simples e rápida para estudos de compostos com potenciais atividades biológicas (ZHU et al., 2017).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR C.E.R. **O-alquilação de um composto fenólico e ensaios de toxicidade frente a larvas de *Artemia Salina* leach e teste de atividade antifúngica contra cepas do gênero *Candida Spp.*** Projeto de Conclusão - Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, 2021.

ABBAS, A., NASEER, M. M., HASAN, A., & HADDA, T. B. (2014). Synthesis and cytotoxicity studies of 4-alkoxychalcones as new antitumor agents. **J Mater Environ Sci**, 5, 281-292.

FARIAS I. F. **Síntese, caracterização e avaliação do potencial biológico de chalconas e análogos.** 2017. 137p. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2017.

MEIER, D.; HERNÁNDEZ, V. M.; GEELLEN, V. L.; MUHARINI, R.; PROKSCH, P.; BANDOW, J. E.; KALSCHEUER, R. The plant-derived chalcone Xanthoangelol targets the membrane of Gram-positive bacteria. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v.27, n.23, 115151, 2019.

MOLINA-SALINAS, Gloria María; SAID-FERNÁNDEZ, Salvador. A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 633-638, 2006.

PERDANA, F., ERYANTI, Y., & ZAMRI, A. (2015). Synthesis and toxicity assessments some para-methoxy chalcones derivatives. **Procedia Chemistry**, 16, 129-133.

RAMMOHAN, A.; REDDY, J. S.; SRAVYA, G.; NARASIMHA, R.; ZYRYANOV, G. V. Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. **Environ Chem Lett**, v. 18, p. 433-458, 2020.

XU, M.; WU, P.; SHEN, F.; JI, J.; RAKESH, K. P. Chalcone derivatives and their antibacterial activities: Current development. **Bioorganic chemistry**, v. 91, 103133, 2019.

ZHU, S., XUE, M. Y., LUO, F., CHEN, W. C., ZHU, B., & WANG, G. X. (2017). Developmental toxicity of Fe₃O₄ nanoparticles on cysts and three larval stages of *Artemia salina*. **Environmental pollution**, 230, 683-691.

ZHUANG, C.; ZHANG, W.; SHENG, C.; ZHANG, W.; XING, C.; MIAO, Z. Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. **Chemical reviews**, v. 117, 7762-7810, 2017.