

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

Síntese, caracterização e avaliação *in silico* de derivados de chalconas  
heterocíclicas como potenciais broncodilatadores

GABRIELLY DINIZ DUARTE

João Pessoa – PB

Setembro/2020



GABRIELLY DINIZ DUARTE

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO *IN SILICO* DE  
DERIVADOS DE CHALCONAS HETEROCÍCLICAS COMO POTENCIAIS  
BRONCODILATADORES

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade  
Federal da Paraíba, como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em Biotecnologia

ORIENTADOR: PROF. DR. LUIS CEZAR RODRIGUES – UFPB

João Pessoa – PB

Setembro de 2020

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

D812s Duarte, Gabrielly Diniz.

Síntese, caracterização e avaliação in silico de derivados de chalconas heterocíclicas como potenciais broncodilatadores / Gabrielly Diniz Duarte. - João Pessoa, 2020.

87 f. : il.

Orientação: Luis Cezar Rodrigues.

Dissertação (Mestrado) - UFPB/CBIOTEC.

1. Farmacoquímica. 2. Condensação de Claisen-Schmidt.  
3. Pirazóis. 4. Adição de Michael. I. Rodrigues, Luis Cezar. II. Título.

UFPB/BC

CDU 615:54(043)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA NÍVEL MESTRADO

João Pessoa, 16 de setembro de 2020

**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

Às quatorze horas (14h) do dia dezesseis de setembro do ano de dois mil e vinte, no endereço eletrônico <https://meet.google.com/ekt-uauu-ztk>, divulgado na página eletrônica do Programa, reuniram-se em caráter de Solenidade Pública os membros da Banca Examinadora designada para examinar a aluna **GABRIELLY DINIZ DUARTE**, candidata ao Título de Mestre em Biotecnologia. Foram componentes da Banca examinadora os professores doutores **Luis Cezar Rodrigues** (Departamento de Biotecnologia do CBiotec, Presidente da Banca), **Edson Luiz Folador** (Departamento de Biotecnologia do CBiotec, membro interno do Programa), e **José Maria Barbosa Filho** (Departamento de Ciências Farmacêuticas do CCS, membro externo do Programa). Dando início aos trabalhos, o Presidente da Banca, após declarar os objetivos da reunião, apresentou a candidata, a quem concedeu a palavra para que dissertasse oral e sucintamente sobre o tema intitulado “**Síntese, caracterização e avaliação *in silico* de derivados de chalconas heterocíclicas como potenciais broncodilatadores**”. Após discorrer sobre o referido tema, a candidata foi arguida pelos examinadores na forma Regimental. Em seguida, passou a banca em caráter secreto, a proceder à avaliação e julgamento do trabalho, concluindo por atribuir-lhe o conceito **APROVADO**. Em face da aprovação, declarou o presidente achar-se a examinada **GABRIELLY DINIZ DUARTE** legalmente habilitada a receber o título de Mestre em Biotecnologia, na área de concentração **Biotecnologia Aplicada à Saúde**, cabendo à Universidade Federal da Paraíba providências como de direito à expedição do diploma que a candidata faz jus. Nada mais havendo a tratar, eu, Ian Porto Gurgel do Amaral, na qualidade de Coordenador do Programa, lavrei a presente Ata que submeto à aprovação da Banca Examinadora.

Prof. Dr. Ian Porto Gurgel do Amaral (Coordenador)

Prof. Dr. Luis Cezar Rodrigues (Presidente)

Prof. Dr. Edson Luiz Folador (Examinador Interno)

Prof. Dr. José Maria Barbosa Filho (Examinador Externo)

Centro de Biotecnologia – UFPB – Campus I  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Nível Mestrado  
Cidade Universitária – CEP 58051-900 Fones: (83) 3216-7173 João Pessoa/PB

*Aos meus pais e a toda minha família por  
todo o apoio recebido, meu muito obrigado. Este  
trabalho é dedicado a vocês.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, em primeiro lugar, que sempre me conduziu com as devidas lições de amor, fraternidade e compaixão.

Para a realização deste trabalho, muitas pessoas me ajudaram e sem as quais não seria possível concluí-lo. A todas elas, as quais seria exaustivo aqui enunciar, a minha profunda gratidão.

A algumas delas pelo apoio especial que me prestaram ao longo deste trabalho gostaria de agradecer especialmente:

Ao meu orientador Prof<sup>o</sup>. Dr. Luis Cezar Rodrigues, pela dedicação, conselhos, ensinamentos, suporte, compreensão e amizade durante os últimos anos.

Aos meus colegas de laboratório Flávio Valadares P. Borges, Luiz André Araújo Silva, Fernando Ferreira Leite e Bruno Hanrry Melo de Oliveira, que estiveram comigo nesta jornada pelo apoio, companheirismo e discussões enriquecedoras.

Aos meus pais e irmãos, por me apoiarem, sonharem junto comigo e estarem do meu lado nas horas mais difíceis e felizes de toda a minha vida.

Ao meu companheiro Rafael Enrique Silva Galiza, pelo suporte incondicional e carinho expressados durante os últimos anos.

À Universidade Federal da Paraíba, pelo apoio sempre concedido.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos no último ano do curso de mestrado.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia (PGBiotecM) por estimularem a cientista dentro de mim e cada aula ministrada e me incentivarem a ser uma pesquisadora melhor.

Aos funcionários do Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises – LMCA, em especial a Evandro Pereira da Silva e Marcelo Felipe Rodrigues da Silva, por realizar o serviço de Análise Espectroscópica por Ressonância Magnética Nuclear com excelência, competência e boa vontade em auxiliar sempre que necessário.

“The meeting of two personalities is like the contact of two chemical substances; if there is any reaction, both are transformed.”

Carl Gustav Jung

## RESUMO

Chalconas são moléculas de alto valor biológico devido às suas diversas atividades já relatadas na literatura. Neste contexto, derivados de chalconas sintéticas são moléculas promissoras no desenvolvimento de medicamentos, despertando interesse no âmbito acadêmico e industrial. Buscando contribuir com a diversidade de moléculas sintéticas e com o estudo de novos broncodilatadores, este trabalho visou a síntese e caracterização de uma chalcona tiofênica (*E*)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01) e três derivados inéditos, sendo estes: 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-carbotioamida (GA-04), 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol (GA-05) e 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-1-il)etan-1-ona (GA-06). Os rendimentos das reações variaram entre 93,8% e 31,83% e os compostos foram obtidos por precipitação, reduzindo o custo com etapas exaustivas de purificação. Todas as moléculas foram submetidas a testes *in sílico* para a sua atividade broncodilatadora e propriedades farmacocinéticas. Nos ensaios mencionados, GA-01, GA-05 e GA-06 apresentaram potencial atividade broncodilatadora.

Palavras-chave: Condensação de Claisen-Schmidt; pirazóis; adição de Michael.

## ABSTRACT

Chalcones are molecules of high biological value due to its variety in biological activities. In this context, derivatives of synthetic chalcones are promising molecules in drug development of interest for both the academy and industry. Seeking to contribute to the diversity of synthetic molecules and the study of new bronchodilators, this work aimed at the synthesis and characterization of a thiophenic chalcone (*E*)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-3-(thiophen-2-yl)prop-2-en-1-one (GA-01) and three unpublished derivatives, these being: 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-5-(thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-carbothioamide (GA-04), 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-phenyl-5-(thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole (GA-05) and 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-5-(thiophen-2-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazol-1-yl)ethan-1-one (GA-06). Reaction yields varied between 93.8% and 31.83% and the compounds were obtained by precipitation, avoiding costs with exhaustive steps of purification. All molecules were subjected to *in silico* tests for their bronchodilator activity and for its pharmacokinetic properties. In the tests mentioned above, the substances GA-01, GA-05 and GA-06 showed potential bronchodilator activity.

Keywords: Claisen-Schmidt condensation; pirazole; Michael addition.

## Lista de ilustrações

|                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Representação geral de uma chalcona.....                                                          | 18 |
| Figura 2. Fases presentes no processo industrial de desenvolvimento de fármacos .....                       | 20 |
| Figura 3. Rota biossintética das chalconas .....                                                            | 24 |
| Figura 4. Síntese de chalcona por condensação aldólica.....                                                 | 25 |
| Figura 5. Mecanismo da obtenção de chalconas por condensação de Claisen-Schmidt                             | 25 |
| Figura 6. Mecanismo da síntese de pirazol derivado de chalcona via adição de Michael .....                  | 28 |
| Figura 7. Medicamentos com núcleo azólico. ....                                                             | 29 |
| Figura 8. Representação de uma bichalcona derivada do 1,3-diacetilbenzeno .....                             | 30 |
| Figura 9. Medicamentos heterocíclicos contendo enxofre. ....                                                | 31 |
| Figura 10. Drogas com efeito broncodilatador.....                                                           | 32 |
| Figura 11. Seleção do sítio de ligação na proteína. ....                                                    | 36 |
| Figura 12. Rota sintética da Chalcona Tiofênica (GA-01).....                                                | 38 |
| Figura 13. Formação de sólido na reação GA-01 .....                                                         | 38 |
| Figura 14. Rota sintética para obtenção de três derivados pirazólicos de GA-01 .....                        | 39 |
| Figura 15. Rota sintética de GA-04 .....                                                                    | 40 |
| Figura 16. Precipitado na reação GA-04 .....                                                                | 40 |
| Figura 17. Rota sintética de GA-05 .....                                                                    | 41 |
| Figura 18. Formação de cristais na reação GA-05. ....                                                       | 41 |
| Figura 19. Rota sintética de GA-06 .....                                                                    | 42 |
| Figura 20. Visualização da interação da substância GA-01 (azul) com o resíduo da proteína M3 (verde).....   | 46 |
| Figura 21. Visualização do resultado de <i>docking</i> para GA-04 (azul) com a proteína M3 (cinza). ....    | 47 |
| Figura 22. Visualização da interação de GA-05 (azul) com os resíduos da proteína M3 (amarelo e verde). .... | 47 |
| Figura 23. Visualização da interação de GA-06 (azul) com o resíduo da proteína M3 (verde).....              | 48 |
| Figura 24. (E)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01)...                       | 49 |
| Figura 25. Espectro de RMN <sup>13</sup> C - APT 100 MHz de GA-01.....                                      | 50 |
| Figura 26. Espectro de RMN <sup>1</sup> H 400 MHz de GA-01.....                                             | 51 |

|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 27. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-01 (7,25 a 7,95 ppm) .                        | 51 |
| Figura 28. 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1 carbotioamida .....   | 53 |
| Figura 29. Espectro RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-04 .....                                                     | 53 |
| Figura 30. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-04 (3,0 a 4,0 ppm) .....                      | 54 |
| Figura 31. Espectro RMN $^{13}\text{C}$ – APT 100 MHz de GA-04.....                                             | 55 |
| Figura 32. Mecanismo proposto para a adição de Michael da tiossemicarbazida com a chalcona tiofênica .....      | 57 |
| Figura 33. 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol                 | 57 |
| Figura 34. Espectro RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-05 .....                                                     | 59 |
| Figura 35. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-05 (3,0 a 4,0 ppm) .....                      | 59 |
| Figura 36. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-05 (6,80 a 7,50 ppm) .                        | 60 |
| Figura 37. Espectro RMN $^{13}\text{C}$ – APT 100 MHz de GA-05.....                                             | 61 |
| Figura 38. 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1 <i>H</i> -pirazol-1 il)etan-1-ona..... | 62 |
| Figura 39. Espectro $^1\text{H}$ RMN 400 MHz de GA-06 .....                                                     | 63 |
| Figura 40. Expansão do espectro de RMN $^1\text{H}$ 400 MHz de GA-06 (2,0 a 4,0 ppm) .....                      | 64 |
| Figura 41. Espectro RMN $^{13}\text{C}$ – APT 100 MHz de GA-06.....                                             | 65 |

## **Lista de tabelas**

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1. Predição de propriedades farmacocinéticas para os compostos. .... | 43 |
| Tabela 2. Resultados de afinidade das substâncias à proteína M3 .....       | 46 |

## **Lista de abreviaturas e siglas**

CCDA – Cromatografia em Camada Delgada Analítica

CCDP – Cromatografia em Camada Delgada Preparativa

CCS – Cromatografia em Coluna de Sílica

CoA – Coenzima A

COX-2 – Ciclo-oxigenase 2

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EROs – Espécies Reativas de Oxigênio

FDA – Food and Drug Administration

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

Hz – Hertz

M3 – Receptor Muscarínico 3 de acetilcolina

MHz – Mega-hertz

mTOR – Alvo de mamíferos da rapamicina

OMS – Organização Mundial de Saúde

PDB – Protein Data Bank

PF – Ponto de Fusão

P-Gp – Glicoproteína P

Ppm – Partes por milhão

RF – Fator de retenção

RMN – Ressonância magnética nuclear

SQTL – Síndrome do QT longo

SNC – Sistema Nervoso Central

UV – Ultravioleta

## Lista de símbolos

$\alpha$  – Alfa

$\beta$  – Beta

$\delta$  – Delta

$J$  – Constante de acoplamiento

$\mu$  – Micro

$\pi$  – Pi

## Sumário

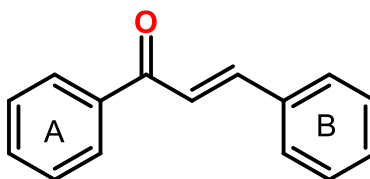
|                                                                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Lista de ilustrações .....                                                                                           | 11 |
| Lista de tabelas .....                                                                                               | 13 |
| Lista de abreviaturas e siglas .....                                                                                 | 14 |
| Lista de símbolos .....                                                                                              | 15 |
| 1 Introdução .....                                                                                                   | 18 |
| 2. Revisão da literatura .....                                                                                       | 20 |
| 2.1 Avaliação <i>in silico</i> no desenvolvimento de fármacos.....                                                   | 20 |
| 2.1.1 Avaliação de características farmacocinéticas <i>in silico</i> .....                                           | 21 |
| 2.1.2 Avaliação <i>in silico</i> de características farmacodinâmicas.....                                            | 22 |
| 2.1 Chalconas.....                                                                                                   | 23 |
| 2.2 Síntese e atividade de derivados de chalconas .....                                                              | 27 |
| 2.3 Compostos heterocíclicos na química medicinal.....                                                               | 30 |
| 2.4 Broncodilatadores .....                                                                                          | 31 |
| 3 Objetivos.....                                                                                                     | 34 |
| 3.1 Objetivo geral .....                                                                                             | 34 |
| 3.2 Objetivos específicos .....                                                                                      | 34 |
| 4. Metodologia.....                                                                                                  | 35 |
| 4.1 Desenho e avaliação <i>in silico</i> de propriedades farmacocinéticas .....                                      | 35 |
| 4.2 Avaliação <i>in silico</i> de potencial farmacológico.....                                                       | 35 |
| 4.3 Síntese dos compostos .....                                                                                      | 37 |
| 4.3.1 Síntese da ( <i>E</i> )-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01) .....              | 37 |
| 4.3.2 Síntese de derivados da ( <i>E</i> )-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01) ..... | 39 |
| .....                                                                                                                | 39 |
| 4.3.2.1 Síntese da 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioamida (GA-04) ..... | 39 |

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.3.2.2 Síntese do 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol (GA-05) .....            | 40 |
| 4.3.2.3 Síntese da 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-ona (GA-06) ..... | 41 |
| 5 Resultados e discussão.....                                                                                           | 43 |
| 5.1 Predição de características farmacocinéticas .....                                                                  | 43 |
| 5.2 Docking molecular .....                                                                                             | 46 |
| 5.3 Síntese.....                                                                                                        | 48 |
| 5.3.1 (E)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01) .....                                     | 48 |
| 5.3.2 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioamida (GA-04).....                  | 52 |
| 5.3.3 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol (GA-05).....                          | 57 |
| 5.3.4 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-ona (GA-06).....               | 62 |
| 6 Conclusão .....                                                                                                       | 67 |
| Referências bibliográficas .....                                                                                        | 68 |
| GLOSSÁRIO.....                                                                                                          | 75 |
| APÊNDICE A – Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT da substância GA-01 .....                                              | 76 |
| APÊNDICE B – Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância GA-01 .....                                                   | 77 |
| APÊNDICE C – Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT da substância GA-04 .....                                              | 78 |
| APÊNDICE D – Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância GA-04.....                                                    | 79 |
| APÊNDICE E – Espectro RMN <sup>13</sup> C APT da substância GA-05 .....                                                 | 80 |
| APÊNDICE F – Espectro de RMN <sup>1</sup> H da substância GA-05.....                                                    | 81 |
| APÊNDICE G – Espectro de RMN <sup>13</sup> C APT da substância GA-06 .....                                              | 82 |
| APÊNDICE H – Espectro RMN <sup>1</sup> H da substância GA-06.....                                                       | 83 |
| ANEXO A – Trabalhos publicados no período de desenvolvimento do mestrado .....                                          | 84 |

## 1 Introdução

Chalconas (Figura 1) são moléculas de grande importância biológica encontradas em diversas espécies de organismos fotossintéticos na forma de precursores de flavonoides, caracterizadas pela presença de dois anéis aromáticos unidos por uma cadeia lateral de três carbonos com um sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado à carbonila (ZYSZKA; ANIOŁ; LIPOK, 2017). A presença da insaturação conjugada é considerada responsável pela atividade biológica desses compostos, a qual pode ser dos mais diversos tipos a depender ainda dos grupos substituintes presentes nos anéis aromáticos (BOULEBD, 2020; XUE *et al.*, 2018).

Figura 1. Representação geral de uma chalcona



Fonte: Autor, 2020.

Por se tratar de um intermediário na biossíntese de flavonóides, a concentração de chalconas em plantas é muito baixa, tornando custosa sua extração para utilização em testes pré-clínicos e clínicos (ZHANG; FANG, 2017). Desta forma, a obtenção de chalconas por métodos sintéticos é bastante explorada em busca de obter rendimentos superiores e quantidades suficientes para investigações clínicas dos mais diversos tipos (LI *et al.*, 2019).

A busca de novos compostos com atividade broncodilatadora é de constante interesse para aplicação em pacientes com asma e outras doenças respiratórias crônicas. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), 235 milhões de pessoas sofrem com asma no mundo inteiro e mais de 3 milhões de pessoas morrem todo ano em consequência de doenças respiratórias crônicas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020).

Uma classe de medicamentos com ação broncodilatadora já comprovada é a de anticolinérgicos, como o tiotrópio. Estes medicamentos interagem em um sítio alostérico dos receptores para acetilcolina (proteína M3) e agem como antagonistas muscarínicos, bloqueando a contração do músculo liso e promovendo assim, uma ação broncodilatadora (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Para maior direcionamento às moléculas sintetizadas, são utilizados testes *in silico* nos quais estas podem ser testadas virtualmente contra alvos farmacológicos já conhecidos. De acordo com os resultados de *docking* obtidos, os melhores fármacos podem ser selecionados para posteriores testes *in vitro*, evitando assim o gasto desnecessário de reagentes, células e microrganismos com moléculas que virtualmente não apresentem resultado satisfatório. Desta forma, os testes *in vitro* e *in vivo* irão servir para confirmar os dados preditos por *softwares* desenvolvidos para esta finalidade.

Visto que há grande interesse no desenho e síntese de novas moléculas com potencial farmacológico, derivados de chalconas sintéticos vêm como um novo caminho para a obtenção de compostos inéditos com grande potencial de atividade biológica através da adição de farmacoforos e heteroátomos às suas estruturas.

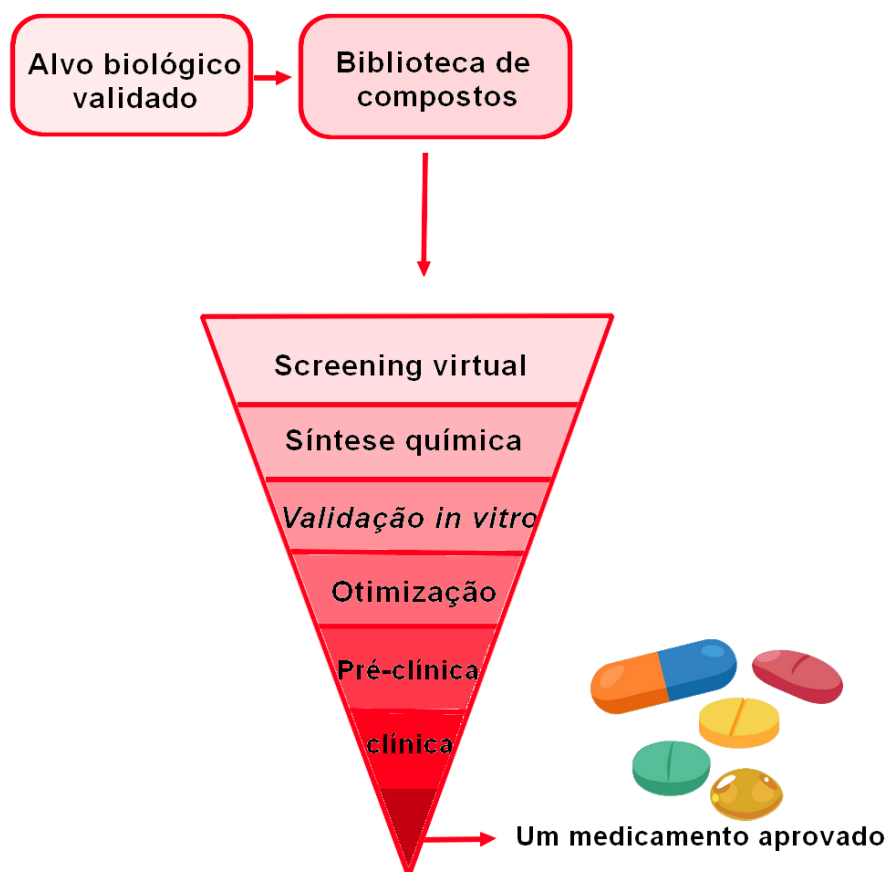
## 2. Revisão da literatura

### 2.1 Avaliação *in silico* no desenvolvimento de fármacos

Medicamentos são essenciais na sociedade moderna para a sobrevivência e promoção de saúde em seres humanos. O desenvolvimento de fármacos cada vez mais eficientes depende também de métodos cada vez mais aprimorados, que muitas vezes consomem muito tempo e recursos financeiros. A abordagem de testes *in silico* surgiu com uma característica multidisciplinar para suprir esta demanda, reduzindo custos e tempo com testes preliminares mais complexos, como *in vitro*.

No processo de desenvolvimento de fármacos industrial (Figura 2), nós temos a identificação do alvo biológico, que pode ser uma enzima, citocina ou receptor. A partir deste, são selecionadas bibliotecas de compostos promissores para aquele alvo em questão através de *screening virtual* que serão sintetizadas e testadas em uma validação *in vitro* para confirmação dos dados computacionais.

Figura 2. Fases presentes no processo industrial de desenvolvimento de fármacos



Fonte: Autor, 2020.

Após a validação *in vitro*, podemos ter pelo menos um candidato promissor elegido, que passa por fases de otimização, para gerar dezenas de compostos similares que serão sintetizados e passam por testes pré-clínicos antes de irem para as fases clínicas e termos um medicamento avaliado e aprovado para uso comercial.

O desenho de novos fármacos na síntese guiada, pode ser baseado na estrutura da proteína a qual este deve se ligar (SBDD – *Structure Based Drug Design*) ou baseado em ligantes já conhecidos de uma proteína (LBDD – *Ligand Based Drug Design*).

Após a seleção de ligantes com potencial afinidade à proteína, o docking molecular é feito entre estes, a fim de avaliar a afinidade da ligação do ligante ao sítio de uma certa proteína.

### **2.1.1 Avaliação de características farmacocinéticas *in silico***

O peso molecular, a conformação estrutural, o grau de ionização e a lipossolubilidade relativa de um fármaco são características que preveem o transporte e a sua distribuição em sistemas biológicos (GOODMAN; GILMAN, 2012). Alguns softwares utilizam destas informações e algoritmos para predizer computacionalmente características farmacológicas e farmacocinéticas de possíveis medicamentos.

Propriedades como absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade podem ser calculadas utilizando softwares como OSIRIS (SANDER *et al.*, 2009) ou SwissADME (DAINA; MICHIELIN; ZOETE, 2017) para filtrar as moléculas com potencial de se ligar ao alvo que apresentem valores de toxicidade baixos e características desejáveis em um fármaco, como boa absorção e distribuição no organismo (YUGANDHAR *et al.*, 2017).

A plataforma pkCSM (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015) fornece dados farmacocinéticos preditos para moléculas através de algoritmos e fornece dados de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade. Para dados de absorção nós temos: a solubilidade em água, que é calculada como a solubilidade da molécula em água a 25 °C e expressa em log mol/L; permeabilidade Caco-2, uma linhagem de células utilizadas em testes *in vitro* para avaliar a absorção de drogas administradas via oral, são consideradas moléculas de alta permeabilidade valores preditos acima de 0,90.

Para a absorção intestinal, é calculada a porcentagem da molécula que será absorvida pelo intestino delgado humano, resultados preditos abaixo de 30% indicam baixa permeabilidade intestinal. Os dados de permeabilidade dérmica são expressos como a constante

de permeabilidade dérmica  $\log K_p$  (cm/h) e valores preditos menores que 2,5 são considerados de baixa permeabilidade dérmica.

O volume de distribuição é o volume no qual a droga irá se encontrar em concentrações iguais nos tecidos e no plasma, quanto maior o valor predito para o volume de distribuição, mais a droga é distribuída nos tecidos em detrimento do plasma. Para a capacidade de uma molécula atravessar a barreira hematoencefálica (BHE), resultados preditos maiores que 0,3  $\log BB$  são considerados como de alta permeabilidade a BHE. Já a capacidade de uma molécula adentrar o sistema nervoso central (SNC) é uma medida mais direta, feita de forma experimental através da perfusão do cérebro com o composto injetado diretamente na artéria carótida. Para a permeabilidade ao SNC, valores maiores que -2  $\log PS$  são considerados como penetrantes ao SNC.

Experimentos de toxicidade *Tetrahymena pyriformis* determinam a concentração do composto necessária para inibir 50% do crescimento (LC50) desta bactéria e valores preditos menores que -0,5  $\log \mu\text{g/L}$  são considerados tóxicos. O teste de toxicidade Minnow também calcula a LC50 e valores calculados abaixo de 0,5 mM ( $\log < -0,3$ ) são considerados de alta toxicidade aguda.

Além de características farmacocinéticas, propriedades de farmacodinâmicas também podem ser calculadas computacionalmente na obtenção de fármacos a fim de evitar o gasto com testes *in vitro*.

### **2.1.2 Avaliação *in silico* de características farmacodinâmicas**

A avaliação *in silico* de características farmacodinâmicas está presente em diversos projetos de pesquisa e podem auxiliar no desenvolvimento de fármacos ainda mais específicos em sua ação biológica, como exemplificado a seguir.

Kist e colaboradores propuseram oito moléculas com atividade inibidora do alvo de mamíferos da rapamicina (mTOR) através de técnicas de desenvolvimento de fármacos baseada no ligante, como a busca por farmacoforos, docking molecular e dinâmica molecular. Com o estudo *in silico* eles observaram que os novos inibidores possuíam propriedades similares ou melhores ao inibidor clássico, rapamicina (KIST; TIMMERS; CACERES, 2018).

A molécula pomalidomida foi desenvolvida através da seleção de análogos de medicamentos imunomoduladores como talidomida e lenalidomida para o tratamento de

mieloma múltiplo e tem se mostrado eficaz no tratamento com mecanismo de ação envolvendo a indução de apoptose das células cancerígenas e atividade antiangiogênica (RÍOS-TAMAYO *et al.*, 2017). O uso desta técnica de análogos de moléculas já ativas biologicamente e testadas anteriormente, permite ao pesquisador encontrar variantes daquela estrutura com características distintas de eficácia, efeitos colaterais, toxicidade e dosagem para elencar a variável mais adequada.

Esse método de desenvolvimento de novos fármacos mostrou-se eficaz no desenho de medicamentos comerciais como a sildenafil, zanamivir e amprenavir, desenvolvidos para o tratamento da disfunção erétil, infecção por influenza e HIV, respectivamente (TRIPATHI *et al.*, 2016).

O *docking* pode ser feito através de diversas ferramentas, como M-ZDOCK (PIERCE; TONG; WENG, 2004), AutoDock (MORRIS *et al.*, 2009) ou GOLD (JONES *et al.*, 1997), cada uma destas apresenta vantagens e desvantagens quanto ao algoritmo utilizado para promover as possíveis ligações e seu *score*. De forma geral, para realizar um *docking* é preciso preparar os ligantes, preparar a proteína e determinar o sítio de ligação para que então o software faça as predições das melhores poses de ligação entre as moléculas de entrada.

Os valores de afinidade de ligação obtidos devem ser sempre comparados com ligantes já conhecidos da estrutura desejada, para que haja um parâmetro de comparação na análise de dados para inferir possíveis atividades biológicas advindas da interação com o receptor ou proteína-alvo.

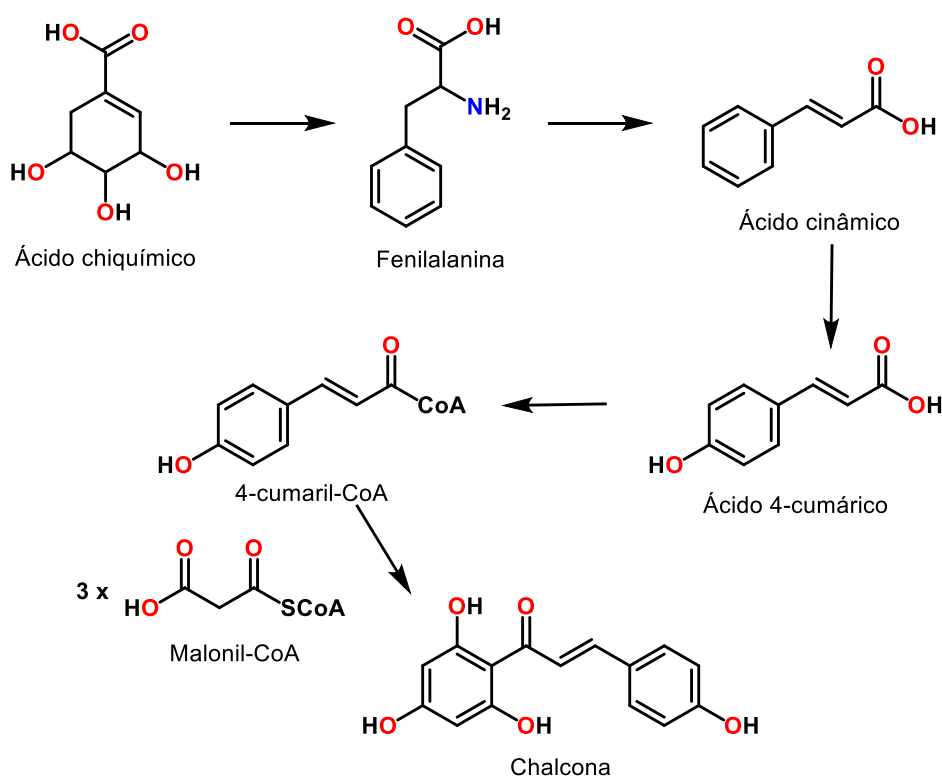
De acordo com os valores de afinidade e características farmacocinéticas da molécula, podemos selecionar as estruturas mais promissoras e identificar farmacoforos favoráveis à ação biológica desejada. As chalconas, uma classe de moléculas de bastante interesse na química medicinal, possuem alto potencial de uso em testes *in sílico* devido à variedade de atividades biológicas encontradas para estes compostos.

## 2.2 Chalconas

Chalconas ou 1,3-diaril prop-2-en-1-onas são cetonas  $\alpha,\beta$ -insaturadas constituídas por dois anéis aromáticos (anel A e B) ligados por uma cadeia alifática de três carbonos (TEKALE *et al.*, 2020). Este esqueleto básico, possui diversos hidrogênios que podem ser substituídos, gerando uma vasta diversidade de moléculas associadas a diferentes atividades biológicas.

As chalconas são encontradas na natureza como polifenóis derivados do ácido chiquímico na rota biossintética mista (Figura 3), originando o aminoácido fenilalanina, que por sua vez é transformado em ácido cinâmico, que é hidroxilado, formando o ácido 4-(OH)-cumárico e por fim o 4-cumaril-CoA, formando o anel A e os carbonos da cadeia lateral, que ao ser condensado com três moléculas de malonil-CoA e sofrer uma série de reações de hidroxilação e redução, formam as chalconas (PEREIRA; RODRIGUES; VEGA, 2016).

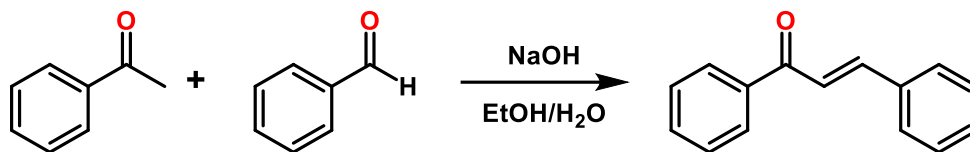
Figura 3. Rota biossintética das chalconas



Fonte: Autor, 2020.

Estes compostos têm chamado bastante a atenção da comunidade científica devido a sua simplicidade estrutural, facilidade de síntese em condições reacionais brandas (MACHADO *et al.*, 2017) através de diversas metodologias. Entretanto, as chalconas são obtidas prontamente na reação de condensação aldólica do tipo Claisen-Schmidt entre uma cetona e um aldeído aromáticos na presença de uma base ou ácido fortes como catalisador (LAKHEKAR; RAHATIKAR; BASEER, 2019) (Figura 4).

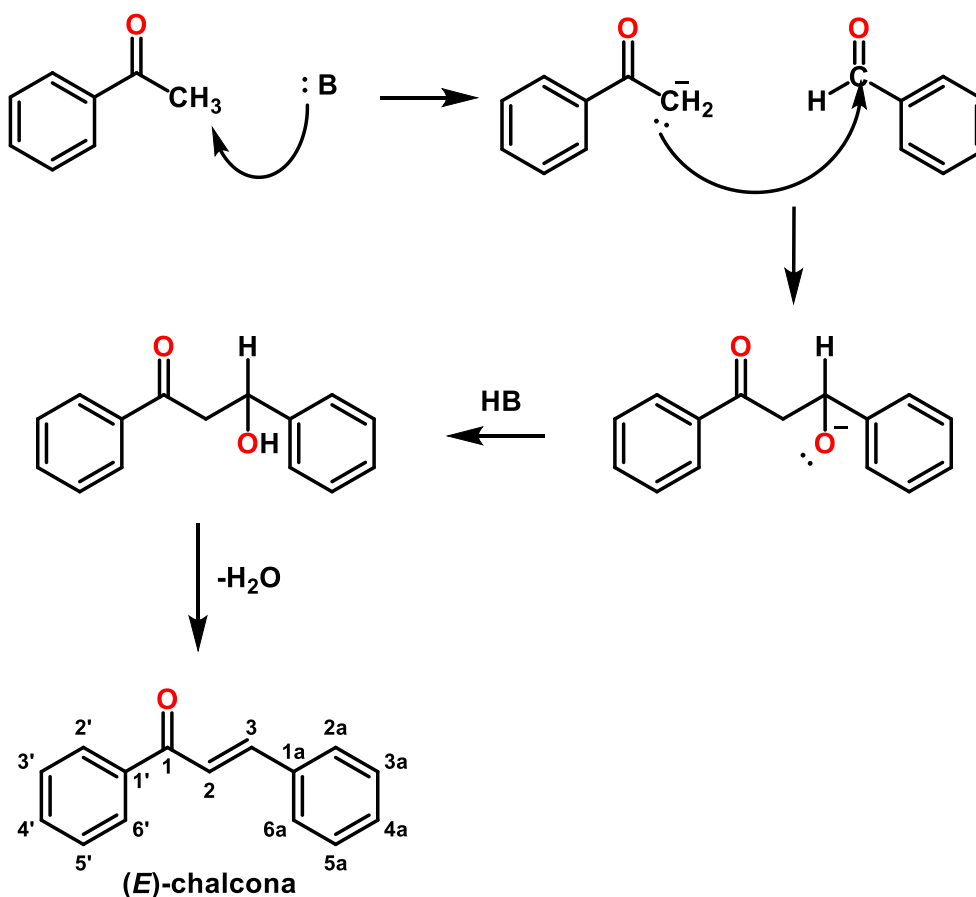
Figura 4. Síntese de chalcona por condensação aldólica.



Fonte: Autor, 2020.

A reação (Figura 5) começa com a ativação da acetofenona através de um ataque nucleofílico da base ( $\text{OH}^-$ ) ao hidrogênio alfa da acetofenona, culminando na remoção de um próton e segue com o ataque do enolato ao carbono carbonílico do aldeído aromático com a formação de uma ligação covalente entre os compostos. O alcóxido formado é então protonado pelo ácido conjugado e o intermediário  $\beta$ -hidroxicarbonílico é desidratado através da saída do grupo hidroxila protonado, que gera um carbocátion que por sua vez elimina um próton para uma base, formando uma ligação  $\pi$  na posição  $\alpha$ - $\beta$ . O composto  $\alpha$ - $\beta$ -insaturado formado é a chalcona (ENCHEV; MEHANDZHIYSKI, 2017).

Figura 5. Mecanismo da obtenção de chalconas por condensação de Claisen-Schmidt



Fonte: Autor, 2020.

As chalconas podem ter os seus hidrogênios aromáticos substituídos para formar diversas estruturas, sendo a presença de grupos hidroxila nas posições 2a ou 3a no anel B (LI *et al.*, 2019), relacionada com a atividade antitumoral, assim como a presença de grupos metoxila no anel A, relacionada à atividade antimitótica (XU *et al.*, 2019). Alterações nas posições de certos grupos funcionais podem ter impactos significativos na atividade estudada e trazer mais conhecimento sobre a influência destas posições nas atividades biológicas relatadas.

Outras atividades já foram relatadas na literatura, como antitumoral, antiviral (TANG *et al.*, 2019), antimicrobiana (LAL *et al.*, 2018), vasodilatadora (SHERIKAR; DHAVALE; BHATIA, 2019), antifúngica, antioxidante e repelente de insetos (VANANGAMUDI; SUBRAMANIAN; THIRUNARAYANAN, 2017). O grande espectro de atividades das chalconas traz consigo também um desafio: a baixa especificidade aos alvos, que acarreta em fortes efeitos colaterais nos testes *in vivo*, muitas vezes impossibilitando sua aplicação.

A natureza eletrofílica do grupo  $\alpha,\beta$ -insaturado confere às chalconas capacidade de ligar-se de forma irreversível a proteínas e outras macromoléculas biológicas, culminando em efeitos tóxicos, como reações alérgicas, mutagenicidade e carcinogênese (GOMES *et al.*, 2017).

Além das aplicações medicinais, chalconas podem ser utilizadas como reveladores de impressão digital latente (BALSAN *et al.*, 2019), quimiossensores (PRABHU *et al.*, 2017), agentes anticorrosivos (CHAOUIKI *et al.*, 2020) e aditivos para biocombustíveis (FARIA *et al.*, 2020). Evidenciando mais uma vez o amplo espectro de aplicações já estudadas para esta classe de compostos.

A presença de heteroátomos nas chalconas é de grande interesse farmacológico, uma vez que muitos fármacos como diazepam, codeína e captopril são heterocíclicos. Os heteroátomos mais comuns são nitrogênio e enxofre, mas também podem ser encontrados outros átomos como o oxigênio e fósforo, estes também possuem papel importante em processos biológicos, assim como em drogas sintéticas (HASSAN; FAROUK, 2017; SHANKARAIAH *et al.*, 2017).

Desta forma, as chalconas aparecem como bom esqueleto para uma variedade de reações de derivação para obtenção de moléculas com maior potencial farmacológico.

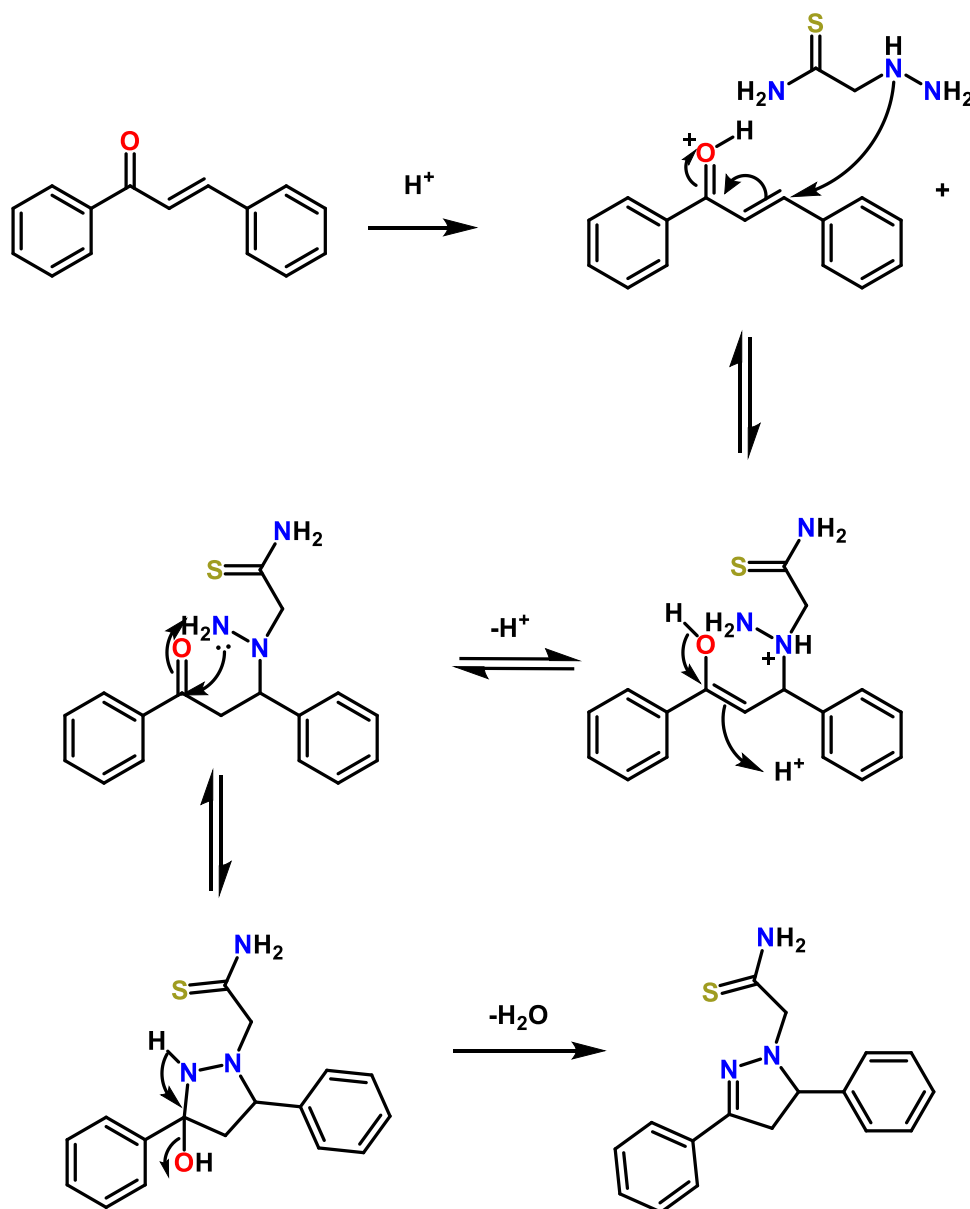
### 2.3 Síntese e atividade de derivados de chalconas

Chalconas, compostos altamente relacionados com atividades biológicas, podem também sofrer modificações no seu esqueleto que as levam a um nível de diversidade ainda maior. Esta estratégia tem sido muito utilizada no desenvolvimento de fármacos e recebido bastante atenção nos ambientes acadêmico e industrial nos últimos anos, gerando uma vasta biblioteca de novas moléculas a serem testadas (TEKALE *et al.*, 2020).

A funcionalização de chalconas pode diminuir sua toxicidade, além de trazer outros efeitos biológicos (AHMAD *et al.*, 2017) ou potencializar efeitos já relatados na literatura (HASSAN; FAROUK, 2017) baseando-se na adição de grupos funcionais mais reativos ou lipofílicos que terão afinidade maior pelo alvo desejado. Ao remover o grupo central  $\alpha,\beta$ -insaturado, o potencial tóxico das chalconas pode ser atenuado, aumentando o seu potencial uso clínico.

As reações de derivação de chalconas acontecem majoritariamente por ataque conjugado à insaturação, rica em elétrons que reduz o efeito eletrofílico da carbonila por conjugação. A adição de grupos como pirazóis (EL SHEHRY *et al.*, 2018), triazóis (BHAGAT; PEDDINTI, 2018) e pirimidinas pode ser feita por uma adição de Michael, com mecanismo proposto por Kitawat e Singh (KITAWAT; SINGH, 2014), exemplificada na figura 6.

Figura 6. Mecanismo da síntese de pirazol derivado de chalcona via adição de Michael

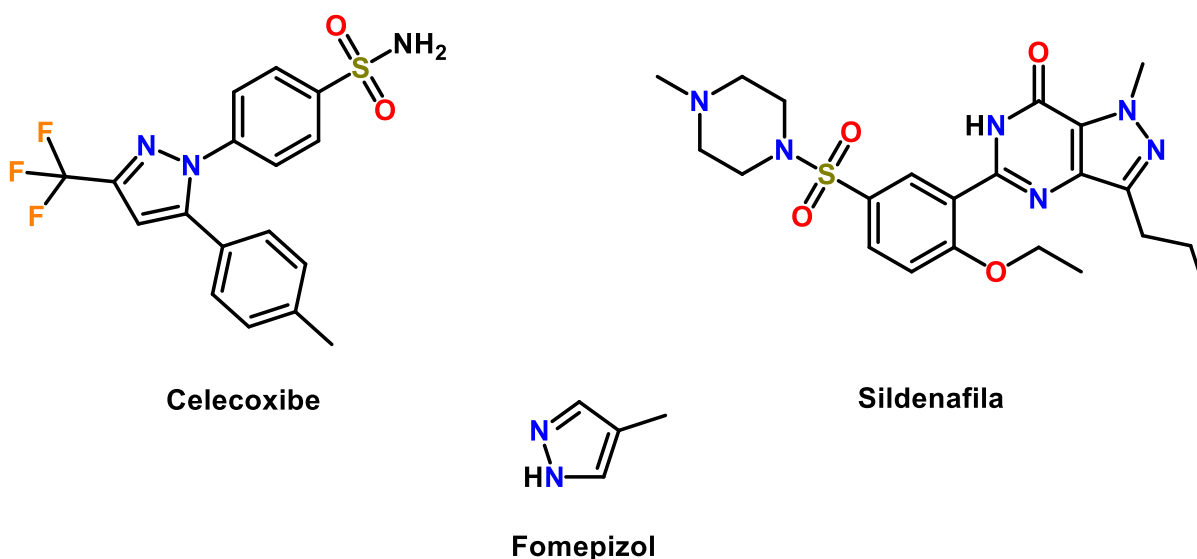


Fonte: Autor, 2020

Após a protonação do oxigênio carbonílico da chalcona, a adição nucleofílica começa com o nitrogênio (nucleófilo) da tiossemicarbazida que ataca o carbono *beta* da chalcona, formando uma ligação covalente com o mesmo. Por ressonância, o próton ligado ao oxigênio da carbonila, restaura a ligação  $\pi$  do carbono carbonílico e a ligação com o carbono *alfa* é desfeita. Os pares de elétrons do nitrogênio  $NH_2$  atacam o carbono carbonílico, estabelecendo ali uma ligação covalente e, por ressonância, há a desidratação da molécula com a saída de uma molécula de água e formação do grupo pirazólico na cadeia central da chalcona.

Os pirazóis são compostos anelares heterocíclicos de cinco átomos, sendo dois deles nitrogênios adjacentes, também conhecidos como azóis. Estes estão presentes em diversos medicamentos (Figura 7) já em comercialização como sildenafil (inibidora da fosfodiesterase), celecoxibe (anti-inflamatório e inibidor da COX-2) e fomepizol (inibidor da álcool desidrogenase) (ANSARI *et al.*, 2016); podendo apresentar atividade antimicrobiana, anticorrosiva (SAYED *et al.*, 2018), neuroprotetiva (BHAT *et al.*, 2017), anti-inflamatória (HASSAN *et al.*, 2019), antituberculose (TAKATE *et al.*, 2019), entre outras.

Figura 7. Medicamentos com núcleo azólico.

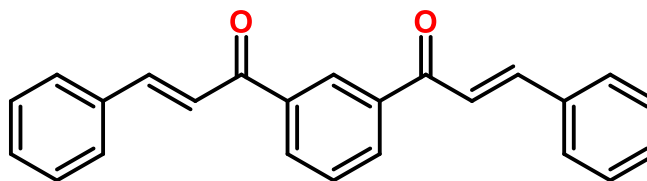


Fonte: Autor, 2020.

Das funções e atividades relatadas na literatura, o que se destaca em questão de quantidade de estudos e variedade de alvos é a atividade antioxidante, que é definida pela diminuição, prevenção ou retardo da oxidação de biomoléculas como proteínas e DNA (BANSAL *et al.*, 2019). A ação antioxidante pode ser feita de forma direta, por moléculas de baixo peso molecular capazes de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROs) ou de forma indireta pela ativação de proteínas citoprotetoras, como no caso de moléculas com um grupo  $\alpha,\beta$ -insaturado, como as chalconas.

Na síntese de derivados de chalconas, há ainda a possibilidade de utilização de acetofenonas di- ou triacetiladas, que formarão dímeros denominados bichalconas (Figura 8) que demonstraram potente atividade antioxidante (JUNG *et al.*, 2017) e antitumoral (MANSOUR *et al.*, 2020).

Figura 8. Representação de uma bichalcona derivada do 1,3-diacetilbenzeno



Fonte: Autor, 2020.

Outra fonte de diversidade de atividades muito explorada na química medicinal, são as moléculas heterocíclicas que estão presentes em diversas substâncias bioativas naturais e sintéticas.

## 2.4 Compostos heterocíclicos na química medicinal

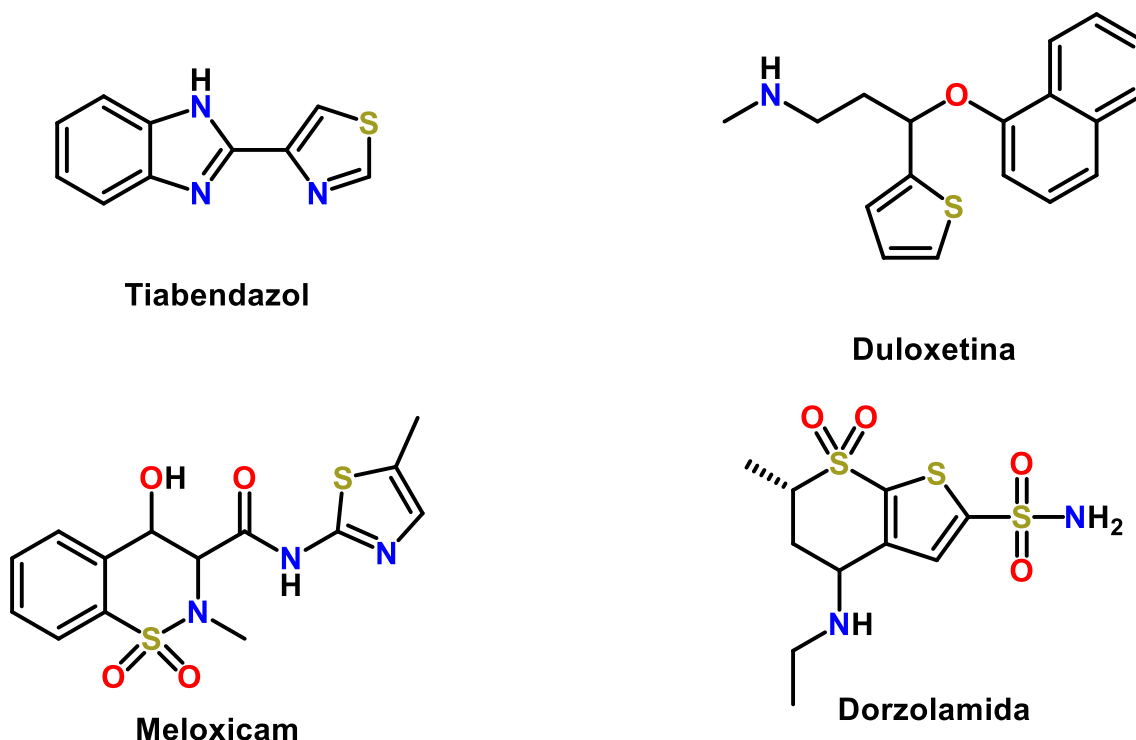
Compostos heterocíclicos fazem parte de diversos medicamentos aprovados para os mais diversos fins. Os heteroátomos mais explorados na química medicinal são oxigênio, enxofre e nitrogênio, sendo este último o mais comum em compostos naturais contendo núcleos de pirazol, pirazolina, piridina, pirrolidina, triazol e benzimidazol, presentes em vitaminas, herbicidas, antifúngicos, entre outros (HENARY *et al.*, 2020).

Ciclos contendo oxigênio são o segundo tipo de heterociclo mais comum em drogas aprovadas pelo FDA, destas, os núcleos piranose, furanoses, macrolactonas, morfolinas e dioxinas (DELOST *et al.*, 2018) prevalecem em drogas como budesonida, um medicamento utilizado para asma e doença pulmonar crônica obstrutiva.

Devido ao amplo estudo de heterociclos com nitrogênios, a comunidade científica e industrial tem voltado seus olhos para o enxofre e sintetizado compostos com atividade expressiva e baixa toxicidade, quando comparados aos heterociclos contendo nitrogênio (PATHANIA; NARANG; RAWAL, 2019). Heterociclos contendo enxofre, apresentam atividade anticâncer, antidiabetes, antimicrobiana, anti-hipertensiva, antiviral, anti-inflamatória, entre outras.

Alguns medicamentos contendo heterociclos de enxofre (Figura 9) já aprovados são: tiabendazol (antifúngico), meloxicam (anti-inflamatório), dorzolamida (anti-glaucoma) e duloxetina (antidepressivo).

Figura 9. Medicamentos heterocíclicos contendo enxofre.



Fonte: Autor, 2020.

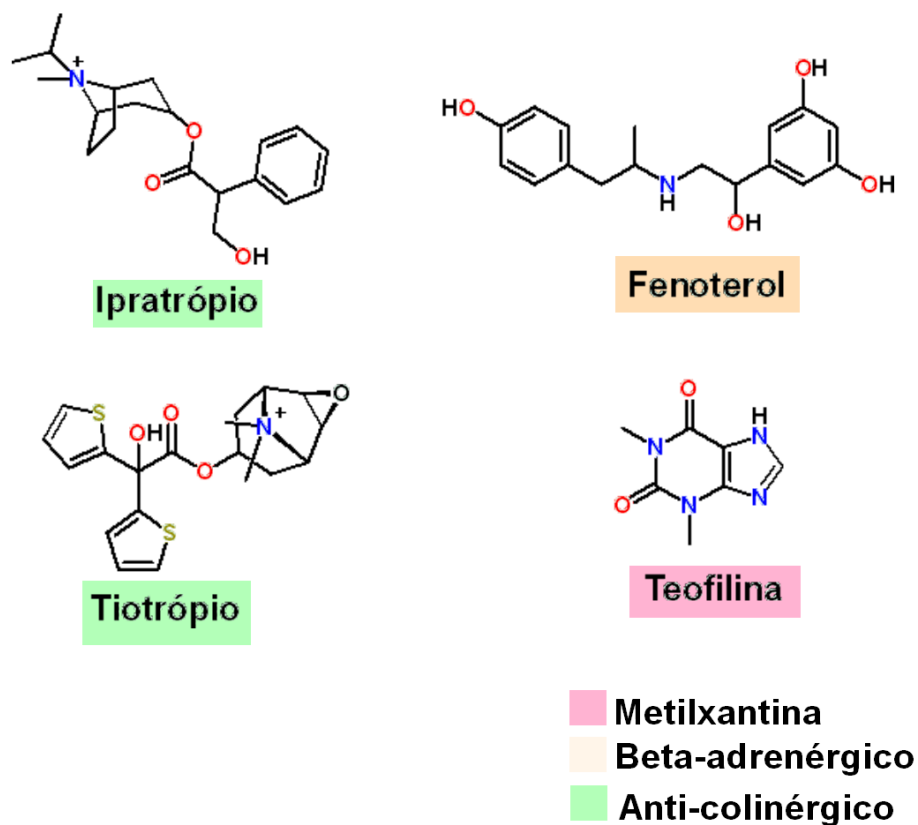
Chalconas, como esqueletos de diversos novos compostos sintéticos, podem ter a sua atividade biológica melhorada com a adição de heterociclos, demonstrando atividade antibacteriana (KHAN *et al.*, 2019), inibidor de carcinogênese (HORLEY *et al.*, 2017), antitumoral (MAO *et al.*, 2016), entre outras (ARDIANSAH, 2019).

A adição de farmacóforos ao núcleo da chalcona, permite que esta molécula já ativa biologicamente, consiga ter um maior direcionamento da atividade desejada no desenvolvimento de fármacos, além de melhorar características como toxicidade e efeitos colaterais exacerbados que podem ser preditas *in silico* no desenho de fármacos.

## 2.5 Broncodilatadores

Os medicamentos broncodilatadores (Figura 10) são divididos em três classes: beta-adrenérgicos, anticolinérgicos e metilxantinas. Os beta-adrenérgicos atuam como agonistas a receptores específicos, reduzindo a concentração de cálcio intracelular, desta forma causando uma broncodilatação, alguns efeitos colaterais como tremor, hipertensão, taquicardia e arritmias podem ser observados. Medicamentos desta classe são: fenoterol, salmeterol, terbutalina e bambuterol.

Figura 10. Drogas com efeito broncodilatador.



Fonte: Autor, 2020.

Os anticolinérgicos possuem efeito menos intenso quando comparados a classe anterior, entretanto são mais usados no tratamento de asma devido a presença de menos efeitos colaterais. Possuem ação broncodilatadora via bloqueio de receptores colinérgicos M3 localizados na musculatura lisa das vias respiratórias. O brometo de ipratrópio é um exemplo de broncodilatador anticolinérgico.

O tiotrópio é um bloqueador de receptores muscarínicos utilizado na manutenção da função pulmonar de pacientes adolescentes com sintomas moderados de asma (HAMELMANN *et al.*, 2016). Possui atividade significativa em doses de apenas 5 µg em associação a corticoides inalatórios, auxiliando no controle da doença e prevenção de crises graves (HAMELMANN; SZEFLER, 2018).

A última classe de broncodilatadores, as metilxantinas, têm sido utilizadas como segunda linha de tratamento para asma e apesar de serem aplicados à medicina há anos, não possuem mecanismo de ação definido, alguns exemplos de medicamentos desta classe são teofilina, aminofilina e bamifilina (PONTE; FRANCO; CRUZ, 2010).

Análogos da teofilina, um composto presente no cacau com atividade antiasmática, têm sido desenhados e sintetizados nos últimos anos. Estes apresentam não só atividade broncodilatadora, mas também possuem atividade anti-inflamatória, anticâncer, antifúngica e antibacteriana, como consequência de mudanças estruturais (YOUSAF *et al.*, 2018).

O medicamento anticolinérgico brometo de tiotrópio, além de possuir papel broncodilatador em pacientes com asma, foi associado com a inibição da diminuição da capacidade pulmonar de pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) (GOSENS *et al.*, 2006). Uma vez que células epiteliais e inflamatórias expressam acetilcolina e seus receptores de forma ubíqua, anticolinérgicos podem ainda ter outras ações além da atividade broncodilatadora (GOSENS; GROSS, 2018).

No processo de desenvolvimento de fármacos, observamos que muitas vezes um composto promissor apresenta efeitos tóxicos quando testado *in vivo*. Desta forma, os testes *in sílico* permitem que a molécula desenhada possa ser pré-selecionada de acordo com as suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas almejadas.

### 3 Objetivos

#### 3.1 Objetivo geral

Sintetizar novos derivados heterocíclicos de chalconas com potencial atividade broncodilatadora.

#### 3.2 Objetivos específicos

Sintetizar a chalcona tiofênica através de condensação aldólica entre o 2-tiofeno carboxaldeído e a 3,4-metilenodióxiacetofenona;

Utilizar a chalcona sintetizada em reações de derivação para obtenção das moléculas GA-04, GA-05 e GA-06;

Caracterizar as moléculas através de Ressonância Magnética Nuclear e ponto de fusão;

Elencar as moléculas mais promissoras através de testes *in silico* de características farmacocinéticas e farmacodinâmicas.

## 4. Metodologia

### 4.1 Desenho e avaliação *in silico* de propriedades farmacocinéticas

Os compostos desenhados tiveram suas características de absorção, solubilidade, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade avaliadas através do servidor online pkCSM, que calcula e prediz estas características baseando-se em gráficos (PIRES; BLUNDELL; ASCHER, 2015).

As moléculas foram desenhadas no software ChemDraw (versão teste), exportadas no formato SMILES e inseridas na plataforma disponível em: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/> para obtenção dos resultados, que foram então transcritos em tabela.

### 4.2 Avaliação *in silico* de potencial farmacológico

O potencial vasodilatador dos ligantes (moléculas) foi avaliado através de *docking* contra o receptor muscarínico de acetilcolina M3. Para este teste no AutoDock Vina, precisamos dos arquivos dos ligantes e proteínas no formato .pdbqt e para isso, os arquivos foram preparados da maneira descrita a seguir.

Todas as estruturas de ligantes foram desenhadas no *ChemDraw* (versão teste) e exportadas em formato .sdf que foi convertido em um arquivo .pdb através do software PyMol (v. 2.3.4) e posteriormente no formato .pdbqt através do AutoDockTools (v. 1.5.6).

A estrutura da proteína foi obtida no *Protein DataBank* (PDB) sob o código 4DAJ, o sítio de ligação selecionado para o *docking* foi o mesmo observado para o ligante cristalizado junto à proteína, o broncodilatador tiotrópio, como descrito por Kruse e colaboradores (KRUSE *et al.*, 2012).

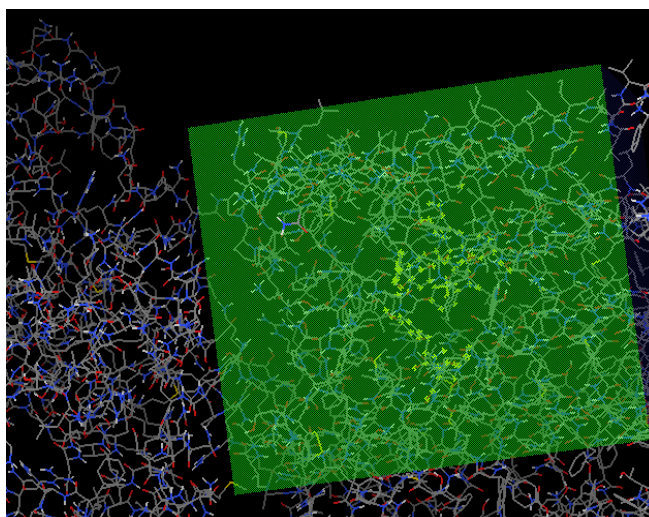
O arquivo .pdb da proteína foi então preparado para o *docking* pela remoção de heteroátomos e ligantes através de um editor de texto (Bloco de notas) para que não haja interferência destes nos resultados obtidos.

O arquivo .pdb modificado foi aberto no *software* AutoDockTools para remoção de moléculas de água, adição de hidrogênios polares e conversão do arquivo no formato .pdbqt necessário para o *docking*.

O sítio de ligação foi definido nos resíduos de aspartato (D147), tirosina (Y148 e Y506), serina (S151), triptofano (W199), asparagina (N507) e metionina (M509), sendo este o sítio de

ligação do tiotrópio na proteína M3 (4DAJ). No AutoDock Tools, foi definida uma *grid box* a fim de conter todos estes resíduos (Figura 11) com as seguintes coordenadas: center\_x= -12.782, center\_y= -9.088, center\_z= -43.319, size\_x= 50, size\_y= 72, size\_z= 58. Os dados foram salvos em um arquivo grid.txt.

Figura 11. Seleção do sítio de ligação na proteína.



Fonte: Autor, 2020.

O arquivo de configuração conf.txt foi editado para conter o nome da proteína, o ligante e também as definições da *grid box* para o *docking*. Todos os arquivos preparados para o *docking* (proteína.pdbqt, ligante.pdbqt, grid.txt e conf.txt) e os executáveis (python.exe e vina.exe) foram colocados na mesma pasta e o *docking* foi feito através de linha de comando com o comando `vina --config conf.txt --log logLigante.txt` e após o tempo de processamento, foram obtidos os resultados de afinidade de ligação com 9 poses.

O processo foi repetido até que todos os ligantes tenham um arquivo de log.txt com os resultados de afinidade, que foram colocados em tabela para melhor visualização.

A visualização da interação entre a proteína e o ligante, foi feita no software PyMol, abrindo os arquivos vina\_out e o arquivo .pdb da proteína. Analisando todas as poses, foram selecionadas as melhores baseando-se na afinidade de ligação e número de interações observados no PyMol entre a substância e os resíduos da proteína selecionados.

### 4.3 Síntese dos compostos

As reações foram conduzidas no Laboratório de Química Orgânica – CBIotec – UFPB. Os reagentes utilizados foram comprados da Sigma-Aldrich e os solventes utilizados da marca Synth. Para as condições reacionais, foi utilizado o agitador magnético com aquecimento (FISATOM 752A) e sistema de refluxo de balão acoplado a condensador Graham 300 mm 24/40.

O monitoramento das reações foi feito em placas de sílica gel 60G F 254, através de comparação de fatores de retenção (RF) em luz UV ou reveladores químicos (permanganato de potássio, revelador para grupos sensíveis à oxidação, que revela pontos amarelos em fundo roxo e 3,4-dinitrofenilhidrazina, usado para revelar aldeídos e cetonas).

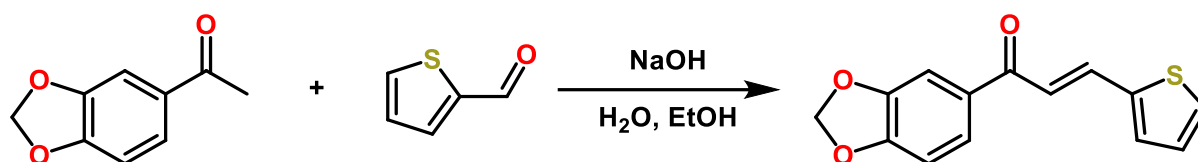
A pré-purificação dos compostos sólidos foi feita em funil de Büchner com placa porosa filtrante (100 a 160  $\mu$ M) acoplado a Kitassato de saída superior com sistema de vácuo. Todas as reações foram feitas em triplicata, desta forma o seu valor de rendimento é a média das triplicatas obtidas.

A caracterização dos compostos foi feita no Laboratório Multiusuário de Caracterização e Análises por meio de análises de Ressonância Magnética Nuclear (Ascend™ 400, Bruker) em solvente deuterado adequado (clorofórmio ou metanol) em concentrações de 80 a 100 mg/mL. Os espectros de ressonância magnética nuclear obtidos foram analisados no *software* MestreNova (versão teste). O ponto de fusão foi medido em equipamento digital modelo PFD III (Marte Científica) utilizando capilares de vidro e termômetro de mercúrio em temperaturas de até 300 °C.

#### 4.3.1 Síntese da (E)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01)

Em um béquer foram adicionados 150 mL de uma solução hidroalcoólica (2:1), quantidades equimolares da 3,4-metilenodioxiacetofenona e do 2-tiofenocarboxaldeído (10 mMol) e dois equivalentes de hidróxido de sódio (20 mMol) (Figura 12).

Figura 12. Rota sintética da Chalcona Tiofênica (GA-01)



Fonte: Autor, 2020.

A reação foi mantida sob agitação por 6 horas e o sólido formado (Figura 13) foi filtrado e recuperado, para otimizar a precipitação do produto, também foi adicionado cubos de gelo e filtrado novamente, resultando em um sólido amorfo amarelo (2,42 g).

Uma alíquota do produto formado foi pesada e submetida a testes de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Ponto de fusão (PF), a maior parte do produto sintetizado foi utilizada nas reações subsequentes de derivação.

Figura 13. Formação de sólido na reação GA-01

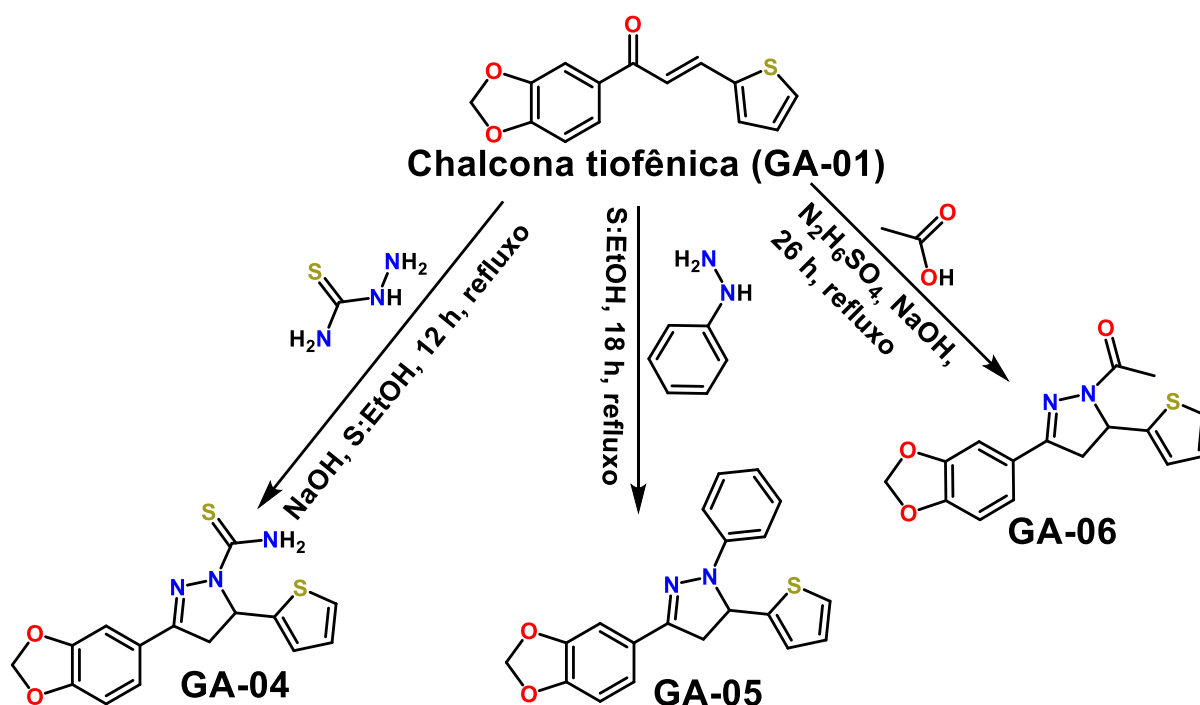


Fonte: Autor, 2020.

#### 4.3.2 Síntese de derivados da (*E*)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01)

Para obtenção dos derivados pirazólicos da chalcona tiofênica (GA-01) foram utilizadas três metodologias distintas que estão representadas na Figura 14 e detalhadas nos capítulos seguintes.

Figura 14. Rota sintética para obtenção de três derivados pirazólicos de GA-01

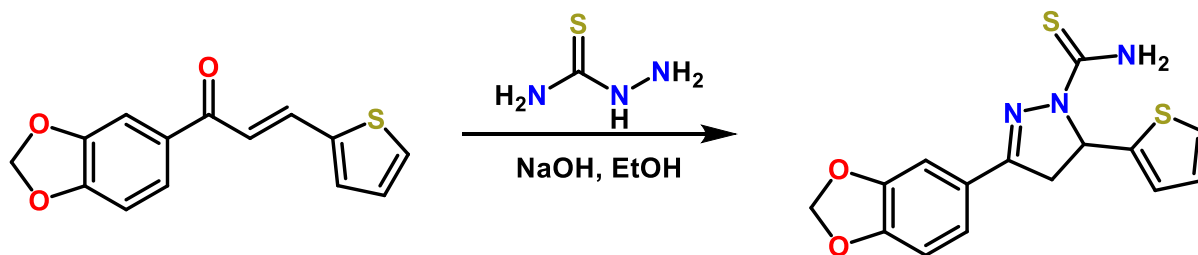


Fonte: Autor, 2020.

##### 4.3.2.1 Síntese da 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioamida (GA-04)

Para obtenção do composto GA-04, foi utilizada a metodologia adaptada de Rani e Yusuf (2012). Em um tubo de reação foram adicionados a chalcona tiofênica (2 mMol), tioussemicarbazida (1,75 mMol) e hidróxido de sódio (2 mMol) e solubilizados em 25 mL de etanol absoluto (Figura 15).

Figura 15. Rota sintética de GA-04



Fonte: Autor, 2020

A reação foi mantida sob refluxo por 24 horas, durante este tempo há mudança na coloração da reação que sai de um amarelo para uma cor mais avermelhada e também pode ser observada a precipitação de um sólido branco (Figura 16). Uma vez que não há mais chalcona na reação, o sólido é filtrado e o sobrenadante concentrado para aumentar a precipitação do produto. O sólido branco obtido foi seco em dessecador, pesado (395 mg) e encaminhado para caracterização.

Figura 16. Precipitado na reação GA-04



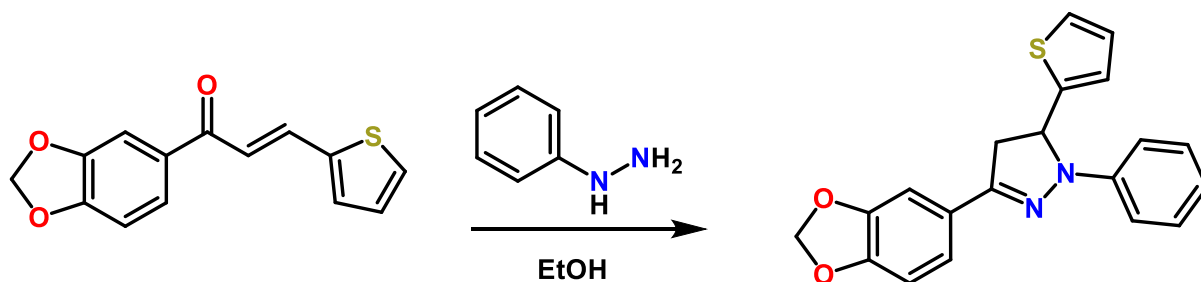
Fonte: Autor, 2020.

#### 4.3.2.2 Síntese do 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol (GA-05)

A síntese de GA-05 (Figura 17) foi obtida através de adaptações à metodologia de Catto *et al.* (2010). Em um béquer, a fenilhidrazina (2 mMol) foi solubilizada em 7 mL de etanol

absoluto e a solução foi adicionada a um tubo de reação contendo a chalcona GA-01 (1 mMol) em banho de gelo (0 °C).

Figura 17. Rota sintética de GA-05



Fonte: Autor, 2020.

A reação foi mantida sob refluxo por 18 horas, quando foram observados cristais verdes na solução (Figura 18) que foram recuperados a partir de filtração à vácuo (150 mg). Os cristais foram secos e solubilizados em clorofórmio deuterado para caracterização por RMN.

Figura 18. Formação de cristais na reação GA-05.



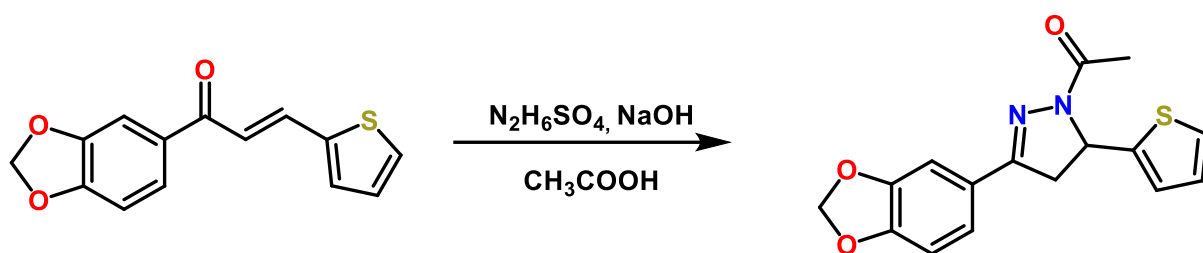
Fonte: Autor, 2020.

#### 4.3.2.3 Síntese da 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-ona (GA-06)

Em um tubo de reação foram adicionados a chalcona tiofênica (1 mMol), ácido acético (3 mL), sulfato de hidrazina (2,5 mMol) e hidróxido de sódio (4,5 mMol). A reação (Figura 19) foi mantida sob refluxo por 26 horas, monitorada por cromatografia em camada delgada

analítica (CCDA) e ao observar-se a ausência da chalcona na placa, a reação foi interrompida e filtrada.

Figura 19. Rota sintética de GA-06



Fonte: Autor, 2020.

Para um melhor rendimento, o produto foi recuperado mais uma vez pela adição de gelo ao sobrenadante e feita uma nova filtração. O produto foi então solubilizado em acetato de etila e seco em rotaevaporador (Buchi R 200) para caracterização posterior.

## 5 Resultados e discussão

### 5.1 Predição de características farmacocinéticas

Os dados obtidos na plataforma pkCSM foram formatados em tabela (Tabela 1) para comparação das propriedades farmacocinéticas das moléculas.

Tabela 1. Predição de propriedades farmacocinéticas para os compostos.

(continua)

| Propriedade                                       | GA-01                            | GA-04                            | GA-05                            | GA-06                            |
|---------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| <b>Solubilidade em água</b>                       | -4,445 log mol/L                 | -4,388 log mol/L                 | -5,646 log mol/L                 | -4,457 log mol/L                 |
| <b>Permeabilidade Caco-2</b>                      | 1,477 log Papp em $10^{-6}$ cm/s | 1,331 log Papp em $10^{-6}$ cm/s | 1,064 log Papp em $10^{-6}$ cm/s | 1,362 log Papp em $10^{-6}$ cm/s |
| <b>Absorção intestinal (humanos)</b>              | 94,885%                          | 92,556%                          | 96,363%                          | 95,778%                          |
| <b>Permeabilidade dérmica</b>                     | -2,349 log Kp                    | -3,099 log Kp                    | -2,635 log Kp                    | -2,675 log Kp                    |
| <b>Substrato da p-glicoproteína</b>               | Não                              | Sim                              | Não                              | Não                              |
| <b>Inibidor da p-glicoproteína I</b>              | Não                              | Sim                              | Não                              | Não                              |
| <b>Inibidor da p-glicoproteína II</b>             | Não                              | Não                              | Sim                              | Não                              |
| <b>Volume de distribuição</b>                     | 0,082 log L/kg                   | 0,129 log L/kg                   | 0,284 log L/kg                   | 0,05 log L/kg                    |
| <b>Fração livre</b>                               | 0,016 Fu                         | 0,052 Fu                         | 0,092 Fu                         | 0,052 Fu                         |
| <b>Permeabilidade à barreira hematoencefálica</b> | 0,306 log BB                     | 0,146 log BB                     | 0,283 log BB                     | 0,112 log BB                     |
| <b>Permeabilidade ao Sistema Nervoso Central</b>  | -1,487 log PS                    | -2,044 log PS                    | -1,39 log PS                     | -2,048 log PS                    |
| <b>Substrato do CYP2D6</b>                        | Não                              | Não                              | Não                              | Não                              |
| <b>Substrato do CYP3A4</b>                        | Sim                              | Sim                              | Sim                              | Sim                              |
| <b>Inibidor do CYP1A2</b>                         | Sim                              | Sim                              | Sim                              | Sim                              |
| <b>Inibidor do CYP2C9</b>                         | Sim                              | Sim                              | Sim                              | Sim                              |
| <b>Inibidor do CYP2D6</b>                         | Não                              | Não                              | Não                              | Não                              |
| <b>Inibidor do CYP3A4</b>                         | Não                              | Sim                              | Não                              | Não                              |

Tabela 1. Predição de propriedades farmacocinéticas para os compostos.

(conclusão)

| Propriedade                                     | GA-01                     | GA-04                     | GA-05                     | GA-06                     |
|-------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <b>Clearance total</b>                          | -0,158 log<br>ml/min/kg   | -0,14 log<br>ml/min/kg    | 0,04 log<br>mL/min/kg     | 0,1 log<br>mL/min/kg      |
| <b>Substrato da OCT2 renal</b>                  | Não                       | Sim                       | Não                       | Sim                       |
| <b>Toxicidade AMES</b>                          | Sim                       | Sim                       | Sim                       | Não                       |
| <b>Dose máxima tolerada</b>                     | 0,47 log<br>mg/kg/dia     | 0,378 log<br>mg/kg/dia    | 0,146 log<br>mg/kg/dia    | -0,005 log<br>mg/kg/dia   |
| <b>Inibidor de hERG I</b>                       | Não                       | Não                       | Não                       | Não                       |
| <b>Inibidor de hERG II</b>                      | Não                       | Sim                       | Sim                       | Não                       |
| <b>Toxicidade aguda oral em ratos (LD50)</b>    | 2,504 mol/kg              | 2,504 mol/kg              | 2,676 mol/kg              | 2,726 mol/kg              |
| <b>Toxicidade crônica oral em ratos (LOAEL)</b> | 2,177 log<br>mg/kg_pc/dia | 2,994 log<br>mg/kg_pc/dia | 0,846 log<br>mg/kg_pc/dia | 1,447 log<br>mg/kg_pc/dia |
| <b>Hepatotoxicidade</b>                         | Sim                       | Não                       | Sim                       | Sim                       |
| <b>Sensibilização da pele</b>                   | Não                       | Não                       | Não                       | Não                       |
| <b>Toxicidade a <i>T. pyriformis</i></b>        | 1,446 log ug/L            | 1,151 log ug/L            | 0,403 log ug/L            | 1,026 log ug/L            |
| <b>Toxicidade Minnow</b>                        | 0,41 log mM               | 0,71 log mM               | -2,722 log mM             | -0,241 log mM             |

Fonte: Biosig, 2020

As moléculas desenhadas possuem baixa solubilidade em água, alta permeabilidade intestinal (>90%) e permeabilidade às células Caco-2, indicando que a partir dos valores preditos, podem ser candidatas à administração via oral.

Os três derivados pirazólicos possuem permeabilidade dérmica de acordo com os valores calculados, podendo ser absorvidos pela pele, uma característica de interesse no desenvolvimento de medicamentos transdermais.

A glicoproteína P está envolvida no processo de extrusão de toxinas e xenobióticos para fora da célula, das moléculas testadas, apenas a GA-04 foi apresentada como substrato desta proteína, enquanto GA-04 e GA-05 foram classificadas como inibidoras da glicoproteína I e II, respectivamente.

Quanto ao volume de distribuição, foram encontrados valores razoáveis para as moléculas preditas e valores baixos de fração livre ( $< 10\%$ ), evidenciando uma forte interação com proteínas plasmáticas.

As moléculas GA-01 e GA-05 podem ser consideradas como permeáveis à barreira hematoencefálica (BHE) e ao sistema nervoso central (SNC), o que pode implicar no aparecimento de efeitos colaterais em outras atividades biológicas, mas que é de grande interesse no desenvolvimento de medicamentos com alvos localizados no cérebro.

O citocromo P450 é responsável pela oxidação de xenobióticos para facilitar a sua excreção, as moléculas testadas foram consideradas como inibidoras das isoformas CYP1A2 e CYP2C9, a molécula GA-04 ainda foi considerada inibidora da isoforma CYP3A4, indicando que é requerida uma concentração menor que  $10\ \mu\text{M}$  para inibir 50% das enzimas.

As moléculas foram ainda consideradas substrato da isoforma CYP3A4, uma das principais enzimas hepáticas responsáveis pelo metabolismo de drogas, apontando um possível metabolismo hepático destas moléculas.

Acerca de sua excreção, o teste de substrato para o transportador de cátions orgânicos 2 (OCT2) indica uma excreção renal das substâncias GA-04 e GA-06.

Os testes de toxicidade predizem hepatotoxicidade para as moléculas GA-01, GA-05 e GA-06, um efeito colateral comum em diversos medicamentos comercializados, como o ciprofloxacino. Ainda, as moléculas GA-01, GA-04 e GA-05 são apresentadas como potenciais drogas mutagênicas.

O teste de toxicidade aguda (Minnow) aponta as moléculas GA-05 e GA-06 como moléculas de toxicidade aguda elevada de acordo com o  $\text{LC}_{50}$  calculado. As moléculas GA-04 e GA-05 apresentam-se ainda como inibidores dos canais de potássio codificados pelo gene hERG II, um importante anti-alvo no desenvolvimento de fármacos associado à síndrome do QT longo (SQTl).

Desta forma, as características farmacocinéticas calculadas indicam que as moléculas possuem pontos que podem ser trabalhados em conjunto com a síntese para melhorar estas propriedades em moléculas derivadas.

## 5.2 Docking molecular

As moléculas sintetizadas foram submetidas ao teste *in silico* de afinidade à proteína M3, um receptor de acetilcolina. Os dados de afinidade de ligação das moléculas à proteína-alvo foram comparados com o padrão tiotrópio na Tabela 2.

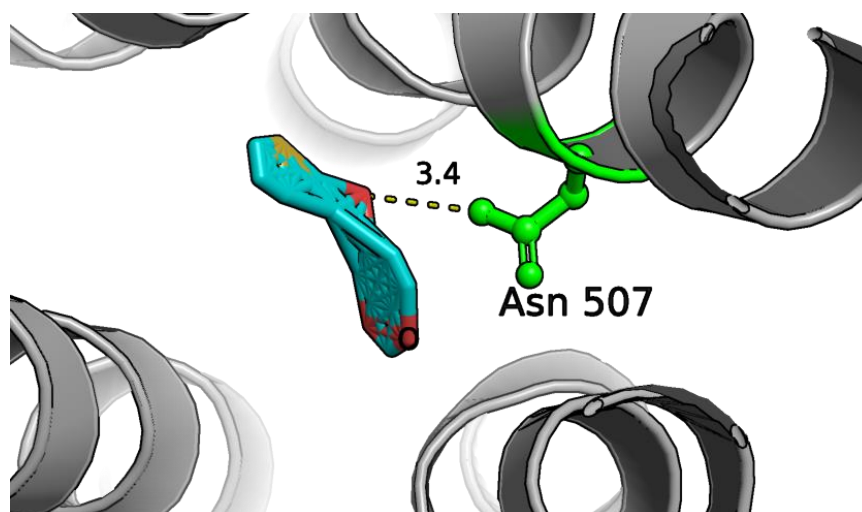
Tabela 2. Resultados de afinidade das substâncias à proteína M3

| Substância | Afinidade (kcal/mol) |
|------------|----------------------|
| GA-01      | -10,2                |
| GA-04      | -11,2                |
| GA-05      | -14,1                |
| GA-06      | -11,1                |
| Tiotrópio  | -8,2                 |

Fonte: Autor, 2020

Todas as moléculas testadas possuem afinidade de ligação superior ao padrão utilizado, indicando uma potencial atividade anticolinérgica destas substâncias. A molécula GA-01 apresenta um ponto de interação polar com o resíduo de asparagina na posição 507 na cadeia B da proteína (Figura 20).

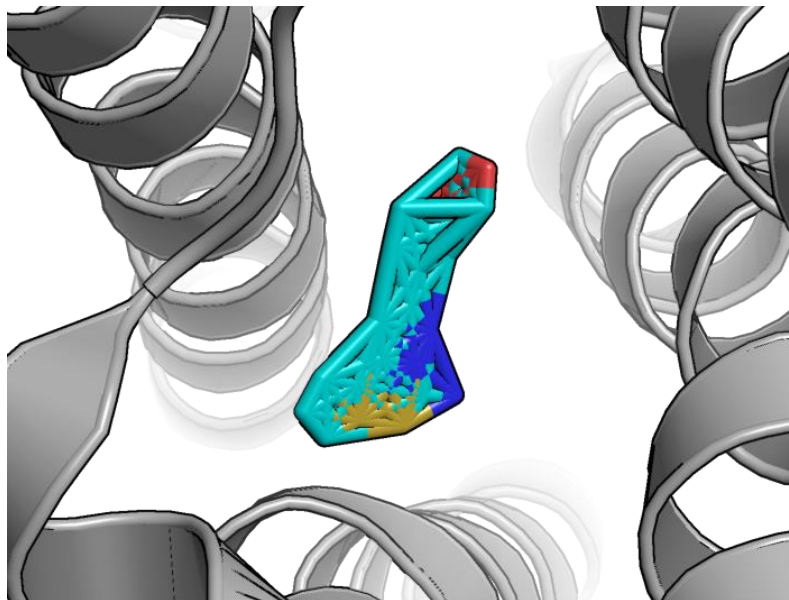
Figura 20. Visualização da interação da substância GA-01 (azul) com o resíduo da proteína M3 (verde).



Fonte: Autor, 2020.

Apesar dos valores de afinidade superiores ao padrão utilizado, a substância GA-04 (Figura 21) não apresentou pontos de interação polar com nenhum dos resíduos presentes no sítio de ligação selecionado.

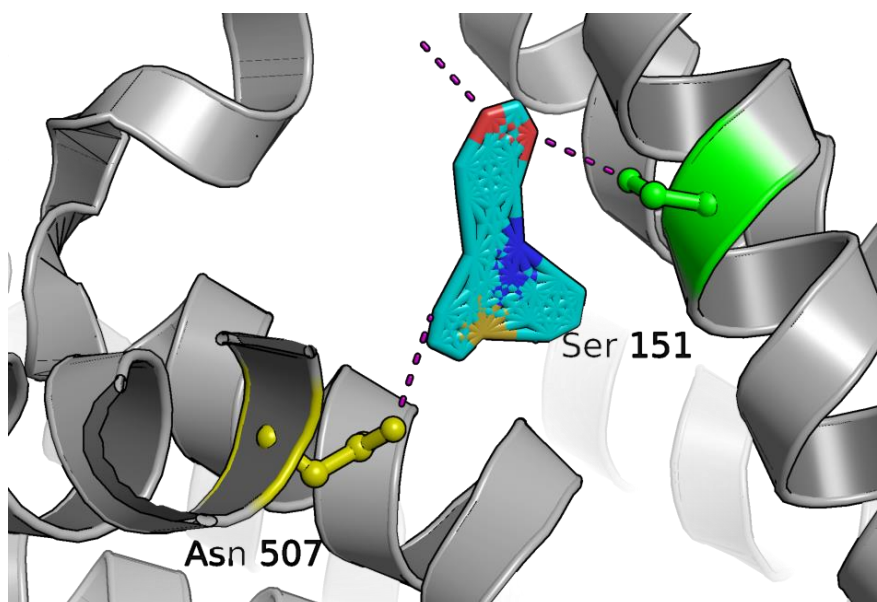
Figura 21. Visualização do resultado de *docking* para GA-04 (azul) com a proteína M3 (cinza).



Fonte: Autor, 2020.

A substância GA-05 apresentou interação com os resíduos de serina 151 e asparagina 507 (Figura 22), além de ter também o maior valor de afinidade (-14,1 kcal/mol) de todas as moléculas testadas. Sendo assim, uma boa candidata para testes posteriores *in vitro* para atividade anticolinérgica.

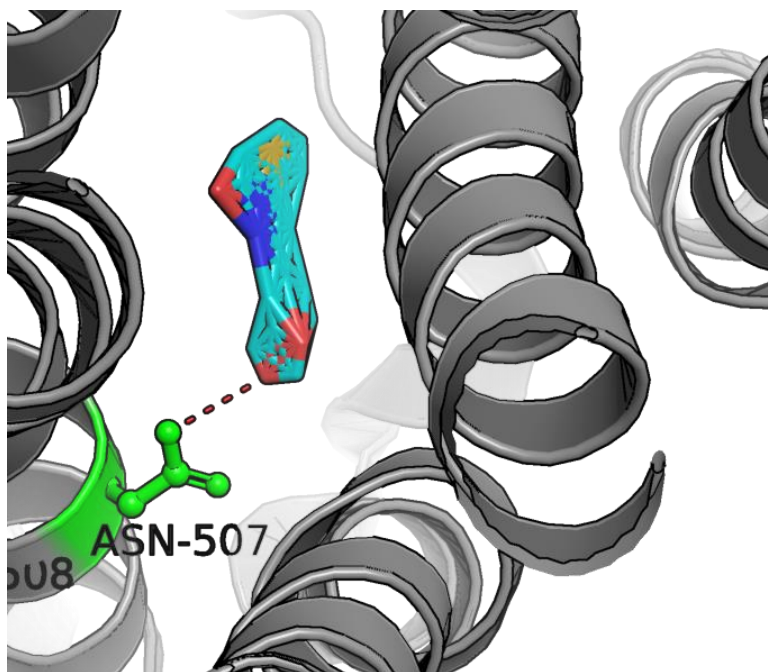
Figura 22. Visualização da interação de GA-05 (azul) com os resíduos da proteína M3 (amarelo e verde).



Fonte: Autor, 2020.

A afinidade da substância GA-06 se mostrou superior à do tiotrópio no *docking* para a proteína M3 (Tabela 2) com valor de -11,1 kcal/mol na sua melhor pose. Na visualização de interação da substância com a proteína M3 (Figura 23) foi observada um ponto de interação com o resíduo de asparagina na posição 5067, um dos resíduos presentes no sítio de ligação do padrão utilizado, tiotrópio.

Figura 23. Visualização da interação de GA-06 (azul) com o resíduo da proteína M3 (verde).



Autor, 2020.

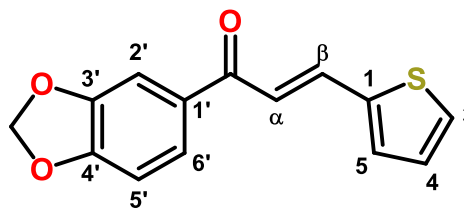
O teste de *docking* molecular teve como destaque as substâncias GA-05 e GA-06 que apresentaram afinidade de ligação à proteína M3 superior ao padrão utilizado e também apresentaram interações polares nos resíduos selecionados e identificados como resíduos de ligação do tiotrópio, responsáveis por sua atividade anticolinérgica.

### 5.3 Síntese

#### 5.3.1 (E)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01)

A chalcona tiofênica GA-01 (Figura 24) foi primeiramente sintetizada por Borchhardt e colaboradores em 2010 através da condensação aldólica da 3,4-metilenodioxiacetofenona e do 2-tiofenocarboxaldeído, para esta reação foi utilizado como catalisador o hidróxido de potássio (KOH) e como solvente o metanol para obter um rendimento de 91% (BORCHHARDT *et al.*, 2010).

Figura 24. (E)-1-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-3-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona (GA-01)



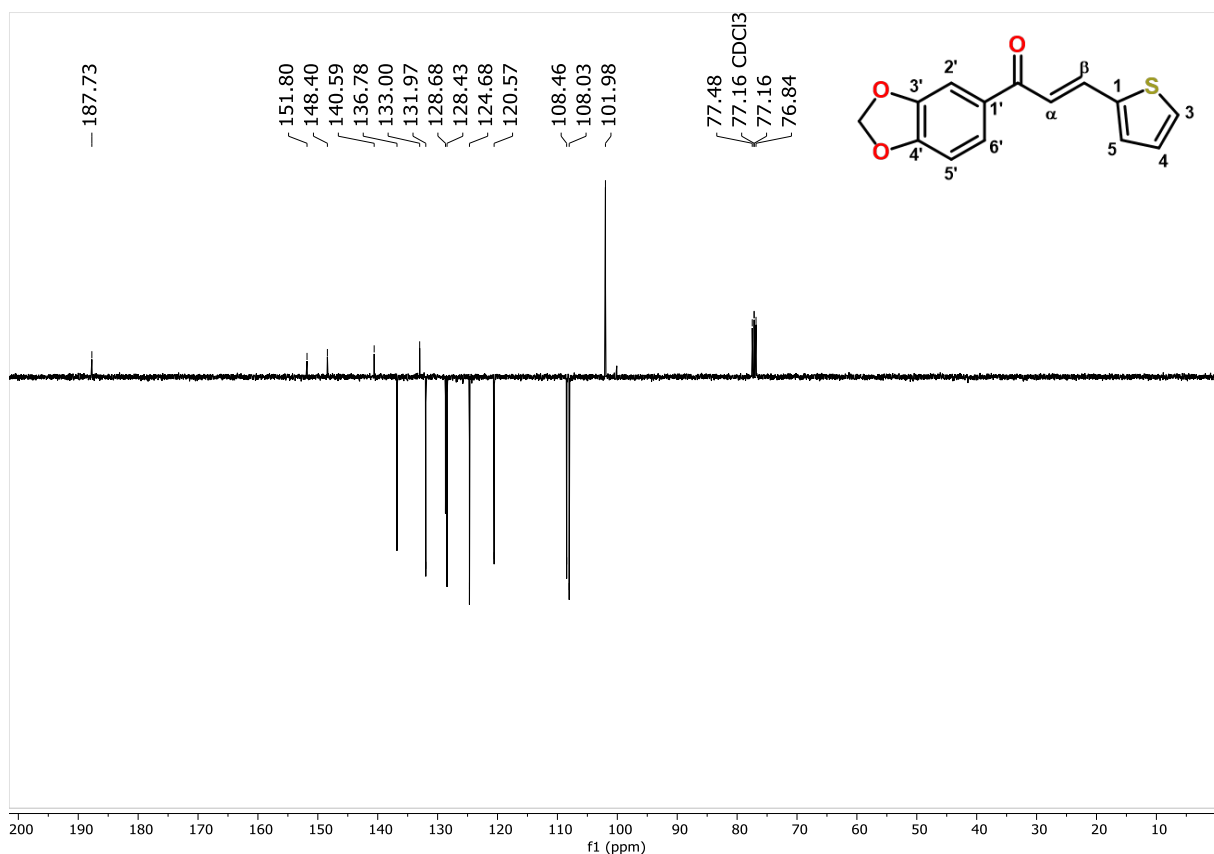
Fonte: Autor, 2020

Estudos anteriores mostraram esta molécula como um potente inibidor da proteína cruzaina de *Trypanossoma cruzi* com um valor de  $IC_{50}$  de 22  $\mu M$ , a molécula também foi testada contra proteínas de *Mycobacterium tuberculosis* (CHIARADIA *et al.*, 2012), atividade anti-prion (FERREIRA *et al.*, 2014) e como inibidora da proteína falcipaina 2 de *Plasmodium falciparum* (BERTOLDO *et al.*, 2015), apresentando pouca ou nenhuma atividade nestes estudos. Além destes, o Laboratório de Química Orgânica (UFPB) também desenvolveu em 2018, testes antimicrobianos com a chalcona e observamos que esta apresentou inibição do crescimento de *Escherichia coli* (AV12) com uma concentração inibitória mínima de  $10^{-3}$  M (DUARTE, 2018).

O composto sintetizado foi caracterizado através de RMN  $^1H$  e  $^{13}C$  e teve sua estrutura confirmada através da comparação dos resultados obtidos com aqueles já publicados na literatura. Dados de caracterização podem ser observados a seguir.

Sólido amarelo; PF 95-100 °C; rendimento 93,8%;  $^1H$  RMN (400 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  6,05 (s, 2H, -OCH<sub>2</sub>O-), 6,89 (dd,  $J$  8,1; 0,3 Hz, 1H, H5'), 7,08 (dd,  $J$  5,1; 3,6 Hz, 1H, H4), 7,28 (d,  $J$  15,2 Hz, 1H, H $\alpha$ ), 7,34 (d,  $J$  3,6 Hz, 1H, H5), 7,40 (dt,  $J$  5,0; 1,0 Hz, 1H, H3), 7,51 (dd,  $J$  1,7; 0,4 Hz, 1H, H2'), 7,62 (dd,  $J$  8,2; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,92 (dt,  $J$  15,3; 0,7 Hz, 1H, H $\beta$ );  $^{13}C$  RMN (100 MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  101,98 (-OCH<sub>2</sub>O-), 108,03 (C2'), 108,46 (C5'), 120,57 (C6'), 124,68 (C $\alpha$ ), 128,43 (C4), 128,68 (C5), 131,97 (C $\beta$ ), 133,00 (C1'), 136,78 (C3), 140,59 (C1), 148,40 (C3'), 151,80 (C4'), 187,73 (C=O).

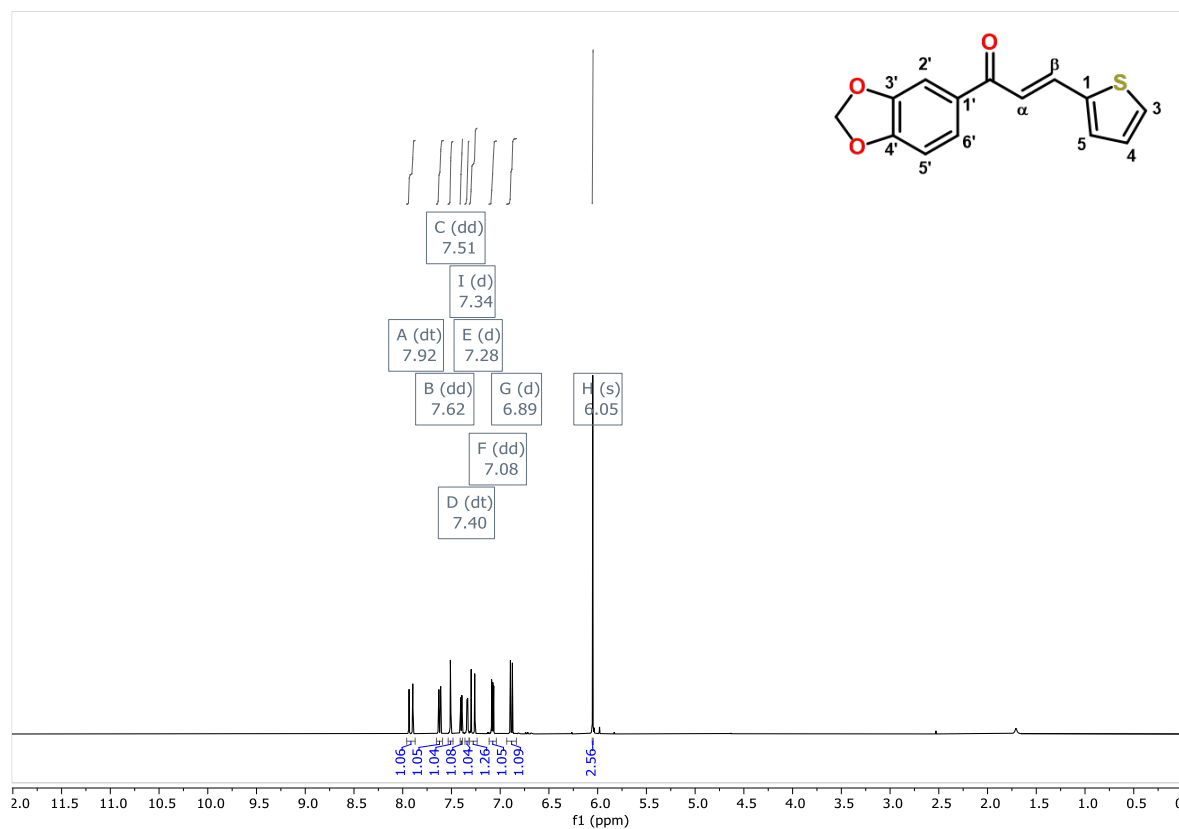
O espectro de  $^{13}C$  (Figura 25, expansão no Apêndice A) mostrou 14 sinais referentes a 14 carbonos, dos quais 1 é metilênico, 8 são metínicos e 5 são quaternários. Dos sinais observados no espectro de carbono, o pico em  $\delta$  187,73 ppm referente à carbonila, os sinais em  $\delta$  124,68 e 131,97 ppm referentes aos carbonos insaturados  $\alpha$  e  $\beta$ , respectivamente e o sinal em  $\delta$  101,98 ppm do carbono metilênico do grupo metilenodioxo presente na acetofenona, podem ser destacados.

Figura 25. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  - APT 100 MHz de GA-01

Fonte: Autor, 2020.

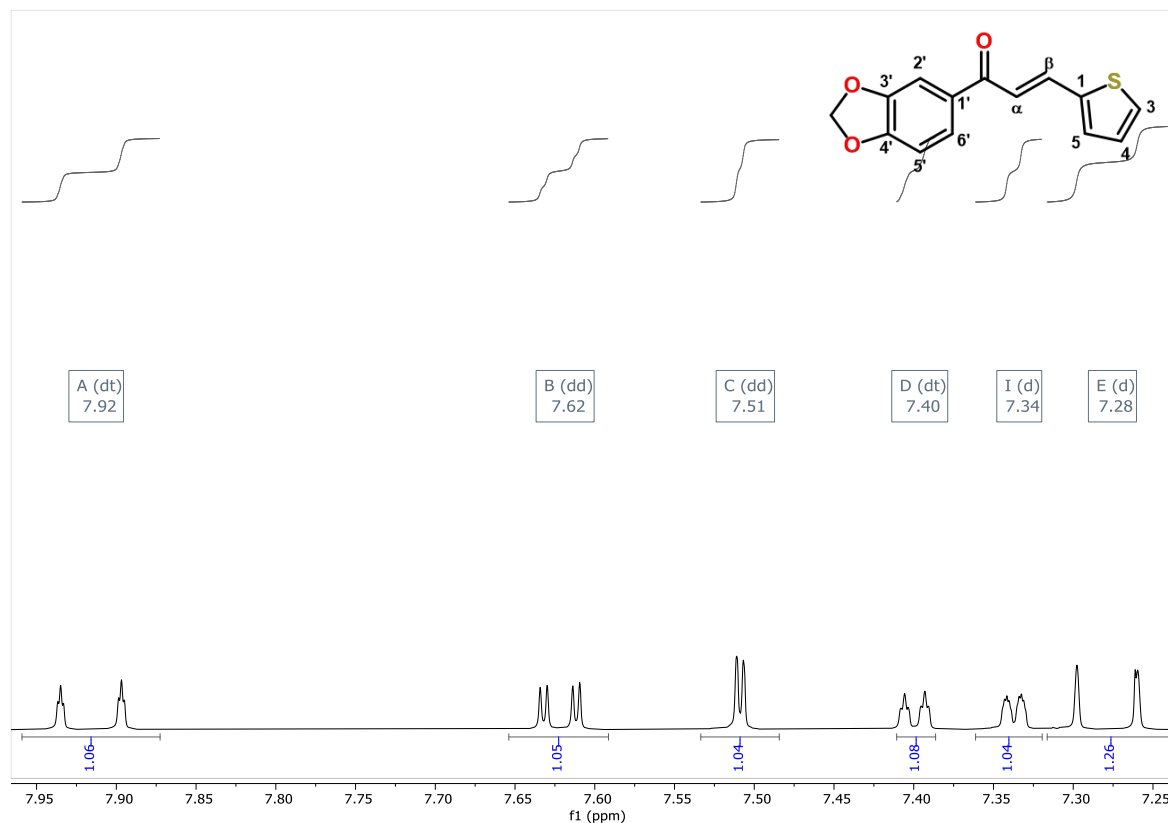
Assegurando desta forma, que houve de fato a condensação aldólica do aldeído com a acetofenona proposta para a síntese da chalcona tiofênica GA-01. No espectro de  $^1\text{H}$  (Figura 26, expansão no Apêndice B) foram observados 9 sinais referentes a 10 hidrogênios, dos quais podemos destacar o sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado (Figura 27) nos sinais nas posições  $\delta$  7,28 ( $J = 15,2$  Hz, 1H) e 7,92 ( $J = 15,3$  Hz, 1H) ppm, apresentando constante de acoplamento típica de insaturações com configuração *E*.

Figura 26. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-01



Fonte: Autor, 2020.

Figura 27. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-01 (7,25 a 7,95 ppm)



Fonte: Autor, 2020.

Corroborando com a estrutura proposta, observa-se um singlete em  $\delta$  6,05 ppm com integração para dois hidrogênios referente ao grupo metilenodioxí. Os hidrogênios aromáticos foram caracterizados no sistema ABX como duplo dubletos em  $\delta$  6,89 ( $J = 8,1; 0,3$  Hz, 1H), 7,51 ( $J = 1,7; 0,4$  Hz, 1H) e 7,62 ( $J = 8,2; 1,7$  Hz, 1H) e no anel tiofênico em  $\delta$  7,08 ( $J = 5,1; 3,6$  Hz, 1H), 7,34 ( $J = 3,6$  Hz, 1H) e 7,40 ( $J = 5,0; 1,0$  Hz, 1H), que junto aos dados da literatura reafirmam que a substância sintetizada possui de fato a estrutura proposta neste trabalho.

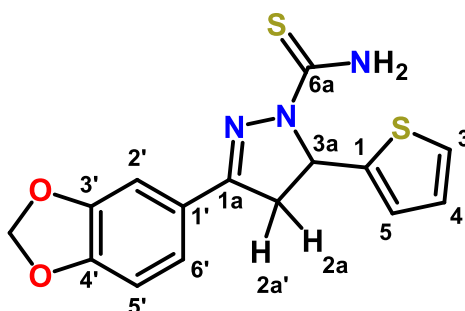
Nos espectros obtidos, podemos ainda observar a pureza do composto purificado que foi obtido por precipitação e passou apenas por uma etapa de purificação com filtração à vácuo. O grau de pureza obtido está de acordo com o esperado para uma substância sintética e tornou possível a caracterização da estrutura do composto através dos métodos utilizados.

### 5.3.2 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioamida (GA-04)

A substância GA-04 (Figura 28) é inédita, portanto ainda não existem artigos publicados de sua síntese, atividade biológica e/ou predições de atividades. Na busca por similaridade de

subestrutura na base de dados Scifinder, são encontrados dois artigos de duas moléculas distintas com metilação no anel tiofênico nas posições 3 e 5, respectivamente.

Figura 28. 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioamida



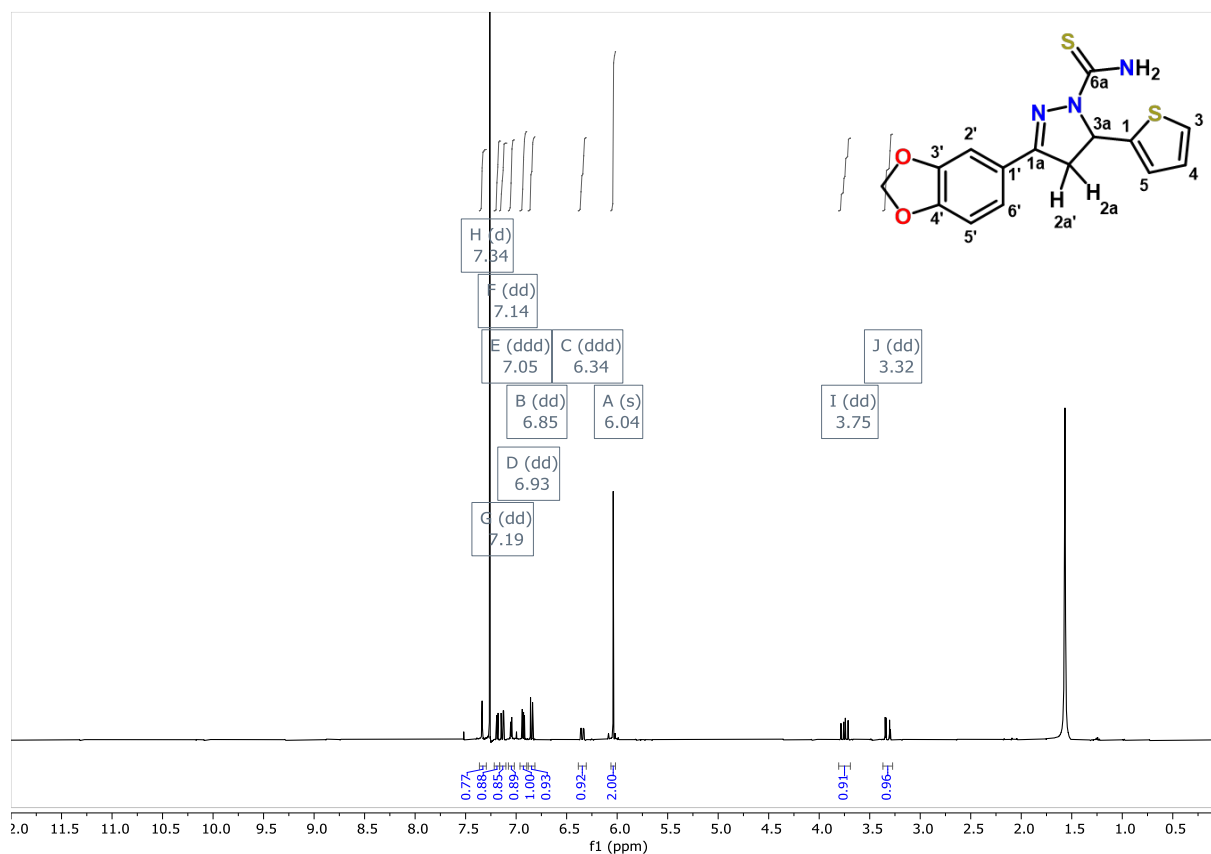
Fonte: Autor, 2020.

A metodologia utilizada para sintetizar moléculas similares consiste na catálise ácida (ácido acético ou amberlyst-15) da chalcona com a tiossemicarbazida ou hidrocloreto de tiossemicarbazida com rendimentos médios de 72%. Uma destas moléculas apresentou atividade antimicrobiana promissora contra *E.coli*, *B. subtilis*, *A. niger* e *A. flavus*, possivelmente por sua capacidade de sequestrar ferro do meio, diminuindo a disponibilidade deste para os microrganismos (PRABHUDEVA *et al.*, 2018). Ainda foram feitos testes antitumorais com 60 linhagens celulares, para as quais o composto se mostrou inativo (INSUASTY *et al.*, 2012).

A substância sintetizada foi caracterizada como um sólido branco, PF 160-163 °C; rendimento 59,60%;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,32 (dd,  $J$  17,4; 2,9 Hz, 1H, H2a'), 3,75 (dd,  $J$  17,4; 10,9 Hz, 1H, H2a), 6,04 (s, 2H, -OCH<sub>2</sub>O-), 6,34 (ddd,  $J$  10,9; 3,0; 0,7 Hz, 1H, H3a), 6,85 (dd,  $J$  8,2; 0,4 Hz, 1H, H5'), 6,93 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H4), 7,05 (ddd,  $J$  3,5; 1,3; 0,7 Hz, 1H, H5), 7,14 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,19 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H3), 7,34 (d,  $J$  1,7 Hz, 1H, H2').  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  43,10 (C2a), 59,29 (C3a), 101,90 (-OCH<sub>2</sub>O-), 106,52 (C2'), 108,56 (C5'), 122,64 (C6'), 124,38 (C4), 124,86 (C1), 125,12 (C3), 126,89 (C5), 144,15 (C1'), 148,52 (C3'), 150,47 (C4'), 156,03 (C1a), 176,46 (C6a).

O RMN  $^1\text{H}$  do composto GA-04 (Figura 29, expansão no Apêndice D) não mostrou nenhum sinal referente aos hidrogênios da insaturação  $\alpha$ - $\beta$  presente na chalcona, confirmando a cicloadição entre a chalcona e a tiossemicarbazida para formar o composto desejado. Ainda, foram observados 10 sinais de hidrogênio, referentes a 11 hidrogênios.

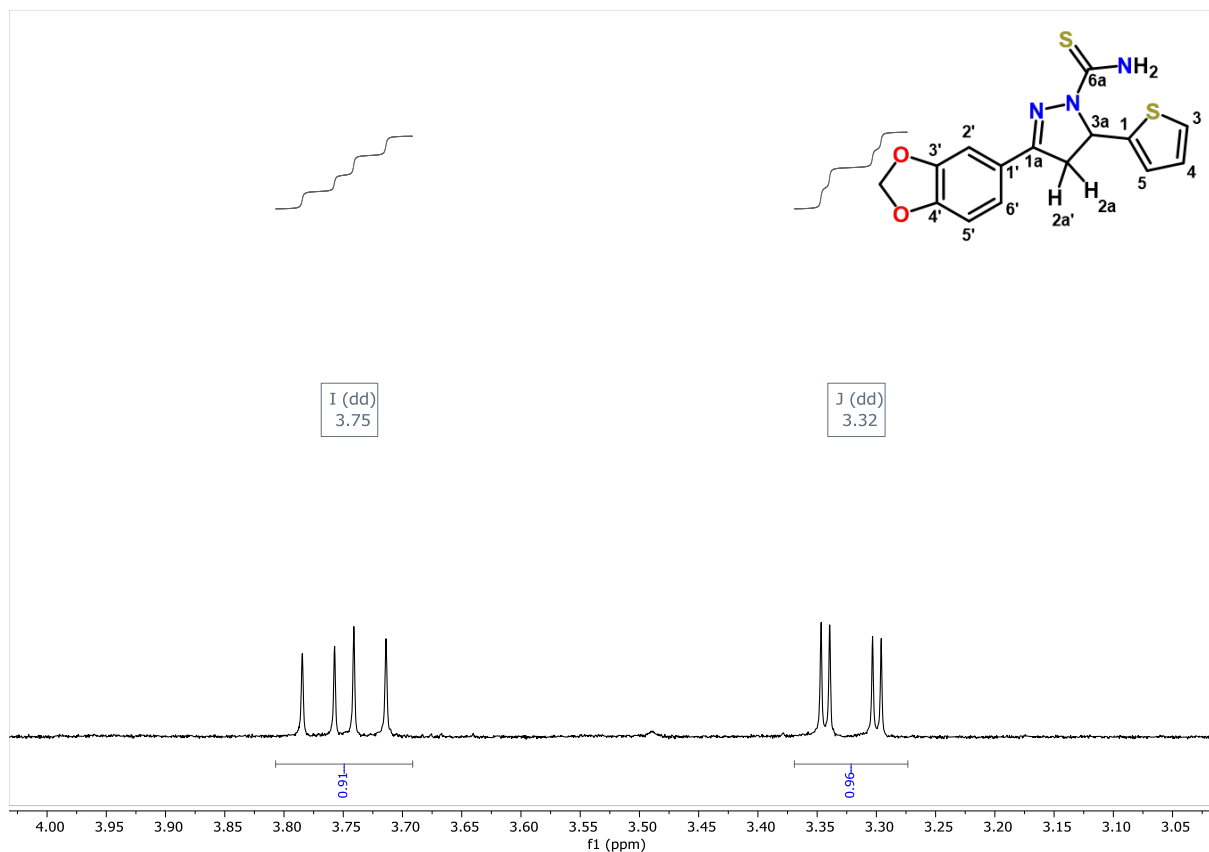
Figura 29. Espectro RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-04



Fonte: Autor, 2020.

O anel pirazólico teve sua estrutura elucidada com a insaturação na posição 1a, uma vez que os hidrogênios na posição 2a apareceram como duplos dubletos a  $\delta$  3,32 ( $J$  17,4; 2,9 Hz), 3,75 ( $J$  17,4; 10,9 Hz) ppm, respectivamente; configurando assim, o acoplamento geminal destes hidrogênios a 17,4 Hz, como pode ser observada na expansão presente na figura 30. O hidrogênio na posição 3a aparece como um duplo duplo dubleto a  $\delta$  6,34 ( $J$  10,9; 3,0; 0,7 Hz) ppm, acoplado a três ligações com os dois hidrogênios na posição 2a, o que é constatado quando se observa as constantes de acoplamento a 10,9 e 3,0 Hz, respectivamente.

Figura 30. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-04 (3,0 a 4,0 ppm)

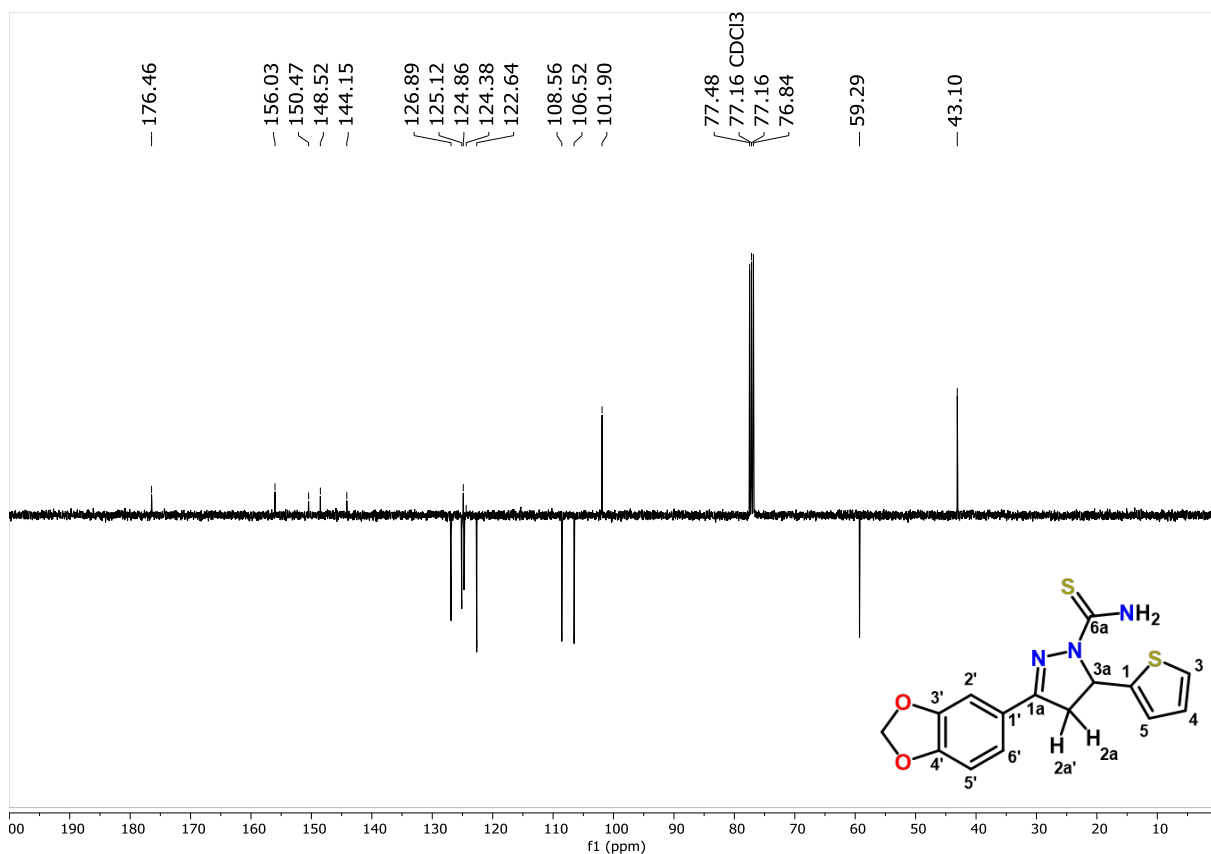


Fonte: Autor, 2020.

O espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 31, expansão no Apêndice C) apresentou 15 sinais de carbonos, sendo destes 7 carbonos metínicos, 2 sinais de carbonos metilênicos e 6 sinais de carbonos quaternários. Dentre estes sinais, podemos destacar a presença da tiocarboxila em  $\delta$  176,46 ppm, o grupo metilenodioxo em  $\delta$  101,90 ppm e o carbono quaternário na posição 1a em  $\delta$  156,03 ppm.

Também é possível observar picos em  $\delta$  43,11 e 59,29 ppm dos carbonos do anel pirazólico nas posições 2a e 3a, confirmando a formação do anel pirazólico não aromático. O sinal dos demais carbonos dos anéis estão na região de carbonos aromáticos, assim como observado na chalcona tiofênica.

Figura 31. Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  – APT 100 MHz de GA-04

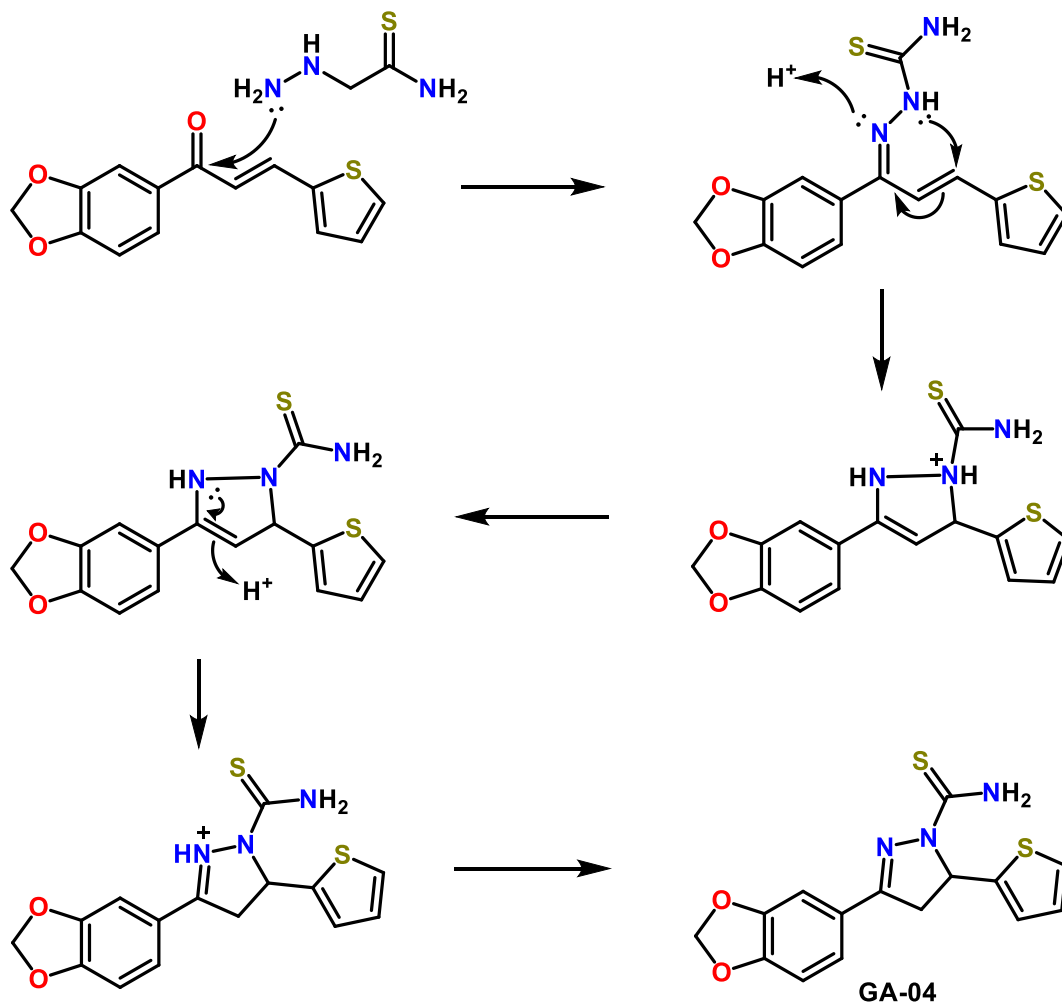


Fonte: Autor, 2020.

Os carbonos metínicos do anel fenílico foram observados em  $\delta$  106,52 (C2'), 108,56 (C5') e 122,64 (C6') ppm, já os carbonos não hidrogenados foram identificados em  $\delta$  144,15 (C1'), 148,52 (C3') e 150,47 (C4') ppm. No anel tiofênico observamos um carbono quaternário na posição 1 em  $\delta$  124,86 ppm e os carbonos metínicos em  $\delta$  124,38 (C4), 125,12 (C3) e 126,89 (C5) ppm.

A partir da confirmação da estrutura proposta para a molécula GA-04, sugerimos o seguinte mecanismo reacional (Figura 32) em cinco etapas: A adição de Michael começa pelo ataque nucleofílico da amina ao carbono carbonílico da chalcona tiofênica (etapa 1) culminando na formação de uma ligação covalente entre o nitrogênio e o carbono carbonílico e na saída de uma molécula de água (desidratação). Na segunda etapa do mecanismo proposto, o carbono beta da chalcona sofre um ataque nucleofílico do nitrogênio (NH), gerando um rearranjo estrutural que causa a protonação do nitrogênio adjacente. A terceira etapa consiste na estabilização da estrutura pela desprotonação do nitrogênio positivo (NH) e na penúltima etapa há a doação de elétrons do nitrogênio para o carbono 1, formação da ligação  $\pi$  (N=C) e doação dos elétrons da ligação  $\pi$  (C=C) para um próton. O mecanismo proposto termina com a desprotonação do nitrogênio (NH<sup>+</sup>) e formação da molécula GA-04.

Figura 32. Mecanismo proposto para a adição de Michael da tiossemicarbázida com a chalcona tiofênica

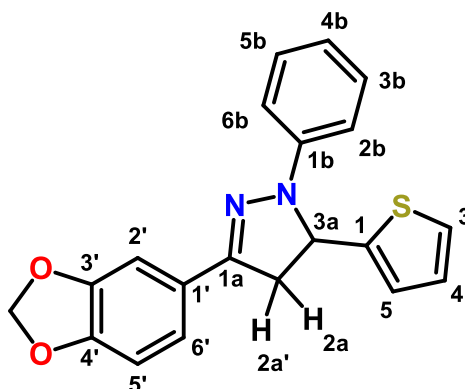


Fonte: Autor, 2020.

### 5.3.3 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-yl)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol (GA-05)

A substância GA-05 (Figura 33), não possui trabalhos de síntese ou testes biológicos publicados e indexados no SciFinder, sendo assim uma molécula inédita. Entretanto, há a possibilidade de comprar a molécula através de fontes comerciais. Uma busca por similaridade de 90-99% da estrutura, foi capaz de identificar uma publicação de 2014 na qual uma molécula muito similar foi sintetizada, uma vez que a molécula deste artigo possui no anel b um átomo de cloro como substituinte. Os autores consideraram, a partir de seus testes *in silico* e *in vitro*, a molécula em questão como um potente agente anti-inflamatório e um inibidor seletivo da ciclooxigenase-2 (ISMAIL *et al.*, 2014).

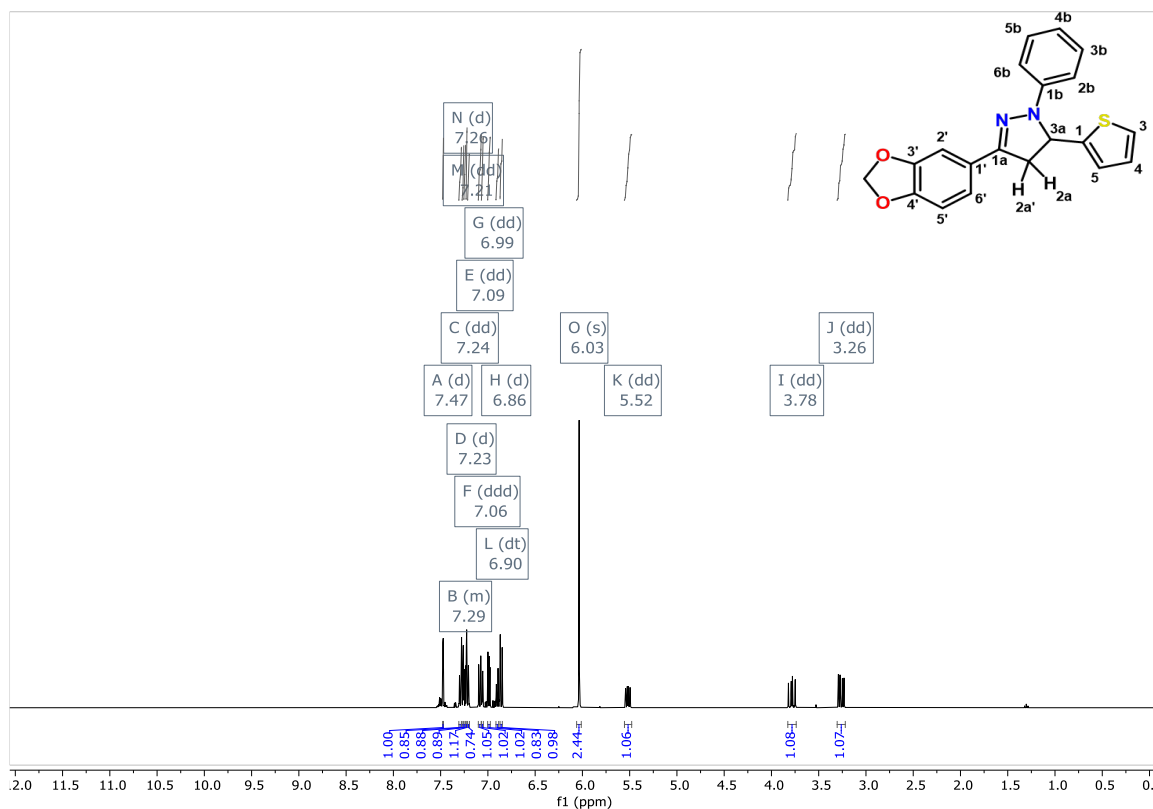
Figura 33. 3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol



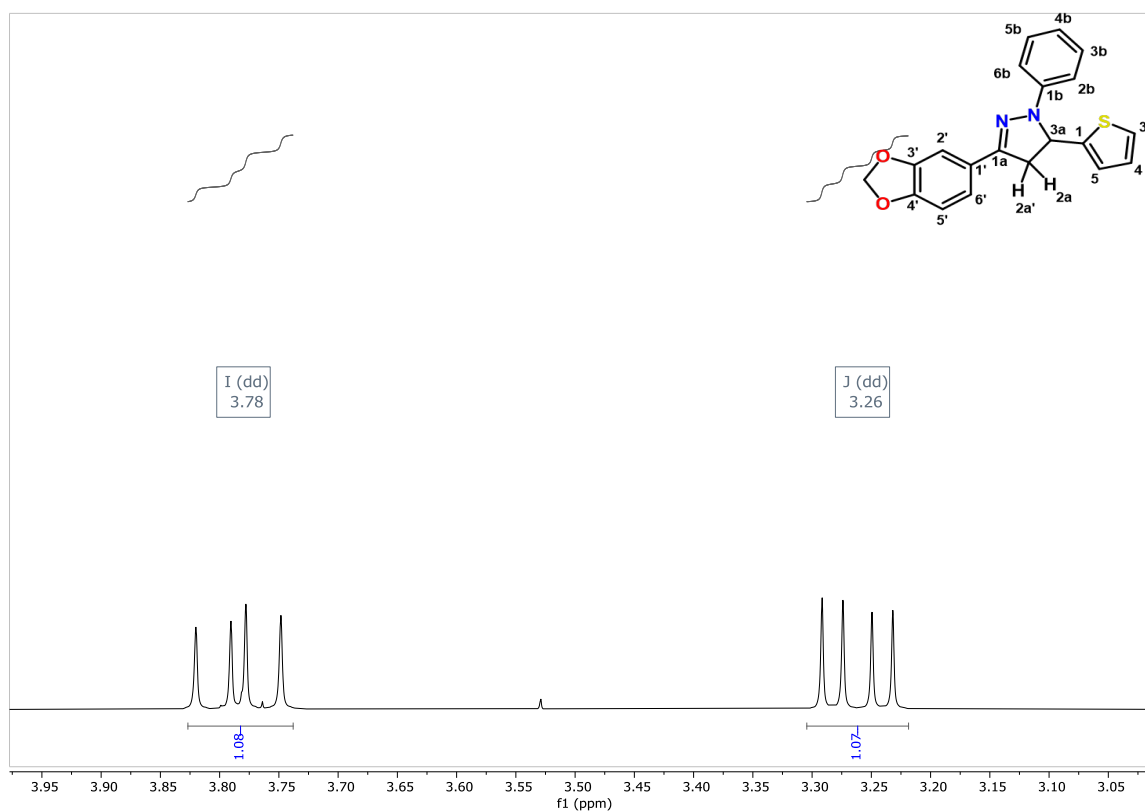
Fonte: Autor, 2020.

A substância GA-05 (3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-1-fenil-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol) foi caracterizada da seguinte forma: Cristais verdes, PF. 137-140 °C, Rendimento 43,55%,  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,26 (dd,  $J$  16,9; 7,0 Hz, 1H, H2a), 3,78 (dd,  $J$  16,9; 11,8 Hz, 1H, H2a'), 5,52 (dd,  $J$  11,8; 7,0 Hz, 1H, H3a), 6,03 (s, 2H, -OCH<sub>2</sub>O-), 6,86 (d,  $J$  8,1 Hz, 1H, H5'), 6,90 (dt,  $J$  7,2; 1,2 Hz, 1H, H4b), 6,99 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H3), 7,06 (ddd,  $J$  3,5; 1,2; 0,6 Hz, 1H, H5), 7,08 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,21 (dd,  $J$  2,1; 1,2 Hz, 1H, H6b), 7,22 (t,  $J$  1,8 Hz, 1H, H2b), 7,24 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H4), 7,31-7,26 (m, 2H, H5b e H3b), 7,47 (d,  $J$  1,6 Hz, 1H, H2').  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  44,16 (C2a), 60,73 (C3a), 101,37 (-OCH<sub>2</sub>O-), 105,91 (C5'), 108,20 (C2'), 113,89 (C2b e C6b), 119,63 (C6'), 120,40 (C4b), 124,22 (C4), 124,95 (C3), 127,08 (C5), 128,98 (C3b e 5b), 145,30 (C1'), 146,25 (C1a), 147,33 (C3' e 4'), 148,15 (C1b), 148,47 (C1).

O espectro de  $^1\text{H}$  RMN (Figura 34, expansão no Apêndice F) mostrou a presença de 15 sinais, referentes a 16 hidrogênios. Destes, pode-se destacar a presença dos duplos dubletos presentes em  $\delta$  3,26 e 3,78 ppm (Figura 35) que acoplam com uma constante de acoplamento ( $J$ ) de 16,9 Hz, constante característica de acoplamento geminal de hidrogênios, picos também observados no espectro de GA-04, referentes aos hidrogênios nas posições 2a' e 2a.

Figura 34. Espectro RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-05

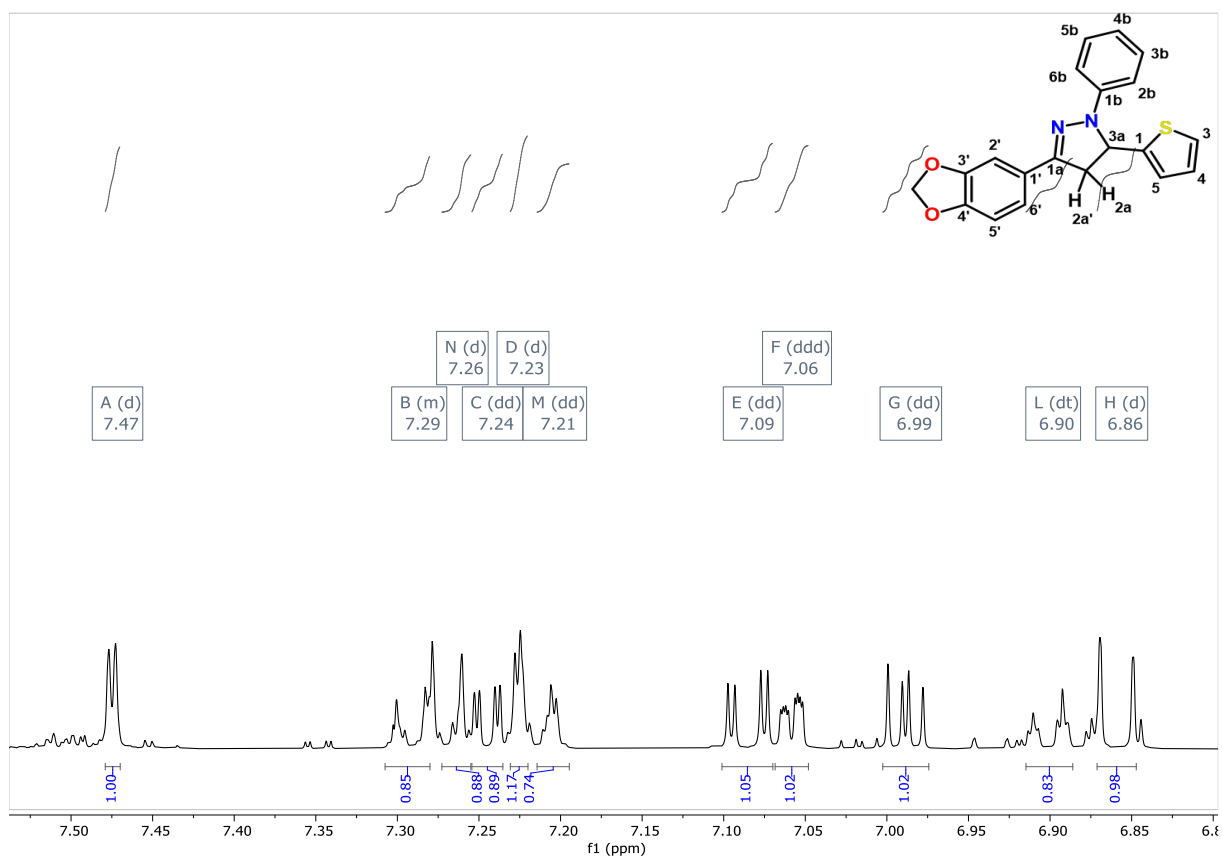
Fonte: Autor, 2020.

Figura 35. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-05 (3,0 a 4,0 ppm)

Fonte: Autor, 2020.

A presença desses sinais indica a formação do anel pirazólico e também a quebra da ligação  $\pi$  presente nesta posição na chalcona inicial. Na expansão presente na figura 36, podemos observar o anel fenílico B através dos sinais de duplo dubleto em  $\delta$  7,21 ( $J= 2,1; 1,2$  Hz) ppm e de duplo tripleto em  $\delta$  6,90 ( $J= 7,2; 1,2$  Hz) ppm, referentes aos hidrogênios 6b e 4b, respectivamente. Enquanto o multipletto em  $\delta$  7,31-7,26 (2H) ppm foi atribuído aos hidrogênios nas posições 3b e 5b.

Figura 36. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-05 (6,80 a 7,50 ppm)



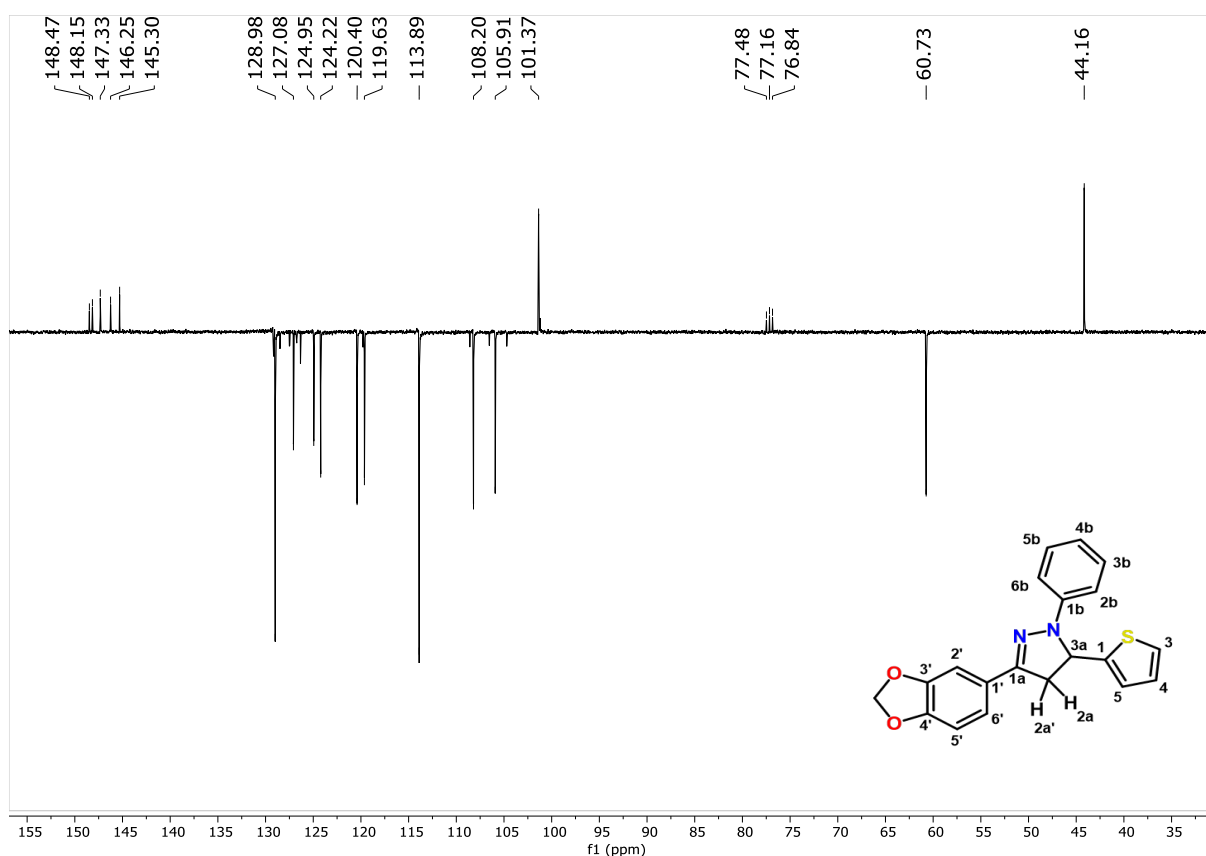
Fonte: Autor, 2020.

O sinal do grupo metilenodióxi aparece como um singlete em  $\delta$  6,03 ppm, com integração para dois hidrogênios. Já o sistema ABX do anel fenílico adjacente ao sistema metilenodioxido foi identificado através dos sinais em  $\delta$  6,86 ( $J= 8,1$  Hz), 7,08 ( $J= 8,1; 1,7$  Hz) e 7,47 ( $J= 1,6$  Hz) ppm.

O anel tiofênico foi observado através dos sinais em  $\delta$  6,99 ( $J= 5,1; 3,5$  Hz), 7,06 ( $J= 3,5; 1,2; 0,6$  Hz), 7,24 ( $J= 5,1; 1,2$  Hz) referentes aos hidrogênios presentes nas posições 3, 5 e 4 identificadas na estrutura, conforme o que temos visto em outras substâncias com este mesmo grupo.

No espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  (Figura 37, expansão no Apêndice E) foram observados 17 sinais de carbonos, sendo destes dois carbonos metilênicos, 10 carbonos metínicos e 5 carbonos não hidrogenados. Dos quais, podemos destacar primeiramente o sinal em  $\delta$  101,37 ppm, referente ao carbono metilênico do grupo metilenodioxi e o sinal em  $\delta$  44,16 ppm atribuído ao carbono metilênico do anel pirazólico na posição 3a. Pode-se ainda observar o carbono metínico do anel pirazólico em  $\delta$  60,73 ppm, referente ao carbono na posição 2a.

Figura 37. Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  – APT 100 MHz de GA-05



Fonte: Autor, 2020.

O anel fenílico B foi observado nos sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  113,89, 120,40 e 128,98 ppm dos quais, os sinais referentes aos carbonos em ambientes químicos idênticos aparecem no espectro com uma intensidade equivalente aos dois carbonos no sinal. O carbono quaternário na posição 1b foi atribuído ao sinal em  $\delta$  148,15 ppm.

O anel tiofênico foi identificado nesta estrutura através dos picos de carbonos metínicos em  $\delta$  124,22, 124,95, 237,08 ppm e o sinal de carbono quaternário em  $\delta$  148,47 referente ao carbono na posição 1 do anel.

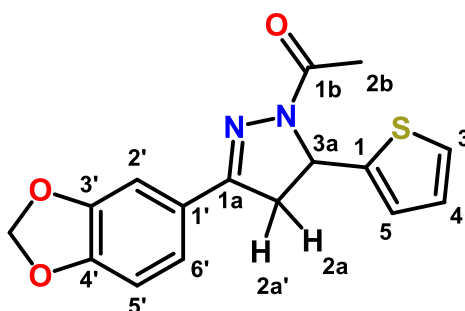
O anel fenílico adjacente ao grupo metilenodioxi foi observado através dos sinais de carbonos metínicos em  $\delta$  105,91, 102,20 e 119,63 e os sinais de carbonos quaternários em  $\delta$  145,30 e 147,33, sendo este último referente a dois carbonos de mesmo ambiente químico, os carbonos nas posições 3' e 4'.

Nestes espectros podemos analisar também a pureza do produto, que apesar de ter cristalizado na reação e lavado com solvente orgânico, ainda há impurezas. Uma possibilidade para aumentar o grau de pureza desta substância seria a recristalização em solvente adequado.

#### 5.3.4 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-ona (GA-06)

A substância GA-06 (Figura 38) não possui, na base de dados SciFinder, trabalhos de síntese ou testes biológicos publicados. No entanto, a molécula pode ser obtida de forma comercial através de empresas como a *Lab Network Compounds* (Estados Unidos) e *Life Chemicals HTS Compounds* (Canadá) por US\$ 69,00 (5 mg). A pesquisa por subestrutura encontrou uma substância similar com uma metila como substituinte na posição 3 publicada em abril de 2012 por Insuasty e colaboradores (INSUASTY *et al.*, 2012); A substância não foi selecionada para os testes *in vitro* antitumorais mencionados no artigo.

Figura 38. 1-(3-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5-(tiofen-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)etan-1-ona



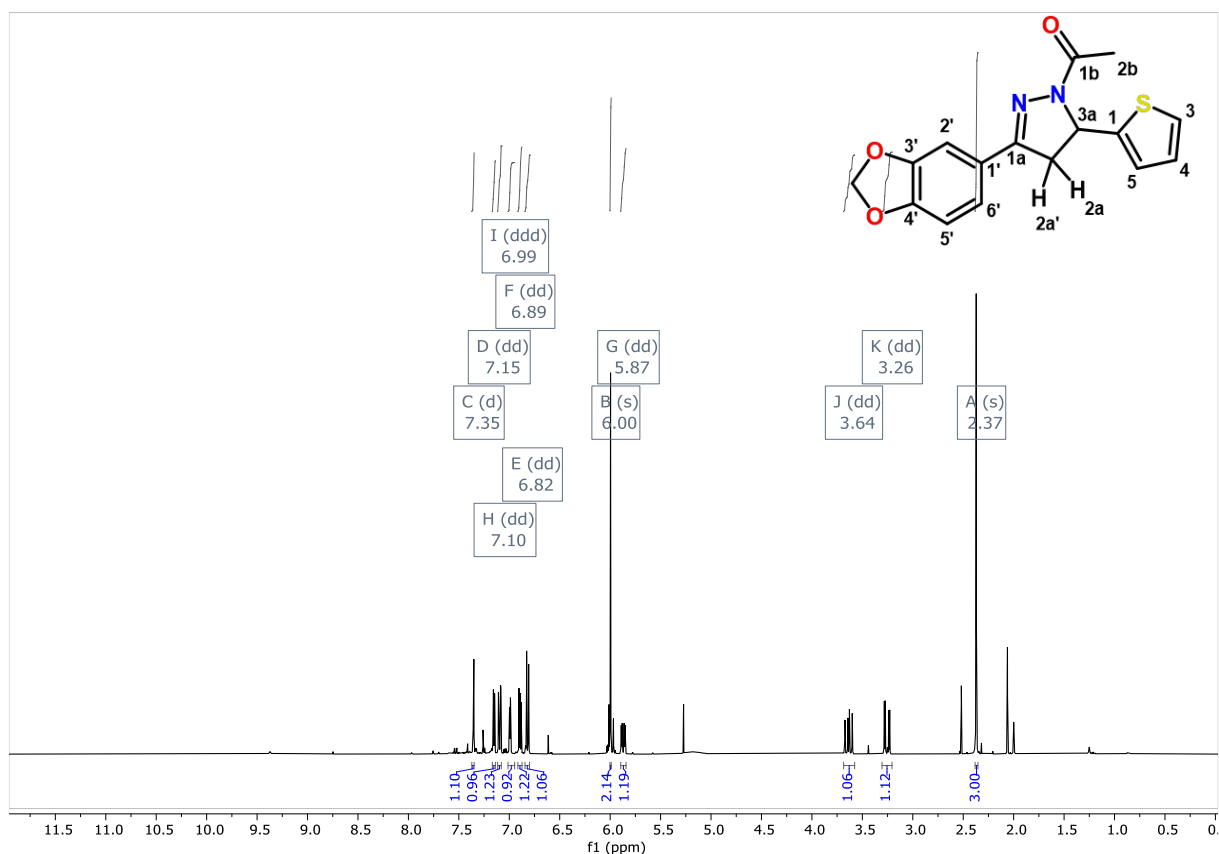
Fonte: Autor, 2020.

A caracterização da molécula foi dada como um sólido marrom, rendimento 31,83%;  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,37 (s, 3H, H2b), 3,26 (dd,  $J$  17,5; 4,0 Hz, 1H, H2a), 3,65 (dt,  $J$  17,5; 7,4 Hz, 1H, H2a'), 5,87 (dd,  $J$  11,4; 3,9 Hz, 1H, H3a), 6,00 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,82 (dd,  $J$  8,1; 3,6 Hz, 1H, H5'), 6,89 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H5), 6,99 (ddd,  $J$  3,6; 1,2; 0,7 Hz, 1H, H4), 7,10 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,15 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H3), 7,35 (d,  $J$  1,7 Hz, 1H, H2');  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  21,94 (C2b), 42,17 (C2a), 55,28 (C3a), 101,63 ( $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ).

), 106,25 (C5'), 108,28 (C2'), 121,77 (C6'), 124,60 (C4), 124,73 (C3), 125,51 (C1'), 126,81 (C5), 144,29 (C1), 148,25 (C3'), 149,71 (C4'), 153,80 (C1a), 168,92 (C1b).

No espectro de  $^1\text{H}$  RMN da substância GA-06 (Figura 39, expansão no Apêndice H) podemos observar a presença de 11 sinais referentes a 14 hidrogênios, dos quais podemos destacar o singlete em  $\delta$  2,37 ppm com integral para três hidrogênios referente à metila presente na posição 2b.

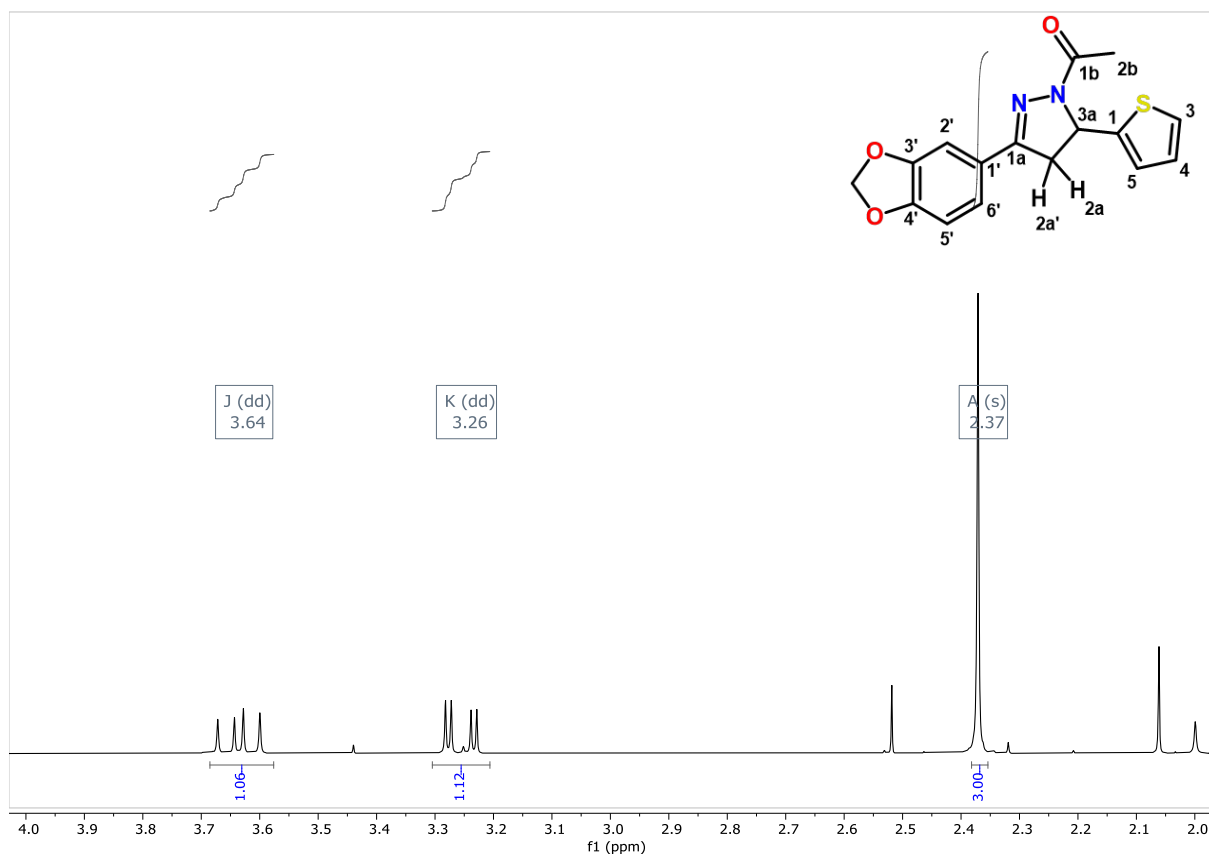
Figura 39. Espectro  $^1\text{H}$  RMN 400 MHz de GA-06



Fonte: Autor, 2020.

Os hidrogênios do anel pirazólico na posição 2a e 2a' apareceram na forma de duplos dubletos (Figura 40) e tiveram um deslocamento químico de  $\delta$  3,26 e 3,65 ppm, acoplando entre si com uma constante de acoplamento ( $J$ ) de 17,5 Hz, um acoplamento tipicamente geminal, similar ao que já foi visto anteriormente nos derivados com anel pirazólico. O hidrogênio na posição 3a do anel foi observado em  $\delta$  5,87 ( $J$ = 11,4; 3,9 Hz) ppm, em concordância com os achados anteriores para este núcleo.

Figura 40. Expansão do espectro de RMN  $^1\text{H}$  400 MHz de GA-06 (2,0 a 4,0 ppm)

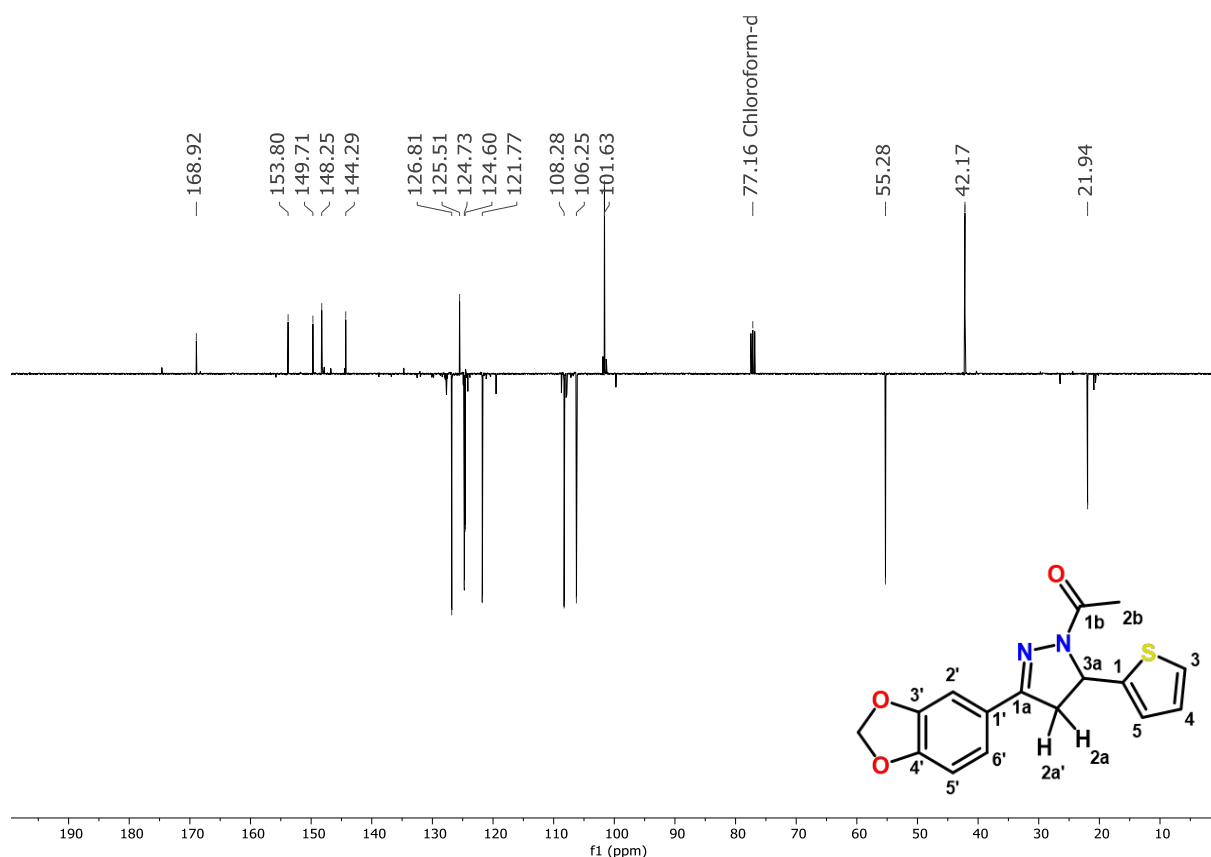


Fonte: Autor, 2020.

O grupo metilenodióxi também é observado nesta molécula em  $\delta$  6,00 ppm na forma de um singlete com integral para dois hidrogênios. Os hidrogênios do sistema ABX no anel fenílico adjacente foram atribuídos aos sinais em  $\delta$  6,82 ( $J = 8,1; 3,6$  Hz), 7,10 ( $J = 8,1; 1,7$  Hz) e 7,35 ( $J = 1,7$  Hz) ppm, evidenciando o acoplamento destes hidrogênios a três ligações de distância nas orientações orto e meta, respectivamente.

O anel tiofênico foi caracterizado através dos sinais em  $\delta$  6,89 ( $J = 5,1; 3,5$  Hz), 6,99 ( $J = 3,6; 1,2; 0,7$  Hz) e 7,15 ( $J = 5,1; 1,2$  Hz) ppm, sendo estes deslocamentos químicos e constantes de acoplamento já bem conhecidos para este núcleo.

O espectro de  $^{13}\text{C}$  (Figura 41, expansão no Apêndice G) mostra 16 sinais de carbono, dos quais um é metílico, dois são metilênicos, sete são metínicos e seis são referentes a carbonos não hydrogenados. Destacando-se primariamente a presença do sinal metílico referente ao  $\text{CH}_3$  presente na posição 2b adjacente ao anel pirazólico em  $\delta$  21,94 ppm.

Figura 41. Espectro RMN  $^{13}\text{C}$  – APT 100 MHz de GA-06

Fonte: Autor, 2020.

Os carbonos 2a e 3a do anel pirazólico foram atribuídos aos sinais de carbonos em  $\delta$  42,17 e 55,28 ppm, respectivamente. Enquanto o sinal de carbono não hidrogenado em  $\delta$  153,80 ppm foi designado à posição 1<sup>a</sup> do anel pirazólico.

O grupo metilenodioxi é observado em  $\delta$  101,63 ppm e a carbonila na posição 1b é atribuída ao sinal de carbono não hidrogenado em  $\delta$  168,92 ppm, deslocamento químico comum para carbonos carbonílicos.

O anel fenílico adjacente ao grupo metilenodioxi foi observado em três sinais metínicos em  $\delta$  106,25, 108,28 e 121,77 ppm e três sinais de carbonos quaternários em  $\delta$  125,51, 148,25 e 149,71 ppm.

O grupo tiofênico foi caracterizado através dos sinais metínicos em  $\delta$  124,60, 124,73 e 126,81 ppm e do sinal de carbono não hidrogenado em  $\delta$  144,29 ppm; deslocamentos químicos já esperados para este grupo.

Em ambos os espectros podemos observar determinadas impurezas que poderiam ser minimizadas ou removidas através de etapas de purificação adicionais ao fim da reação.

Os dados encontrados nos espectros da substância GA-06 estão de acordo com o que foi descrito por Insuasty e colaboradores (INSUASTY *et al.*, 2012) e com o padrão que vemos nos derivados da chalcona tiofênica ao longo deste trabalho. Desta forma, podemos afirmar que a estrutura proposta é de fato a substância sintetizada neste trabalho.

## 6 Conclusão

Neste trabalho foi feita a preparação, purificação e caracterização de três novos derivados pirazólicos de chalcona contendo enxofre, os compostos GA-04, GA-05 e GA-06. Assim como sua síntese, os testes de *docking* para atividade broncodilatadora e predição de características farmacocinéticas também são inéditos na literatura.

Os derivados preparados foram recuperados na forma de sólidos por precipitação ou recristalização em solvente adequado, o que facilita o processo de purificação e permite que os compostos sejam recristalizados para obtenção de graus de pureza ainda maiores. As moléculas sintetizadas possuem alto valor comercial, desta forma otimizar sua purificação é de fato interessante para a produção em maior escala.

Quanto às suas características farmacocinéticas e farmacodinâmicas, as estruturas indicaram hepatotoxicidade, potencial mutagênico, alta permeabilidade à barreira hematoencefálica e absorção intestinal.

A síntese de novas moléculas e desenho de rotas sintéticas para obtenção de derivados de chalconas, permite que as metodologias desenvolvidas neste trabalho sejam aplicadas a estudos posteriores com outras chalconas, uma vez que os rendimentos obtidos foram satisfatórios e os reagentes utilizados são de uso comum em laboratório.

Trabalhos posteriores de testes *in vitro* destas moléculas para atividades vasodilatadoras, antioxidantes, antidepressivas e inseticidas estão em andamento através de parcerias com outros laboratórios.

As moléculas sintetizadas podem passar por etapas de otimização em busca de melhoras nas suas características farmacocinéticas, mantendo o farmacoforo dos pirazóis a fim de reduzir sua toxicidade e tornar seu uso medicamentoso mais seguro. As mesmas moléculas ainda podem ser utilizadas em estudos para outros fins, que não farmacêuticos.

## Referências bibliográficas

- AHMAD, A.; WANI, M. Y.; PATEL, M.; SOBRAL, A. J. F. N.; DUSE, A. G.; AQLAN, F. M.; AL-BOGAMI, A. S. Synergistic antifungal effect of cyclized chalcone derivatives and fluconazole against *Candida albicans*. **Medicinal Chemistry Communications**, v. 8, n. 12, p. 2195–2207, 2017. DOI: 10.1039/c7md00440k.
- ANSARI, A.; ALI, A.; ASIF, M.; SHAMSUZZAMAN. Review: biologically active pyrazole derivatives. **New Journal of Chemistry**, v. 41, n. 1, p. 16–41, 2016. DOI: 10.1039/c6nj03181a.
- ARDIANSAH, B. Chalcones bearing N, O, and S-heterocycles: Recent notes on their biological significances. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 9, n. 8, p. 117–129, 2019. DOI: 10.7324/JAPS.2019.90816.
- BALSAN, J. D.; ROSA, B. N.; PEREIRA, C. M. P.; SANTOS, C. M. M. Development of methodology of latent fingerprint revelation with chalcones. **Quimica Nova**, v. 42, n. 8, p. 845–850, 2019. DOI: 10.21577/0100-4042.20170399.
- BANSAL, G.; SINGH, S.; MONGA, V.; THANIKACHALAM, P. V.; CHAWLA, P. Synthesis and biological evaluation of thiazolidine-2,4-dione-pyrazole conjugates as antidiabetic, anti-inflammatory and antioxidant agents. **Bioorganic Chemistry**, v. 92, p. 103271, 2019. DOI: 10.1016/j.bioorg.2019.103271.
- BERTOLDO, J. B.; CHIARADIA-DELATORRE, L. D.; MASCARELLO, A.; LEAL, P. C.; CORDEIRO, M. N. S.; NUNES, R. J.; SARDUY, E. S.; ROSENTHAL, P. J.; TERENCE, H. Synthetic compounds from an *in house* library as inhibitors of falcipain-2 from *Plasmodium falciparum*. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, n. 7, v. 30, p. 299–307, 2015. DOI: 10.3109/14756366.2014.920839.
- BHAGAT, U. K.; PEDDINTI, R. K. Regiospecific Aza-Michael Addition of 4-aryl-1 H - 1,2,3-triazoles to chalcones: Synthesis of 2,4-disubstituted 1,2,3-Triazoles in Basic Medium. **Synlett**, v. 29, n. 1, p. 99–105, 2018. DOI: 10.1055/s-0036-1588567.
- BHAT, M. A.; AHMED, A. F.; WEN, Z. H.; AL-OMAR, M. A.; ABDEL-AZIZ, H. A. Synthesis, anti-inflammatory and neuroprotective activity of pyrazole and pyrazolo[3,4-d]pyridazine bearing 3,4,5-trimethoxyphenyl. **Medicinal Chemistry Research**, v. 26, n. 7, p. 1557–1566, 2017. DOI: 10.1007/s00044-017-1870-5.
- BORCHHARDT, D. M.; MASCARELLO, A.; CHIARADIA, L. D.; NUNES, R. J.; OLIVA, G.; YUNES, R. A.; ANDRICOPULO, A. D. Biochemical evaluation of a series of synthetic chalcone and hydrazide derivatives as novel inhibitors of cruzain from *Trypanosoma cruzi*. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 1, p. 142–150, 2010. DOI: 10.1590/S0103-50532010000100021.
- BOULEBD, H. The role of benzylic-allylic hydrogen atoms on the antiradical activity of prenylated natural chalcones: a thermodynamic and kinetic study. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, ahead of print, 2020. DOI: 10.1080/07391102.2020.1740791.
- CATTO, M.; ALIANO, R.; CAROTTI, A.; CELLAMARE, S.; PALLUOTTO, F.; PURGATORIO, R.; DE STRADIS, A.; CAMPAGNA, F. Design, synthesis and biological

evaluation of indane-2-arylhydrazinylmethylene-1,3-diones and indol-2-aryldiazenylmethylene-3-ones as  $\beta$ -amyloid aggregation inhibitors. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 4, p. 1359–1366, 2010. DOI: 10.1016/j.ejmech.2009.12.029.

CHAOUIKI, A.; LGAZ, H.; SALGHI, R.; CHAFIQ, M.; OUDDA, H.; SHUBHALAXMI; BHAT, K. S.; CRETESCU, I.; ALI, I. H.; MARZOUKI, R.; CHUNG, I-M. Assessing the impact of electron-donating-substituted chalcones on inhibition of mild steel corrosion in HCl solution: Experimental results and molecular-level insights. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 588, p. 124366, 2020. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2019.124366.

CHIARADIA, L. D.; MARTINS, P. G. A.; CORDEIRO, M. N. S.; GUIDO, R. V. C.; ECCO, G.; ANDRICOPULO, A. D.; YUNES, R. A.; VERNAL, J.; NUNES, R. J.; TERENCE, H. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of chalcone derivatives as potent inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatases (PtpA and PtpB). **Journal of Medicinal Chemistry**, n. 1, v. 55, n. 1, p. 390–402, 2012. DOI: 10.1021/jm2012062.

DAINA, A.; MICHIELIN, O.; ZOETE, V. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. **Scientific Reports**, n. 1, v. 7, 2017. DOI: 10.1038/srep42717.

DELOST, M. D.; SMITH, D. T.; ANDERSON, B. J.; NJARDARSON, J. T. From Oxiranes to Oligomers: Architectures of U.S. FDA Approved Pharmaceuticals Containing Oxygen Heterocycles **Journal of Medicinal Chemistry** n. 24, v. 61, p. 10996-11020, 2018. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b00876.

DUARTE, G. D. **Preparação e avaliação de atividade antimicrobiana de chalconas heterocíclicas**. Trabalho de conclusão de Curso - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2018.

EL SHEHRY, M. F.; GHORAB, M. M.; ABBAS, S. Y.; FAYED, E. A.; SHEDID, S. A.; AMMAR, Y. A. Quinoline derivatives bearing pyrazole moiety: Synthesis and biological evaluation as possible antibacterial and antifungal agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 143, p. 1463–1473, 2018. DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.10.046.

ENCHEV, V.; MEHANDZHIYSKI, A. Y. Computational insight on the chalcone formation mechanism by the Claisen–Schmidt reaction. **International Journal of Quantum Chemistry**, v. 117, n. 11, p. 1–8, 2017. DOI: 10.1002/qua.25365.

FARIA, E. C. M.; DUARTE, V. S.; DA SILVA, A. M.; FERNANDES, F. S.; DE PAULA, R. L. G.; ALONSO, C. G.; OLIVEIRA, G. R.; NAPOLITANO, H. B. New halogen chalcone with potential for application in biofuels. **Energy & Fuels**, v. 34, n. 5, p. 5958–5968, 2020. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.0c00322.

FERREIRA, N. C.; MARQUES, I. A.; CONCEIÇÃO, W. A.; MACEDO, B.; MACHADO, C. S.; MASCARELLO, A.; CHIARADIA-DELATORRE, L. D.; YUNES, R. A.; NUNES, R. J.; HUGHSON, A. G.; RAYMOND, L. D.; PASCUTTI, P. G.; CAUGHEY, B.; CORDEIRO, Y. Anti-prion activity of a panel of aromatic chemical compounds: in vitro and in silico approaches. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e84531, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0084531.

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, n. 8, 2017. DOI: 10.3390/molecules22081210.

GOODMAN; GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 12<sup>a</sup> ed. AMGH Editora LTDA, 2012.

GOSENS, R.; GROSS, N. The mode of action of anticholinergics in asthma. **European Respiratory Journal**, v. 52, n. 4, 2018. DOI: 10.1183/13993003.01247-2017.

GOSENS, R.; ZAAGSMA, J.; MEURS, H.; HALAYKO, A. J. Muscarinic receptor signaling in the pathophysiology of asthma and COPD. **Respiratory Research**, v. 7, n.1, p.73, 2006. DOI: 10.1186/1465-9921-7-73.

HAMELMANN, E.; BATEMAN, E. D.; VOGELBERG, C.; SZEFLER, S. J.; VANDEWALKER, M.; MORONI-ZENTGRAF, P.; AVIS, M.; UNSELD, A.; ENGEL, M.; BONER, A. L. Tiotropium add-on therapy in adolescents with moderate asthma: A 1-year randomized controlled trial. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 138, n. 2, p. 441- 450.e8, 2016. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.01.011.

HAMELMANN, E.; SZEFLER, S. J. Efficacy and safety of tiotropium in children and adolescents drugs. **Springer International Publishing**, v. 78, n. 3, p. 327-338, 2018. DOI: 10.1007/s40265-018-0862-1.

HASSAN, G. S.; ABDEL RAHMAN, D. E.; ABDELMAJEED, E. A.; REFAEY, R. H.; ALARABY SALEM, M.; NISSAN, Y. M. New pyrazole derivatives: Synthesis, anti-inflammatory activity, cyclooxygenase inhibition assay and evaluation of mPGES. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 171, p. 332–342, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.03.052.

HASSAN, M. M.; FAROUK, O. Synthesis and antimicrobial evaluation of some functionalized heterocycles derived from novel quinolinyl chalcone. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 54, n. 6, p. 3133–3142, 2017. DOI: 10.1002/jhet.2927.

HENARY, M.; KANANDA, C.; ROTOLO, L.; SAVINO, B.; OWENS, E. A.; CRAVOTTO, G. Benefits and applications of microwave-assisted synthesis of nitrogen containing heterocycles in medicinal chemistry **Royal Society of Chemistry**, v. 10, n. 24, p. 14170-14197, 2020. DOI: 10.1039/d0ra01378a.

HORLEY, N. J.; BERESFORD, K. J.M.; KADUSKAR, S.; JOSHI, P.; MCCANN, G. J.P.; RUPARELIA, K. C.; WILLIAMS, I. S.; GATCHIE, L.; SONAWANE, V. R.; BHARATE, S. B.; CHAUDHURI, B. (E)-3-(3,4,5-Trimethoxyphenyl)-1-(pyridin-4-yl)prop-2-en-1-one, a heterocyclic chalcone is a potent and selective CYP1A1 inhibitor and cancer chemopreventive agent. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 27, n. 24, p. 5409–5414, 2017. DOI: 10.1016/j.bmcl.2017.11.009.

INSUASTY, B.; CHAMIZO, L.; MUÑOZ, J.; TIGREROS, A.; QUIROGA, J.; ABONÍA, R.; NOGUERAS, M.; COBO, J. Synthesis of 1-substituted 3-aryl-5-aryl(hetaryl)-2-pyrazolines and study of their antitumor activity. **Archiv der Pharmazie**, v. 345, n. 4, p. 275–286, 2012. DOI: 10.1002/ardp.201100170.

ISMAIL, M. M. F.; KHALIFA, N. M.; FAHMY, H. H.; NOSSIER, E. S.; ABDULLA, M. M. Design, docking, and synthesis of some new pyrazoline and pyranopyrazole derivatives as anti-inflammatory agents. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 51, n. 2, p. 450–458, 2014. DOI: 10.1002/jhet.1757.

JONES, G.; WILLETT, P.; GLEN, R. C.; LEACH, A. R.; TAYLOR, R. Development and validation of a genetic algorithm for flexible docking. **Journal of Molecular Biology**, v. 267, n. 3, p. 727–748, 1997. DOI: 10.1006/jmbi.1996.0897.

JUNG, J.; LEE, Y.; MIN, D.; JUNG, M.; OH, S.. Practical synthesis of chalcone derivatives and their biological activities. **Molecules**, v. 22, n. 11, p. 1872, 2017. DOI: 10.3390/molecules22111872.

KHAN, S. A.; ASIRI, A. M.; AL-GHAMDI, N. S. M.; ASAD, M.; ZAYED, M. E. M.; ELROBY, S. A. K.; AQLAN, F. M.; WANI, M. Y.; SHARMA, K. Microwave assisted synthesis of chalcone and its polycyclic heterocyclic analogues as promising antibacterial agents: In vitro, in silico and DFT studies. **Journal of Molecular Structure**, v. 1190, p. 77–85, 2019. DOI: 10.1016/j.molstruc.2019.04.046.

KIST, R.; TIMMERS, L. F. S. M.; CACERES, R. A. Searching for potential mTOR inhibitors: Ligand-based drug design, docking and molecular dynamics studies of rapamycin binding site. **Journal of Molecular Graphics and Modelling**, v. 80, p. 251–263, 2018. DOI: 10.1016/j.jmgm.2017.12.015.

KITAWAT, B. S.; SINGH, M. Synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant, DNA binding and SAR study of a novel pyrazine moiety bearing 2-pyrazoline derivatives. **New Journal of Chemistry**, v. 38, n. 9, p. 4290–4299, 2014. DOI: 10.1039/c4nj00594e.

KRUSE, A. C.; HU, J.; PAN, A. C.; ARLOW, D. H.; ROSENBAUM, D. M.; ROSEMOND, E.; GREEN, H. F.; LIU, T.; CHAE, P. S.; DROR, R. O.; SHAW, D. E.; WEIS, W. I.; WESS, J.; KOBILKA, B. K. Structure and dynamics of the M3 muscarinic acetylcholine receptor. **Nature**, v. 482, n. 7386, p. 552–556, 2012. DOI: 10.1038/nature10867.

LAKHEKAR, S. N.; RAHATIKAR, G. B.; BASEER, M. A. Synthesis, characterization and antioxidant activity of new halogen substituted chalcones. **Current Pharma Research**, v. 9, n. 4, p. 3269–3274, 2019.

LAL, K.; YADAV, P.; KUMAR, A.; KUMAR, A.; PAUL, A. K. Design, synthesis, characterization, antimicrobial evaluation and molecular modeling studies of some dehydroacetic acid-chalcone-1,2,3-triazole hybrids. **Bioorganic Chemistry**, v. 77, p. 236–244, 2018. DOI: 10.1016/j.bioorg.2018.01.016.

LI, W.; XU, F.; SHUAI, W.; SUN, H.; YAO, H.; MA, C.; XU, S.; YAO, H.; ZHU, Z.; YANG, D.; CHEN, Z.; XU, J. Discovery of novel quinoline-chalcone derivatives as potent antitumor agents with microtubule polymerization inhibitory activity. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 62, n. 2, p. 993–1013, 2019. a. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.8b01755.

LI, Y.; SUN, B.; ZHAI, J.; FU, L.; ZHANG, S.; ZHANG, J.; LIU, H.; XIE, W.; DENG, H.; CHEN, Z.; SANG, F. Synthesis and antibacterial activity of four natural chalcones and their derivatives. **Tetrahedron Letters**, v. 60, n. 43, p. 151165, 2019. b. DOI: 10.1016/j.tetlet.2019.151165.

MACHADO, C.; PINTO, P.; SILVA, P.; ALMEIDA, D.; MOREIRA, J.; PINTO, M.; BOUSBAA, H.; CIDADE, H. Heterocyclic chalcone derivatives: Synthesis and biological activity evaluation. **Porto Biomedical Journal**, v. 2, n. 5, p. 225, 2017. DOI: 10.1016/j.pbj.2017.07.115.

MANSOUR, E.; EL-BADRY, Y. A.; EL-TOKHY, A.; AYYAD, R.; ABD-RABOU, A. A. Synthesis and antiproliferative potency within anticonvulsant of novel bichalcone derivatives. **Journal of the Korean Chemical Society**, v. 64, n. 1, p. 7–18, 2020. DOI: 10.5012/jkcs.2020.64.1.7.

MAO, Z.; ZHENG, X.; LIN, Y.; QI, Y.; HU, C.; WAN, C.; RAO, G. Concise synthesis and biological evaluation of chalcone derivatives bearing n-heterocyclic moieties. **Heterocycles**, v. 92, n. 6, 2016. DOI: 10.3987/COM-16-13452.

MORRIS, G. M.; RUTH, H.; LINDSTROM, W.; SANNER, Michel F.; BELEW, R. K.; GOODSELL, D. S.; OLSON, A. J. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. **Journal of Computational Chemistry**, v. 30, n. 16, p. 2785–2791, 2009. DOI: 10.1002/jcc.21256.

PATHANIA, S.; NARANG, R. K.; RAWAL, R. K. Role of sulphur-heterocycles in medicinal chemistry: An update **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 180, p. 486-508, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.043.

PEREIRA, I. S. P. ; RODRIGUES, V. F. ; VEGA, M. R. G. Flavonoides do gênero *Solanum*. **Rev. Virtual Quim**, v. 8, n. 1, p. 4–26, 2016. DOI: 10.5935/1984-6835.20160021.

PIERCE, B.; TONG, W.; WENG, Z. M-ZDOCK: a grid-based approach for Cn symmetric multimer docking. **Bioinformatics**, v. 21, n. 8, p. 1472–1478, 2004.

PIRES, D. E. V.; BLUNDELL, T. L.; ASCHER, D. B. pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 4066–4072, 2015. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b00104.

PONTE, E. V; FRANCO, R. A.; CRUZ, A. A. Farmacoterapia da asma brônquica. em: **Farmacologia / Penildon Silva**. 8ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A, p. 744-753, 2010.

PRABHU, J.; VELMURUGAN, K.; RAMAN, A.; DURAIPANDY, N.; KIRAN, M. S.; EASWARAMOORTHY, S.; NANDHAKUMAR, R. A simple chalcone based ratiometric chemosensor for sensitive and selective detection of nickel ion and its imaging in live cells. **Sensors and Actuators, B: Chemical**, v. 238, p. 306–317, 2017. DOI: 10.1016/j.snb.2016.07.018.

PRABHUDEVA, M. G.; KUMARA, K.; DILEEP KUMAR, A.; NINGAPPA, M. B.; LOKANATH, N. K.; AJAY KUMAR, K. Amberlyst-15 catalyzed synthesis of novel thiophene-pyrazoline derivatives: spectral and crystallographic characterization and anti-inflammatory and antimicrobial evaluation. **Research on Chemical Intermediates**, v. 44, n. 11, p. 6453–6468, 2018. DOI: 10.1007/s11164-018-3501-2.

RANI, M.; YUSUF, M. Synthesis and in-vitro antibacterial activity of some bis-5-(thiophen-2-yl)-carbothioamide-pyrazoline derivatives. **European Journal of Chemistry**, v. 3, n. 4, p. 406–410, 2012. DOI: 10.5155/eurjchem.3.4.406.

RÍOS-TAMAYO, R.; MARTÍN-GARCÍA, A.; ALARCÓN-PAYER, C.; SÁNCHEZ-RODRÍGUEZ, D.; DE LA GUARDIA, A. M. D. V. D.; COLLADO, C. G. G.; MORALES, A. J.; CHACÓN, M. J.; BARRERA, J. C. Pomalidomide in the treatment of multiple myeloma: Design, development and place in therapy **Drug Design, Development and Therapy**, v. 11, p. 2399–2408, 2017. DOI: 10.2147/DDDT.S115456.

SANDER, T.; FREYSS, J.; VON KORFF, M.; REICH, J. R.; RUFENER, C. OSIRIS, an entirely in-house developed drug discovery informatics system. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 49, n. 2, p. 232–246, 2009. DOI: 10.1021/ci800305f.

SAYED, G. H.; AZAB, M. E.; ANWER, K. E.; RAOUF, M. A.; NEGM, N. A. Pyrazole, pyrazolone and enamionitrile pyrazole derivatives: Synthesis, characterization and potential in corrosion inhibition and antimicrobial applications. **Journal of Molecular Liquids**, v. 252, p. 329–338, 2018. DOI: 10.1016/j.molliq.2017.12.156.

SHANKARAIAH, N.; NEKKANTI, S.; BRAHMA, U. R.; PRAVEEN KUMAR, N.; DESHPANDE, N.; PRASANNA, D.; SENWAR, K. R.; JAYA LAKSHMI, U. Synthesis of different heterocycles-linked chalcone conjugates as cytotoxic agents and tubulin polymerization inhibitors. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 25, n. 17, p. 4805–4816, 2017. DOI: 10.1016/j.bmc.2017.07.031.

SHERIKAR, A.; DHAVALA, R.; BHATIA, M. Vasorelaxant effect of novel nitric oxide-hydrogen sulfide donor chalcone in isolated rat aorta: involvement of cGMP mediated sGC and potassium channel activation. **Current Molecular Pharmacology**, v. 13, n. 2, p. 126–136, 2019. DOI: 10.2174/1874467212666191025092346.

TAKATE, S. J.; SHINDE, A. D.; KARALE, B. K.; AKOLKAR, H.; NAWALE, L.; SARKAR, D.; MHASKE, P. C. Thiazolyl-pyrazole derivatives as potential antimycobacterial agents. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**, v. 29, n. 10, p. 1199–1202, 2019. DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.03.020.

TANG, X.; SU, S.; CHEN, M.; HE, J.; XIA, R.; GUO, T.; CHEN, Y.; ZHANG, C.; WANG, J.; XUE, W. Novel chalcone derivatives containing a 1,2,4-triazine moiety: Design, synthesis, antibacterial and antiviral activities. **RSC Advances**, v. 9, n. 11, p. 6011–6020, 2019. DOI: 10.1039/c9ra00618d.

TEKALE, S.; MASHELE, S.; POOE, O.; THORE, S.; KENDREKAR, P.; PAWAR, R. biological role of chalcones in medicinal chemistry. in: **Vector-Borne Diseases - Recent Developments in Epidemiology and Control**. [s.l.] IntechOpen, 2020. DOI: 10.5772/intechopen.91626.

TRIPATHI, R. B.; PANDE, M.; GARG, G.; SHARMA, D. In-silico expectations of pharmaceutical industry to design of new drug molecules. **Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences**, v. 3, n. 3, p. 95–103, 2016.

VANANGAMUDI, G.; SUBRAMANIAN, M.; THIRUNARAYANAN, G. Synthesis, spectral linearity, antimicrobial, antioxidant and insect antifeedant activities of some 2,5-

dimethyl-3-thienyl chalcones. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S1254–S1266, 2017. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.03.006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Chronic respiratory diseases**. Disponível em: [https://www.who.int/health-topics/chronic-respiratory-diseases#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chronic-respiratory-diseases#tab=tab_1). Acesso em: 26 jul. 2020.

XU, F.; LI, W.; SHUAI, W.; YANG, L.; BI, Y.; MA, C. Design, synthesis and biological evaluation of pyridine-chalcone derivatives as novel microtubule-destabilizing agents. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 173, p. 1–14, 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.04.008.

XUE, Y.; LIU, Y.; LUO, Q.; WANG, H.; CHEN, R.; LIU, Y.; LI, Y. Antiradical activity and mechanism of coumarin-chalcone hybrids: Theoretical insights. **Journal of Physical Chemistry A**, v. 122, n. 43, p. 8520–8529, 2018. DOI: 10.1021/acs.jpca.8b06787.

YOUSAF, M.; ZAHOR, A. F.; FAIZ, S.; JAVED, S.; IRFAN, M. Recent synthetic approaches towards biologically potent derivatives/analogues of theophylline. **Journal of Heterocyclic Chemistry**, v. 55, n. 11, p. 2447–2479, 2018. DOI: 10.1002/jhet.3311.

YUGANDHAR, P.; KUMAR, K. K.; NEERAJA, P.; SAVITHRAMMA, N. Isolation, characterization and in silico docking studies of synergistic estrogen receptor  $\alpha$  anticancer polyphenols from *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp. **Journal of Intercultural Ethnopharmacology**, v. 6, n. 3, p. 296–310, 2017. DOI: 10.5455/jice.20170709031835.

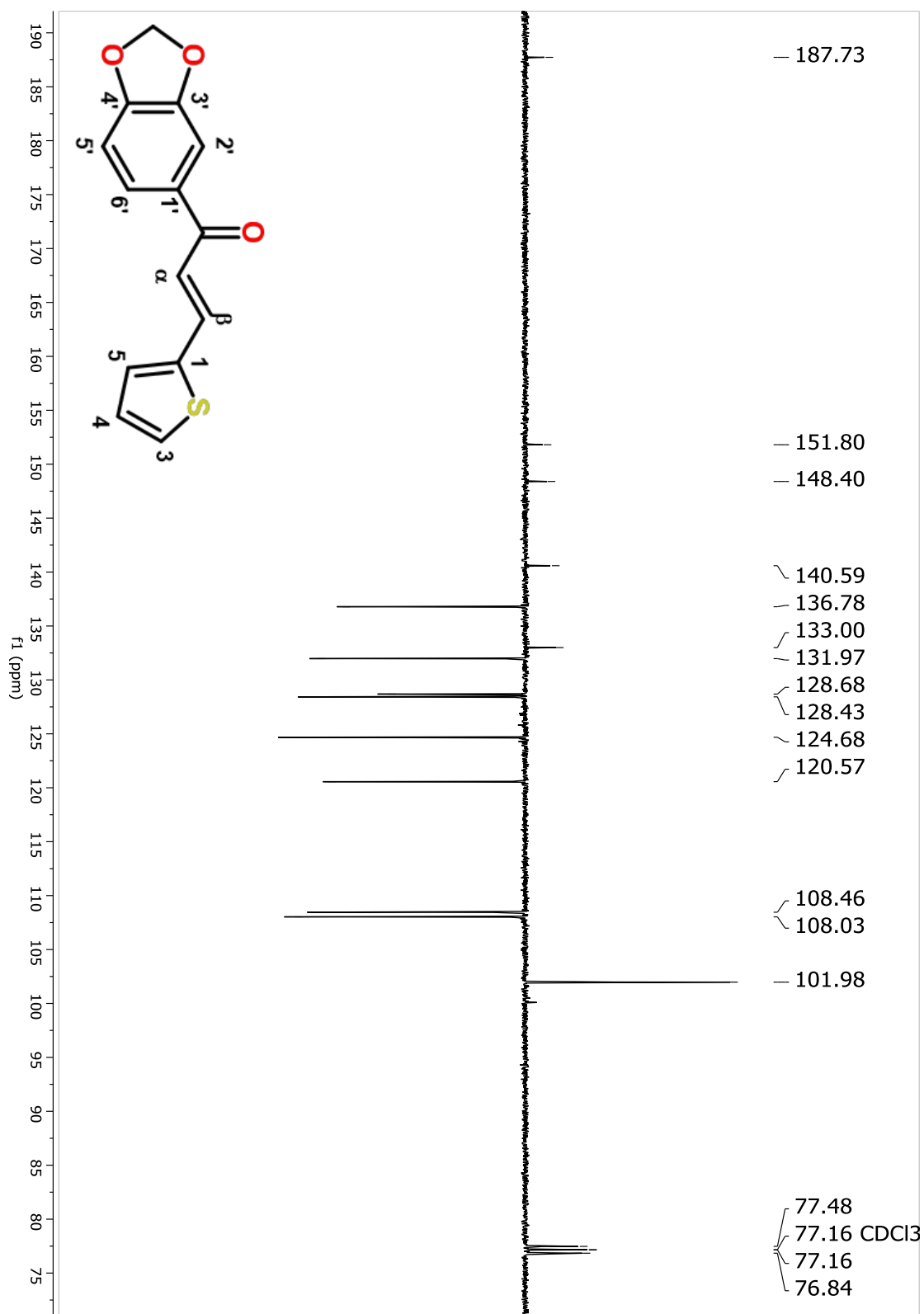
ZHANG, T.; FANG, Z. The concise synthesis and biological evaluation of C-glycosyl chalcone analogues inspired by the natural product aspalathin. **RSC Advances**, v. 7, n. 5, p. 3021–3024, 2017. DOI: 10.1039/c6ra26969a.

ZYSZKA, B.; ANIOŁ, M.; LIPOK, J. Highly effective, regiospecific reduction of chalcone by cyanobacteria leads to the formation of dihydrochalcone: Two steps towards natural sweetness. **Microbial Cell Factories**, v. 16, n. 1, p. 1–15, 2017. DOI: 10.1186/s12934-017-0752-3.

## GLOSSÁRIO

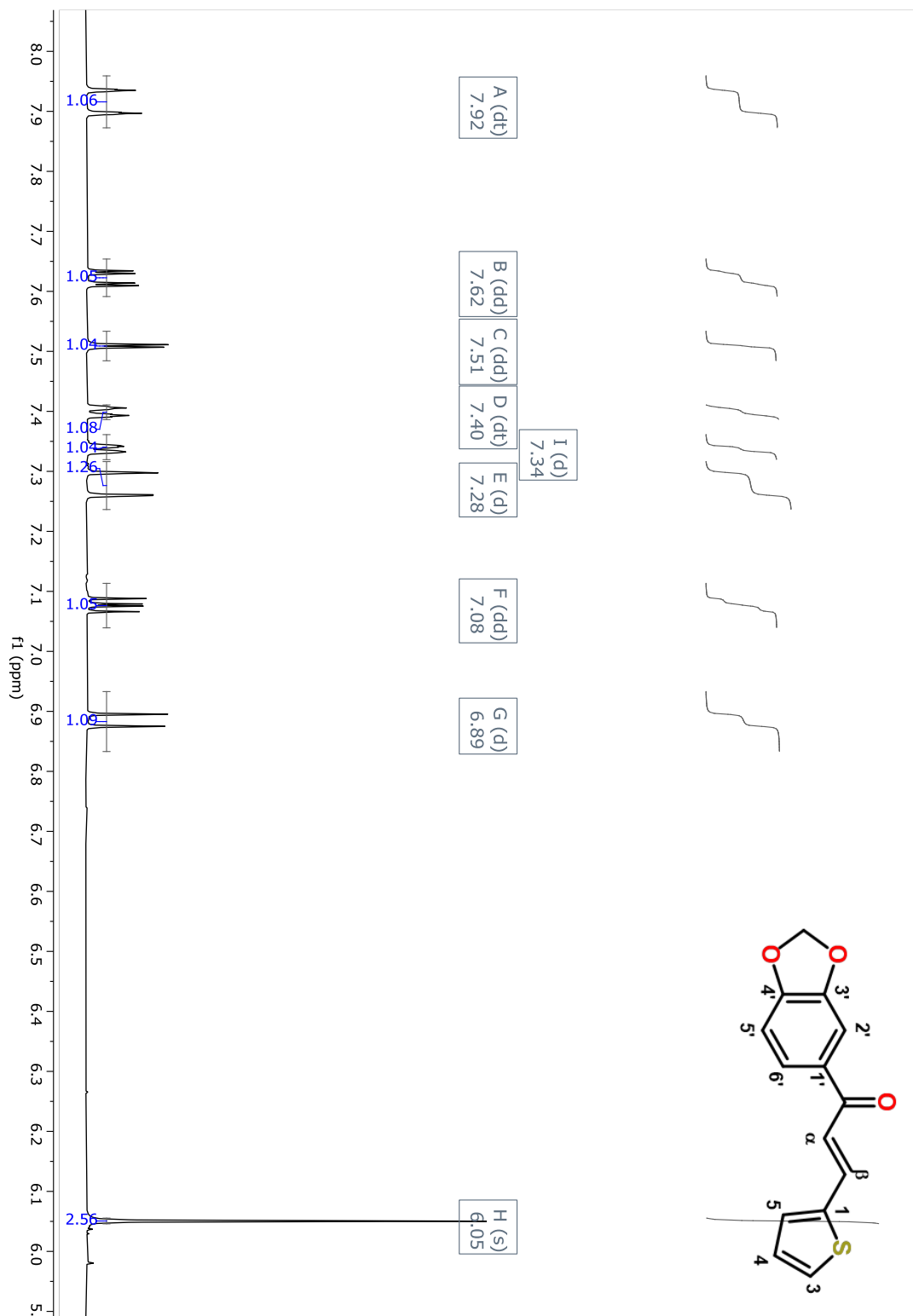
|                   |                                                                                                                                                                                 |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alcóxido          | Consiste de um grupo orgânico ligado a um átomo de oxigênio negativamente carregado.                                                                                            |
| Citocina          | Designação genérica de certas substâncias segregadas por células do sistema imunitário que controlam a imunorreação do organismo.                                               |
| Docking           | É um método que prevê a orientação preferencial de uma molécula a uma segunda, quando ligados entre si para formar um complexo estável.                                         |
| Eletrospray       | É uma técnica usada na espectrometria de massa para produzir íons usando um eletropulverizador em que uma alta voltagem é aplicada a um líquido para criar um aerossol.         |
| Imidazólicos      | Substâncias contendo o imidazol, um composto orgânico de fórmula $C_3H_4N_2$ .                                                                                                  |
| Metoxila          | É um grupo funcional ou radical consistindo em um grupo metilo unido a um oxigênio.                                                                                             |
| Mutagenicidade    | Potencial das substâncias em induzir mutações no homem que podem ser transmitidas, via células germinativas, para as gerações futuras ou evoluir e causar câncer.               |
| Pirazois          | Substâncias contendo pirazol, um composto aromático pentagonal contendo dois átomos de nitrogênio nas posições 1 e 2.                                                           |
| Pirimidinas       | As pirimidinas são compostos orgânicos semelhantes ao benzeno, mas com um anel heterocíclico: dois átomos de nitrogênio substituem o carbono nas posições 1 e 3.                |
| Score             | Score é um substantivo da língua inglesa que significa pontuação.                                                                                                               |
| Screening virtual | Técnica computacional usada no desenvolvimento de fármacos para procurar em bibliotecas de pequenas moléculas estruturas promissoras a se ligar a um determinado alvo biológico |
| Softwares         | Programas que comandam o funcionamento de um computador.                                                                                                                        |
| Triazois          | Refere-se a qualquer um dos pares de compostos químicos isoméricos com fórmula molecular $C_2H_3N_3$ .                                                                          |

# APÊNDICE A – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ APT da substância GA-01



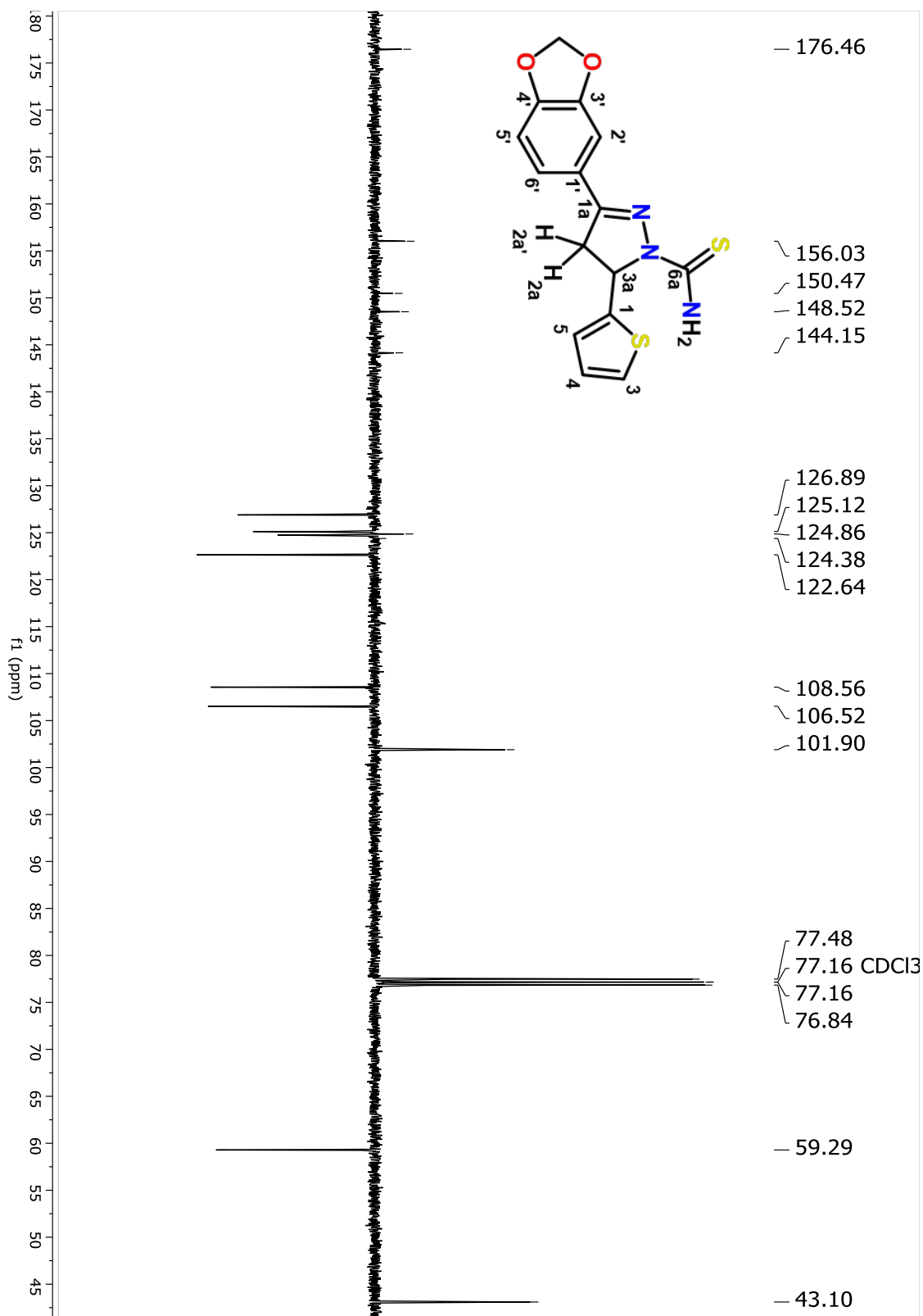
$^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  101,98 (-OCH<sub>2</sub>O-), 108,03 (C2'), 108,46 (C5'), 120,57 (C6'), 124,68 (C $\alpha$ ), 128,43 (C4), 128,68 (C5), 131,97 (C $\beta$ ), 133,00 (C1'), 136,78 (C3), 140,59 (C1), 148,40 (C3'), 151,80 (C4'), 187,73 (C=O)

## APÊNDICE B – Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância GA-01



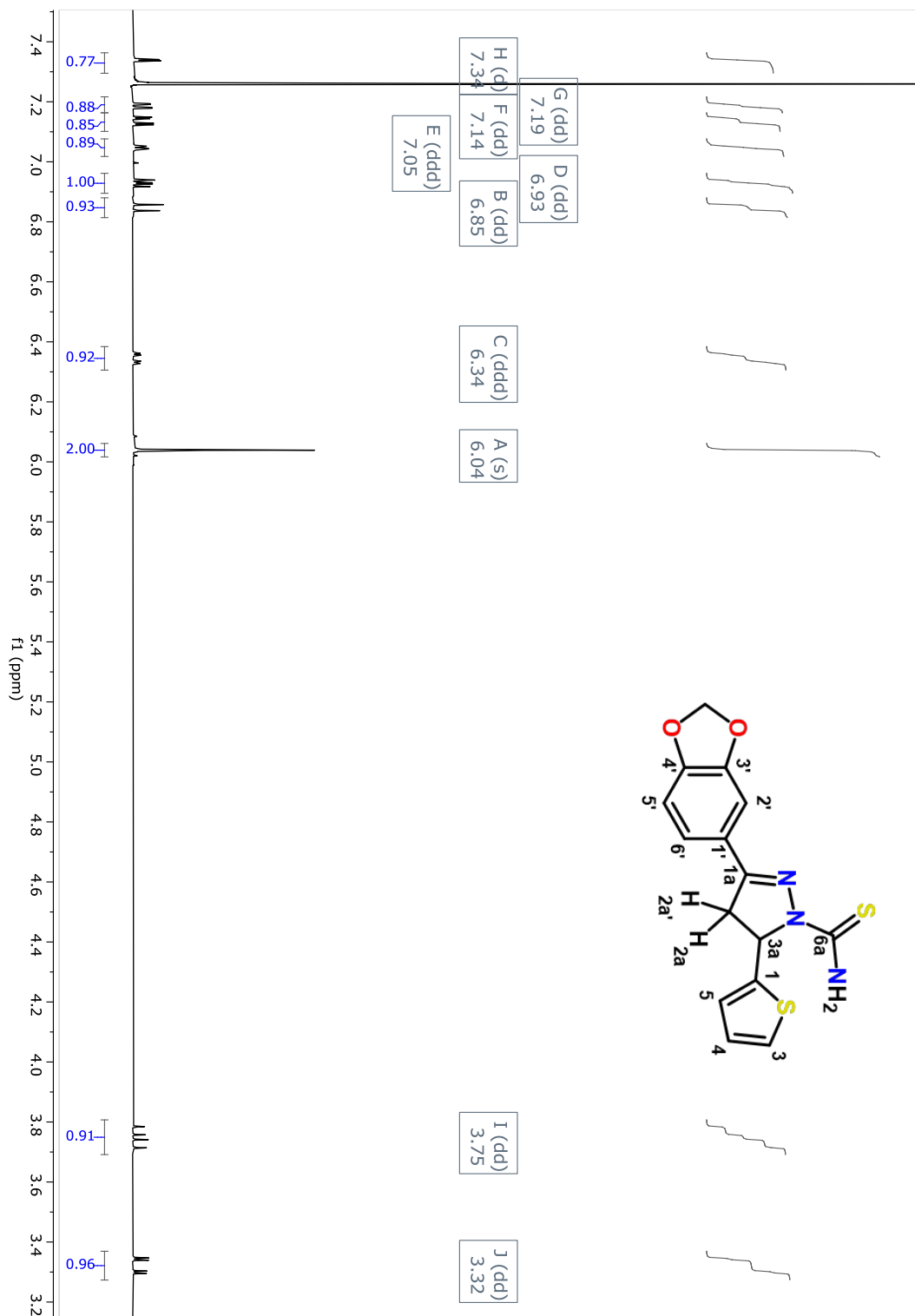
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  6,05 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,89 (dd,  $J$  8,1; 0,3 Hz, 1H,  $\text{H}_{5'}$ ), 7,08 (dd,  $J$  5,1; 3,6 Hz, 1H,  $\text{H}_4$ ), 7,28 (d,  $J$  15,2 Hz, 1H,  $\text{H}_\alpha$ ), 7,34 (d,  $J$  3,6 Hz, 1H,  $\text{H}_5$ ), 7,40 (dt,  $J$  5,0; 1,0 Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 7,51 (dd,  $J$  1,7; 0,4 Hz, 1H,  $\text{H}_{2'}$ ), 7,62 (dd,  $J$  8,2; 1,7 Hz, 1H,  $\text{H}_{6'}$ ), 7,92 (dt,  $J$  15,3; 0,7 Hz, 1H,  $\text{H}_\beta$ )

# APÊNDICE C – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ APT da substância GA-04



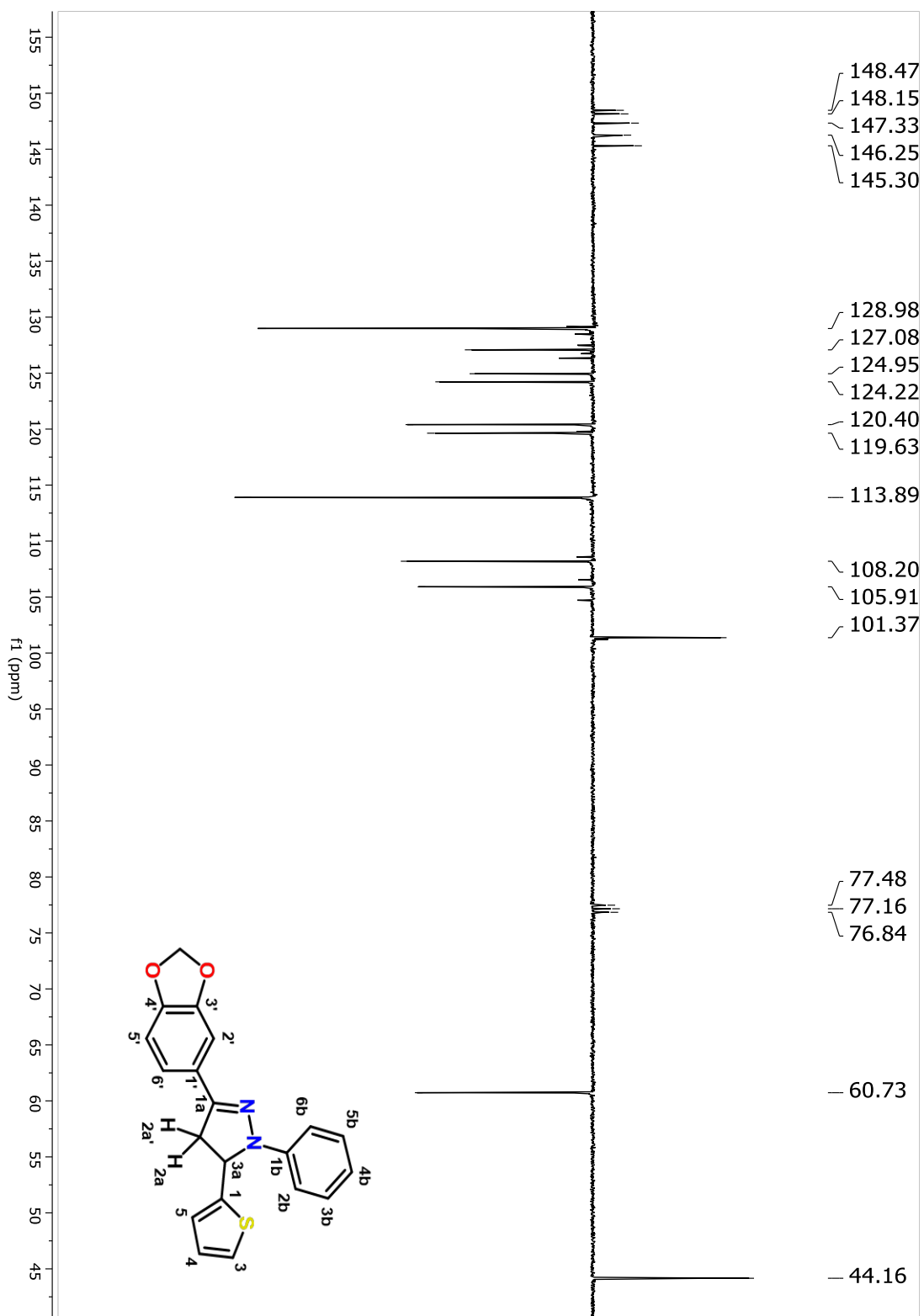
$^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  43,10 (C2a), 59,29 (C3a), 101,90 (-OCH<sub>2</sub>O-), 106,52 (C2'), 108,56 (C5'), 122,64 (C6'), 124,38 (C4), 124,86 (C1), 125,12 (C3), 126,89 (C5), 144,15 (C1'), 148,52 (C3'), 150,47 (C4'), 156,03 (C1a), 176,46 (C6a).

# **APÊNDICE D – Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância GA-04**

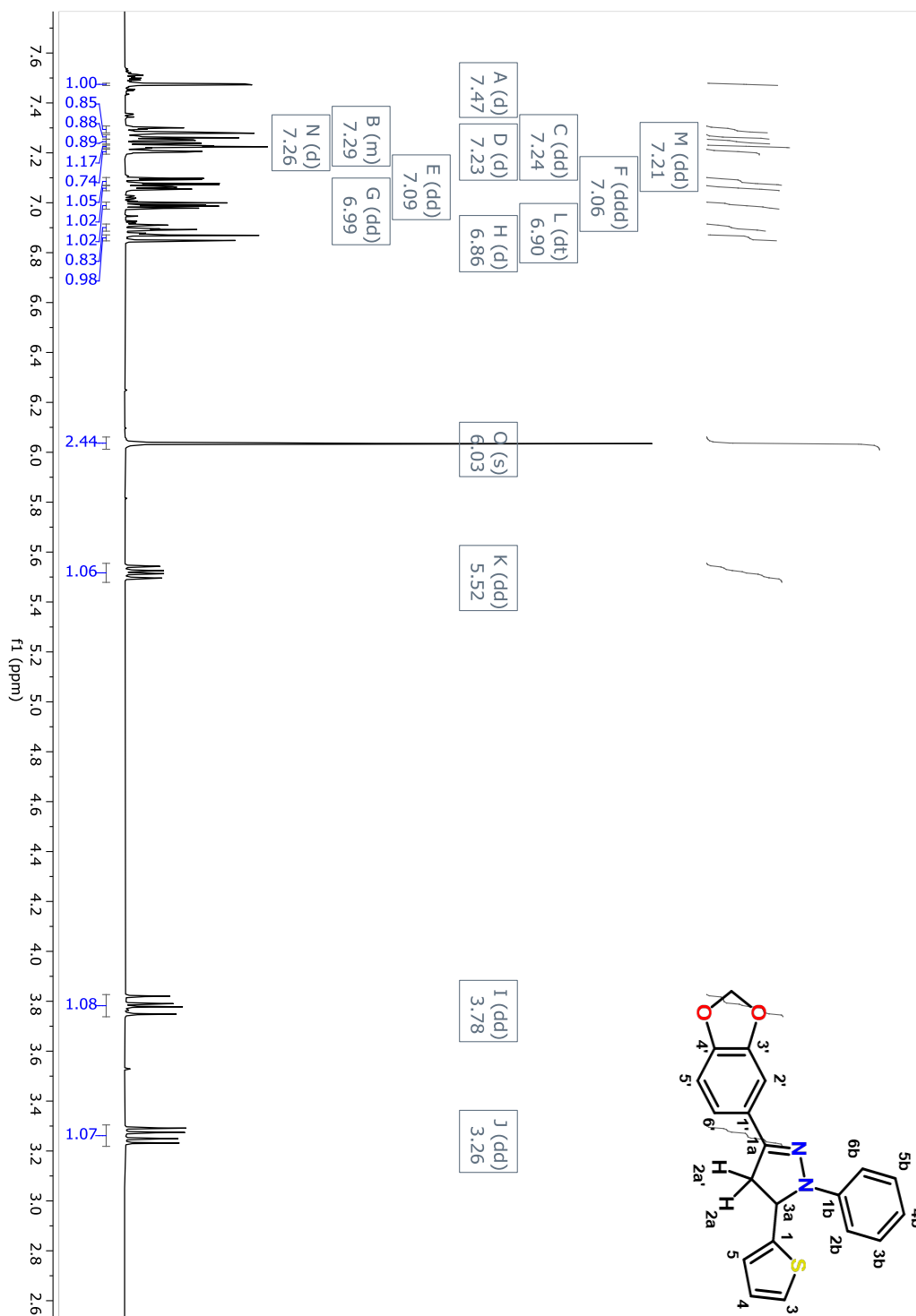


$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,32 (dd,  $J$  17,4; 2,9 Hz, 1H, H2a'), 3,75 (dd,  $J$  17,4; 10,9 Hz, 1H, H2a), 6,04 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,34 (ddd,  $J$  10,9; 3,0; 0,7 Hz, 1H, H3a), 6,85 (dd,  $J$  8,2; 0,4 Hz, 1H, H5'), 6,93 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H4), 7,05 (ddd,  $J$  3,5; 1,3; 0,7 Hz, 1H, H5), 7,14 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,19 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H3), 7,34 (d,  $J$  1,7 Hz, 1H, H2').

# APÊNDICE E – Espectro RMN $^{13}\text{C}$ APT da substância GA-05

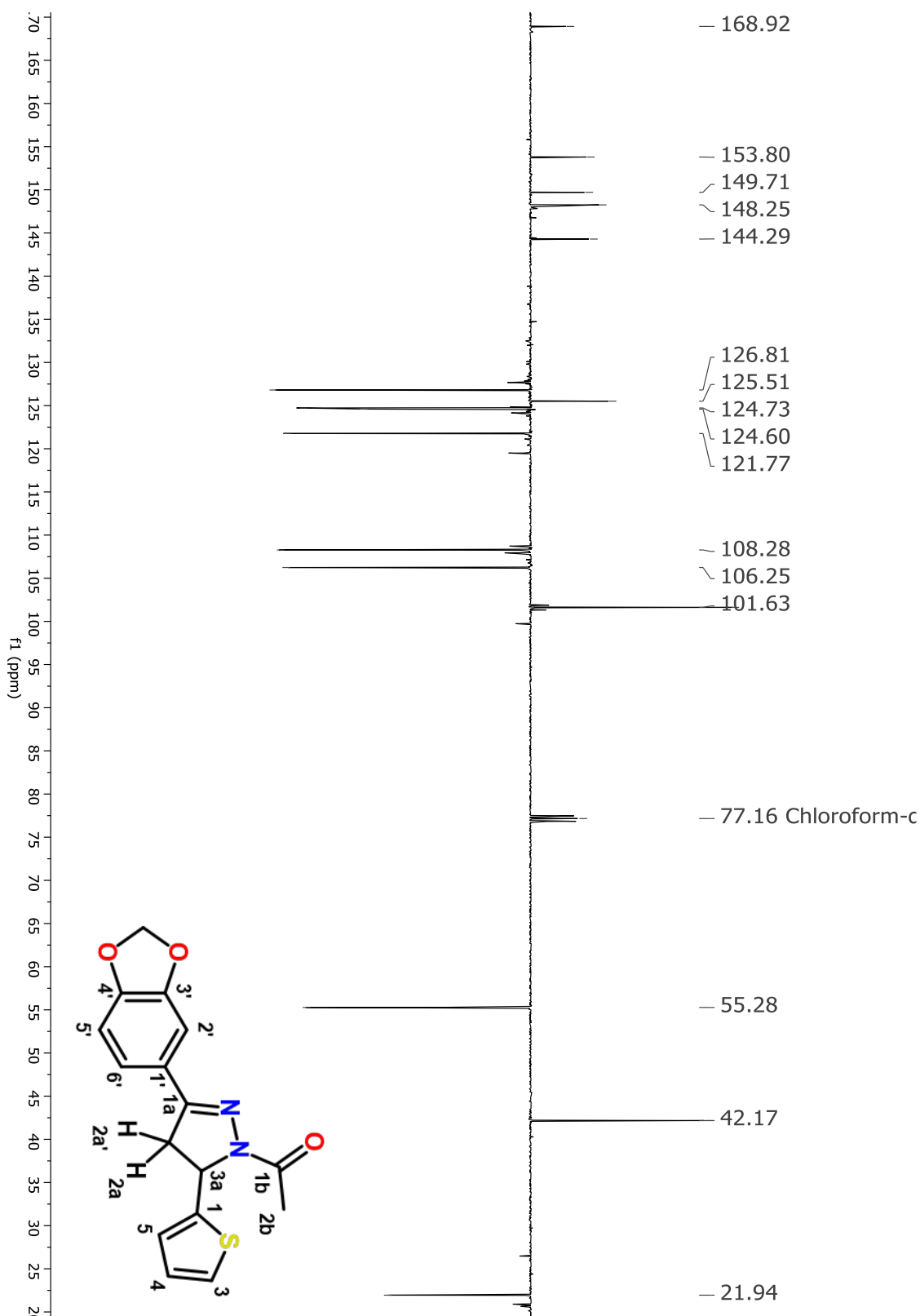


## APÊNDICE F – Espectro de RMN $^1\text{H}$ da substância GA-05

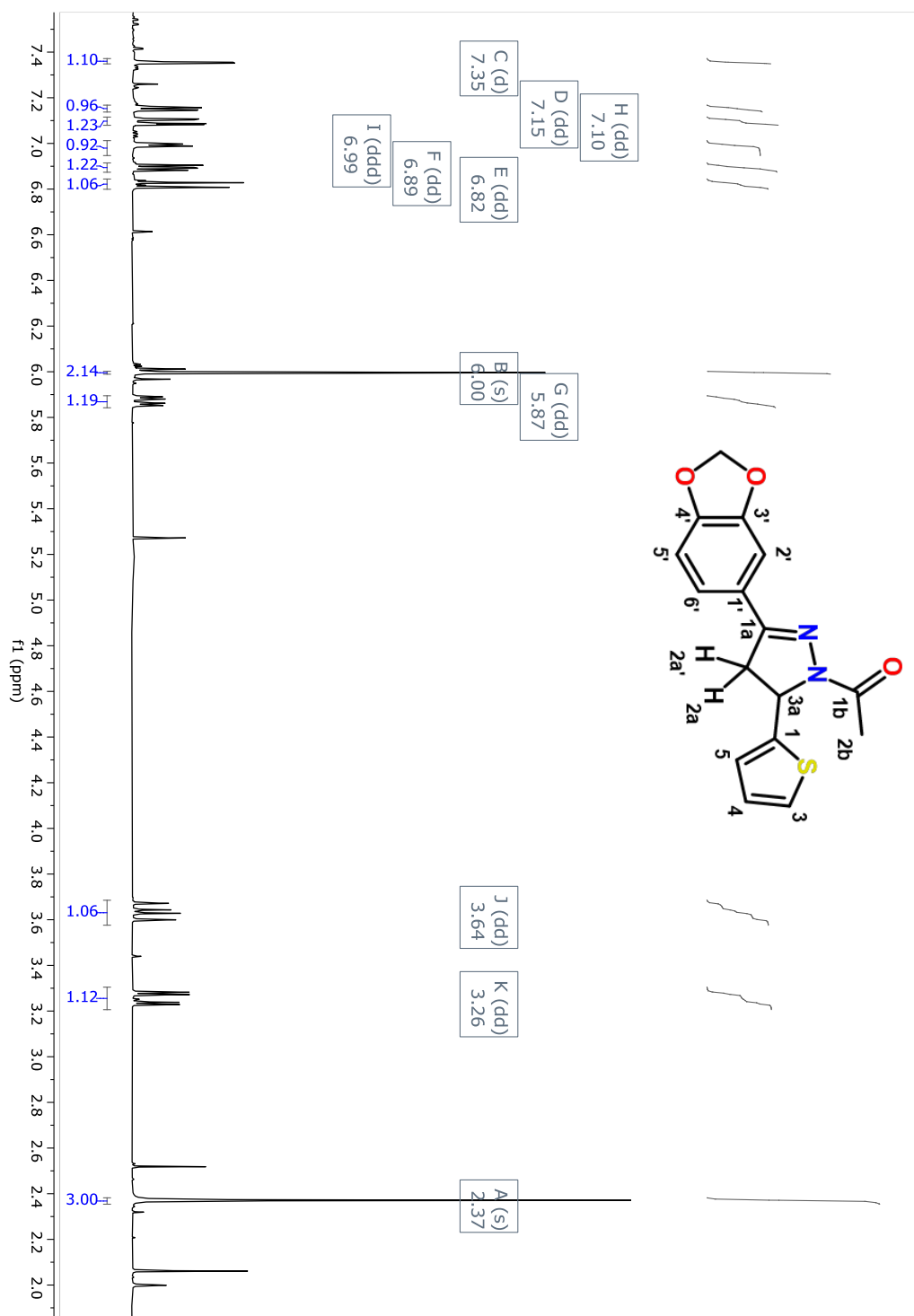


$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3,26 (dd,  $J$  16,9; 7,0 Hz, 1H, H2a), 3,78 (dd,  $J$  16,9; 11,8 Hz, 1H, H2a'), 5,52 (dd,  $J$  11,8; 7,0 Hz, 1H, H3a), 6,03 (s, 2H,  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ ), 6,86 (d,  $J$  8,1 Hz, 1H, H5'), 6,90 (dt,  $J$  7,2; 1,2 Hz, 1H, H4b), 6,99 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H3), 7,06 (ddd,  $J$  3,5; 1,2; 0,6 Hz, 1H, H5), 7,08 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,21 (dd,  $J$  2,1; 1,2 Hz, 1H, H6b), 7,22 (t,  $J$  1,8 Hz, 1H, H2b), 7,24 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H4), 7,31-7,26 (m, 2H, H5b e H3b), 7,47 (d,  $J$  1,6 Hz, 1H, H2').

# APÊNDICE G – Espectro de RMN $^{13}\text{C}$ APT da substância GA-06



# APÊNDICE H – Espectro RMN $^1\text{H}$ da substância GA-06



$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  2,37 (s, 3H, H2b), 3,26 (dd,  $J$  17,5; 4,0 Hz, 1H, H2a), 3,65 (dt,  $J$  17,5; 7,4 Hz, 1H, H2a'), 5,87 (dd,  $J$  11,4; 3,9 Hz, 1H, H3a), 6,00 (s, 2H, -OCH<sub>2</sub>O-), 6,82 (dd,  $J$  8,1; 3,6 Hz, 1H, H5'), 6,89 (dd,  $J$  5,1; 3,5 Hz, 1H, H5), 6,99 (ddd,  $J$  3,6; 1,2; 0,7 Hz, 1H, H4), 7,10 (dd,  $J$  8,1; 1,7 Hz, 1H, H6'), 7,15 (dd,  $J$  5,1; 1,2 Hz, 1H, H3), 7,35 (d,  $J$  1,7 Hz, 1H, H2').

## ANEXO A – Trabalhos publicados no período de desenvolvimento do mestrado

**Brazilian Journal of Development**

19109

**Synthesis and tumoral test of ( $\pm$ )-4-O-DemethylKadsurenin M a natural compound and analogues**

**Síntese e avaliação antitumoral do ( $\pm$ )-4-O-demethylKadsurenin M um composto natural e seus análogos**

DOI:10.34117/bjdv5n10-144

Recebimento dos originais: 10/09/2019  
Aceitação para publicação: 11/10/2019

**Bruno Hanrry Melo de Oliveira**

Biomédico especialista em Biologia molecular, mestrando em Biotecnologia pela  
Universidade Federal da Paraíba – UFPB / Centro de Biotecnologia.  
Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB,  
58033-455  
Email: hanrygb@hotmail.com

**Luiz André Araujo Silva**

Programa de pós-graduação em desenvolvimento e inovação tecnológica em medicamentos  
pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB)  
Universidade Federal da Paraíba

Endereço: Campus I - Lot. Cidade Universitaria, PB, 58051-900  
Email: luiz32@gmail.com

**Fernando Ferreira Leite**

Programa de pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos pela Universidade  
Federal da Paraíba (UFPB)  
Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB,  
58033-455  
Email: fernandoferreira\_15@gmail.com

**Gabrielly Diniz Duarte**

Mestranda em biotecnologia pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB).  
Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB,  
58033-455  
Email: gabriellydduarte@gmail.com

**Sâmia Sousa Duarte**

Programa de pós-graduação em produtos naturais e sintéticos bioativos pela Universidade  
Federal da Paraíba (UFPB)  
Universidade Federal da Paraíba

Endereço: R. Tab. Stanislau Eloy, 41-769 - Conj. Pres. Castelo Branco III, João Pessoa - PB,  
58033-455  
Email: samiasduarte@gmail.com

## SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO IN SILICO DE DERIVADOS DE CHALCONAS HETEROCÍCLICAS

Gabrielly Diniz Duarte<sup>a</sup>  
Luis Cezar Rodrigues<sup>b</sup>

### INTRODUÇÃO AO TEMA

Chalconas são metabólitos secundários<sup>1</sup> encontrados em diversos tipos de plantas e fazem parte de uma classe de compostos que apresentam atividade biológica significativa, mesmo em baixas concentrações. Por ser uma classe muito extensa de produtos naturais, apresentando diversas atividades, as modificações dessas moléculas podem ser orientadas para produzir um melhor efeito biológico, seja pela adição de grupos funcionais, seja pela modificação de sua estrutura básica, sempre visando maximizar suas atividades terapêuticas.

A síntese de compostos naturais é cada vez mais valorizada, tanto pela preservação das plantas, uma vez que representa uma forma alternativa ao extrativismo natural, seja como ferramenta para a produção racional de fármacos, além de possibilitar o aumento da pureza do produto final, assim como a eficiência dos processos de obtenção destes medicamentos, já que para obter quantidades significativas de um composto natural é preciso usar um volume muito grande da planta que tem de passar por processos de extração e purificação complexos e custosos.

Existem várias metodologias descritas na literatura para obtenção de chalconas por síntese<sup>2</sup>, como já trabalhamos com estes compostos, decidimos manter a nossa metodologia e introduzir novos grupos funcionais em reações subsequentes a fim de gerar uma biblioteca de compostos inéditos que podem ser testados para diversos tipos de atividades, como antioxidante, antitumoral, antimicrobiana, dentre outras.

<sup>a</sup> Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. gabriellydduarte@gmail.com.

<sup>b</sup> Universidade Federal da Paraíba, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia. lcezar@cbiotec.ufpb.br.



SCIENTIA PLENA  
www.scientiaplena.org.br

VOL. 16, NUM. 01

2020

doi: 10.14808/sci.plena.2020.014501

### Estudo de atividade antimicrobiana de 3,4-(metilenodioxí)-acetofenona

Study of the antimicrobial activity of 3,4-(methylenedioxy)-acetophenone

H. Diniz Neto<sup>1\*</sup>; J. R. Nóbrega<sup>1</sup>; G. D. Duarte<sup>2</sup>; F. V. P. Borges<sup>1</sup>; J. M. Barbosa Filho<sup>1</sup>; L. C. Rodrigues<sup>2</sup>; A. A. de Oliveira Filho<sup>3</sup>; E. O. Lima<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal da Paraíba, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Castelo Branco III, 58059-900, João Pessoa- PB, Brasil.

<sup>2</sup> Universidade Federal da Paraíba, Centro de Biotecnologia, Castelo Branco III, 58051-900, João Pessoa- PB, Brasil.

<sup>3</sup> Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Jatobá, 58700-970, Patos - PB, Brasil.

\*hermes.dn@hotmail.com

(Recebido em 01 de agosto de 2019; aceito em 29 de janeiro de 2020)



29/05/2020 870200067056

15:11



29409161919246923

**Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de  
Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT**

Número do Processo: BR 10 2020 010912 0

**Dados do Depositante (71)**

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24098477000110

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Cidade Universitária

Cidade: João Pessoa

Estado: PB

CEP: 58059-900

País: Brasil

Telefone: (83) 32167558

Fax:

Email: inova@reitoria.ufpb.br

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 29/05/2020 às 15:11, Petição 870200067056

Petição 870200067056, de 29/05/2020, pág. 1/19

**Dados do Pedido**

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): APARELHO COMPACTO DE ELETRÓLISE DE BAIXO CUSTO

Utilidade (54):

**Resumo:** A presente invenção descreve um aparelho de eletrólise compacto, de fácil construção e manutenção, baixo custo, simples de operar, não exigindo treinamento especial, com peças de reposição facilmente encontradas a preços reduzidos, capaz de fornecer pequena ou mediana quantidade de hidrogênio e oxigênio de forma independente, sob demanda, em alta pureza. Possui ductos de saída para os gases com fluxo constante, a uma pressão máxima que pode ser facilmente regulada e mantida, desligando automaticamente caso o valor seja extrapolado ou o consumo interrompido.

Figura a publicar: 2

**Nome:** GABRIELLY DINIZ DUARTE

**CPF:** 10678968489

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Mestrando

**Endereço:** Rua Professora Severina de Sousa Souto, Nº 180, Jardim Oceania.

**Cidade:** João Pessoa

**Estado:** PB

**CEP:** 58037-070

**País:** BRASIL

**Telefone:** (83) 999 129720

**Fax:**

**Email:** gabriellydduarte@gmail.com

Inventor 8 de 9

**Nome:** JOSÉ CARLOS BRIZOLA

**CPF:** 89477464872

**Nacionalidade:** Brasileira

**Qualificação Física:** Pesquisador

**Endereço:** Rua Rosilda Gomes Fragoso de Albuquerque, Nº 170, casa, Cuiá.

**Cidade:** João Pessoa

**Estado:** PB

**CEP:** 58077-030

**País:** BRASIL

**Telefone:** (83) 963 81229

**Fax:**

**Email:** zebrisola@hotmail.com

Inventor 9 de 9

**PETICIONAMENTO  
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 29/05/2020 às 15:11, Petição 870200067056