



Desenvolvimento de chalcona heterocíclica para atividade antibacteriana

Pâmella Demarchi, Alexandre Bella Cruz, Fátima de Campos Buzzi
Química - Química Orgânica

Doenças infecciosas são causadas por diversos microrganismos, incluindo bactérias, fungos e vírus. O tratamento para infecções bacterianas é realizado por meio de uma ampla variedade de agentes antimicrobianos disponíveis no mercado. No entanto, o uso crescente e indiscriminado desses medicamentos tem levado a um dos problemas mais graves da atualidade, a resistência antimicrobiana. A resistência aos antimicrobianos representa uma séria ameaça à saúde pública global, estando associada a aumentos expressivos nas taxas de morbidade, mortalidade e internações hospitalares (Bassetti *et al.*, 2022; Cook; Wright, 2022). As limitações dos antimicrobianos atualmente disponíveis, especialmente frente ao avanço da resistência, reforçam a necessidade urgente de desenvolver novas estratégias terapêuticas e agentes eficazes contra microrganismos multirresistentes (Lagu *et al.*, 2020; Nawaz; Tajammal; Qurashi, 2023). O desenvolvimento racional e a síntese de pequenas moléculas constituem uma das principais estratégias na busca por novos fármacos. Esses compostos, amplamente explorados no tratamento de diversas doenças, destacam-se por suas propriedades farmacocinéticas favoráveis, boa biodisponibilidade oral, baixo custo de produção e diversidade química obtida rapidamente. Além disso, a triagem de bibliotecas sintéticas é prática consolidada na indústria farmacêutica para identificar candidatos promissores (Berdigaliyev; Aljofan, 2020). Nesse contexto, estudos recentes têm destacado os derivados de chalcona como agentes antimicrobianos promissores (Maurya; Agrawal, 2024). As chalconas, ou 1,3-difenil-2-propen-1-onas, são flavonoides caracterizados por duas estruturas aromáticas conectadas através de uma ligação propenona reativa, responsáveis por suas múltiplas atividades biológicas e pela síntese de derivados heterocíclicos (Lagu *et al.*, 2020; Nawaz; Tajammal; Qurashi, 2023). Consideradas estruturas privilegiadas na química medicinal pela facilidade de síntese, apresentam uma ampla gama de atividades biológicas, incluindo propriedades antibacterianas, antiparasitárias, anti-inflamatórias, analgésicas, antioxidantes, anticancerígenas, antivirais, entre outras (Hassan; Hussein, 2022). A potência biológica varia conforme o tipo de anel aromático e os substituintes presentes. Estudos recentes têm demonstrado que chalconas contendo substituintes nitro no anel aromático (Nawaz *et al.*, 2024; Okolo *et al.*, 2021), bem como heterociclos, como o tiofeno (Abdula *et al.*, 2024; Hassan; Hussein, 2022), em suas estruturas, apresentam potencial atividade antibacteriana. Sob essa perspectiva, o presente estudo teve como objetivo desenvolver uma nova chalcona heteocíclica, incorporando o grupo nitro e o heterociclo tiofeno, estabelecer uma rota de síntese mais adequada e avaliar seu potencial antibacteriano. Para o desenvolvimento dessa chalcona, realizou-se uma revisão sistemática da literatura em diferentes bases de dados, com o intuito de identificar as estratégias mais adequadas para o design de chalconas. Após o planejamento da molécula protótipo realizada na plataforma ACD/ChemSketch, esta foi avaliada na plataforma SciFinder, verificando a literatura existente sobre a molécula e após isto submetida a análises *in silico* por meio das plataformas SwissADME e OSIRIS, a fim de prever suas propriedades físico-químicas, farmacocinéticas e toxicológicas. Posteriormente, esta molécula foi sintetizada seguindo o método de condensação aldólica de Claisen-Schmidt a partir de 0,7926 mmol de 2-acetiltiofeno e 0,7926 mmol de 4-nitrobenzaldeído, solubilizados com o mínimo de etanol e utilizando NaOH como catalizador da reação. A reação foi submetida a três condições diferentes: agitação magnética, agitação ultrassônica e reator micro-ondas. As reações foram monitoradas através da cromatografia de camada delgada (CCD) com os solventes hexano e acetato de etila em proporção 8:2 e reveladas em câmera UV de ondas curtas (CAMAG). O produto foi purificado através de recristalização em etanol e submetido a caracterização por Espectrometria de Massas, análise Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho (FTIR) e ponto de fusão. Para a avaliação da atividade antibacteriana, determinou-se a Concentração Inibitória Mínima (CIM) por meio da metodologia de diluição em meio de cultura. Foram utilizadas cepas padrão ATCC de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25933), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Cada cepa foi transferida do meio de manutenção para tubos contendo caldo de infusão cérebro-coração (BHI) e incubada a 37 °C, em estufa bacteriológica, até atingir turbidez satisfatória (aproximadamente 3 horas). Em seguida, as culturas foram semeadas em placas de Petri contendo ágar Mueller-Hinton e incubadas a 37 °C por 18 a 24 horas, para ativação da cultura. Para o preparo do inóculo, de quatro a cinco colônias das culturas ativadas



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13ª Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3ª Jornada de Tecnologia e Inovação

em ágar Mueller-Hinton foram transferidas para tubos de ensaio contendo 5 mL de solução estéril de NaCl 0,86%, sendo homogeneizadas em agitador de tubos por 15 segundos. A densidade celular foi ajustada por espectrofotometria a 520 nm, utilizando a escala 0,5 de McFarland como referência, resultando em um inóculo de aproximadamente $1,5 \times 10^8$ células/mL (NCCLS, 1993). A chalcona sintética foi dissolvida em dimetilsulfóxido (DMSO) e distribuída em séries de 10 frascos de 5 mL, contendo diferentes concentrações (3,91 a 500 $\mu\text{g/mL}$). A cada frasco foi adicionado 1 g de ágar Mueller-Hinton, seguido de imediata homogeneização da mistura. Após a solidificação do meio, os micro-organismos previamente ativados foram inoculados com alça calibrada de 1 μL e incubados a 37 °C por 18 a 24 horas. A CIM foi determinada por observação da presença ou ausência de crescimento bacteriano visível. Considerou-se como CIM a menor concentração da chalcona capaz de inibir totalmente o crescimento microbiano. Como controle positivo, utilizaram-se frascos contendo apenas os micro-organismos inoculados, sem a substância teste, sendo a leitura considerada válida apenas quando houve crescimento nesses controles. Como controle negativo, empregou-se o antibacteriano Canamicina. A molécula proposta para síntese foi a chalcona 3-(4-nitrofenil)-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona. A análise *in silico* revelou massa molar de 259,28 g/mol, ausência de doadores e presença de três aceitadores de ligação de hidrogênio, valor de LogP de 2,77, área de superfície polar (TPSA) de 91,13 Å² e quatro ligações rotativas. Esses parâmetros sugerem que a molécula apresenta potencial para atravessar membranas biológicas e boa biodisponibilidade oral, estando em conformidade com a Regra dos Cinco (RO5), que indica maior probabilidade de baixa absorção ou permeabilidade quando uma molécula possui mais de cinco doadores, mais de dez aceitadores de ligação de hidrogênio, peso molecular superior a 500 Da e LogP (ClogP) acima de 5 (Lipinski et al., 1996), bem como com a Regra de Veber, que associa boa absorção oral a moléculas com número de ligações rotativas inferior a 10 e TPSA menor que 140 Å² (Veber et al., 2002). Além disso, a avaliação toxicológica não apontou risco mutagênico, tumorígeno ou irritante. As três metodologias para a síntese da chalcona 3-(4-nitrofenil)-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona foram avaliadas: agitação magnética em temperatura ambiente, irradiação ultrassônica e aquecimento em reator de micro-ondas. Em todas elas, utilizou-se 2-acetiltiofeno, 4-nitrobenzaldeído e NaOH como catalisador em proporções equimolares solubilizados em etanol, seguido de recristalização do produto no mesmo solvente. Na primeira metodologia, conduzida por agitação magnética em temperatura ambiente durante 24 horas, obteve-se rendimento de 55,2%. O produto apresentou coloração amarela, valor de Rf de 0,45 (calculado em eluente hexano:acetato de etila, 80:20) e ponto de fusão de 223–226 °C. Apesar da viabilidade, o rendimento obtido foi relativamente baixo, evidenciando as limitações do método clássico em termos de eficiência e tempo de reação. A segunda metodologia, utilizando agitação ultrassônica a 30°C, reduziu significativamente o tempo de reação para 30 minutos, com aumento expressivo no rendimento, que alcançou 83,7%. O produto apresentou características idênticas à primeira metodologia (cor, Rf e ponto de fusão de 223–226 °C), sugerindo que a energia ultrassônica favoreceu a eficiência do processo, possivelmente pela maior dispersão das espécies reagentes em solução e intensificação do contato molecular. Na terceira metodologia, empregando radiação de micro-ondas em temperatura de 30°C, 100 W de potência, e tempo de 10 minutos, obteve-se rendimento de 79,5%, ligeiramente inferior ao observado com ultrassom, porém ainda consideravelmente superior ao método convencional. O produto apresentou coloração amarela e valor de Rf igual a 0,45, com ponto de fusão de 221–224 °C. A pequena variação na faixa de fusão em relação às demais metodologias pode indicar diferenças sutis na cristalinidade ou na presença de traços de impurezas, embora não comprometa a confirmação da identidade do composto. A faixa de fusão observada se aproxima da literatura encontrada para esta molécula que variou entre 218-219 °C (Thangamani, 2010) e 224-225 °C (Khalil et al., 2019). A comparação entre os métodos reacionais evidencia que as técnicas assistidas por ultrassom e micro-ondas são notavelmente mais eficientes do que a agitação magnética convencional, tanto em rendimento quanto em tempo reacional. O ultrassom apresentou o melhor desempenho, conciliando alto rendimento e manutenção das propriedades físico-químicas do produto em apenas 30 minutos. Já o micro-ondas, embora mais rápido, apresentou rendimento ligeiramente inferior. A caracterização foi realizada através do espectro de infravermelho que demonstrou na região de 1647 cm^{-1} o estiramento C=O conjugado característico de cetona α,β -insaturada, em 1595 cm^{-1} o estiramento C=C dos anéis aromáticos conjugados, em 969 cm^{-1} a região de impressão digital de alcenos trans substituídos presente nesta molécula. Também pode se observar em 1509 e 1341 cm^{-1} as duas bandas fortes associadas ao estiramento assimétrico e simétrico do grupo nitro. E na região de 857 a 711 cm^{-1} observa-se as bandas características a deformação do anel tiofeno. O espectro de massas também confirmou a obtenção da molécula proposta considerando a massa molecular esperada da molécula. A avaliação da atividade antibacteriana da chalcona heterocíclica frente às cepas padrão *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa* foi realizada pelo método de diluição em meio de cultura, determinando-se a CIM nas faixas de 3,91 a 500



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13ª Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3ª Jornada de Tecnologia e Inovação

µg/mL. Os resultados demonstraram que, em todas as concentrações testadas, não houve inibição do crescimento bacteriano para nenhuma das cepas avaliadas. O crescimento microbiano foi observado em todos os frascos contendo a chalcona, enquanto os controles positivos confirmaram a viabilidade das cepas e o controle negativo (Canamicina) apresentou atividade inibitória adequada, validando o ensaio. Esses achados indicam que a chalcona avaliada não apresentou atividade antibacteriana frente às cepas testadas dentro da faixa de concentração aplicada. Desta forma, a obtenção da molécula 3-(4-nitrofenil)-1-(tiofen-2-il)prop-2-en-1-ona foi viável sendo a rota sintética assistida por ultrassom a mais eficiente, e sua identidade foi confirmada por técnicas espectroscópicas de IV e EM e, os parâmetros físico-químicos (ponto de fusão e Rf) corroboraram com a estrutura proposta. O perfil farmacocinético foi adequado em conformidade com as regras de Lipinski e Veber embora a avaliação biológica demonstrou ausência de atividade antibacteriana frente as cepas testadas. As caracterizações de ressonância magnética nuclear de próton e carbono estão em andamento e a continuidade deste trabalho propõe utilizar a molécula proposta como um protótipo para a síntese de novos derivados heterocíclicos que possam incrementar a atividade biológica proposta.

Palavras-chave: Chalcona; Compostos Heterocíclicos; Atividade antibacteriana

Referências

- ABDULA, A. M.; MOHSEN, G. L.; JASIM, B. H.; JABIR, M. S.; RUSHDI, A. I. R.; BAQI, Y. Synthesis, pharmacological evaluation, and in silico study of new 3-furan-1-thiophene-based chalcones as antibacterial and anticancer agents. **Heliyon**, v. 10, n. 11, 15 jun. 2024.
- BASSETTI, S.; TSCHUDIN-SUTTER, S.; EGLI, A.; OSTHOFF, M. Optimizing antibiotic therapies to reduce the risk of bacterial resistance. **European Journal of Internal Medicine**, v. 99, p. 7–12, 1 maio 2022.
- BERDIGALIYEV, N.; ALJOFAN, M. An Overview of Drug Discovery and Development. **Future Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 10, p. 939-947, 9 april 2020.
- COOK, M. A.; WRIGHT, G. D. The past, present, and future of antibiotics. **Science Translational Medicine**, v. 14, n. 657, p. 1–12, 10 ago. 2022.
- HASSAN, M. M. K.; HUSSEIN, M. S. Synthesis and Evaluating Antimicrobial Activity for Chalcones Thiophen Compounds. **International Journal of Health Sciences**, v. 6, n. 1, p. 269–287, 14 mar. 2022.
- KHALIL, K. D.; RIYADH, S. M.; GOMHA, S. M.; ALI, I. Synthesis, characterization and application of copper oxide chitosan nanocomposite for green regioselective synthesis of [1,2,3]triazoles. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 130, p. 928-937, 2019.
- LAGU, S. B.; RAJENDRA, P. Y.; BHANDARE, R. R.; SHAIK, A. B. Design, Synthesis, and Antibacterial and Antifungal Activities of Novel Trifluoromethyl and Trifluoromethoxy Substituted Chalcone Derivatives. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 375, 9 nov. 2020.
- LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FREENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3-26, 1996.
- MAURYA, A.; AGRAWAL, A. Recent Advancement in Bioactive Chalcone Hybrids as Potential Antimicrobial Agents in Medicinal Chemistry. **Mini reviews in medicinal chemistry**, v. 24, n. 2, p. 176–195, 27 jul. 2024.
- NAWAZ, T.; TAJAMMAL, A.; QURASHI, A. W. Chalcones As Broad-Spectrum Antimicrobial Agents: A Comprehensive Review And Analysis Of Their Antimicrobial Activities. **Chemistry Select**, v. 8, n. 45, p. 1–13, 5 dez. 2023.
- NAWAZ, T.; TAJAMMAL, A.; QURASHI, A. W.; NISA, M.; BINJAWHAR, D. N.; IQBAL, M. Synthesis, antibacterial, antibiofilm, and docking studies of chalcones against multidrug resistance pathogens. **Heliyon**, v. 10, n. 13, 15 jul. 2024.



24º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

13ª Mostra Científica de Integração
entre Pós-Graduação e Graduação
3ª Jornada de Tecnologia e Inovação

NCCLS - NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Test for Bacteria that Grow Aerobically**. M7-A3. NCCLS, Villanova, PA, 1993.

OKOLO, E. N.; UGWU, D. I.; EZEMA, B. E.; NDEFO, J. C.; EZE, F. U.; EZEMA, C. G.; EZUGWU, J. A.; UJAM, O. T. New chalcone derivatives as potential antimicrobial and antioxidant agent. **Scientific Reports**, v.11, Article ID 21781, 5 nov. 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-01292-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01292-5>. Acesso em: 7 set. 2025.

THANGAMANI, A. Regiospecific synthesis and biological evaluation of spirooxindolopyrrolizidines via [3+2] cycloaddition of azomethine ylide. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 6120-6126, 2010.

VEBER, D. F.; JOHNSON, S. R.; CHENG, H. Y.; SMITH, B. R.; WARD, K. W.; KOPPLE, K. D. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, p. 2615-2623, 2002.

Apoio: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (Fapesc); Universidade do Vale do Itajaí (Univali)