

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

LARISSA KOZAN

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
AMINOCHALCONAS: UMA ABORDAGEM ESTATÍSTICA DA RELAÇÃO  
ESTRUTURA-ATIVIDADE

PONTA GROSSA  
2025

LARISSA KOZAN

SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE  
AMINOCHALCONAS: UMA ABORDAGEM ESTATÍSTICA DA RELAÇÃO  
ESTRUTURA-ATIVIDADE

Dissertação apresentada para obtenção do  
título de Mestre em Química no Programa de  
Pós-Graduação em Química da  
Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Barbara Celânia  
Fiorin

PONTA GROSSA

2025

K88 Kozan, Larissa  
Síntese, caracterização e estudo da atividade biológica de aminochalconas:  
uma abordagem estatística da relação estrutura-atividade / Larissa Kozan. Ponta  
Grossa, 2025.  
140 f.

Dissertação (Mestrado em Química - Área de Concentração: Química),  
Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Barbara Celânia Fiorin.

1. Síntese. 2. Caracterização espectroscópica. 3. Aminochalconas. 4.  
Atividade antimicrobiana. I. Fiorin, Barbara Celânia. II. Universidade Estadual de  
Ponta Grossa. Química. III.T.

CDD: 547

## TERMO DE APROVAÇÃO

LARISSA KOZAN

### **“SÍNTESE, CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DA ATIVIDADE BIOLÓGICA DE AMINOCHALCONAS: UMA ABORDAGEM ESTATÍSTICA DA RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE”**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Documento assinado digitalmente  
 **BARBARA CELANIA FIORIN**  
Data: 06/10/2025 10:27:24-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Orientadora      Prof.<sup>a</sup> Dra. Barbara Celânia Fiorin  
UEPG/PR

Documento assinado digitalmente  
 **ROGERIO APARECIDO GARIANI**  
Data: 06/10/2025 10:23:19-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof. Dr. Rogério Aparecido Gariani  
UDESC/SC

Documento assinado digitalmente  
 **JESIANE STEFANIA DA SILVA BATISTA**  
Data: 06/10/2025 10:55:39-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Prof.<sup>a</sup> Dra. Jesiane Stefânia da Silva Batista  
UEPG/PR

**Ponta Grossa, 06 de agosto de 2025**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus por ter me sustentado até aqui. Sei que os planos d'Ele são sempre maiores e melhores do que os meus, e sou muito grata por cada passo dessa caminhada.

Aos meus pais, Orestinho Kozan e Jandira Kozan, obrigada por todo apoio, amor e força nos momentos difíceis. Sei que a jornada de vocês não foi fácil, mas vocês sempre deram o melhor para que eu pudesse conquistar esse sonho. Essa vitória é de vocês também.

Ao meu irmão, William Roger Kozan, obrigada por toda a paciência, por sempre estar disposto a me ouvir quando eu só queria desabafar. Você é um exemplo de força e determinação.

Ao meu sobrinho, Benjamin Fortes Kozan, meu parceirinho de jornada. Obrigada pela companhia, pelo carinho e até pelas idas ao laboratório. Você fez meus dias mais leves.

Ao meu tio, Zenobio Taraz Kozan, que já não está entre nós, mas que me deixou o exemplo de que realizar um sonho exige esforço e dedicação. Tenho certeza de que, onde quer que esteja, está feliz por essa conquista.

Ao meu namorado, Raylan Gustavo Teixeira, obrigada por estar comigo em todos os momentos. Por ouvir meus desabafos e por me dar forças. Você foi um apoio essencial.

À minha orientadora, professora Dra. Barbara Celânia Fiorin, obrigada por me acolher no mestrado, pela orientação e pela paciência durante todo o processo. Agradeço por acreditar no meu trabalho e me ajudar a crescer com ele.

Aos amigos de laboratório André, Adrielle, Francielle, Eduardo, Vinícius, Raphaela, Magno e Lucas meu muito obrigada por me acolherem, ensinarem, ouvirem e estarem presentes nessa fase tão intensa. É um privilégio dividir o dia a dia com vocês.

Agradeço também à CAPES, pelo apoio financeiro, ao C-Labmu pelos equipamentos fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, ao Programa de Pós-Graduação em Química, ao laboratório de biologia evolutiva e à UEPG pelo acolhimento e pela oportunidade de desenvolver esse trabalho.

Aos amigos e colegas de caminhada, mesmo que eu não cite todos os nomes aqui, saibam que sou muito grata por cada gesto, palavra e apoio que recebi.

## RESUMO

As chalconas são precursores na biossíntese dos flavonoides e apresentam uma estrutura formada por dois anéis aromáticos unidos por uma propenona, caracterizando um sistema  $\alpha,\beta$ -insaturado. Esses compostos têm despertado grande interesse devido à sua versatilidade estrutural e às diversas propriedades biológicas descritas, incluindo atividades antifúngica, antibacteriana e antioxidante. Neste trabalho, foram sintetizados sete derivados de chalconas por meio da reação de condensação aldólica de Claisen-Schmidt em meio básico. Esses compostos foram caracterizados por espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) uni e bidimensional, além da determinação dos respectivos pontos de fusão. A análise espectroscópica permitiu confirmar a formação das chalconas, evidenciada pela presença de sinais característicos da cetona alfa, beta insaturada e pela ausência de sinais atribuídos aos reagentes de partida. Os pontos de fusão obtidos foram compatíveis com os valores descritos na literatura, comprovando a identidade dos compostos. Nos ensaios de atividade antioxidante, o derivado CHAL 2B destacou-se, mostrando maior eficiência na doação de átomos de hidrogênio ou elétrons para estabilização do radical. Quanto à atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, os compostos apresentaram inibição moderada do crescimento bacteriano. Na avaliação da formação de biofilme, as chalconas mostraram efeito antibiofilme mais pronunciado frente a *S. aureus*, enquanto seu efeito frente a *E. coli* foi menos expressivo. Em relação à atividade antifúngica contra *Candida albicans*, todos os compostos foram capazes de inibir significativamente o crescimento fúngico. Em conclusão, todos os compostos propostos foram sintetizados sucesso e caracterizados adequadamente. As chalconas avaliadas demonstraram relevante potencial biológico, destacando-se principalmente nas atividades antioxidante e antifúngica, evidenciando sua relevância para futuras aplicações farmacológicas e para investigações da relação estrutura-atividade.

**Palavras-chave:** síntese, caracterização espectroscópica, aminochalconas, atividade antimicrobiana.

## ABSTRACT

Chalcones are key intermediates in the biosynthesis of flavonoids, characterized by a structure consisting of two aromatic rings linked by a propenone moiety, forming an  $\alpha,\beta$ -unsaturated system. These compounds have garnered considerable attention due to their structural versatility and a wide range of reported biological properties, including antifungal, antibacterial, and antioxidant activities. In the present study, seven chalcone derivatives were synthesized via the Claisen–Schmidt aldol condensation under basic conditions. Structural characterization was performed through one- and two-dimensional Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy, along with the determination of melting points. Spectroscopic data confirmed chalcone formation, as indicated by the presence of characteristic signals of the  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone and the absence of resonances corresponding to the starting materials. The melting points obtained were consistent with literature values, further supporting compound identity. In antioxidant assays, derivative CHAL 2B exhibited superior efficiency in donating hydrogen atoms or electrons for radical stabilization. Regarding antimicrobial evaluation against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, the compounds demonstrated moderate inhibition of bacterial growth. In biofilm formation assays, a more pronounced antibiofilm effect was observed against *S. aureus*, whereas the effect against *E. coli* was comparatively lower. For antifungal activity against *Candida albicans*, all derivatives significantly inhibited fungal growth. In summary, all target compounds were successfully synthesized and thoroughly characterized. The chalcones assessed displayed noteworthy biological potential, particularly in antioxidant and antifungal activities, underscoring their relevance for future pharmacological applications and structure–activity relationship investigations.

**Keywords:** synthesis, spectroscopic characterization, aminochalcones, antimicrobial activity.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Estrutura geral de um flavonoide.....                                                                                                                                                  | 16 |
| <b>Figura 2.</b> Estrutura dos subgrupos dos flavonoides.....                                                                                                                                           | 17 |
| <b>Figura 3.</b> Visão geral das diferentes rotas biossintéticas.....                                                                                                                                   | 18 |
| <b>Figura 4.</b> Estrutura geral das chalconas .....                                                                                                                                                    | 19 |
| <b>Figura 5.</b> (a) Planta do gênero <i>Coreopsis Stillmanii</i> (b) folhas da planta do gênero <i>Cylicodiscus</i> (c) planta do gênero <i>Xanthorrhoea</i> (d) planta do gênero <i>Carthamus</i> ... | 20 |
| <b>Figura 6.</b> Imagens das plantas: (a) <i>Piper methysticum</i> (b) <i>Boesenvergia rotunda</i> (c) <i>G. inflata</i> (d) <i>Lophira alata</i> .....                                                 | 22 |
| <b>Figura 7.</b> (a) Isômero <i>trans</i> da chalcona (b) Isômero <i>cis</i> da chalcona .....                                                                                                          | 22 |
| <b>Figura 8.</b> Síntese de chalconas via: a) acoplamento de Heck; b) acoplamento Heck carbolinativo .....                                                                                              | 24 |
| <b>Figura 9.</b> Síntese de chalconas via reação de Suzuki: a) acoplamento de haleto de cinamoila com ácido fenilborônico; b) haletos de benzoila e ácidos borônicos .....                              | 25 |
| <b>Figura 10.</b> Síntese de chalconas a partir do método one-pot. ....                                                                                                                                 | 25 |
| <b>Figura 11.</b> Mecanismo de formação da chalcona através da síntese de Claisen Schmidt .....                                                                                                         | 27 |
| <b>Figura 12.</b> Estruturas moleculares: a) Amoxicilina; b) Loratadina; c) Paracetamol ...                                                                                                             | 28 |
| <b>Figura 13.</b> Estrutura geral das aminochalconas .....                                                                                                                                              | 29 |
| <b>Figura 14.</b> Estrutura da 4'-aminochalcona .....                                                                                                                                                   | 29 |
| <b>Figura 15.</b> Chalconas sintetizadas no trabalho de Seo <i>et al.</i> (2005) .....                                                                                                                  | 30 |
| <b>Figura 16.</b> Compostos sintetizados no trabalho de Tomar <i>et al</i> (2010).....                                                                                                                  | 31 |
| <b>Figura 17.</b> Compostos sintetizados e testados no trabalho de Sulpizo <i>et al.</i> (2016) ..                                                                                                      | 32 |
| <b>Figura 18.</b> Aminochalconas que apresentaram maior inibição contra as enzimas AChE, BACE-1 e fibrilas $\beta$ -amiloides no trabalho de Sakata <i>et al.</i> (2020) .....                          | 33 |
| <b>Figura 19.</b> Mecanismo de inibição do radical DPPH.....                                                                                                                                            | 35 |
| <b>Figura 20.</b> Compostos sintetizados por Abadula <i>et al.</i> (2024) .....                                                                                                                         | 36 |
| <b>Figura 21.</b> Mecanismo do Poder Antioxidante Redutor de Ferro (FRAP) .....                                                                                                                         | 36 |
| <b>Figura 22.</b> Compostos sintetizados por Popoola <i>et al</i> (2015) .....                                                                                                                          | 37 |
| <b>Figura 23.</b> Compostos sintetizados no trabalho de Guzmán-Gutiérrez <i>et al.</i> (2018) ..                                                                                                        | 38 |
| <b>Figura 24.</b> Estrutura química da: a) penicilina, b) tetraciclina, c) quinolona, d) polimixina B .....                                                                                             | 40 |
| <b>Figura 25.</b> Esquema representativo das etapas da formação de biofilme .....                                                                                                                       | 41 |

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 26.</b> Chalconas sintetizadas por Ušjak <i>et al.</i> , (2019).....                                                            | 42 |
| <b>Figura 27.</b> Chalconas sintetizadas por Narwal; Kumar; Verma, (2021) .....                                                           | 43 |
| <b>Figura 28.</b> Estruturas químicas de a) fluconazol; b) anfotericina B; c) Anidulafungina .....                                        | 45 |
| <b>Figura 29.</b> Compostos sintetizados por Felipe <i>et al</i> (2025) que apresentaram atividade antifúngica significativa .....        | 46 |
| <b>Figura 30.</b> Crescimento da <i>Candida albicans</i> como a) pseudo-hifa b) hifa c) mudança entre as formas de crescimento .....      | 47 |
| <b>Figura 31.</b> Ilustrações de a) estrutura química da isobavachalcona b) ensaio da transição de levedura para hifa .....               | 48 |
| <b>Figura 32.</b> Estrutura química da a) DB-acetona, b) DB-CNM e c) DB-Anisal .....                                                      | 49 |
| <b>Figura 33.</b> Estruturas das chalconas para serem sintetizadas, nomes convencionais, nomes IUPAC, massa molar e fórmula química ..... | 50 |
| <b>Figura 34.</b> Esquema de reação geral para a síntese das chalconas. ....                                                              | 53 |
| <b>Figura 35.</b> Espectro de RMN de $^1\text{H}$ do composto 1A.....                                                                     | 61 |
| <b>Figura 36.</b> Dupletos da chalcona 1A.....                                                                                            | 61 |
| <b>Figura 37.</b> Espectro de $^{13}\text{C}$ da chalcona 1A.....                                                                         | 62 |
| <b>Figura 38.</b> Espectro de RMN de HSQC da chalcona 1A. ....                                                                            | 63 |
| <b>Figura 39.</b> Espectro de HMBC da chalcona 1A. ....                                                                                   | 64 |

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1.</b> Reagentes e solvente utilizados, suas marcas e grau de pureza.....                                                                                                                              | 52 |
| <b>Tabela 2.</b> Soluções de trabalho para o FRAP .....                                                                                                                                                          | 55 |
| <b>Tabela 3.</b> Produtos obtidos na síntese, reagentes utilizados, suas características e rendimento. ....                                                                                                      | 59 |
| <b>Tabela 4.</b> Ponto de fusão experimental e teórico para as chalconas obtidas.....                                                                                                                            | 67 |
| <b>Tabela 5.</b> Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método DPPH das chalconas na concentração de 8 mmol L <sup>-1</sup> .....                                                          | 68 |
| <b>Tabela 6.</b> Inibição percentual do DPPH na presença de diferentes concentrações das chalconas testadas.....                                                                                                 | 69 |
| <b>Tabela 7.</b> Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método DPPH das chalconas na concentração de 8 mmol L <sup>-1</sup> .....                                                          | 70 |
| <b>Tabela 8.</b> Inibição percentual do DPPH na presença de diferentes concentrações da chalcona 2B.....                                                                                                         | 70 |
| <b>Tabela 9.</b> Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método FRAP das chalconas na concentração de 0,16 mmol L <sup>-1</sup> .....                                                       | 71 |
| <b>Tabela 10.</b> Resultado da análise antioxidante por meio do método FRAP.....                                                                                                                                 | 72 |
| <b>Tabela 11.</b> Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método TBARS das chalconas na concentração de 5 mmol L <sup>-1</sup> .....                                                        | 73 |
| <b>Tabela 12.</b> Inibição percentual dos produtos TBARS na presença das chalconas sintetizadas na concentração de 5 mmol L <sup>-1</sup> . ....                                                                 | 74 |
| <b>Tabela 13.</b> Análise de variância (ANOVA) para o efeito das chalconas na concentração de 0,1 mmol L <sup>-1</sup> e incubação de 24 h sobre o crescimento bacteriano da <i>Staphylococcus aureus</i> . .... | 75 |
| <b>Tabela 14.</b> Porcentagem de crescimento bacteriano frente a <i>Staphylococcus aureus</i> na presença das chalconas sintetizadas .....                                                                       | 76 |
| <b>Tabela 15.</b> Índice de formação de biofilme para a <i>Staphylococcus aureus</i> na presença das chalconas sintetizadas.....                                                                                 | 79 |
| <b>Tabela 16.</b> Porcentagem de crescimento da <i>Escherichia coli</i> na presença das chalconas sintetizadas .....                                                                                             | 81 |
| <b>Tabela 17.</b> Índice de formação de biofilme de <i>Escherichia coli</i> na presença das chalconas sintetizadas .....                                                                                         | 83 |
| <b>Tabela 18.</b> Porcentagem de crescimento da <i>C. albicans</i> na presença das chalconas sintetizadas .....                                                                                                  | 86 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|                  |                                                                                                                                             |
|------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DPPH             | 2,2-difenil-1-picril-hidrazil                                                                                                               |
| FRAP             | Poder de redução do íon ferro III, do inglês Ferric-Reducing Antioxidant Power                                                              |
| TBARS            | Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico                                                                                                |
| CUPRAC           | Capacidade Antioxidante Redutora do Cobre, do inglês Cupric Reducing Antioxidant Capacity                                                   |
| ABTS             | Ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina- 6-sulfônico                                                                                       |
| RMN              | Ressonância Magnética Nuclear                                                                                                               |
| TMS              | Tetrametilsilano                                                                                                                            |
| HMBC             | Correlação Heteronuclear através de múltiplas ligações, do inglês Heteronuclear Multiple Bond Correlation                                   |
| HSQC             | Correlação Heteronuclear através de uma ligação, do inglês Heteronuclear Single Quantum Correlation                                         |
| PhAAL            | Fenilalanina amoníaco-liase                                                                                                                 |
| C4L              | Cinamato-4-hidroxilase                                                                                                                      |
| C4CoAL           | <i>p</i> -cumarato-CoA-ligase                                                                                                               |
| IC <sub>50</sub> | Concentração de um composto capaz de inibir 50% do crescimento celular ou populacional de organismos, em ensaios realizados <i>in vitro</i> |
| ROS              | Espécies Reativas de Oxigênio, do inglês Reactive Oxygen Species                                                                            |
| MDA              | Malondialdeído                                                                                                                              |
| DNA              | Ácido Desoxirribonucleico, do inglês Deoxyribonucleic Acid                                                                                  |
| TBA              | Ácido tiobarbitúrico                                                                                                                        |
| TPTZ             | 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina                                                                                                            |

## SUMÁRIO

|          |                                                                              |           |
|----------|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                      | <b>14</b> |
| <b>2</b> | <b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>                                           | <b>16</b> |
| 2.1      | FLAVONOIDES .....                                                            | 16        |
| 2.2      | CHALCONAS .....                                                              | 19        |
| 2.2.1    | Ocorrência e importância das chalconas.....                                  | 19        |
| 2.2.2    | Síntese química das chalconas .....                                          | 23        |
| 2.2.3    | Derivados funcionais: Aminochoconas .....                                    | 28        |
| 2.3      | ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....                                                 | 33        |
| 2.4      | ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E SUA RELAÇÃO COM A FORMAÇÃO DE BIOFILME.....       | 39        |
| 2.5      | ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....                                                   | 44        |
| <b>3</b> | <b>DELIMITAÇÃO DE PROBLEMAS E HIPÓTESES .....</b>                            | <b>50</b> |
| <b>4</b> | <b>OBJETIVOS .....</b>                                                       | <b>51</b> |
| 4.1      | OBJETIVO GERAL.....                                                          | 51        |
| 4.2      | OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....                                                  | 51        |
| <b>5</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>                                              | <b>52</b> |
| 5.1      | MATERIAL.....                                                                | 52        |
| 5.2      | MÉTODOS.....                                                                 | 53        |
| 5.2.1    | Síntese das chalconas.....                                                   | 53        |
| 5.2.2    | Caracterizações.....                                                         | 54        |
| 5.2.3    | Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH .....               | 54        |
| 5.2.4    | Determinação do poder antioxidante redutor de Íons Férricos (FRAP) .....     | 54        |
| 5.2.5    | Análise da atividade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica..... | 55        |
| 5.2.6    | Atividade Antibacteriana e Antifúngica .....                                 | 56        |

|          |                                                                                                               |            |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.2.7    | Formação de biofilmes .....                                                                                   | 57         |
| <b>6</b> | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>                                                                           | <b>59</b>  |
| 6.1      | SÍNTESE DOS COMPOSTOS .....                                                                                   | 59         |
| 6.2      | CARACTERIZAÇÕES .....                                                                                         | 60         |
| 6.2.1    | Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear .....                                                         | 60         |
| 6.2.2    | Ponto de fusão.....                                                                                           | 67         |
| 6.3      | ATIVIDADES ANTIOXIDANTES .....                                                                                | 67         |
| 6.3.1    | Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH.....                                                 | 67         |
| 6.3.2    | Determinação do poder antioxidante redutor de Íons Férricos (FRAP) .....                                      | 71         |
| 6.3.3    | Determinação da atividade antioxidante pela formação de substâncias reativas<br>ao ácido tiobarbitúrico ..... | 73         |
| 6.4      | ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME .....                                                                 | 75         |
| 6.5      | ATIVIDADE ANTIFÚNGICA.....                                                                                    | 85         |
| <b>7</b> | <b>CONCLUSÃO.....</b>                                                                                         | <b>88</b>  |
|          | <b>REFERÊNCIAS.....</b>                                                                                       | <b>89</b>  |
|          | <b>ANEXO A- ESPECTROS DE RMN PARA A CHALCONA (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)...</b>                             | <b>104</b> |
|          | <b>ANEXO B- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1 (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) .....</b>                            | <b>108</b> |
|          | <b>ANEXO C- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1A (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz).....</b>                            | <b>112</b> |
|          | <b>ANEXO D- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) .....</b>                           | <b>116</b> |
|          | <b>ANEXO E- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2 (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) .....</b>                            | <b>120</b> |
|          | <b>ANEXO F- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2A (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz).....</b>                            | <b>124</b> |
|          | <b>ANEXO G- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) .....</b>                           | <b>128</b> |

|                                                                                                                                                                                                                                                                          |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ANEXO H- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SOBRE O DPPH .....                                                                                                                               | 132 |
| ANEXO I- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L <sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> ) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....             | 133 |
| ANEXO J- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L <sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> ) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> ..... | 134 |
| ANEXO K- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> E 24 H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....                                                                                                     | 135 |
| ANEXO L- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS NA CONCENTRAÇÃO DE 0,1 MMOL L <sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DA <i>E.COLI</i> .....                                          | 136 |
| ANEXO M- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS NA CONCENTRAÇÃO DE 0,1 MMOL L <sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA <i>E.COLI</i> .....                            | 137 |
| ANEXO N- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,1 MMOL L <sup>-1</sup> EM 48H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA <i>E.COLI</i> ....                                                                                                                     | 138 |
| ANEXO O- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,2 MMOL L <sup>-1</sup> EM 48H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA <i>E.COLI</i> ...                                                                                                                      | 139 |

**ANEXO P- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS  
CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL  
L<sup>-1</sup>) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE DA *C. ALBICANS*. ..... 140**

## 1 INTRODUÇÃO

A busca por novos medicamentos é uma necessidade constante na área da saúde, devido à falta de tratamentos eficazes, à resistência de micro-organismos e aos efeitos adversos de fármacos existentes (Dutra *et al.*, 2024; Silva; Estevam; Nogueira, 2024). Ao longo de séculos, a humanidade recorreu aos produtos naturais bioativos, os quais eram obtidos em pequenas quantidades através de processos de isolamento ou de fermentação (Sangi, 2016). Estudos demonstram que o uso de plantas para tratamento de doenças remonta a civilizações antigas, como os egípcios, que utilizavam o extrato da casca do salgueiro para tratar inflamações ou uma mistura de mel para tratamento de feridas e, em diferentes culturas, o boldo para tratamento de doenças gastrointestinais (Araújo, 2016; Souza; Moraes; Alvim, 2021; Rocha *et al.*, 2021).

Apenas a partir do século dezenove que se iniciaram as pesquisas voltadas para identificação das substâncias responsáveis pela ação biológica desses produtos naturais (Calixto; Junior, 2008). Essas descobertas possibilitaram o desenvolvimento de medicamentos eficazes e um avanço na química medicinal. Dentro desse contexto, a síntese orgânica tornou-se uma grande aliada, promovendo uma mudança no cenário dos medicamentos, que deixaram de ser exclusivamente naturais para incluir também os sintéticos (Radaelli, 2008).

Como reflexo da identificação das substâncias bioativas e os estudos avançados de síntese, purificação, testes e aprovação, o número de pesquisas visando a obtenção de moléculas bioativas tem crescido de maneira significativa (Feitosa *et al.*, 2022).

Uma classe de compostos amplamente estudada devido sua diversidade de atividades biológicas são os flavonoides. Esses metabólitos secundários podem ser encontrados em flores, alimentos como frutas e vegetais, bem como em algumas bebidas de origem vegetal, como os chás (Chandra; Diwan; Panche, 2016). Os flavonoides são subdivididos em diferentes grupos, entre eles, flavanonas, flavonas, isoflavonas, flavanonóis, antocianinas e as chalconas (Guija-Guerra; Guija-Poma, 2023).

As chalconas são precursoras da biossíntese dos flavonoides e sua estrutura química é composta por dois anéis aromáticos unidos por uma propenona, formando

um sistema  $\alpha$ - $\beta$  insaturado de três carbonos (Shalaby; Rizk; Fahim, 2023). Esses compostos apresentam diversos relatos na literatura pela sua capacidade antioxidante, antibacteriana, antifúngica, dentre outras (Cabrera *et al.*, 2007; Haq *et al.*, 2023; Lima, 2020). Essa versatilidade bioativa e seletividade está relacionada a possibilidade de modificações estruturais, como a substituição de grupos doadores e retiradores de elétrons nos anéis aromáticos, ou até mesmo a inserção de diferentes átomos em um anel aromático, formando compostos heterocíclicos (Alshazly *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a investigação de novas chalconas e seus derivados mostra-se particularmente relevante diante da crescente resistência de micro-organismos aos antimicrobianos convencionais. A possibilidade de inserção de diferentes grupos substituintes em sua estrutura permite modular tanto a atividade quanto a seletividade antibacteriana e antifúngica desses compostos. Além disso, a simplicidade da síntese associado ao baixo custo de produção reforça o potencial das chalconas como candidatas promissoras no desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas contra infecções bacterianas e fúngicas. Dessa forma, a síntese e avaliação de novos derivados de chalconas representa uma contribuição significativa para a identificação de moléculas bioativas com potencial antibacteriano e antifúngico.

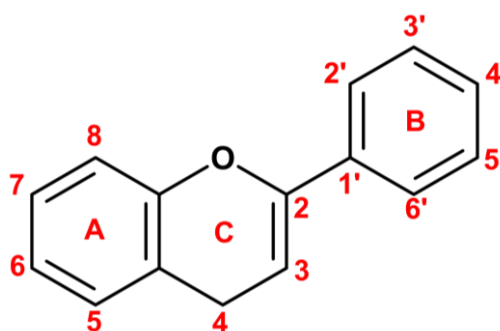
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 FLAVONOIDES

Os flavonoides constituem uma classe de compostos polifenólicos naturais amplamente conhecidos por apresentarem uma variedade de propriedades farmacológicas (Rupasinghe, 2020). Atualmente, foram identificadas mais de 8000 substâncias pertencentes a essa classe e, no geral, são responsáveis pela coloração dos frutos, flores e defesa contra herbívoros e outros agentes externos (Khare; Dewangan; Kumar, 2022). Esses compostos estão amplamente distribuídos em alimentos como leguminosas, maçãs, frutas vermelhas, cebola, chá verde, dentre outros (Rupasinghe, 2020).

Do ponto de vista químico, os flavonoides apresentam uma estrutura constituída por dois anéis aromáticos (A e B) ligados por meio de um grupo pirano (C), formando um sistema  $C_6-C_3-C_6$ , no qual os números indicam a quantidade de átomos de carbono presentes em cada unidade estrutural (Chen *et al.*, 2023; Chiorcea-Paquim, 2023), como demonstrado na Figura 1.

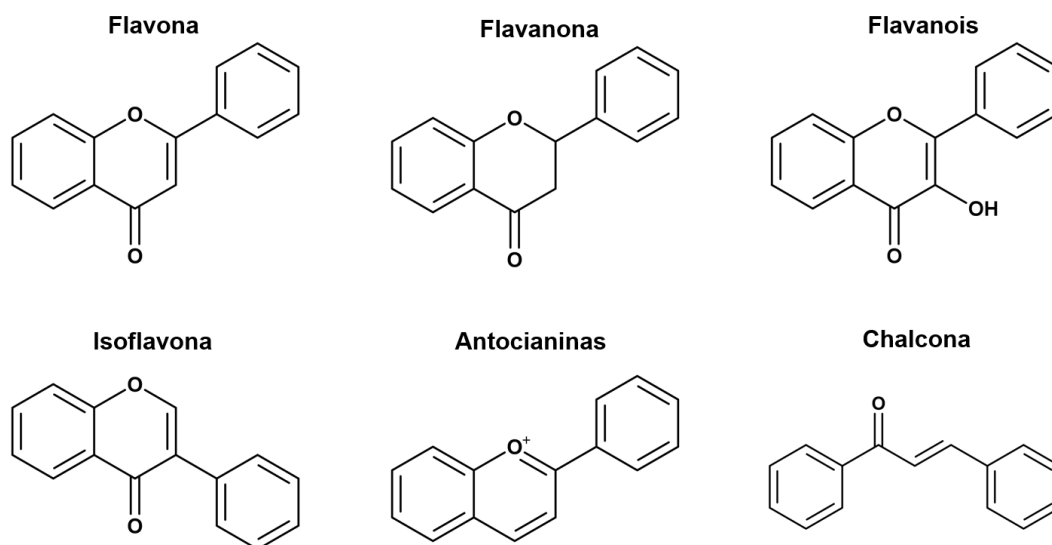
**Figura 1.** Estrutura geral de um flavonoide



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

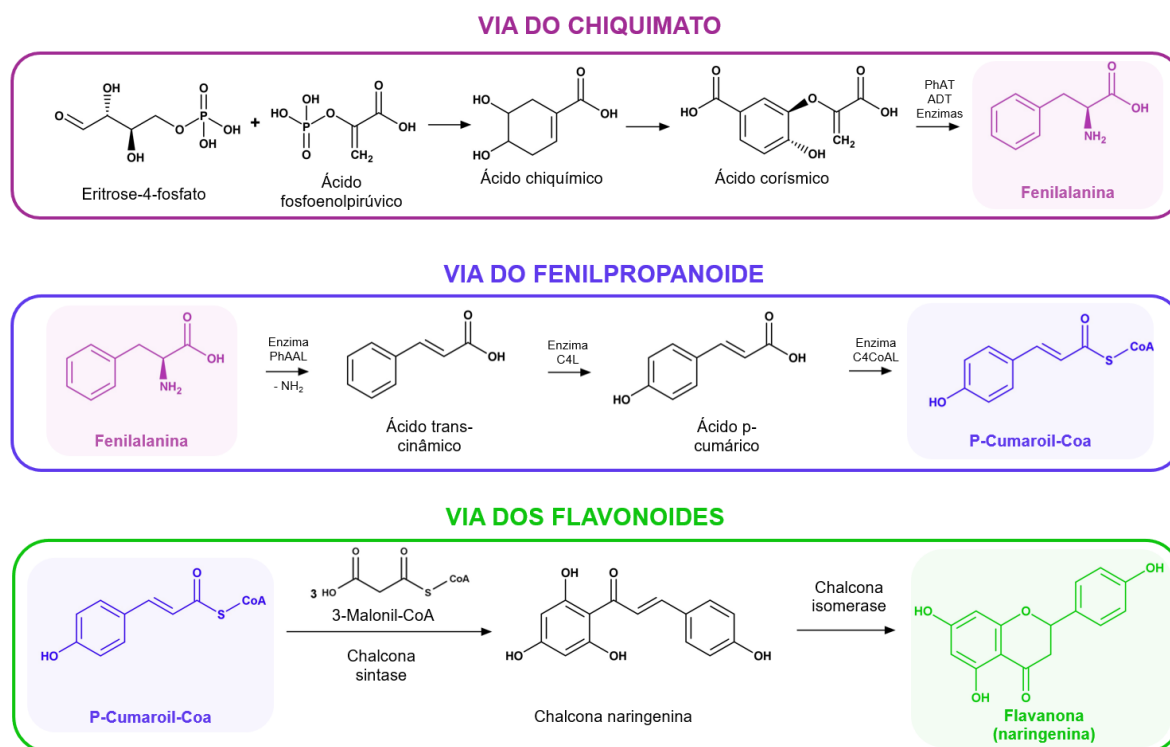
Segundo Zakaryan *et al.* (2017), os subgrupos de flavonoides são classificados de acordo com o número de oxidação e diferentes substituições presentes no anel pirano. Dentro desses subgrupos, os compostos diferem pelo padrão de substituição dos anéis benzênicos. Entre esses, encontram-se, por exemplo, as flavonas, flavonóis, flavanonas, flavanonóis, isoflavonoides, antocianinas e chalconas (Winkel-Shirley, 2001), representados na Figura 2.

**Figura 2.** Estrutura dos subgrupos dos flavonoides



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

Os flavonoides são produzidos por diferentes rotas biossintéticas, entre as quais se destacam a via do chiquimato, a via do acetato e a via do fenilpropanoide. Esta última da origem a via dos flavonoides, etapa final responsável pela formação dos diversos subgrupos dessa classe de composto (Chen *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2021), como representados na Figura 3.

**Figura 3.** Visão geral das diferentes rotas biossintéticas

Fonte. Adaptado de: LIGA, S.; PAUL, C.; PÉTER, F. Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. **Plants**, v. 12, n. 14, n. p., jul. 2023. DOI: 10.3390/plants12142732.

A via do fenilpropanoide ocorre em cinco etapas principais. Primeiramente, o aminoácido fenilalanina é convertido em ácido *trans*-cinâmico pela ação da fenilalanina amoníaco-liase (PhAAL). Em seguida, o ácido cinâmico é hidroxilado por meio da cinamato-4-hidroxilase (C4L), gerando o ácido *p*-cumárico. Este, por sua vez, recebe uma unidade de coenzima A pela ligase *p*-cumarato-CoA-ligase (C4CoAL), formando o *p*-cumaroil-CoA. A partir disso, ocorre a produção da chalcona naringenina através da condensação de três moléculas de acetato de 3-malonil-CoA. Por fim, esse composto é convertido em flavona ou naringenina por meio da chalcona isomerase, iniciando a via dos flavonoides, que resultará na formação de suas diferentes classes (Liga; Paul; Péter, 2023; Liu *et al.*, 2021; Tariq *et al.* 2023).

Os flavonoides são amplamente estudados pela sua alta capacidade antioxidante, que desempenha um papel crucial na prevenção de danos ocasionados por radicais livres (Shen *et al.*, 2022). Dentro dessa classe, as chalconas, foco deste trabalho, vêm se destacando por suas diversas atividades biológicas. Além da atividade antioxidante, as chalconas demonstram propriedades antitumorais, anti-inflamatórias,

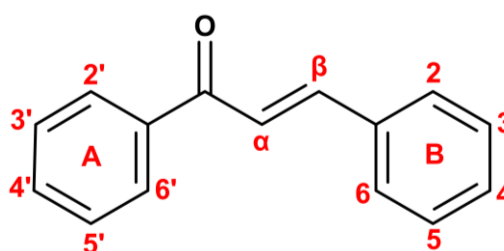
antimicrobianas, dentre outras, o que as torna promissoras para o desenvolvimento de novos fármacos (Constantinescu; Lungu, 2021; Kerek *et al.*, 2025; Kuttithodi, *et al.*, 2022; Mahapatra; Bharti; Asati, 2017).

## 2.2 CHALCONAS

### 2.2.1 Ocorrência e importância das chalconas

As chalconas, 1,3-difenil-2-propen-1-onas, são compostos derivados das cetonas aromáticas e são caracterizadas por possuírem uma estrutura química composta por dois anéis aromáticos (A e B) interligados por uma propenona (Zhuang *et al.*, 2017), como demonstrado na Figura 4.

**Figura 4.** Estrutura geral das chalconas



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

Esses compostos são amplamente encontrados em flores, folhas, frutos, raízes e sementes (Rammohan *et al.*, 2020). Um dos seus primeiros relatos ocorreu em 1950 por Seikel e Geisman, onde realizou-se o isolamento e elucidação estrutural da polihidroxi-chalcona através de flores do gênero *Coreopsis Stillmanii*. Posteriormente, foram encontradas nas plantas do gênero *Cylicodiscus*, *Xanthorrhoea* e *Carthamus* (Harborne; Mabry; Mabry, 1975), como demonstrado na Figura 5.

**Figura 5.** (a) Planta do gênero *Coreopsis Stillmanii* (b) folhas da planta do gênero *Cylicodiscus* (c) planta do gênero *Xanthorrhoea* (d) planta do gênero *Carthamus*



Fonte. GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY. ***Coreopsis Stillmanii*, *Cylicodiscus*, *Xanthorrhoea* e *Carthamus***. Disponível em: <<https://www.gbif.org/>> . Acesso em 30 de jan. 2025.

Após sua metabolização pelas plantas, as chalconas desempenham três funções importantes no metabolismo vegetal (Shalaby; Rizk; Fahim, 2023). O mais frequente é sua conversão em flavanona (naringenina) por meio da chalcona isomerase, conforme ilustrado na Figura 3 da sessão anterior (Díaz-Tielas *et al.*, 2016).

Sua segunda forma de utilização envolve a participação na biossíntese das auronas, uma subclasse dos flavonoides. Nesse processo, ocorre a reação de isomerização da chalcona naringenina pela *aureusidina sintase* (Gomes *et al.*, 2017).

Por fim, as chalconas também atuam como reagentes para a produção dos conjugados de glicosil, responsáveis pela pigmentação da corola de algumas flores com colorações que variam de amarelo a marrom (Elkanzi *et al.*, 2022). Devido a esse motivo, o nome “chalcona” deriva do grego “*Chalcos*” e significa bronze (Sahu *et al.*, 2012).

Com o avanço das pesquisas, o potencial farmacológico das plantas contendo chalconas em sua composição foi identificado, resultando na aprovação para ensaios clínicos de doenças ou incorporação em cosméticos (Zhuang *et al.*, 2017). Como exemplo, pode-se citar o Kava-Kava (*Piper methysticum*), Figura 6a, um arbusto da família da pimenta, nativo das ilhas do Pacífico Sul e rico em chalconas. Tradicionalmente, sua utilização era feita como uma bebida medicinal devido às propriedades relaxantes musculares, diuréticas, sedativas e levemente narcóticas

(Lebot; Merlin; Lindstrom, 1992). Atualmente, seus benefícios neurológicos parecem ser inegáveis, especialmente na redução da ansiedade e do estresse, além de estar associado a uma menor incidência de câncer. Nesse sentido, o Kava-Kava aparenta ser promissor para o desenvolvimento de novos medicamentos (Bian *et al.*, 2020).

O gengibre, *Boesenvergia rotunda* (raiz de dedo), é uma planta monocotiledônea da família *Zingiberaceae* (Figura 6b) (Sanmugavelan *et al.*, 2018). Sua utilização se dá de diversas maneiras, principalmente na alimentação por meio dos temperos e de medicamentos herbais em países asiáticos (Bailly, 2022). Na tribo de Nicobarese, na Índia, o gengibre é utilizado na preparação de remédios para febre, dor de cabeça e dores no corpo (Chander *et al.*, 2016). Dentre os compostos bioativos identificados nessa planta, destaca-se a boesenbergina A (BA), um derivado de chalcona que, em estudos recentes, apresentou atividade antioxidante considerável e uma significativa atividade anti-inflamatória (Isa *et al.*, 2012). Além disso, a *boesenbergia rotunda* possui outras propriedades biológicas relevantes, como antibacterianas e antivirais (Chutiwitoonchai *et al.*, 2025; Teethaisong *et al.*, 2018).

O Alcaçuz (Figura 6c) é uma raiz do gênero *Glycyrrhiza* e compreende diversas espécies, sendo a *G. glabra*, *G. inflata* e *G. uralensis* as mais comercializadas. Pode ser encontrada em diversos países, como Ásia, Turquia, Rússia, dentre outros (Pia *et al.*, 2019). Na China é chamado de Gan-Cao, e é um dos medicamentos fitoterápicos mais populares e possui um uso extenso para tratamento de distúrbios gastrointestinais da população (Shang *et al.*, 2022). Desta raiz pode ser isolada a licochalcona A, uma chalcona oxigenada, que segundo estudos é promissora para tratamento doenças neurodegenerativas, como o Alzheimer, bem como ação anti-inflamatória, antioxidante, antitumoral, dentre outras (Chen *et al.*, 2017; Olloquequi *et al.*, 2023).

As chalconas naturais também são encontradas em outras espécies de plantas, como a *Lophira alata* (Figura 6d), mais conhecida como Azobé, onde em estudos fez-se o isolamento de dois tetrâmetros de chalconas, ambos compostos apresentando atividades inibitórias contra inflamação induzida por teleocidina B-4 (Murakami *et al.*, 1992).

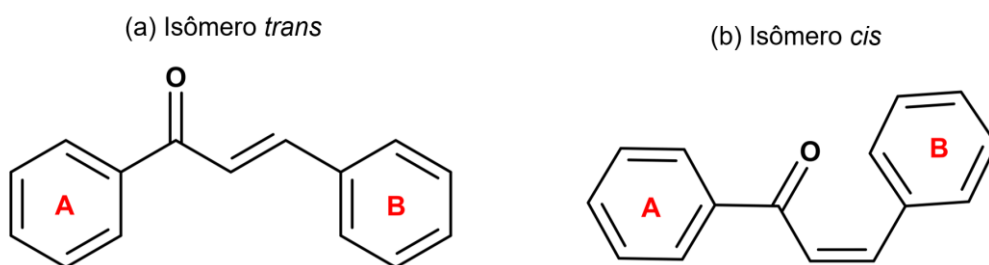
**Figura 6.** Imagens das plantas: (a) *Piper methysticum* (b) *Boesenvergia rotunda* (c) *G. inflata* (d) *Lophira alata*



Fonte. GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY. ***Piper methysticum*, *Boesenvergia rotunda*, *G. inflata* e *Lophira alata***. Disponível em: <<https://www.gbif.org/>>. Acesso em 30 de jan. 2025.

Além disso, as chalconas podem existir como isômeros *cis* e *trans*, como demonstrado na Figura 7.

**Figura 7.** (a) Isômero *trans* da chalcona (b) Isômero *cis* da chalcona



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

Dentre eles, o isômero *trans* é termodinamicamente mais estável, devido à sua pouca interação estérica entre a carbonila e o anel aromático B, tornando-se o isômero mais predominante (Gomes *et al.*, 2017).

### 2.2.2 Síntese química das chalconas

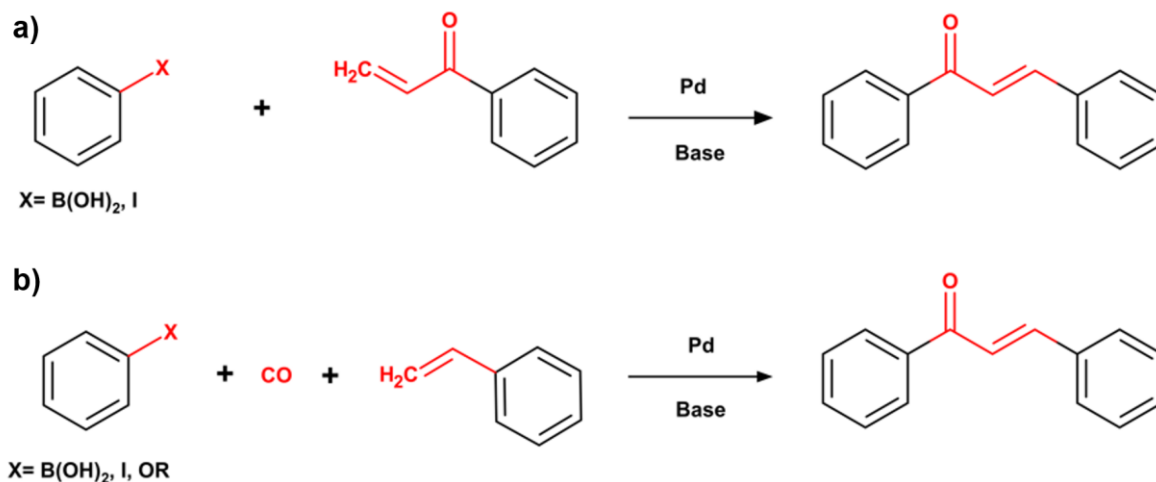
Apesar das chalconas serem encontradas na natureza, existem algumas dificuldades relacionadas a sua obtenção. A primeira delas é a necessidade de grandes quantidades de material vegetal para a obtenção de uma quantidade considerável de chalcona, uma vez que sua concentração em fontes naturais é relativamente baixa, além disso, o rendimento final pode ser comprometido durante os processos de extração e de purificação dos compostos (Menezes; Diederich, 2019). Para contornar estas dificuldades, pesquisadores como Kretzer *et al.* (2022) recorrem à semi-síntese, neste caso, da di-hidrochalcona a partir da florizina, extraída das folhas da macieira, como uma alternativa para obter quantidades suficientes para a realização dos experimentos.

Dentro desse contexto, a síntese de chalconas torna-se uma alternativa viável, já que sua obtenção pode ocorrer por diversos mecanismos, permitindo o pesquisador escolhê-los de acordo com os reagentes disponíveis. Ademais, a estrutura química versátil da chalcona permite modificações estruturais, possibilitando o direcionamento da atividade biológica que este composto poderá apresentar (Gomes *et al.*, 2017).

Diversas rotas sintéticas podem ser empregadas para a obtenção das chalconas. Entre as principais, se destacam a reação de acoplamento de Heck carbonilativo, Suzuki, síntese one-pot e, a mais conhecida, Claisen-Schmidt. Entretanto, na literatura, existem outras metodologias para sintetizar esses compostos, como reação de Julia-Kocienski, Wittig, acoplamento cruzado descarboxilativo, entre outras (Shalaby; Rizk; Fahim, 2023).

A reação típica de acoplamento de Heck ocorre entre uma cetona insaturada com um ácido arilborônico ou iodeto de arila na presença de uma base, como demonstrado na Figura 8. O catalisador dessa reação é o paládio (Pd), que é formado nas condições reacionais a partir do acetato de paládio (II). De forma similar, a síntese de chalconas pode ser realizada por meio da reação de acoplamento de Heck carbonilativo, no qual um haleto de fenila reage com o estireno na presença de monóxido de carbono. Nesse caso, o paládio também atua como catalisador na vinilação (Wu; Neumann; Beller, 2010).

**Figura 8.** Síntese de chalconas via: a) acoplamento de Heck; b) acoplamento Heck carbolinativo

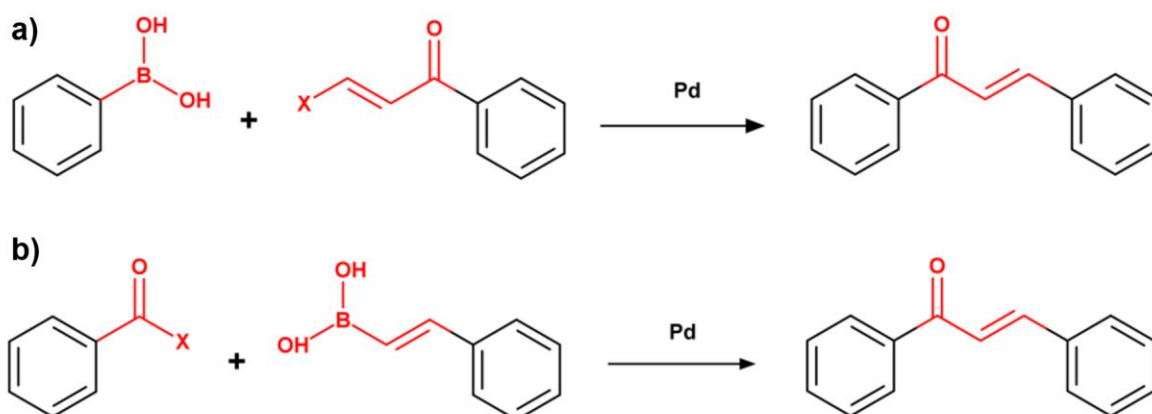


Fonte. Traduzido de SHALABY, M. A.; SAMEH, A. R.; FAHIM, A. M. Synthesis, reactions and application of chalcones: a systematic review. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 21, n. 26, p. 5317-5346, jun, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D3OB00792H>. Acesso em: 23 mar. 2025.

Apesar dessa metodologia ser eficiente na síntese de chalconas, sua aplicação é limitada pela carência de reagentes, como a arilvinilcetonas e monóxido de carbono pressurizado (Zhuang *et al.*, 2017).

A reação de Suzuki é uma ferramenta poderosa quando se trata da formação de ligações carbono-carbono. A partir da análise retróssintética a chalcona pode ser obtida por duas reações distintas: o acoplamento de cloreto de cinamoíla com ácido fenilborônico e acoplamento de cloreto de benzoíla com ácido fenilvinilborônico, conforme ilustrado na Figura 9, onde "x" pode ser cloro, bromo ou o éster para-toluenossulfonato (Selepe; Van Heerden, 2013). Essa reação também é catalisada pelo paládio.

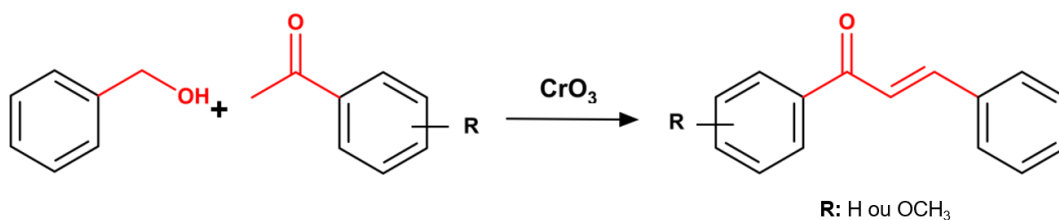
**Figura 9.** Síntese de chalconas via reação de Suzuki: a) acoplamento de haleto de cinamoila com ácido fenilborônico; b) haletos de benzoila e ácidos borônicos



Fonte. ZHUANG, C. *et al.* Chalcone: A Privileged Struture in Medicinal Chemistry. **Chem. Rev.**, v. 117, n. 12, p.7762-7810, maio, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00020>. Acesso em: 28 mar. 2025.

As chalconas também podem ser obtidas em um mesmo frasco reacional, como por exemplo, a síntese one-pot. As principais vantagens são obtenção de produtos de com um maior rendimento, devido a não necessidade de isolamento de intermediários de reação, minimização de resíduos e tempo de reação reduzido (Golsalves *et al.*, 2025). A reação de formação da chalcona por esse método se dá pela combinação de álcool benzílico e uma acetofenona com o trióxido de cromo como agente oxidante, conforme ilustrado na Figura 10. Neste mecanismo, o benzaldeído é gerado a partir da oxidação do álcool (Zhuang *et al.*, 2017).

**Figura 10.** Síntese de chalconas a partir do método one-pot.



Fonte. Traduzido de SHALABY, M. A.; SAMEH, A. R.; FAHIM, A. M. Synthesis, reactions and application of chalcones: a systematic review. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 21, n. 26, p. 5317-5346, jun, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D3OB00792H>. Acesso em: 23 mar. 2025.

Na química orgânica, a reação de condensação aldólica é considerada uma das mais versáteis, sendo amplamente utilizadas em diversas sínteses. Essa reação envolve duas substâncias carboniladas, na qual uma atua como eletrófilo e outra como

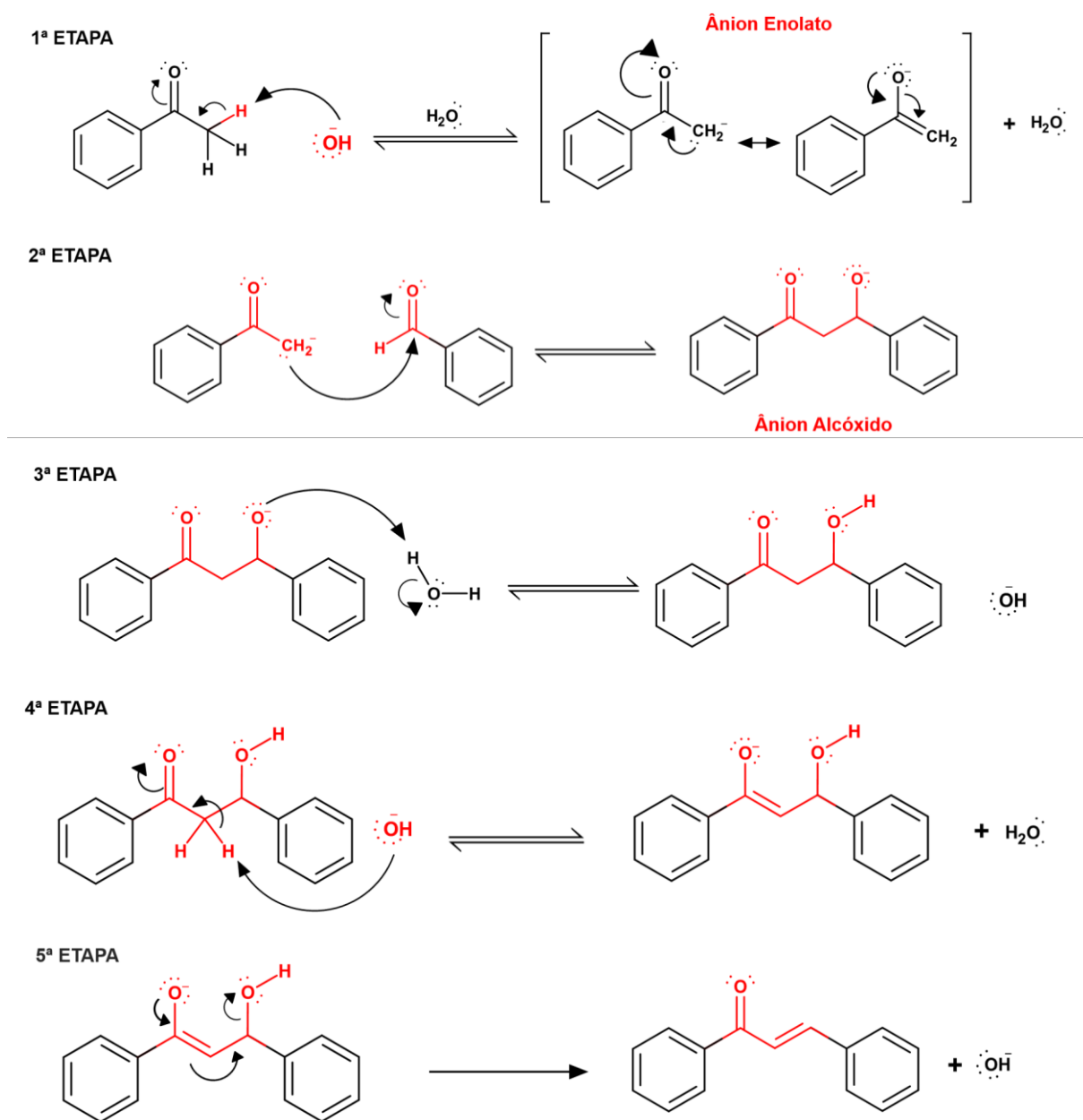
nucleófilo, resultando na formação de uma ligação dupla carbono-carbono. Existem diversas variantes dessa reação, sendo a reação aldólica cruzada seguida por desidratação, uma das mais utilizadas na síntese de chalconas, conhecida como Claisen-Schmidt. As vantagens da utilização desta metodologia é a simplicidade da reação e reagentes relativamente baratos, entretanto para a reação ser concluída pode demorar vários dias e o seu produto, na maioria das vezes, necessita de purificação devido a presença de reagentes e impurezas (Perrin; Chang, 2016).

De maneira geral, essa reação envolve o uso de acetofenona e benzaldeído como reagentes de partida. Para garantir a formação do produto desejado, é necessário a utilização de um ácido ou base como catalisador. Na catálise básica, os principais catalisadores são o terc-butóxido de potássio, hidróxido de sódio ou hidróxido de potássio. A utilização de meio básico é preferível devido ao fato que os aldeídos aromáticos não podem formar enolatos, portanto o enolato da acetona reage com o aldeído aromático e o produto da reação apresenta um bom rendimento (Carey; Sundberg, 2011).

O mecanismo da reação de Claisen-Schmidt, em meio básico, ocorre em cinco etapas, conforme ilustrado na Figura 11. Na primeira etapa, o íon hidróxido remove um próton do carbono  $\alpha$  da acetofenona, formando um ânion enolato, que é estabilizado por ressonância. Em seguida, o ânion enolato atua como nucleófilo e ataca o carbono carbonílico do benzaldeído por meio de uma adição nucleofílica, resultando na formação do ânion alcóxido.

Na terceira etapa, esse intermediário, remove um próton da molécula de água, formando uma  $\beta$ -hidróxi-cetona. Na quarta etapa é formado novamente o intermediário de reação enolato. Por fim, na quinta etapa, ocorre a desidratação do enolato por meio de um mecanismo de eliminação E1<sub>CB</sub>, com a eliminação de uma molécula de água e regeneração do catalisador, resultando na formação da chalcona desejada (Clayden; Warren; Greeves, 2012).

**Figura 11.** Mecanismo de formação da chalcona através da síntese de Claisen Schmidt



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch

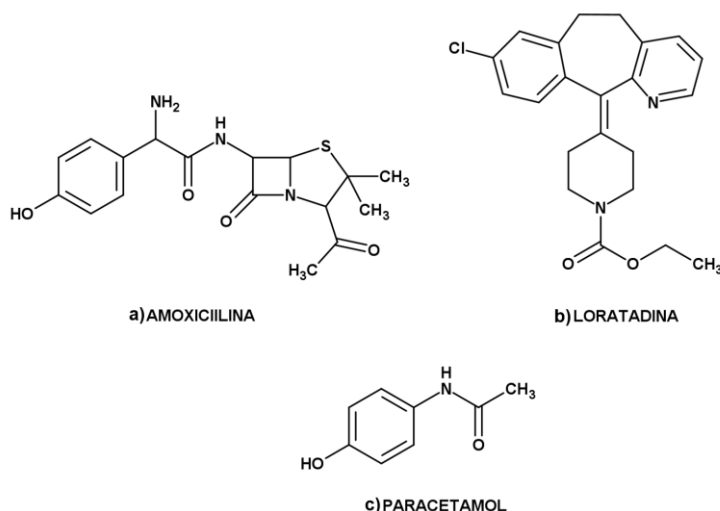
A catálise ácida não é muito utilizada para a síntese de chalconas, entretanto pode se apresentar interessante quando a chalcona desejada conter grupos retiradores de elétrons na porção do benzaldeído (Perrin; Chang, 2016).

### 2.2.3 Derivados funcionais: Aminochalconas

O grupo funcional amino ( $-NH_2$ ) possui um átomo de nitrogênio ligado a dois átomos de hidrogênio. Esse grupo confere as propriedades básicas para os compostos que está presente. Quando ligado a um anel aromático, o grupo amino torna-se um forte ativador, onde seu efeito doador de elétrons por ressonância para o anel aromático supera a retirada indutiva de elétrons, aumentando a densidade eletrônica do anel (Bruice, 2006).

Além disso, o grupo amino ( $-NH_2$ ) é amplamente conhecido no meio medicinal, principalmente por sua presença característica em aminoácidos. Portanto, não é surpreendente que sua presença na estrutura de fármacos seja frequente. Um exemplo disso é a amoxicilina (Figura 12a), que possui um grupo amina primária ( $-NR_2$ ) em sua estrutura, sendo um antibiótico utilizado no tratamento de infecções bacterianas, como a infecção nas amígdalas. Outro medicamento comumente utilizado é a loratadina, conhecida principalmente por tratar sintomas de rinite alérgica e possui uma amina, mas terciária ( $-NR_3$ ) em sua estrutura, como demonstrado na (Figura 12b). Além disso, o paracetamol (Figura 12c) possui uma amina secundária ( $-NR_2$ ) e atua como um analgésico e antipirético, sendo eficaz para tratar dores leves ou moderadas, como dor de cabeça, dor muscular, entre outras (Camelo-Nunes, 2006; Freo *et al.*, 2021; Rosete *et al.*, 2020).

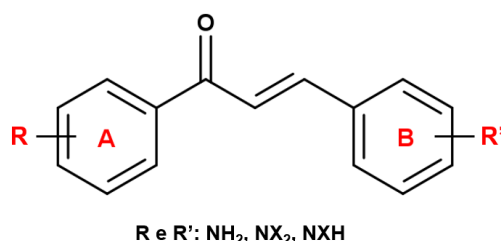
**Figura 12.** Estruturas moleculares: a) Amoxicilina; b) Loratadina; c) Paracetamol



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

Tendo em vista as características do grupo amino e a vasta presença em fármacos, este trabalho tem como foco esse substituinte. As chalconas que possuem o grupo  $-NR_2$ , no anel aromático A ou B, são conhecidas como aminochalconas, como demonstrado na Figura 13. As aminochalconas formam uma classe importante de compostos e estão sendo amplamente estudadas devido suas atividades biológicas significativas (Irfan *et al.*, 2020).

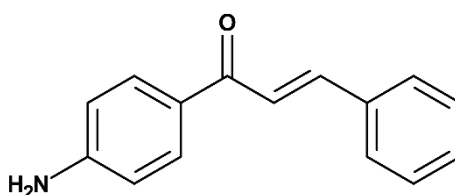
**Figura 13.** Estrutura geral das aminochalconas



Fonte. IRFAN, R. *et al.* A Comprehensive Review of Aminochalcones. **Molecules**, v. 25, n. 5381, nov. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules25225381>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Entre as possíveis posições que o grupo amino pode assumir no anel aromático A, a 4'-aminochalcona, Figura 14, é a mais estudada. Esse composto tem atraído grande interesse devido sua atividade citotóxica, antitumoral e antimicrobiana.

**Figura 14.** Estrutura da 4'-aminochalcona



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

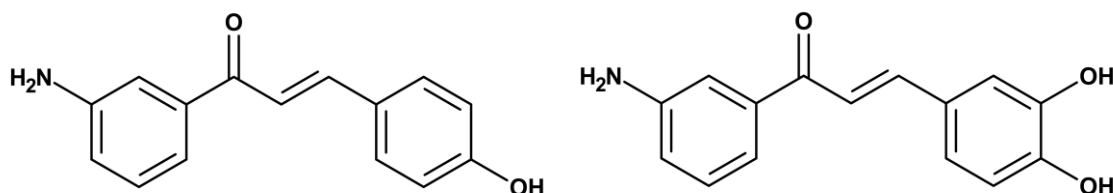
Nesse contexto, Kozłowska *et al.* (2019), estudaram o potencial antitumoral contra quatro diferentes linhagens de câncer de cólon humano, sendo elas: HT-29, LS180, LoVo e LoVo/DX, utilizando fibroblastos de rim de macaco verde COS7 para avaliar sua toxicidade. Os resultados indicaram que a 4'-aminochalcona apresentou melhor resultado contra a linhagem celular HT-29 com  $IC_{50}$  de 1,43 - 1,98  $\mu g\ mL^{-1}$ . Ao passo que com a inserção do grupo nitro ( $NO_2$ ) na posição 4 do anel aromático B, melhorou o resultado contra a linhagem celular Lovo e LoVo/DX. Neste mesmo

estudo, fez-se a atividade antimicrobiana em duas cepas de bactérias, uma de levedura e três cepas de fungos filamentosos, onde a 4'-aminochalcona limitou completamente o crescimento de todas as cepas testadas na faixa de concentração 0,25-0,50 mg mL<sup>-1</sup>. Além das propriedades promissoras, ao analisar as aminochalconas frente aos Parâmetros de Lipinski, considera-se que esses compostos apresentaram características favoráveis para o desenvolvimento de novos fármacos.

Ademais, no estudo realizado por Santos *et al.* (2017) uma série de 4'-aminochalconas foi sintetizada e sua atividade antiproliferativa foi avaliada contra a uma linhagem de células histiocíticas malignas caninas (DH82). Dentre os compostos testados, as aminochalconas que possuíam um grupo flúor na posição 4 e aquelas contendo um grupo cloro do anel aromático B apresentaram uma inibição do crescimento das células DH82, com valores de IC<sub>50</sub> de 34,40 e 31,40 µM, respectivamente. Além disso, esses compostos também demonstraram a capacidade de induzir a morte por apoptose em células caninas renais D1182 e Madin-Darby não tumorigênicas.

Outra possível substituição no anel aromático A é a inserção do grupo amino na posição 3, originando as 3'-aminochalconas. Dentre as diversas chalconas substituídas sintetizadas por Seo *et al.* (2005), destaca-se duas 3'-aminochalconas obtidas, a primeira com uma hidroxila (-OH) na posição 4 do anel aromático B e a segunda com duas hidroxilas nas posições 3 e 4, como demonstrado na Figura 15. Essas chalconas foram testadas para a atividade inibitória de três glicosidases: α-glicosidase de fermento de padeiro, α-amilase de *Bacillus licheniformis* e β-amilase de cevada.

**Figura 15.** Chalconas sintetizadas no trabalho de Seo *et al.* (2005)

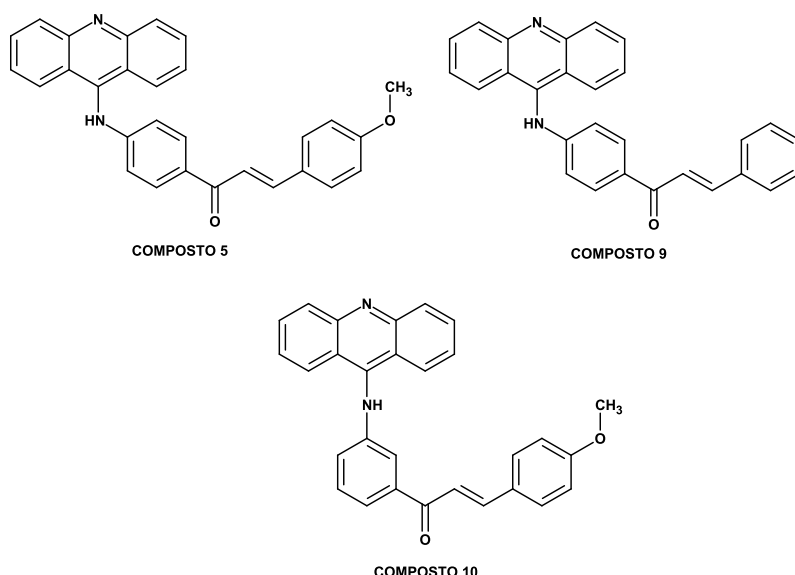


Fonte. SEO, W. D. *et al.* Sulfonamide chalcone as a new class of α-glucosidase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 24, p. 5514-5516, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.08.087>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Como resultado, foi necessária uma concentração de 200,00  $\mu\text{L}$  para as aminochalconas apresentarem um forte efeito inibitório contra as glicosidases. A inibição dessas enzimas pode modular funções celulares, tornando esses compostos promissores para tratamento de doenças como diabetes, doenças virais e câncer. Além de exibirem bons resultados, as aminochalconas podem ser obtidas de maneira simples e econômica, sendo ainda mais promissoras.

Além disso, Tomar *et al.* (2010) utilizou a 4'-aminochalcona e a 3'-aminochalcona como precursores para compostos contendo uma porção acridinil ligada ao grupo amino no anel aromático A, como ilustrado na Figura 16.

**Figura 16.** Compostos sintetizados no trabalho de Tomar *et al* (2010)

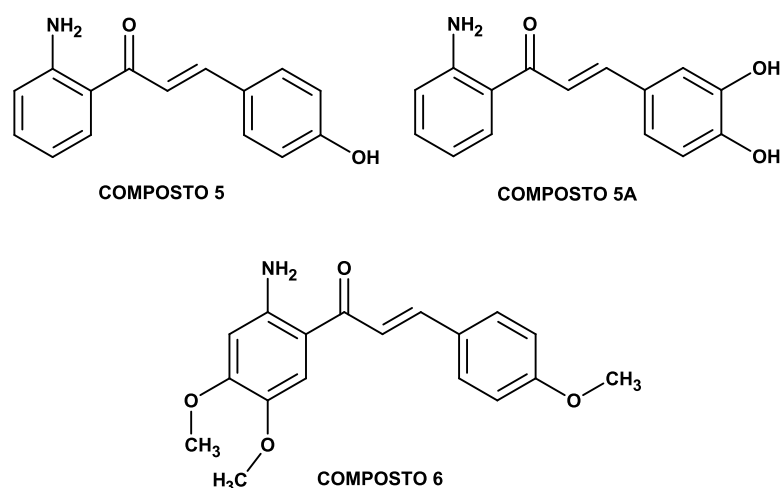


Fonte. TOMAR, V. *et al.* Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 745-751, fev. 2010. Disponível em: 10.1016/j.ejmech.2009.11.022. Acesso em: 28 mar. 2025.

A reação de obtenção baseada em uma substituição aromática nucleofílica não catalisada, resultou na obtenção de onze derivados de aminochalconas. A atividade antimalárica *in vitro* contra *P. falciparum* NF-54 demonstrou que os compostos 5, 9 e 10 apresentaram porcentagens de inibição superiores a 71% utilizando na concentração de 1,00  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Esses resultados indicam um alto potencial inibitório e sugerem que após um refinamento adicional, esses compostos possam ser utilizados como um futuro medicamento contra a malária. Além disso, o artigo destaca que a natureza e posição dos substituintes foram cruciais para os resultados promissores.

Como a última classe de aminochalconas que possui uma substituição -NH<sub>2</sub> no anel aromático A, tem-se a 2'-aminochalcona. Trabalhos como o de Sulpizio *et al.* (2016), relatam a síntese, caracterização e avaliação da atividade antioxidantes desses compostos. Neste estudo, três derivados de aminochalconas (Figura 17), foram testados frente do radical DPPH e no ensaio de superóxido dismutase.

**Figura 17.** Compostos sintetizados e testados no trabalho de Sulpizio *et al.* (2016)



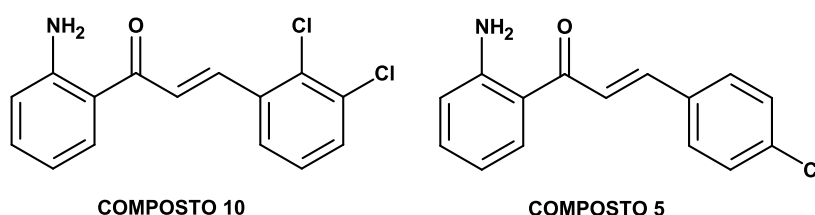
Fonte. SULPIZO, C *et al.* Synthesis, structure, and antioxidant activity of methoxy- and hydroxyl-substituted 2'-aminochalcones. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 147, p. 1747-1757, ago., 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1812-9>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Como esperado, a aminochalcona que apresentou o maior poder antioxidante foi o composto 5a, devido à presença de duas hidroxilas nas posições *meta* e *para* do anel aromático B. Em contrapartida, não foi observada nenhuma atividade antioxidante significativa para os compostos 5 e 6, uma vez que não atingiram IC<sub>50</sub> dentro das concentrações utilizadas pelos autores. Além disso, capacidade de eliminação do radical superóxido demonstrou que a presença, de pelo menos, um grupo hidroxila é essencial para a eliminação do radical O<sub>2</sub>•, já que o composto 5 apresentou um IC<sub>50</sub> de 38,60±10 µM e o composto 5a, de 37,10±10 µM. Entretanto, a aminochalcona substituída com grupos metoxila não alcançou o valor de IC<sub>50</sub>, mesmo que em concentrações mais altas.

A 2'-aminochalcona também já foi estudada como um possível tratamento para a doença de Alzheimer. Sakata *et al.* (2020), sintetizaram uma série de 2'-aminochalconas, que foram testadas contra as enzimas AChE e BACE-1, além da sua influência na agregação de Aβ. Todos os compostos inibiram a atividade da AChE em

diferentes concentrações e, curiosamente, todas as chalconas que possuíam o grupo amino em sua estrutura foram capazes de inibir a enzima BACE-1, o que não foi observado em chalconas sem esse substituinte. A aminochalcona que apresentou maior efeito inibitório nas enzimas AChE e BACE-1 foi a derivada do 2,3-diclorobenzaldeído, com  $IC_{50}$  de 0,08  $\mu$ M e 2,71  $\mu$ M, respectivamente (Figura 18). Além disso, a aminochalcona 5 foi a que apresentou maior capacidade de inibir a formação de fibrilas  $\beta$ -amiloides.

**Figura 18.** Aminochalconas que apresentaram maior inibição contra as enzimas AChE, BACE-1 e fibrilas  $\beta$ -amiloides no trabalho de Sakata *et al.* (2020)



Fonte. SAKATA, R. P. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2'-Aminochalcone: A multi-target approach to find drug candidates to treat Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 103, n.p., ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104201>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Além da presença do grupo amino no anel aromático A, também é possível encontrar aminochalconas com esse grupo no anel aromático B. Entretanto, o presente estudo terá como foco uma série de 3'-aminochalconas e 4'-aminochalconas contendo o grupo metoxila ( $-OCH_3$ ) como substituinte em diferentes posições do anel aromático B.

## 2.3 ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Os antioxidantes são compostos naturais ou sintéticos que desempenham um papel essencial na neutralização de radicais livres, protegendo as células contra os danos causados pela oxidação (Sökmen; Akram, 2016). Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons altamente instáveis e reativos devido à presença de elétrons desemparelhados. Entre os mais conhecidos, destacam-se aqueles derivados do oxigênio, como a hidroxila ( $HO\bullet$ ); do nitrogênio, como o óxido nítrico ( $NO\bullet$ ); e do enxofre, como os radicais alquil sulfanil ( $RS\bullet$ ) (Gulcin, 2020). Quando há um desequilíbrio entre a defesa antioxidante das células e os excessos desses radicais, ocorre o estresse oxidativo, no qual resulta em danos a nível molecular, afetando o

DNA, mRNAs, proteínas ribossômicas, entre outros. Essas alterações podem levar ao envelhecimento precoce, infertilidade, indução ao câncer e outras doenças (Bedlovicová *et al.*, 2020; Bisht *et al.*, 2017; Klaunig *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2023).

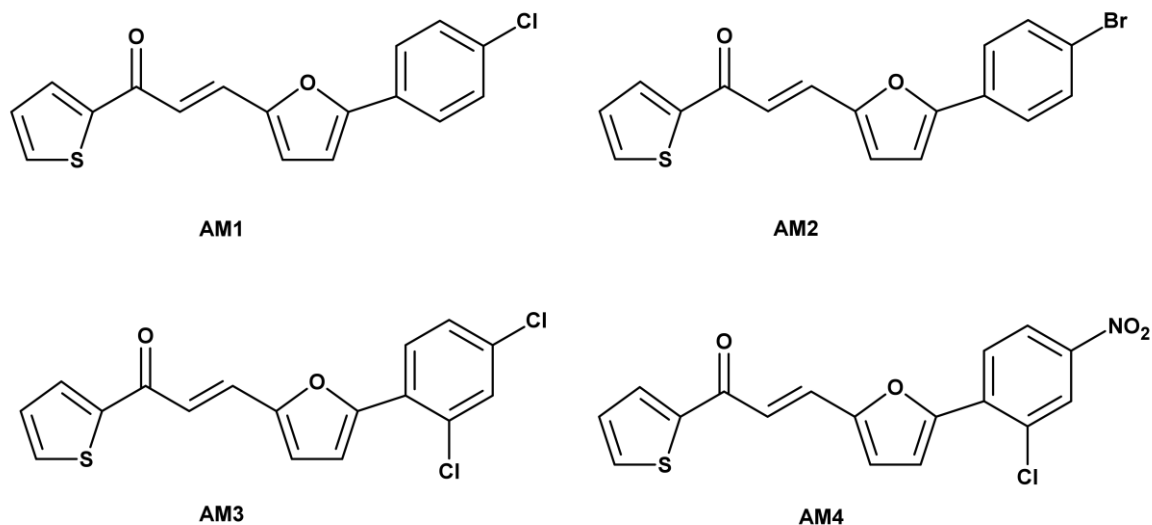
Diversos estudos destacam as chalconas como uma subclasse de compostos com grande potencial antioxidante. Como já citado anteriormente, sua estrutura química versátil permite a inserção de diferentes grupos funcionais, que podem aumentar a capacidade antioxidante das chalconas. Em particular, as chalconas hidroxiladas e metoxiladas são amplamente conhecidas por apresentarem uma significativa atividade antioxidante (Sulpizio *et al.*, 2016).

Existem três mecanismos principais que explicam os processos de ação antioxidante. O primeiro é a transferência direta de átomos de hidrogênio (HAT-*Hydrogen Atom Transfer*), na qual o antioxidante reage com o radical livre transferindo um átomo de hidrogênio por meio da ruptura de uma ligação. Esse mecanismo é particularmente comum em compostos fenólicos, devido à presença do grupo hidroxila, embora possa ocorrer em qualquer antioxidante que possua um hidrogênio lábil em sua estrutura. O segundo mecanismo é a transferência de um elétron (SET-*Single Electron Transfer*), em que o antioxidante doa um elétron ao radical livre, promovendo sua estabilização na forma aniônica. O terceiro mecanismo é o SPLET (*Sequential Proton Loss Electron Transfer*), no qual ocorre, de forma sequencial, a doação de um próton pelo antioxidante ao radical, seguida pela transferência de um elétron, resultando na neutralização da espécie reativa (Christodoulou *et al.*, 2022; Xue *et al.*, 2013)

Um dos métodos mais comuns para avaliação da atividade antioxidante das chalconas é pela inibição do radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), já que é geral, rápido, simples e de baixo custo (Sirivibulkovit; Nouanthavong; Sameenoi, 2018). O DPPH é um radical livre e estável devido à deslocalização de elétrons, o que lhe fornece a coloração roxa escura. À medida que este interage com o antioxidante, é estabilizado por um elétron ou próton, originando sua forma reduzida, DPPH<sub>2</sub>, que possui uma coloração amarelo pálida, como demonstrado na Figura 19. Sendo assim, sua neutralização pode ser monitorada por espectrofotometria UV-Vis, permitindo o cálculo da porcentagem de inibição a partir da leitura da absorbância em 517nm (Kedare; Singh, 2011; Rana *et al.*, 2024).



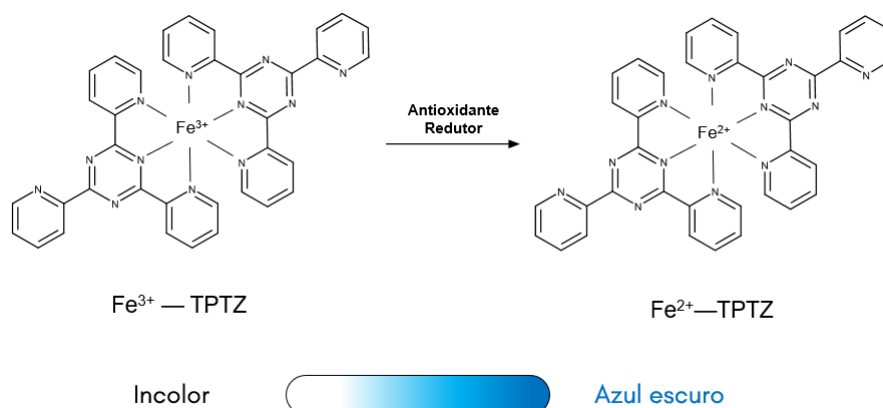
**Figura 20.** Compostos sintetizados por Abadula *et al.* (2024)



Fonte. ABDULA, A. M. *et al.* 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, jun. 2024. Disponível em: 10.1016/j.heliyon.2024.e32257. Acesso em: 28 de mar. 2025.

Outro método que pode ser utilizado para avaliar a capacidade antioxidante é o Poder Antioxidante Redutor de Ferro (FRAP). Esse método também permite a quantificação espectrofotométrica da capacidade redutora de compostos antioxidantes. Além disso, possui uma alta sensibilidade e precisão. No entanto, suas condições de medições são em pH baixo (Benzie; Devaki, 2017). A sua reação consiste na redução do complexo incolor  $[\text{Fe}^{3+}-(\text{TPTZ})_2]^{3+}$  ao complexo azul intenso  $[\text{Fe}^{2+}-(\text{TPTZ})_2]^{2+}$ , na presença de um antioxidante e em condições ácidas, como demonstrado na Figura 21.

**Figura 21.** Mecanismo do Poder Antioxidante Redutor de Ferro (FRAP)

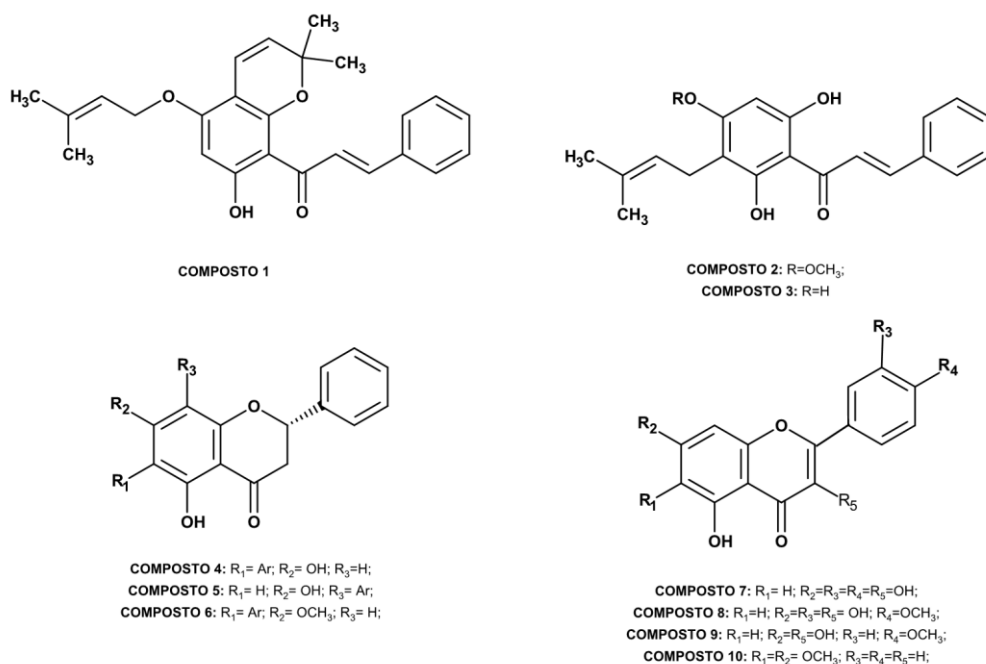


Fonte. Adaptado de PROESTOS, C.; KOMAITIS, M. Antioxidant capacity of hops. **Beer in health and disease prevention**, p. 467-474. Disponível em: 10.1016/b978-0-12-373891-2.00045-6. Acesso em: 13 maio 2025.

A relevância desse método se destaca no ponto de vista da medicina, já que o organismo absorve o ferro por meio de mecanismos complexos, e qualquer desregulação no equilíbrio fisiológico pode levar à geração de radicais livres. O  $\text{Fe}^{3+}$  não ligado à ferritina, proteína de armazenamento do ferro, desempenha um papel crucial em diversos processos oxidativos prejudiciais ao organismo humano. Esses processos causam interrupção de atividades proteicas e danos aos tecidos (Barbosa *et al.*, 2010; Pal *et al.*, 2022).

O trabalho de Popoola *et al.* (2015) demonstra que é possível determinar o poder antioxidante redutor de ferro para os flavonoides, incluindo as chalconas, como demonstrado na Figura 22. Como resultado dessa análise, observou-se que o composto 7 apresentou os maiores valores de atividade antioxidante, esse resultado é justificado devido a presença de dois grupos hidroxilas na posição 3' e 4' do anel B. Ao substituir uma hidroxila por um grupo metoxila (composto 8), verifica-se que a atividade se mantém elevada, já que há formação de uma ligação de hidrogênio com a hidroxila presente no  $\text{C}_3$ . O estudo conclui que a hidroxila é o grupo mais importante para essa análise, uma vez que facilita a transferência de elétrons para o íon férrico.

**Figura 22.** Compostos sintetizados por Popoola *et al* (2015)

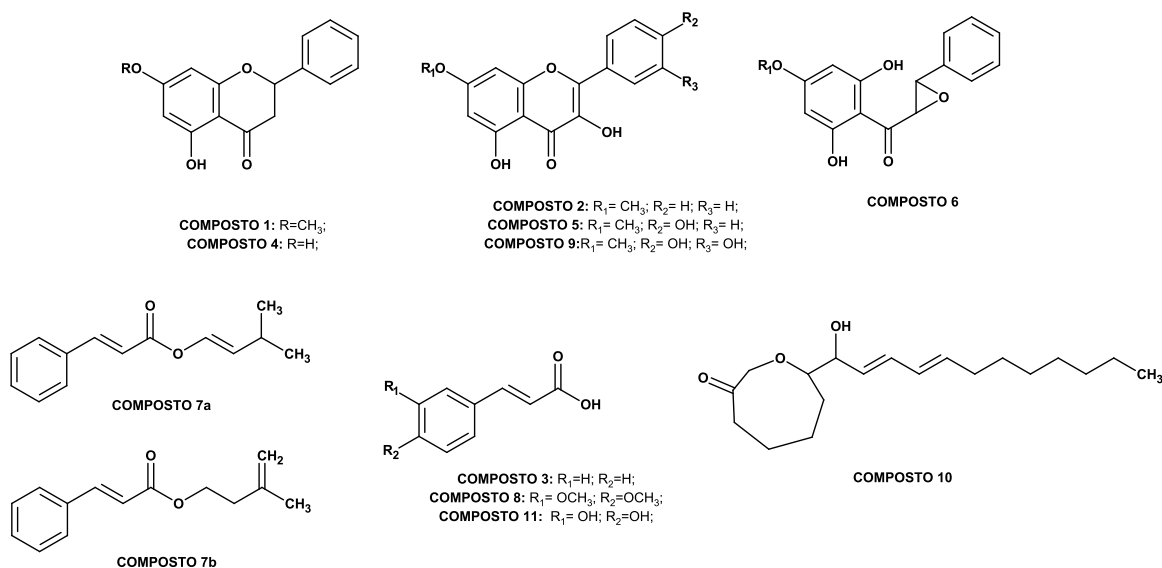


Fonte. POPOOLA, O. K. *et al.* Inhibition of Oxidative Stress and Skin Aging-Related Enzymes by Prenylated Chalcones and Other Flavonoids from *Helichrysum teretifolium*. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 7143-7155, abr., 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules20047143>. Acesso em: 28 mar. 2025.

O ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) também é um método utilizado para avaliar a atividade antioxidante de compostos orgânicos. Quando os radicais livres atacam as ligações duplas de carbono-carbono em lipídios, inicia-se a peroxidação lipídica, processo que envolve a remoção de um hidrogênio e a inserção de uma molécula de oxigênio. Essa reação gera diversos produtos complexos, entre estes, o malondialdeído (MDA). O MDA é amplamente utilizado como biomarcador da peroxidação lipídica devido sua alta reatividade com o ácido tiobarbitúrico (TBA). A reação resulta na formação de um composto dimérico rosa e sua concentração pode ser determinada através de espectrometria visível (Leon; Borges, 2020; Ghani *et al.*, 2017).

No estudo de Guzmán-Gutiérrez *et al.* (2018), foram avaliadas as propriedades inibitórias de peroxidação lipídica de cinco própolis do México (Figura 23). Esse extrato forneceu diversos derivados de flavonoides, entre estes, o composto inédito epoxipinocembrina (composto 6). O melhor resultado para o ensaio TBARS foi a mistura dos compostos 3,3-dimetilalil cafeato e o isopent-3-enil cafeato (7a e 7b), com  $IC_{50}$  de  $0,49 \pm 0,06 \mu M$ , respectivamente.

**Figura 23.** Compostos sintetizados no trabalho de Guzmán-Gutiérrez *et al.* (2018)



Fonte. GUZMÁN-GURIÉREZ, S. L. *et al.* Mexican Propolis: A Source of Antioxidants and Anti-Inflammatory Compounds, and Isolation of a Novel Chalcone and  $\epsilon$ -Caprolactone Derivative. **Molecules**, v.23, n. 334, fev. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules23020334>. Acesso em: 28 mar. 2025.

Além das atividades antioxidantes descritas, também é possível utilizar outras metodologias, como o teste do radical ABTS, a eliminação do radical hidroxila ( $HO\bullet$ )

e radical superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ), o ensaio CUPRAC e ensaio do fosfomiblidênio, entre outros.

## 2.4 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E SUA RELAÇÃO COM A FORMAÇÃO DE BIOFILME

As bactérias são intrinsecamente ligadas a existência da vida na Terra, desempenhando funções essenciais dos ecossistemas. Consideradas um dos organismos mais abundantes, elas podem ser encontradas em diversos ambientes, desde os habitats comuns, como solo e o ar, até em locais extremos, como geleiras e águas vulcânicas (Madigan *et al.*, 2010)

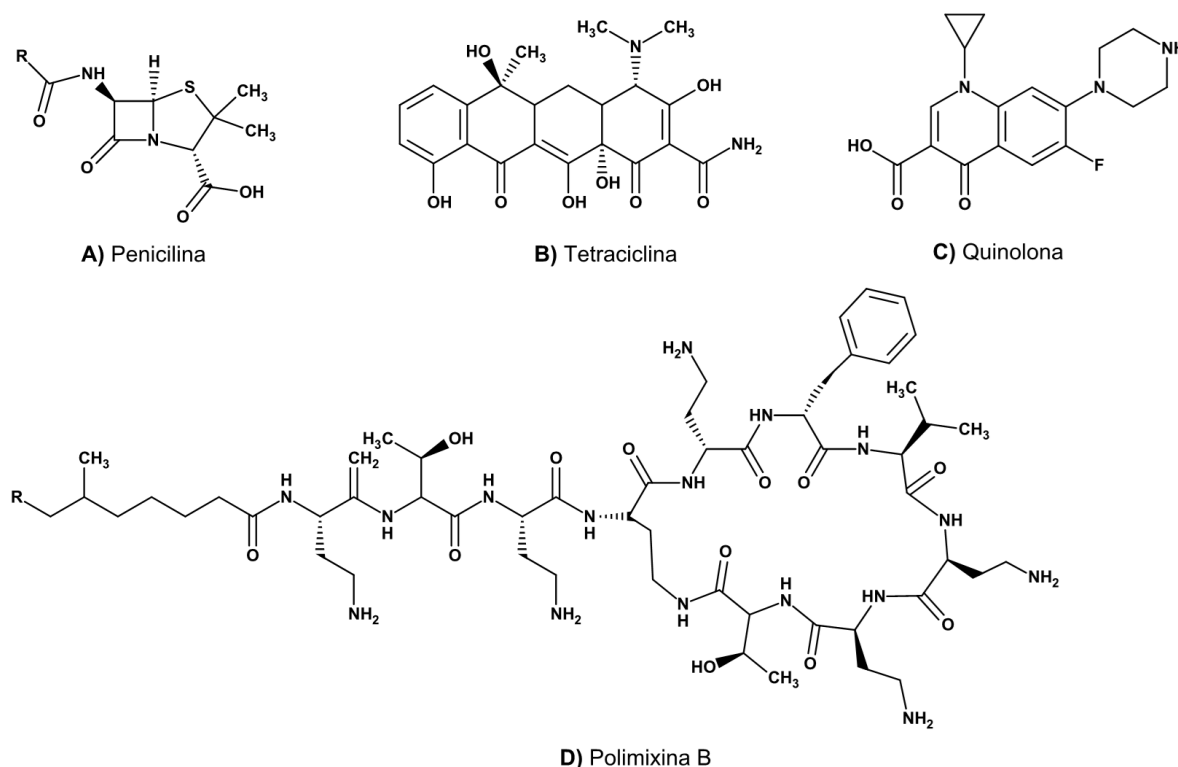
De modo geral, ainda prevalece a ideia de que as bactérias estão associadas exclusivamente a perigos e doenças, desconsiderando-se o fato de que muitas delas são inofensivas à saúde humana e, inclusive, desempenham funções benéficas. Um exemplo amplamente conhecido de bactéria benéfica é o gênero *Lactobacillus*, que compõe uma parte significativa da microbiota do intestino humano. Dentre suas espécies, pode-se destacar a *Lactobacilos rhamnosus*, a qual é capaz de inibir a ação de patógenos como espécies de *Salmonella* (Amiri *et al.*, 2022; Capurso, 2019).

No entanto, é imprescindível reconhecer que algumas espécies bacterianas podem ser prejudiciais à saúde humana, estando associadas a diversas patologias e, em casos mais graves, podendo levar o indivíduo à morte (Teixeira; Figueiredo; França, 2019). A resistência bacteriana, nesse contexto, tem-se consolidado como um problema de saúde global, afetando tanto países desenvolvidos quanto os não desenvolvidos. Essa resistência pode ser ocasionada pelo uso indiscriminado de antibióticos, o que dificulta o tratamento e resulta, como consequência, no aumento de custos hospitalares, do tempo de internação e de taxas de mortalidade (Costa; Silva Junior, 2017).

Os antibióticos são frequentemente classificados como bactericidas e bacteriostáticos. Essa distinção é baseada na razão entre a concentração bactericida mínima (CBM) e concentração inibitória mínima (CIM). De forma geral, é considerado um fármaco bactericida aquele que a razão CBM/CIM é menor ou igual a 4, o que indica que o antibiótico é capaz de matar as bactérias. Por outro lado, os bacteriostáticos são definidos por uma razão igual ou superior a 4, o que significa que ocorre a inibição do crescimento bacteriano, sem necessariamente promover sua eliminação (Pankey; Sabath, 2004; Pulikeyil *et al.*, 2025).

Os compostos antibacterianos também podem ser classificados conforme seu mecanismo de ação. As principais categorias que resultam na morte bacteriana são: Inibição da biossíntese da parede celular, como ocorre com os  $\beta$ -lactâmicos, a exemplo tem-se as penicilinas (Figura 24a), que bloqueiam a formação do peptidoglicano, estrutura essencial para a parede celular bacteriana; Inibição da biossíntese proteica, em que fármacos como a tetraciclina (Figura 24b), interagem com os ribossomos bacterianos, resultando no impedimento da síntese proteica; Inibição da biossíntese de ácidos nucleicos, como as quinolonas, (Figura 24c), que atuam sobre as enzimas como DNA girase ou topoisomerase IV, essenciais para processos de replicação e transcrição do DNA bacteriano; Desestabilização da membrana celular bacteriana, mecanismo pelo qual a polimixina B (Figura 24d) aumenta a permeabilidade da membrana, levando a morte bacteriana (Reygaert, 2018).

**Figura 24.** Estrutura química da: a) penicilina, b) tetraciclina, c) quinolona, d) polimixina B



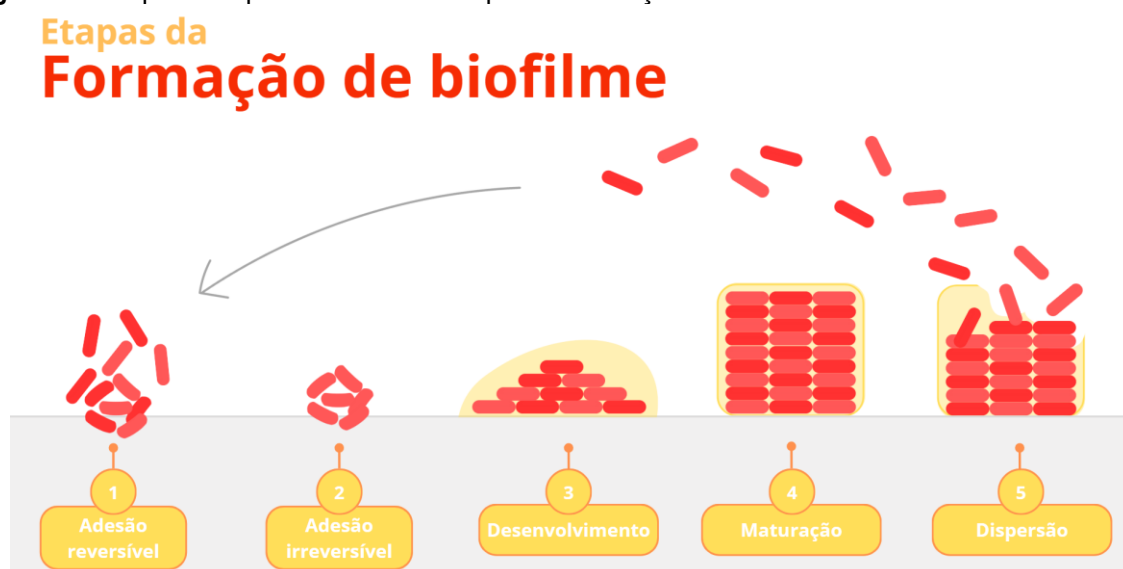
Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

A ação dos antibióticos também pode ser dificultada pela capacidade que as bactérias têm de formar biofilmes. Um biofilme pode ser formado apenas por uma única espécie microbiana ou de um agregado de micro-organismos, como bactérias,

leveduras e protozoários, que vivem circundadas por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), capaz de aderir a superfícies vivas ou inertes (Huang *et al.*, 2019; Muhammad *et al.*, 2020). Essa matriz fornece proteção contra os antibióticos, dificultando sua penetração e permitindo uma maior resistência bacteriana (Hurlow *et al.*, 2015).

O processo de formação de um biofilme pode ser resumido em cinco etapas principais: adesão reversível, adesão irreversível, desenvolvimento, maturação e dispersão, como representada na Figura 25. Inicialmente os micro-organismos se aderem de maneira reversível à superfície através de interações fracas, como de Van der Waals. Em seguida, por meio de interações hidrofílicas ou hidrofóbicas mais fortes, os micro-organismos se fixam de forma irreversível, formando microcolônias. Na etapa de desenvolvimento, essas microcolônias evoluem para uma estrutura celular organizada, na qual ocorre a produção e excreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), formando o biofilme propriamente dito. Durante a maturação, o biofilme atinge uma estrutura estável, com acúmulo significativo de EPS, o que oferece uma proteção contra o ambiente externo. Por fim, na etapa de dispersão, ocorre a liberação ativa ou passiva de células bacterianas, uma vez que o biofilme já atingiu uma massa crítica (Alotaibi, 2021).

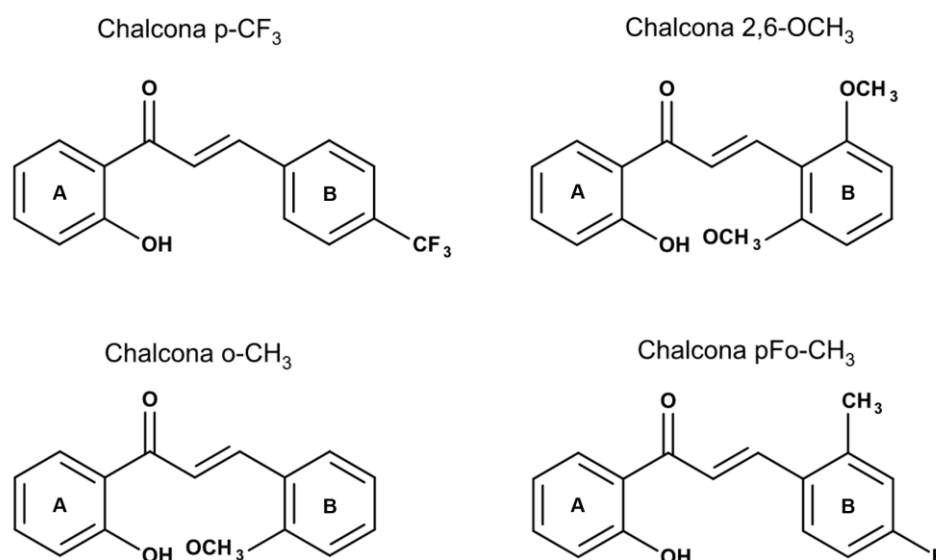
**Figura 25.** Esquema representativo das etapas da formação de biofilme



Fonte. Adaptado de ALOTAIBI, G. Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. **American Journal of Biomedical Science & Research**, v. 12, n. 6, maio 2021. Disponível em: 10.34297/AJBSR.2021.12.001820. Acesso em: 16 jul. 2025.

Atualmente, vários estudos utilizando as chalconas têm se destacado por sua expressiva atividade antimicrobiana. Usjak *et al* (2019) sintetizaram quatro novas chalconas (Figura 26) e as avaliaram frente às bactérias *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa*, além de analisarem seus efeitos na formação de biofilme. Os resultados mostram que os valores de concentração inibitória mínima variaram de 100 a 175  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Com relação à atividade antibiofilme, os autores observaram que os efeitos foram dependentes das concentrações das chalconas testadas. A chalcona substituída com o grupo  $\text{CF}_3$  no anel aromático B apresentou maior eficácia, promovendo uma inibição significativa na concentração de 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , enquanto as demais ocasionaram apenas uma redução discreta.

**Figura 26.** Chalconas sintetizadas por Ušjak *et al.*, (2019)

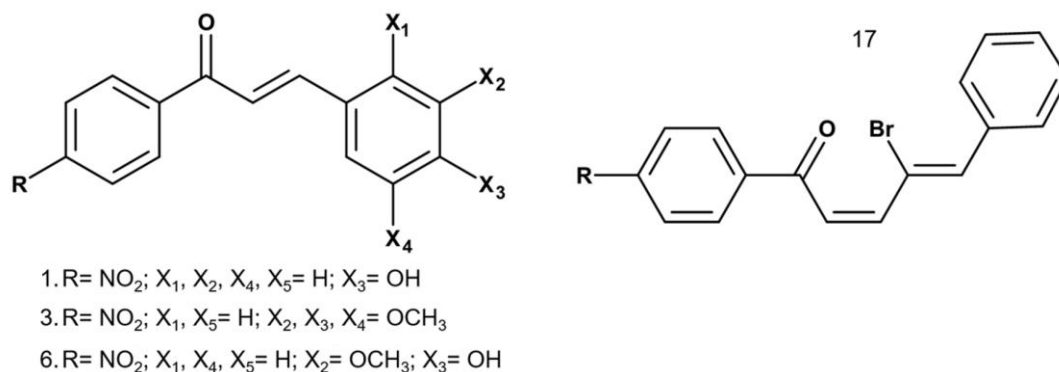


Fonte. Adaptado de Usjnal *et al.* Antimicrobial activity of novel chalcones and modulation of virulence factors in hospital strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, [s.n.], jun. 2019.

Além disso, Narwal, Kumar e Verma (2021), sintetizaram dezessete derivados de chalconas, os quais foram avaliados quanto ao potencial antimicrobiano frente a cepas Gram-positivas e Gram-negativas, incluindo *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os derivados 1, 3, 6, 8 e 17 se sobressaíram entre os compostos avaliados, sendo suas estruturas estão representadas na Figura 27. Os compostos 1, 3 e 6 contêm grupos doadores de elétrons em sua estrutura, como hidroxila e metoxila. O composto 8 apresenta os substituintes bromo e nitro, enquanto o 17 possui apenas o grupo nitro, que são classificados como retiradores de elétrons. De forma geral, os autores

destacam que as chalconas demonstraram resultados superiores aos medicamentos de referência utilizado no estudo, como o cefadroxil.

**Figura 27.** Chalconas sintetizadas por Narwal; Kumar; Verma, (2021)



Fonte. Adaptado de Narwal; Kumar; Verma. Synthesis and biological activity of new chalcone scaffolds as prospective antimicrobial agents Synthesis and biological activity of new chalcone scaffolds as prospective antimicrobial agents. **Research on Chemical Intermediates**, v. 47, n. 4, abr. 2021. Disponível em: 10.1007/s11164-020-04359-6. Acesso em: 16 jul. 2025.

Duas espécies bacterianas vêm se destacando como grandes ameaças à saúde pública. A primeira é *Staphylococcus aureus*, uma bactéria Gram-positiva normalmente encontrada na pele e na nasofaringe. Entretanto, pode sofrer mutações ou adquirir genes de resistência de outras bactérias, tornando-se resistente a antibióticos, o que favorece sua disseminação em ambientes hospitalares (Al-Fawares *et al.*, 2024; Jfoster, 2002). Como exemplo de estudo voltado para essa cepa bacteriana, pode-se citar uma pesquisa realizada em 2017 em que detectou uma elevada taxa de infecção por *Staphylococcus aureus* resistente à metilina na secreção nasal em 7,4% de crianças saudáveis em creches da cidade Vitória da Conquista (Carvalho *et al.*, 2017).

A segunda é a *Escherichia coli*, uma Gram-negativa, comumente encontrada no intestino. Essa bactéria é frequentemente associada a infecções no trato urinário (ITUs), que ocorrem quando as bactérias uropatogênicas se deslocam até a região periuretral (Barbosa *et al.*, 2022; Tenaillon *et al.*, 2010). A espécie *Escherichia coli* pode adquirir resistência a diversos antibióticos por diferentes mecanismos. No caso das quinolonas e fluoroquinolonas, a resistência geralmente ocorre por mutações nos alvos dos fármacos, como a DNA girase e a topoisomerase IV. Já a resistência aos β-lactâmicos está associada à presença de genes como o *blaTEM-1*, que codificam enzimas capazes de inativar penicilinas e aminopenicilinas (Poirel *et al.*, 2018).

Nesse contexto, estudos direcionados à descoberta e desenvolvimento de moléculas bioativas tornam-se indispensáveis para suprir as lacunas existentes nas estratégias atuais de combate à resistência bacteriana e à formação de biofilmes, contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais eficazes e a contenção da propagação de cepas multirresistentes.

## 2.5 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Os fungos compreendem uma grande variedade de organismos, sendo um dos grupos mais diversos da Terra. Em sua maioria, são multicelulares, como os fungos filamentosos, em que sua estrutura vegetativa é formada por uma rede de filamentos, chamada hifas. Durante o crescimento, as hifas se ramificam repetidamente, formando o micélio, amplamente conhecido como bolor e pode ser facilmente visualizado. Também há fungos com estruturas reprodutivas visíveis a olho nu, como os cogumelos, e outros que se apresentam na forma unicelular, as leveduras (Papagianni, 2004; Takahashi *et al.*, 2017)

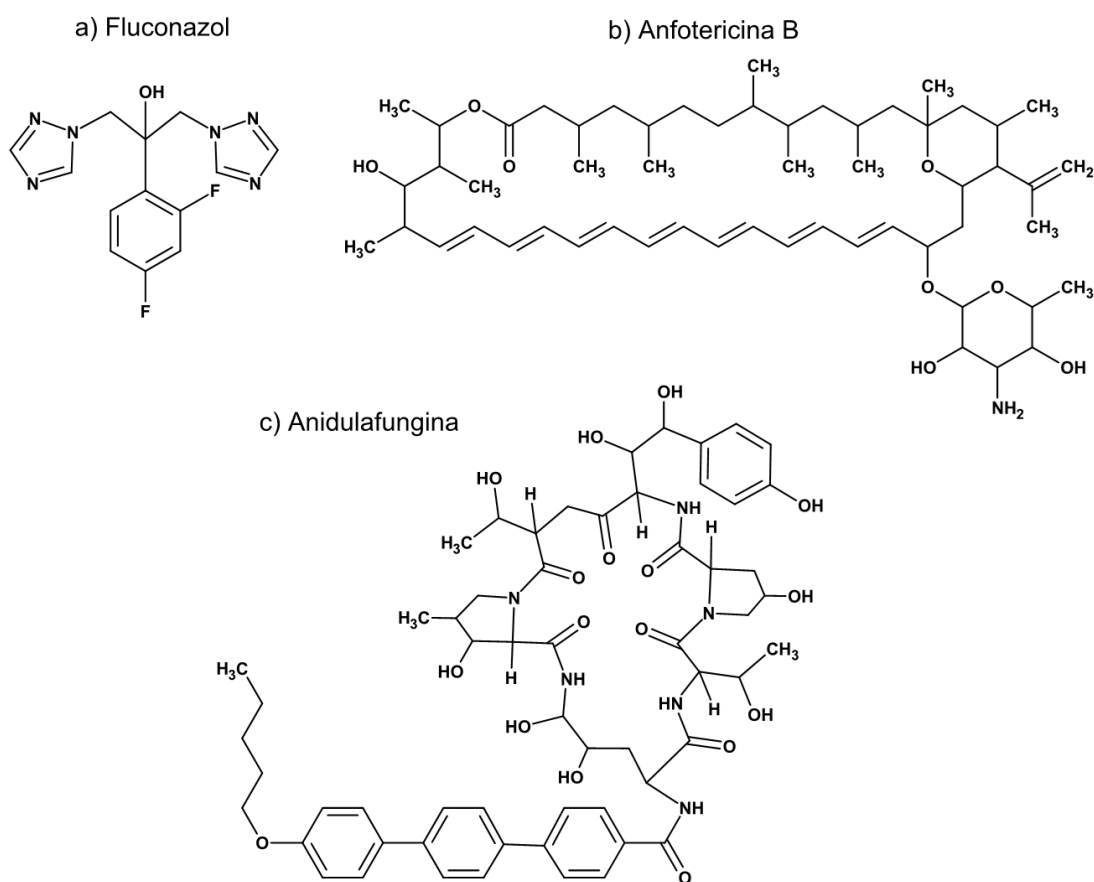
A maioria dos fungos é mais conhecida por seu uso na indústria alimentícia, especialmente na produção de alimentos fermentados e bebidas alcoólicas (Niego *et al.*, 2023). No entanto, existem outras aplicações importantes, como na agricultura, por meio de bioformulações com cepas de *Trichoderma* que promovem a nutrição de plantas, além do tratamento de águas residuais, com o uso de *Aspergillus Niger* (Galeano *et al.*, 2024; Jing *et al.*, 2025). Apesar de sua ampla aplicação benéfica para a sociedade, alguns fungos ainda podem ocasionar doenças.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) alerta sobre o agravamento das doenças fúngicas, impulsionado sobretudo pelo aumento das cepas resistentes a medicamentos, pela formação de biofilme e pela maior incidência de pacientes com imunidade baixa em decorrência de tratamentos que afetam o sistema imune (World Health Organization, 2022).

Existe uma grande dificuldade na seleção de fármacos antifúngicos, já que poucos tem toxicidade seletiva. Sendo assim, três principais antifúngicos que são amplamente utilizados na medicina: os azóis, às equinocandinas e os polienos. Os antifúngicos azólicos, como o fluconazol (Figura 28a), atuam inibindo a via biossintética do ergosterol, um componente essencial da membrana celular fúngica. Essa inibição compromete a integridade da membrana, alterando sua permeabilidade

e estabilidade, o que impede o crescimento do fungo (Cowen *et al.*, 2015). A anfotericina B (Figura 28b), único representante dos polienos ainda disponível comercialmente, também atua na membrana celular, promovendo alteração em sua permeabilidade e efluxo do conteúdo intracelular (Logan; Wolfe; Williamson, 2022). Por fim, as equinocandinas, como a anidulafungina (Figura 28c), atuam sobre a parede celular fúngica ao inibir a enzima responsável pela formação do 1,3- $\beta$ -D-glucano, um dos principais constituintes dessa estrutura, ocasionando instabilidade osmótica e morte celular (Hossain *et al.*, 2022).

**Figura 28.** Estruturas químicas de a) fluconazol; b) anfotericina B; c) Anidulafungina



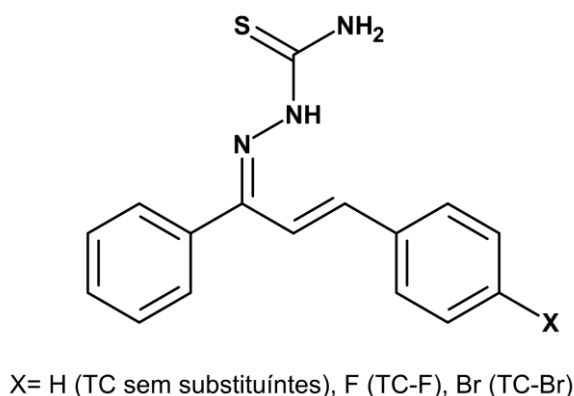
Fonte. A autora.

Embora esses medicamentos sejam amplamente utilizados, os fungos apresentam resistência por diferentes mecanismos. No caso das equinocandinas, por exemplo, mutações no gene FKS1 resultam em alterações nos aminoácidos da estrutura da enzima, comprometendo a efetividade do fármaco (Logan; Wolfe; Williamson, 2022). Nesse contexto, a comunidade científica vem explorando a relação

entre as chalconas e fungos, a fim de desenvolver novas estratégias de combate a resistência e infecções fúngicas.

Felippe *et al.* (2025) sintetizaram uma série de quatro tiossemicarbazonas-chalconas (TC) e avaliaram sua atividade antifúngica contra diversas cepas de fungos. Os resultados indicaram que as TC apresentam atividade significativa contra o gênero *Aspergillus*, com destaque para o composto substituído com flúor, que inibiu 76,4% do crescimento radial na maior concentração utilizada, seguido pela TC sem substituintes, com 74,1% de inibição. Além disso, as chalconas também demonstram atividade contra *Candida krusei*, com destaque para o derivado de chalcona sem substituinte e substituído com bromo, que apresentaram concentrações inibitórias mínimas de 0,014  $\mu\text{mol L}^{-1}$  e 0,011  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente. As estruturas dos compostos em destaque estão representadas na Figura 29.

**Figura 29.** Compostos sintetizados por Felipe *et al* (2025) que apresentaram atividade antifúngica significativa



Fonte. Adaptado de Felipe *et al.* Antifungal effects of thiosemicarbazone-chalcones on *Aspergillus*, *Candida* and *Sporothrix* strains. **Archives of Microbiology**, v. 207, n. 1, jan. 2025. Disponível em: 10.1007/s00203-024-04229-4. Acesso em: 16 jul. 2025.

Dentre as espécies de fungos mais testadas com chalconas, destaca-se *Candida albicans*. Em condições normais de saúde, esse fungo faz parte da microbiota humana e não apresenta risco ao indivíduo, sendo naturalmente encontrado no trato intestinal, sistema reprodutor, mucosa e cavidade oral (Schaefer *et al.*, 2022). Entretanto, é considerado um fungo oportunista, já que sua patogenicidade está associada a indivíduos imunocomprometidos ou formação de biofilmes, causando infecções fúngicas ou sistêmicas (Macias-Paz *et al.*, 2023).

A *Cândida albicans* apresenta diferentes morfologias, que favorecem sua interação com o sistema imunológico e facilitam sua disseminação. Por exemplo, ao

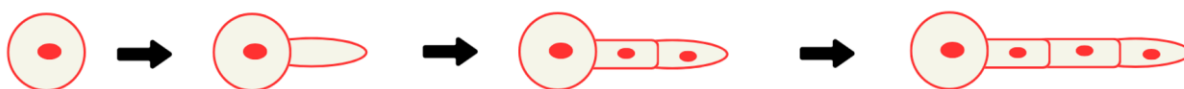
passarem da forma de levedura (pequenas células de 4-6  $\mu\text{m}$ ) para filamentosa, caracterizada por estruturas alongadas, tornam-se mais resistentes à fagocitose, uma vez que os leucócitos apresentam dificuldade para englobar estruturas maiores. Assim, *Candida albicans* pode ocorrer como brotos, pseudo-hifas ou hifas, como demonstrado na Figura 30, assumindo diferentes morfologias em função dos ambientes hospedeiro (Min; Neiman; Konopka, 2020).

**Figura 30.** Crescimento da *Candida albicans* como a) pseudo-hifa b) hifa c) mudança entre as formas de crescimento

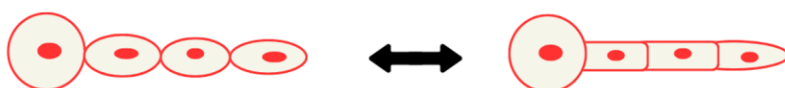
a) Crescimento da *Pseudo-hifa*



b) Crescimento da *hifa*



c) Mudança na morfologia no hospedeiro

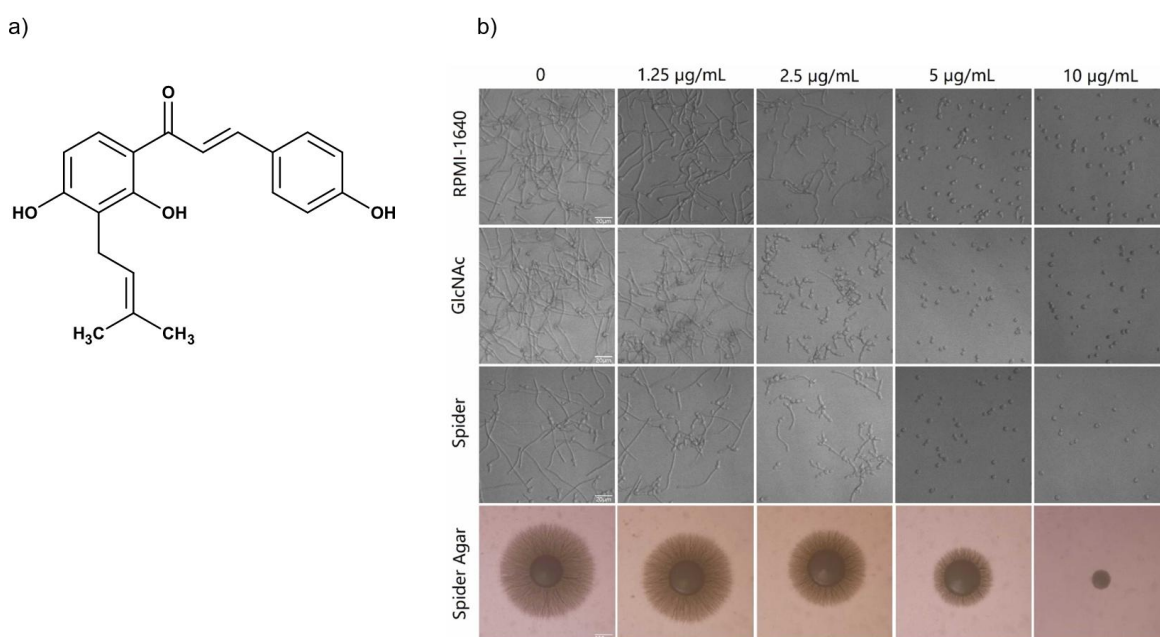


Fonte. Traduzido e adaptado de Min, L.; Neiman, A.; Konopka, J. Fungal Pathogens: Shape-Shifting Invaders. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 11, nov. 2020. Disponível em: 10.1016/j.tim.2020.05.001. Acesso em: 16 jul. 2025.

Dentro desse contexto, a literatura apresenta relatos sobre atividade de chalconas contra essa espécie de fungo. Yang e colaboradores (2024), avaliaram a atividade antifúngica da isobavachalcona (IBC) (Figura 31a) frente a duas cepas padrão de nove isolados clínicos de *Candida albicans*, investigando também os fatores de virulência, como adesão, formação de *hifas* e biofilmes. Como resultado, a IBC demonstrou efeitos antifúngicos significativos contra todas as cepas de *C. albicans* testadas, com concentrações mínimas inibitórias entre 4 a 5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Além disso, reduziu a adesão da *C. albicans* em superfícies abióticas, com inibição variando de 22 e 73% nas concentrações de 1,25 e 2,5  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectivamente. Em relação ao efeito da IBC sobre o crescimento de hifas, foram utilizados três meios líquidos

(GlcNAc, Spider e 1640) e um meio sólido à base de ágar. Nos meios líquidos, observou-se que, na concentração de  $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ , a transição para a forma filamentosa foi quase totalmente bloqueada. No entanto, para inibir completamente a formação de hifas em todos os meios, incluindo o sólido, foi necessária uma concentração de  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Figura 31b). Para inibir a formação de biofilmes, foram necessários concentrações de 1,25 a  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ , resultando em uma redução de aproximadamente 78% do crescimento.

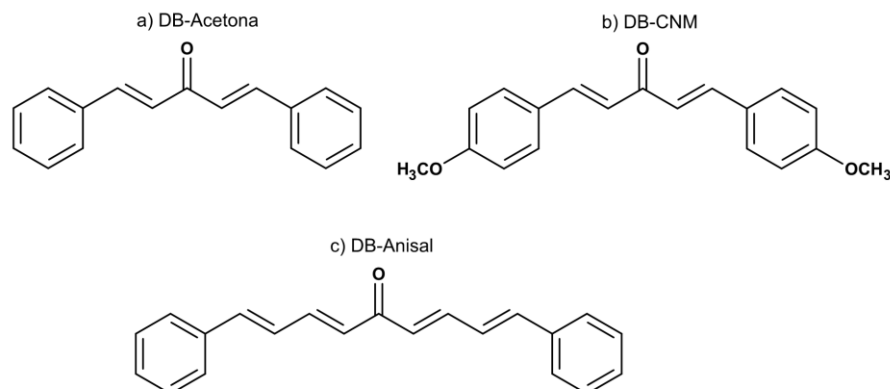
**Figura 31.** Ilustrações de a) estrutura química da isobavachalcona b) ensaio da transição de levedura para hifa



Fonte. Adaptado de Yan *et al.* Inhibitory effects and mode of antifungal action of isobavachalcone on *Candida albicans* growth and virulence factors. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 179, [s.n.], out. 2024. Disponível em: 10.1016/j.biopha.2024.117352. Acesso em: 16 jul. 2025.

Santos *et al.* (2025) avaliaram o efeito de três chalconas, sendo elas a DB-Acetona, DB-CNM e DB-Anisal, Figura 32, previamente sintetizadas e caracterizadas por Santos *et al.* (2023), investigando sua atividade sobre biofilmes e realizando estudos de *docking* molecular. Os resultados mostraram que, contra a cepa *C. albicans* INCQS 40006, DB-Acetona, DB-Anisal e DB-CNM inibiram 100% da formação de biomassa em três concentrações testadas. Além disso, o estudo de *docking molecular* indicou que essas chalconas apresentaram valores expressivos de energia de afinidade para os sítios de ligação de *C. albicans*.

**Figura 32.** Estrutura química da a) DB-acetona, b) DB-CNM e c) DB-Anisal



Fonte. Santos *et al.* *In silico activity and effect of synthetic chalcones on Candida albicans and Candida tropicalis biofilms*. **Biochimie**, v, 234, [s.n.], jul. 2025. Disponível em: 10.1016/j.biochi.2025.03.004. Acesso em: 16 jul. 2025.

Além disso, Graciani *et al.* (2023) avaliaram um novo irrigante endodôntico formulado com diferentes aminochalconas. Quando testadas frente à cepa *Candida albicans* MYA2876, a aminochalcona AM-38 destacou-se, apresentando valores de Concentração Fungicida Mínima (CFM) entre 7,8 e 15,6  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , o que evidencia seu potencial como agente antifúngico. Diante desses resultados promissores, essa molécula foi selecionada para a continuidade dos testes. O irrigante endodôntico contendo AM-38, na concentração de 10 vezes a CIM, foi avaliado quanto à sua capacidade de erradicar biofilme formado sobre hidroxiapatita (HA), demonstrando redução significativa na formação de biofilme de *C. albicans* em comparação ao grupo controle não tratado. Por fim, o novo irrigante apresentou perfil de segurança favorável, sem demonstrar toxicidade em células de fibroblastos gengivais humanos nem em modelos *in vivo* utilizando *Galleria mellonella*.

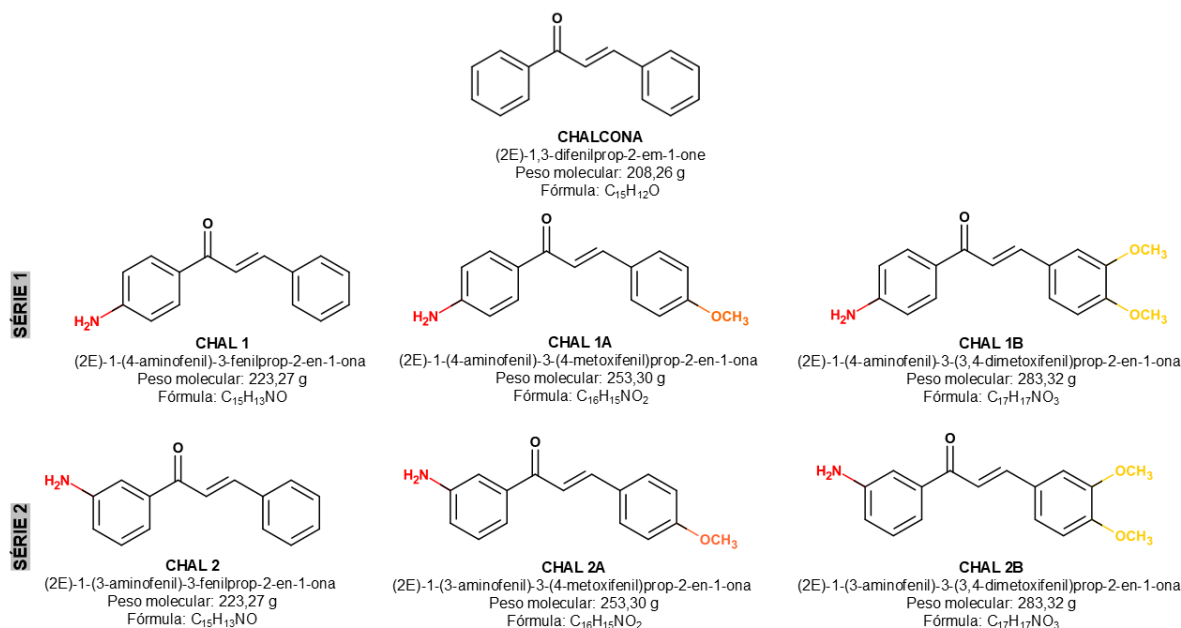
Dessa forma, diversos derivados de chalconas têm sido amplamente investigados na literatura quanto à sua atividade frente à *Candida albicans*, revelando resultados promissores para o desenvolvimento de novos fármacos. No entanto, ainda são escassos os estudos que envolvem especificamente aminochalconas, bem como análises aprofundadas da relação entre estrutura e atividade biológica desses compostos. Nesse contexto, o presente trabalho busca contribuir para o preenchimento dessas lacunas, avaliando os efeitos dos grupamentos amino e metoxila na estrutura das chalconas e sua influência sobre a atividade antifúngica.

### 3 DELIMITAÇÃO DE PROBLEMAS E HIPÓTESES

Apesar do reconhecido potencial farmacológico das aminochalconas, ainda existem lacunas importantes na compreensão de como variações estruturais influenciam suas atividades biológicas. Em especial, a posição do grupo amino no anel aromático A pode desempenhar um papel determinante nessa relação. Diante disso, este estudo propõe a síntese de duas séries de aminochalconas: uma com o grupo amino na posição *para* e outra com o grupo amino na posição *meta* do anel aromático A. Sendo assim, esse trabalho contribui para o aprofundamento do conhecimento sobre a relação estrutura-atividade das aminochalconas.

Os compostos selecionados para a síntese estão apresentados na Figura 33, acompanhados de suas respectivas nomenclaturas convencionais e IUPAC, massa molar e fórmulas químicas.

**Figura 33.** Estruturas das chalconas para serem sintetizadas, nomes convencionais, nomes IUPAC, massa molar e fórmula química



Fonte. A autora.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar chalconas substituídas com o grupo amino no anel derivado da acetofenona e grupo metoxila no anel derivado do benzaldeído, visando à avaliação da atividade biológica desses compostos por meio de ensaios específicos.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar a síntese de derivados de aminochalconas pelo método de Claisen-Schmidt, empregando catálise homogênea em meio básico.

Purificar e caracterizar as chalconas obtidas por meio de técnicas espectroscópicas, incluindo Ressonância Magnética Nuclear (RMN) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC, bem como a determinação do ponto de fusão.

Avaliar atividade antioxidante dos compostos sintetizados por meio dos ensaios DPPH, FRAP e TBARS, e investigar o potencial antibacteriano e antibiofilme frente às cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Escherichia coli* ATCC 2785 e potencial antifúngico frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 MATERIAL

Para as sínteses das chalconas, análise de caracterização espectroscópica por RMN e atividades antioxidantes, fez-se o uso dos reagentes listados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Reagentes e solvente utilizados, suas marcas e grau de pureza.

| Reagente                                  | Marca         | Grau de pureza (%) |
|-------------------------------------------|---------------|--------------------|
| Benzaldeído                               | Dinâmica      | 99,00              |
| Aldeído Anísico                           | Neon          | 98,00              |
| 3,4-dimetóxi-benzaldeído                  | Sigma-Aldrich | 99,00              |
| 4'-aminoacetofenona                       | Sigma-Aldrich | 99,00              |
| 3'-aminoacetofenona                       | Sigma-Aldrich | 97,00              |
| Álcool etílico                            | Neon          | 99,50              |
| Hidróxido de sódio                        | Biotec        | 99,00              |
| Clorofórmio Deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) | Sigma-Aldrich | 99,80              |
| 2,2-difenil-1-picrilhidrazil              | Sigma-Aldrich | 99,90              |
| 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina          | Sigma-Aldrich | 98,00              |
| Acetato de sódio anidro                   | Sigma-Aldrich | 99,00              |
| Cloreto de ferro III<br>hexahidratado     | Sigma-Aldrich | 97,00              |
| Ácido Acético                             | Sigma-Aldrich | 99,7               |
| Ácido clorídrico                          | Sigma-Aldrich | 37,00              |
| Dimetilsulfóxido                          | Sigma-Aldrich | 99,7               |
| Álcool etílico                            | Reatec        | 95,00              |
| Miller-Hinton                             | Sigma-Aldrich | -                  |

Fonte. A autora.

Para o desenvolvimento do trabalho, utilizou-se os seguintes equipamentos: um espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear Bruker 400MHz, modelo AVANCE III, para aquisição dos espectros de RMN uni e bidimensional dos compostos; um leitor de microplacas Elisa Synergy H1 – Biotek, utilizado para a leitura

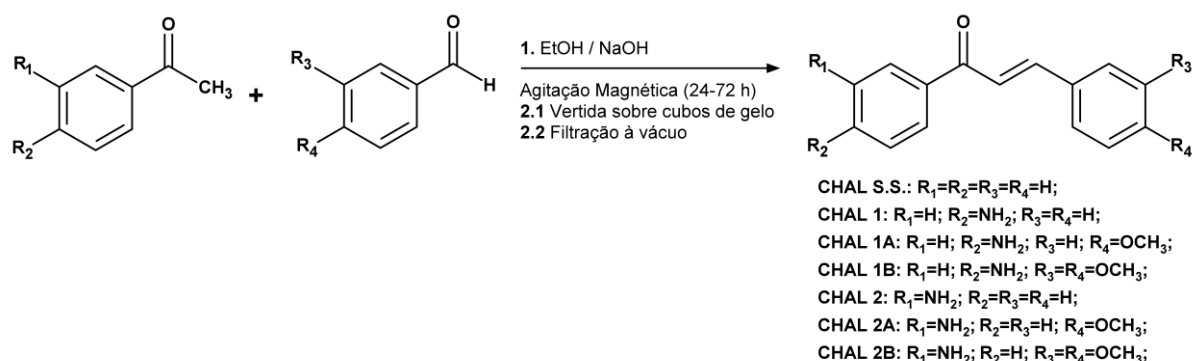
das placas de 96 poços; e um equipamento digital de ponto de fusão MQAPF-301 com taxa de aquecimento de 1,0 °C por minuto, para a determinação dos pontos de fusão dos compostos, espectrofotômetro UV-Vis Genesys 50 (Thermo Scientific) para a leitura da densidade óptica das suspensões bacterianas e fúngicas, e cabine de fluxo laminar vertical (modelo Filterflux), a fim de garantir condições assépticas durante os procedimentos experimentais.

## 5.2 MÉTODOS

### 5.2.1 Síntese das chalconas

Os compostos foram sintetizados por meio da reação de Claisen-Schmidt sob catálise básica, com a utilização de uma solução aquosa de hidróxido de sódio a 50%. Em um balão de fundo redondo, adicionou-se 5 mmol de acetofenona e 15 mL de álcool etílico, seguidos de 1 mL do catalisador. Após 30 minutos de reação, adicionou-se 5 mmol do benzaldeído correspondente a cada síntese. As misturas reacionais foram mantidas sob agitação magnética por um período de 24-72 horas, e, em seguida, foi vertida sobre gelo quebrado para promover sua precipitação. O sólido obtido foi filtrado a vácuo, conforme a metodologia adaptada descrita por Santiago *et al.* (2018). Para purificação utilizou-se a recristalização feita com EtOH e água (1:2). Na Figura 34, observa-se o esquema representativo da reação geral.

**Figura 34.** Esquema de reação geral para a síntese das chalconas.



Fonte. Elaborado pela autora no software MarvinSketch.

### 5.2.2 Caracterizações

As chalconas obtidas foram submetidas a caracterização por Ressonância Magnética Nuclear, obtiveram-se os espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC pelo espectrômetro de RMN – Bruker 400MHz AVANCE III alocado no Complexo de Laboratórios Multiusuário (C-LABMU) na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). As análises foram realizadas com a uma temperatura de 25°C, sendo utilizado até 20 mg de cada composto dissolvido em clorofórmio deuterado ( $\text{CDCl}_3$ ) como solvente e tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Para a determinação dos pontos de fusão dos compostos, utilizou-se um equipamento digital de ponto de fusão MQAPF-301 com taxa de aquecimento de 1,0 °C por minuto.

### 5.2.3 Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH

Em uma microplaca, foram adicionados 160  $\mu\text{L}$  de solução etanólica de DPPH (0,15  $\text{mmol L}^{-1}$ ) a cada poço, seguidos por 40  $\mu\text{L}$  das soluções estoques das chalconas, preparadas em etanol, nas concentrações de 80, 70, 60, 50 e 40  $\text{mmol L}^{-1}$ . Dessa forma, as concentrações finais das chalconas nos poços foram de 16, 14, 12, 10 e 8  $\text{mmol L}^{-1}$ . A microplaca foi incubada na ausência de luz por 30 min e, ao final, as absorbâncias foram determinadas diretamente na própria placa, a 517 nm, em um leitor de microplacas Elisa Synergy H1 – Biotek. A porcentagem de inibição foi calculada pela Equação 1 e posteriormente foram comparados com uma solução padrão de quercitina (Hamloui *et al*, 2018; Blois *et al*, 1958).

$$\% \text{ Inibição} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{Abs}_0 - \text{Abs}_1}{\text{Abs}_0} \right) \right] \times 100 \quad (1)$$

Onde a  $\text{Abs}_0$  é a absorbância do controle da reação, e a  $\text{Abs}_1$  é a absorbância da amostra contendo o composto em análise.

### 5.2.4 Determinação do poder antioxidante redutor de Íons Férricos (FRAP)

A capacidade antioxidante das chalconas também foi avaliada pelo método FRAP. As soluções de trabalho foram feitas conforme o trabalho de Sachett *et al* (2021) e estão descritas, de forma resumida, na Tabela 2.

**Tabela 2.** Soluções de trabalho para o FRAP

| Soluções de trabalho | Tampão acetato<br>(300 mmol L <sup>-1</sup> ) | Água ultrapura | Solução de TPTZ | Solução de FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O<br>(20 mmol) |
|----------------------|-----------------------------------------------|----------------|-----------------|--------------------------------------------------------------|
| Com TPTZ             | 15 mL                                         | 1,5 mL         | 1,5 mL          | 1,5 mL                                                       |
| Sem TPTZ             | 15 mL                                         | 1,5 mL         | ---             | 1,5 mL                                                       |

\* TPTZ - 2,4,6-Tris(2-Piridil)-S-Triazina.

Fonte. SACHETT, A. *et al.* **Antioxidant activity by FRAP: *in vitro* protocol.** Disponível em: 10.17504/protocols.io.btqrmv6. Acesso em: 28 mar. 2025.

Para isso, em um microtubo, adicionou-se 10 µL da solução estoque etanólica da chalcona (5 mmol L<sup>-1</sup>) e 300 µL da solução de trabalho com TPTZ. Para o controle, adicionou-se 10 µL da amostra e 300 µL da solução de trabalho sem TPTZ. Feito isso, os microtubos foram incubados em um banho a seco a 37°C por 15 minutos. Após a incubação, transferiu-se 250 µL do conteúdo de cada microtubo para um poço na microplaca e sua absorbância foi medida em 593 nm em leitor Elisa Synergy H1 - Biotek.

Para o cálculo e determinação dos resultados fez-se uma curva padrão utilizando diferentes concentrações de FeSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O (100; 400; 800; 1200; 1600; 2000 µmol L<sup>-1</sup>) *versus* sua absorbância. A partir desta, plotou-se a equação da reta para determinar a concentração das amostras, expressa em mmol equivalentes de Fe<sup>2+</sup> das amostras.

#### 5.2.5 Análise da atividade antioxidante pela inibição da peroxidação lipídica

A atividade antioxidante foi realizada de acordo com a metodologia descrita por Daker *et al* (2007). Inicialmente realizou-se o preparo das soluções trabalho, compostas por: solução tampão fosfato de sódio 0,10 mol L<sup>-1</sup> em pH 7,4; solução de homogenato de gema de ovo; solução indutora de oxidação de FeSO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O 4 mmol L<sup>-1</sup>; solução de ácido acético a 20% em pH 3,5; e uma solução de TBA a 46 mmol L<sup>-1</sup>.

Em um tubo cônico, misturou-se 500 µL da solução homogenato de gema de ovo com 50 µL da solução estoque etanólica da chalcona (5 mmol L<sup>-1</sup>). Após cinco minutos, adicionou-se 50 µL da solução de sulfato ferroso, homogeneizando-a em vórtex. Em seguida, os tubos foram incubados durante 45 minutos em banho-maria a

37°C. Feito isso, adicionaram-se 500 µL da solução de ácido acético e 1000 µL da solução de TBA, sendo os tubos submetidos novamente em banho-maria a 100°C por 30 minutos. Após o aquecimento, transferiu-se 1 mL da solução para um microtubo e realizou-se a centrifugação durante 15 minutos a 10.000 rpm. Por fim, 300 µL do sobrenadante foram transferidos para uma microplaca de 96 poços, e sua absorbância foi determinada diretamente na própria placa, em 532 nm, em um leitor de microplaca Elisa Synergy H1 – Biotek. Para o cálculo de porcentagem de inibição, utilizou-se a Equação 2.

$$\% \text{ Inibição} = \left[ 1 - \left( \frac{Abs_{amostra}}{Abs_{controle}} \right) \right] \times 100 \quad (2)$$

Onde  $Abs_{amostra}$  representa a absorbância da amostra analisada e  $Abs_{controle}$  corresponde à absorbância do controle sem antioxidante.

#### 5.2.6 Atividade Antibacteriana e Antifúngica

A avaliação das atividades biológicas das chalconas frente às cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Escherichia coli* ATCC 25922 e *Candida albicans* ATCC 10231 foi realizada conforme a metodologia adaptada de Vasconcelos *et al* (2014). As chalconas foram solubilizadas em DMSO previamente filtrado, formando soluções estoque nas concentrações de 5 mmol L<sup>-1</sup> e 10 mmol L<sup>-1</sup>.

Para o preparo do pré-inóculo, as bactérias inoculadas em um erlenmeyer contendo 5 mL de meio Mueller-Hinton (Himedia), sendo incubadas sob agitação orbital de 120 rpm a 37 °C durante 12 horas. Em seguida, preparou-se o inóculo transferindo-se 1 mL do pré-inóculo para 10 mL de um novo erlenmeyer contendo meio Mueller–Hinton. Este foi incubado novamente a 37 °C sob agitação até que a densidade óptica (DO<sub>600</sub>) atingisse 0,5. A medida da DO foi realizada a 600 nm, em um espectrofotômetro UV–Vis Genesys 50 (Thermo Scientific), utilizando 1 mL desse novo meio transferido para uma cubeta. Esse valor corresponde a aproximadamente 1 × 10<sup>8</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

Para os ensaios, em uma microplaca foram pipetados 4 µL da solução de chalcona (5 ou 10 mmol L<sup>-1</sup>), seguidos de 176 µL de caldo Mueller-Hinton e 20 µL da suspensão bacteriana. Sendo assim, as concentrações finais das chalconas foram de 0,1 e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

As microplacas foram incubadas a 37 °C, e a leitura da absorbância foi realizada diretamente na microplaca em 600 nm nos tempos de 0, 24 e 48 horas. A porcentagem de inibição do crescimento bacteriano foi calculada utilizando a Equação 3.

$$\% \text{ Crescimento} = \left[ \left( \frac{Abs_{amostra} - Abs_{branco}}{Abs_{controle\ negativo}} \right) \right] \times 100 \quad (3)$$

Onde  $Abs_{amostra}$  representa a absorbância da amostra com chalcona,  $Abs_{branco}$  corresponde à absorbância medida no tempo 0 h e  $Abs_{controle\ negativo}$  refere-se à absorbância do controle sem a adição de chalcona.

### 5.2.7 Formação de biofilmes

O teste de formação de biofilme foi realizado seguindo a metodologia proposta por O'Toole e Kolter (1998). Após 24 h e 48 h de incubação, o meio de cultura foi cuidadosamente removido das placas de 96 poços, e o biofilme foi lavado três vezes com solução salina estéril a 0,9% para eliminar as células não aderidas. Em seguida, as placas foram secas em temperatura ambiente por 24 horas. Posteriormente, adicionaram-se 100 µL de solução de 0,1% cristal violeta em etanol a 5% a cada poço, deixando-a em contato por 30 minutos. Após esse período, as placas foram novamente lavadas com solução salina estéril e mantidas por 24 horas a temperatura ambiente para secagem completa.

Para solubilização do corante retido no biofilme, adicionou-se 200 µL de etanol a 95%, e a absorbância foi então lida a 570 nm. A produção de biofilme foi calculada utilizando a Equação 4.

$$\text{Produção de biofilme} = \frac{Abs_{amostra\ (570nm)}}{Abs_{c.\ b.(600nm)} - Abs_{Branco\ do\ c.\ b.(600nm)}} \quad (4)$$

Onde  $Abs_{amostra}$  representa a absorbância da amostra com biofilme corado,  $Abs_{c.\ b.}$  corresponde à absorbância medida na microplaca do crescimento bacteriano (24 h ou 48 h) e  $Abs_{Branco\ do\ c.\ b.}$  é a absorbância do branco das amostras do crescimento bacteriano.

#### 5.2.8 Tratamento estatístico

Todos os dados quantitativos, incluindo atividade antioxidante, antibacteriana, antibiofilme e antifúngica, foram inicialmente submetidos ao teste de normalidade de Shapiro–Wilk e ao teste de homogeneidade de variâncias de Levene com significância de 5%. Posteriormente, as análises estatísticas paramétricas foram conduzidas por meio de ANOVA, considerando um nível de significância de  $p \leq 0,05$ , e as diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de comparações múltiplas de Tukey.

Para as análises não paramétricas, os dados foram inicialmente submetidos ao teste de Kruskal–Wallis. Quando os resultados indicaram significância no teste global, realizou-se o teste post-hoc de comparações múltiplas de Dunn, com ajuste de significância pelo método de Bonferroni. Todas as análises estatísticas foram realizadas no ambiente RStudio (versão 3.6).

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 SÍNTESE DOS COMPOSTOS

As chalconas sintetizadas foram obtidas por meio da reação entre uma acetofenona e um benzaldeído, ambos substituídos com os grupos de interesse. Após o isolamento dos compostos, conforme descrito na seção anterior, o rendimento e as características dos compostos estão apresentados na Tabela 3.

**Tabela 3.** Produtos obtidos na síntese, reagentes utilizados, suas características e rendimento.

| Produtos da síntese | Reagentes utilizados     |                     | Características do produto | Rendimento (%) |
|---------------------|--------------------------|---------------------|----------------------------|----------------|
|                     | Aldeídos                 | Acetofenonas        |                            |                |
| CHAL                | Benzaldeído              | Acetofenona         | Sólido branco              | 63             |
| CHAL 1              | Benzaldeído              | 4'-aminoacetofenona | Sólido laranja             | 49             |
| CHAL 1A             | Aldeído Anísico          | 4'-aminoacetofenona | Sólido amarelo claro       | 24             |
| CHAL 1B             | 3,4-dimetóxi-benzaldeído | 4'-aminoacetofenona | Sólido amarelo claro       | 27             |
| CHAL 2              | Benzaldeído              | 3'-aminoacetofenona | Sólido amarelo escuro      | 81             |
| CHAL 2A             | Aldeído Anísico          | 3'-aminoacetofenona | Sólido amarelo escuro      | 25             |
| CHAL 2B             | 3,4-dimetóxi-benzaldeído | 3'-aminoacetofenona | Sólido amarelo escuro      | 82             |

Fonte. A autora.

Os rendimentos obtidos variaram de acordo com os substituintes presentes no aldeído e na acetofenona. Ao comparar os compostos CHAL, CHAL 1 e CHAL 2, observa-se que a inserção do grupo amino na acetofenona influencia consideravelmente os rendimentos. Além disso, há uma diferença entre os rendimentos da 3'-aminochalcona e 4'-aminochalcona, que se diferem apenas pela posição do grupo amino no anel aromático A.

Os compostos sintetizados a partir do aldeído anísico (CHAL 1A e CHAL 2A) apresentaram os menores rendimentos da série, 24% e 25%, respectivamente. Esse resultado pode estar associado à menor reatividade do aldeído, cuja carbonila, menos eletrofílica, dificultaria o ataque nucleofílico do ânion enolato da acetofenona. No entanto, não se pode descartar que fatores como a baixa solubilidade do aldeído no meio reacional também influenciem o rendimento. Essa possibilidade é reforçada pelo

fato de que aldeídos contendo dois grupos metoxi na porção aromática, que possuem efeito eletrônico semelhante, apresentaram rendimentos superiores, sugerindo que a reatividade não seja o único fator determinante.

De forma geral, esses dados evidenciam que a posição dos grupos substituintes, bem como a sua quantidade e solubilidade influenciam o rendimento da reação e a característica dos produtos finais. Após a síntese dos compostos, os mesmos foram submetidos a caracterização por Ressonância Magnética Nuclear e Ponto de Fusão.

## 6.2 CARACTERIZAÇÕES

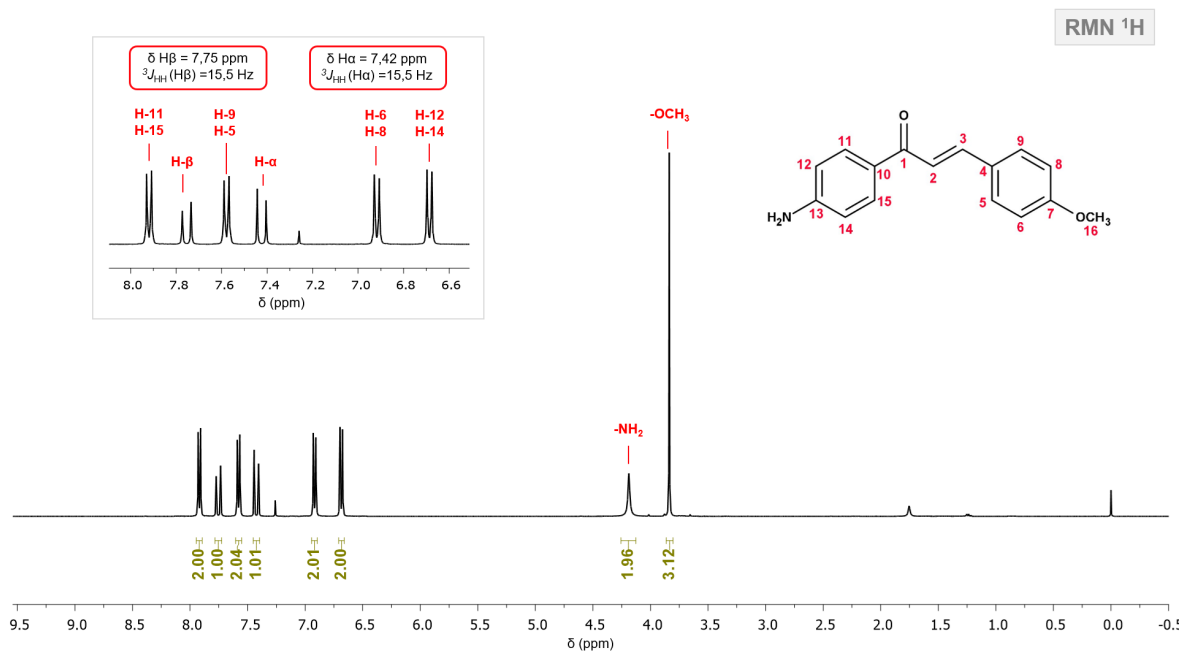
### 6.2.1 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Para determinar de forma inequívoca a estrutura dos compostos sintetizados, foram obtidos os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , HSQC e HMBC para todas as chalconas. Os espectros de RMN estão apresentados nos Anexos A–G e para fins de exemplificação, será detalhada a interpretação dos espectros da 4'-amino-4-metóxi-chalcona (CHAL 1A).

Ao analisar o espectro de  $^1\text{H}$  da CHAL 1A (Figura 35) observa-se a ausência do sinal do hidrogênio ligado à carbonila no benzaldeído, que apresenta deslocamento químico entre 9,00 e 10,00 ppm. Além disso, não é identificado o sinal característico do grupo metila presente na acetofenona, que aparece na região de 2,10 a 2,40 ppm. Sendo assim, conclui-se que não há sobra dos reagentes de partida no composto obtido (Pavia *et al.*, 2021).

Ainda no espectro, verifica-se a presença de sinais na região de 8,00 a 6,60 ppm, atribuídos aos hidrogênios dos anéis aromáticos e os hidrogênios vinílicos presentes na estrutura do composto. Dentre esses, o sinal referente ao H-11 e H-15 apresenta-se mais deslocado devido ao efeito de desblindagem proporcionado pela carbonila. Da mesma forma, os hidrogênios H-9 e H-5 também apresentam maior deslocamento em decorrência do sistema  $\alpha$ - $\beta$  insaturado. Ademais, é possível identificar dois simpletos, o primeiro em 4,19 ppm, que corresponde aos hidrogênios do grupo amino ( $\text{NH}_2$ ), e o segundo, em 3,84 ppm, característico dos hidrogênios do grupo metoxila ( $\text{OCH}_3$ ).

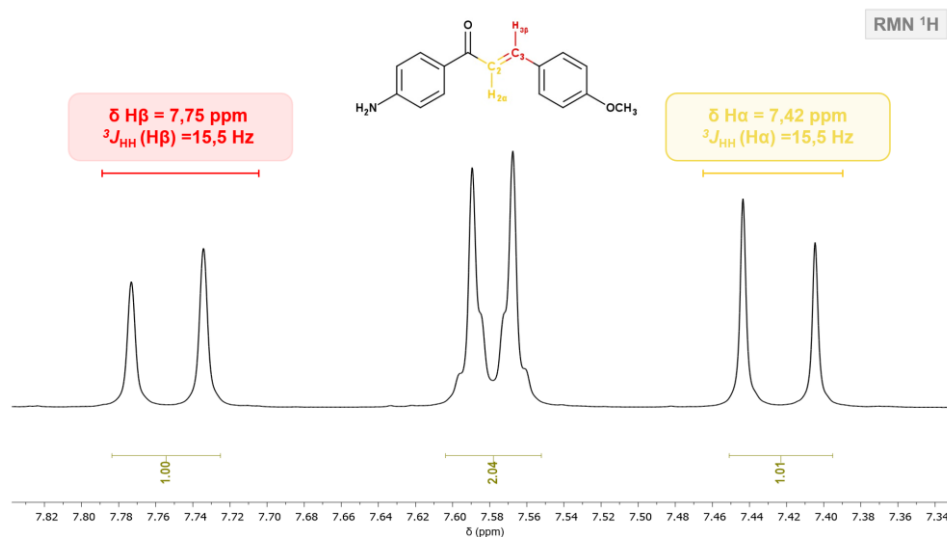
**Figura 35.** Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  do composto 1A.



Fonte. A autora.

Ao ampliar o espectro (Figura 36), é possível verificar dois dupletos referentes aos hidrogênios vinílicos, característicos da formação do produto sintetizado. O primeiro sinal encontra-se em 7,75 ppm e corresponde ao hidrogênio  $\beta$ , enquanto o segundo, em 7,42 ppm, refere-se ao hidrogênio  $\alpha$ . Os dupletos analisados apresentam constante de acoplamento de 15,50 Hz, evidenciando que os hidrogênios da ligação vinílica adotam configuração *trans*. Conforme Pretsch *et al.* (1989), constantes de acoplamento compreendidas entre 12,00 e 18,00 Hz são indicativas dessa configuração.

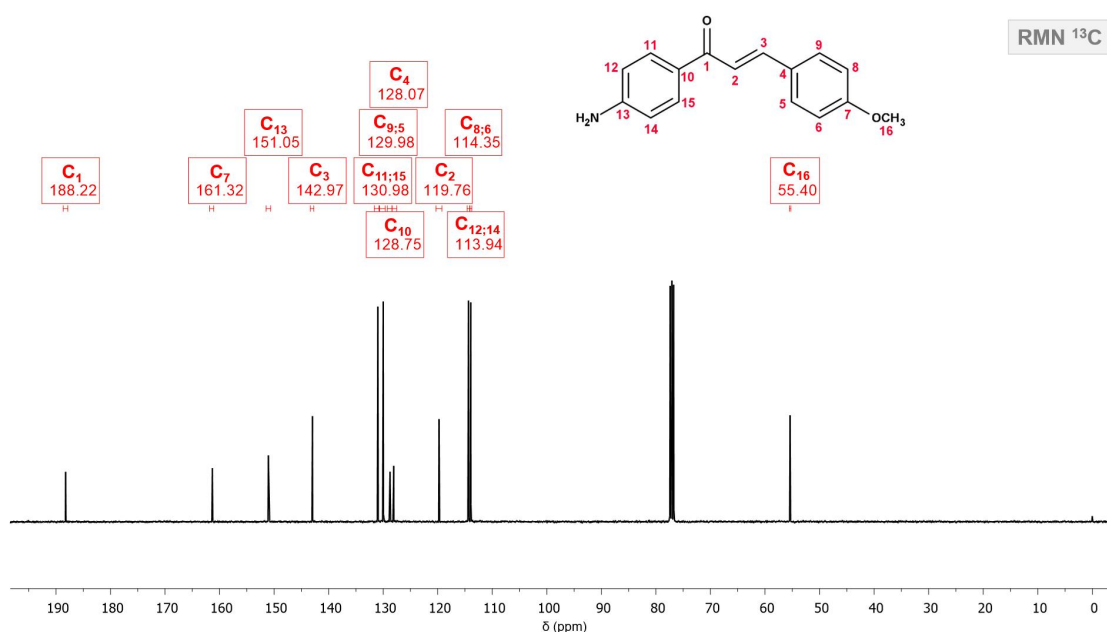
**Figura 36.** Dupletos da chalcona 1A.



Fonte. A autora.

No espectro de  $^{13}\text{C}$ , Figura 37, é possível observar a presença de um sinal em 188,22 ppm que se refere ao carbono carbonílico ( $\text{C}_1$ ), confirmando novamente a formação do produto desejado. Essa conclusão é reforçada pelos sinais dos carbonos vinílicos. Sendo assim, observa-se que  $\text{C}_{3(\beta)}$  possui deslocamento químico de 142,97 ppm, enquanto o  $\text{C}_{2(\alpha)}$  encontra-se em 119,76 ppm. Esses valores estão em concordância com as elucidações apresentadas na literatura (Ansari *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2017).

**Figura 37.** Espectro de  $^{13}\text{C}$  da chalcona 1A.



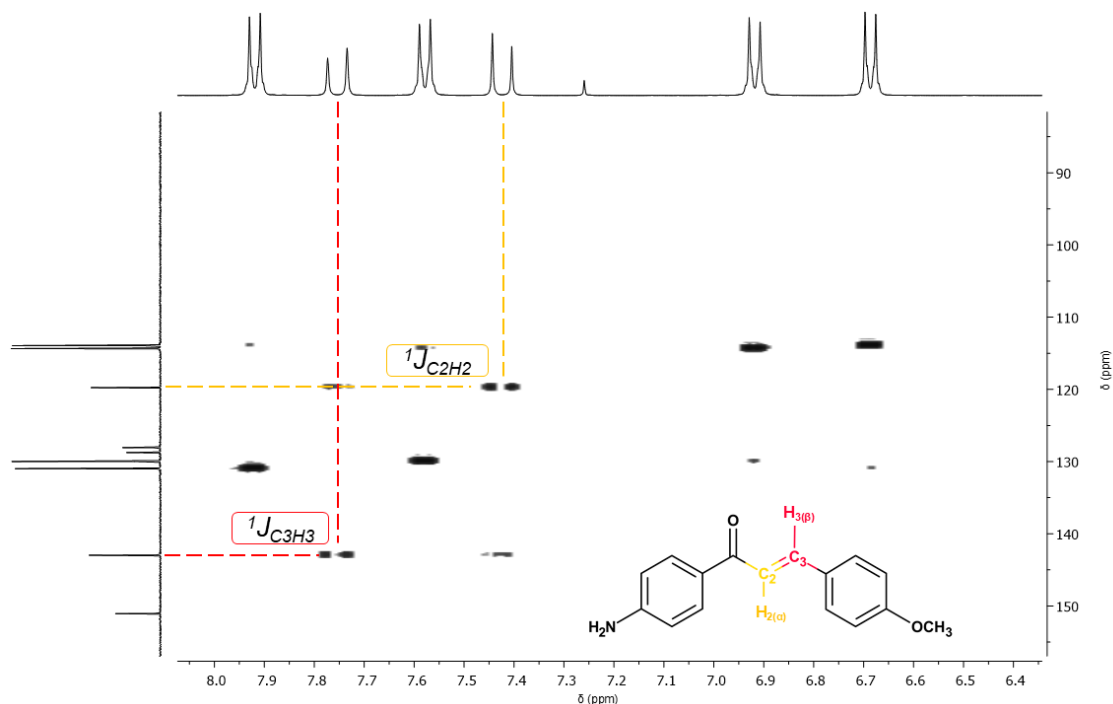
Fonte. A autora.

Os sinais referentes ao  $\text{C}_7$  ( $\delta$  161,32 ppm) e ao  $\text{C}_{13}$  ( $\delta$  151,05 ppm) apresentam deslocamentos químicos maiores em relação aos carbonos aromáticos, devido à ligação direta com elementos mais eletronegativos. Por outro lado, os carbonos aromáticos, exceto aqueles que apresentam substituintes, são equivalentes, resultando em sinais sobrepostos devido à semelhança de seu ambiente químico. Por exemplo, para o anel aromático A, os carbonos 9 e 5 apresentam deslocamento químico em 129,98 ppm, enquanto os carbonos 12 e 14 em 113,94 ppm (Silverstein; Webster; Kiemle, 2007).

Para confirmar as atribuições realizadas, utilizou-se o espectro de HSQC (Figura 38), que permite identificar a correlação direta entre os carbonos e hidrogênios presentes na estrutura do composto. No espectro, observa-se a correlação dos 3 hidrogênios com deslocamento de 3,84 ppm com o carbono em 55,40 ppm, todos

referentes ao grupo metoxila ( $\text{OCH}_3$ ). Nesse contexto, as correlações mais relevantes incluem os hidrogênios presentes na ligação vinílica ( $\text{C}=\text{C}$ ) com seus respectivos carbonos.

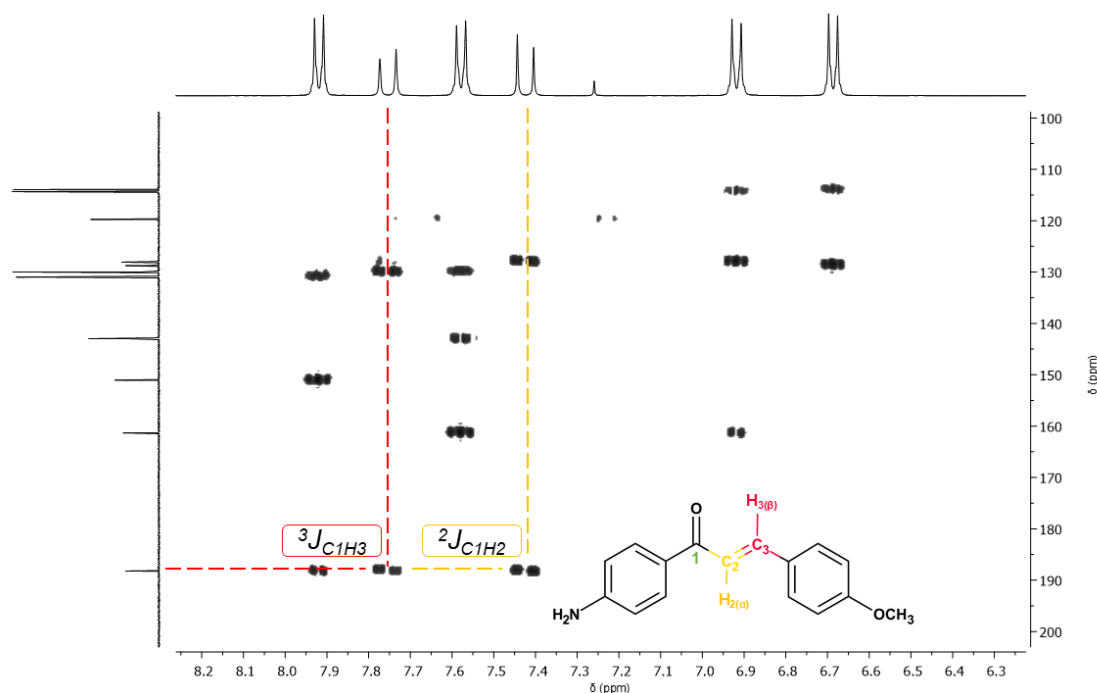
**Figura 38.** Espectro de RMN de HSQC da chalcona 1A.



**Fonte.** A autora.

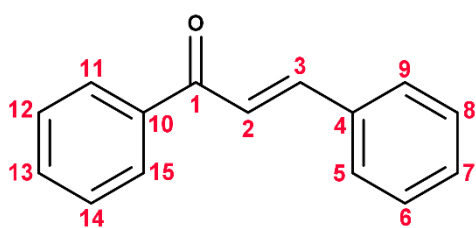
Por fim, analisou-se o espectro de HMBC, que evidencia as correlações entre os hidrogênios e carbonos separados por duas ou três ligações de distância. Na análise do espectro (Figura 39), verifica-se que os hidrogênios  $\text{H}_\beta$  ( $\delta$  7,75 ppm),  $\text{H}_\alpha$  ( $\delta$  7,42 ppm) e  $\text{H}_{11}$  e  $15$  ( $\delta$  7,92 ppm) apresentam correlação com o carbono em 188,22 ppm, referente ao  $\text{C}_1$  ( $\text{C}=\text{O}$ ). Essa observação confirma a presença do sistema carbonílico conjugado  $\alpha,\beta$ -insaturado, validando a formação do composto desejado.

**Figura 39.** Espectro de HMBC da chalcona 1A.



**Fonte.** A autora.

As atribuições espectrais dos demais compostos sintetizados neste trabalho são apresentadas a seguir. Estes seguem o mesmo padrão do espectro acima discutido, com variações de alguns sinais devido a presença do grupo metoxila ( $-\text{OCH}_3$ ) na estrutura das moléculas. Os deslocamentos estão expressos em ppm e as multiplicidades indicadas como (s) para simpletos, (d) para dupletos, (t) para tripletos, (dd) para duplo duplete e (m) para multipletos.

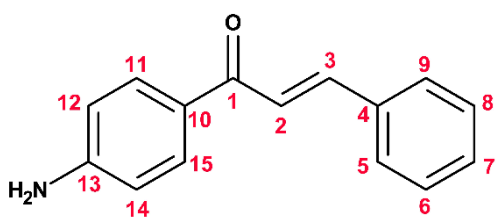


**(2E)-1,3-difenilprop-2-en-1-ona (CHALCONA)**

Sólido branco, **Rendimento:** 63%, **p.f.:** 53,5

°C,  **$^1\text{H}$ -RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz):**  $\delta$  8,02 (2H, dd, H-12 e H-14), 7,82 (1H, d,  $^3J=15,73\text{Hz}$ , H- $\beta$ ), 7,65 (2H, m, H-11 e H-15), 7,59 (1H, m, H-13), 7,54 (1H, m, H-2), 7,51 (2H, m, H-9 e H-5),

7,42 (3H, m, H-6, H-7 e H-8).  **$^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  190,61 ( $\text{C}_1$ ), 144,88 ( $\text{C}_3$ ), 138,24 ( $\text{C}_{10}$ ), 134,91 ( $\text{C}_4$ ), 132,81 ( $\text{C}_{13}$ ), 130,58 ( $\text{C}_7$ ), 128,99 ( $\text{C}_{6,8}$ ), 128,66 ( $\text{C}_{9,5}$ ), 128,53 ( $\text{C}_{12,14}$ ), 128,48 ( $\text{C}_{11,15}$ ), 122,13 ( $\text{C}_2$ ).



(2E)-1-(4-aminofenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona

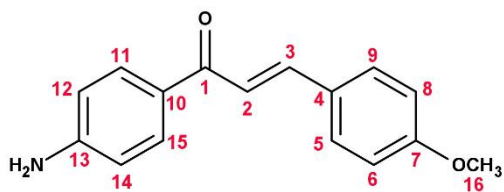
**(CHAL 1)**

Sólido laranja, **Rendimento:** 49,27%, **p.f.:**

109,3 °C, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ 7,94

(2H, m, H-11 e H-15), 7,79 (1H, d, <sup>3</sup>J=

15,6Hz, H-β), 7,64 (2H, dd, H-9 e H-5), 7,55 (1H, d, <sup>3</sup>J= 15,6Hz, H-α), 7,41 (3H, m, H-6, H-7, H-8), 6,70 (2H, m, H-12, H-14), 4,16 (2H, s, -NH<sub>2</sub>). **<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):** δ <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 188,11 (C<sub>1</sub>), 151,09 (C<sub>13</sub>), 143,15 (C<sub>3</sub>), 135,35 (C<sub>4</sub>), 131,10 (C<sub>10</sub>), 130,09 (C<sub>11,15</sub>), 128,88 (C<sub>8,6</sub>), 128,61 (C<sub>7</sub>), 128,28 (C<sub>9,5</sub>), 122,06 (C<sub>2</sub>), 113,96 (C<sub>12,15</sub>).



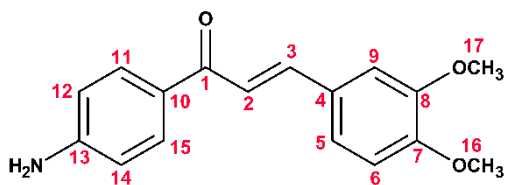
(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona **(CHAL 1A)**

Sólido amarelo claro, **Rendimento:** 23,81%,

**p.f.:** 111,1 °C, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ

7,92 (2H, m, H-11 e H-15), 7,75 (1H, d,

<sup>3</sup>J=15,5Hz, H-β), 7,58 (2H, d, H-9 e H-5), 7,42 (1H, d, <sup>3</sup>J=15,5Hz, Hα), 6,92 (2H, d, H-6 e H-8), 6,69 (2H, m, H-12 e H-14), 4,19 (2H, s, -NH<sub>2</sub>), 3,84 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>, 100MHz):** δ 188,22 (C<sub>1</sub>), 161,32 (C<sub>7</sub>), 151,05 (C<sub>13</sub>), 142,97 (C<sub>3</sub>), 130,98 (C<sub>11,15</sub>), 129,98 (C<sub>9,5</sub>), 128,75 (C<sub>10</sub>), 128,07 (C<sub>4</sub>), 119,76 (C<sub>2</sub>), 114,35 (C<sub>8,6</sub>), 113,94 (C<sub>12,14</sub>), 55,40 (C<sub>16</sub>).



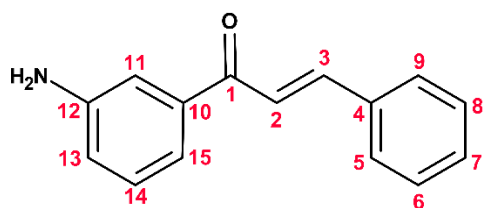
(2E)-1-(4-aminofenil)-3-(3,4-

dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona **(CHAL 1B)**

Sólido amarelo escuro, **Rendimento:** 27,35%,

**p.f.:** 118,85, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ 7,93

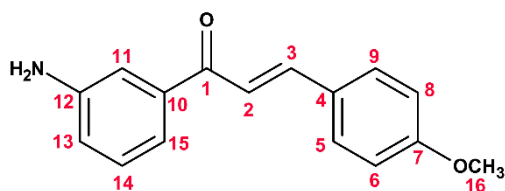
(2H, m, H-11 e H-15), 7,74 (1H, <sup>3</sup>J=15,5Hz, H-β), 7,40 (1H, <sup>3</sup>J=15,5Hz, H-α), 7,22 (1H, dd, H-9), 7,15 (1H, d, H-5), 6,89 (1H, d, H-6), 6,70 (2H, m, H-12 e H-14), 4,16 (2H, s, -NH<sub>2</sub>), 3,93 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3,94 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 188,19 (C<sub>1</sub>), 151,06 (C<sub>13</sub>), 150,98 (C<sub>8</sub>), 149,21 (C<sub>7</sub>), 143,31 (C<sub>3</sub>), 131,00 (C<sub>11,15</sub>), 128,78 (C<sub>10</sub>), 128,34 (C<sub>4</sub>), 122,75 (C<sub>9</sub>), 120,01 (C<sub>2</sub>), 113,93 (C<sub>12,14</sub>), 111,15 (C<sub>6</sub>), 110,13 (C<sub>5</sub>), 56,00 (C<sub>17</sub>), 55,98 (C<sub>16</sub>).



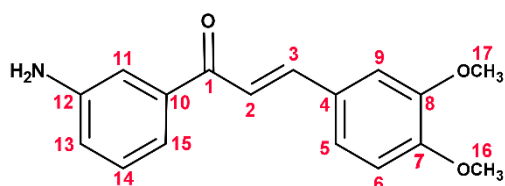
(2E)-1-(3-aminofenil)-3-fenilpropen-2-ona

**(CHAL 2)**Sólido amarelo claro, **Rendimento:** 81,52%,**p.f.:** 109,95 °C, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ7,79 (1H, <sup>3</sup>J= 15,7Hz, H-β), 7,64 (2H, m, H-5 e

H-9), 7,49 (1H, <sup>3</sup>J=15,7Hz, H- α), 7,41 (4H, m, H-6, H-8, H-14, H-15), 7,32 (1H, d, H-11), 7,29 (1H, s, H-7), 6,90 (1H, dd, H-13), 3,84 (2H, s, -NH<sub>2</sub>). **<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 190,73 (C<sub>1</sub>), 146,85 (C<sub>12</sub>), 144,53 (C<sub>3</sub>), 139,39 (C<sub>10</sub>), 135,02 (C<sub>4</sub>), 130,44 (C<sub>14</sub>), 129,45 (C<sub>7</sub>), 128,94 (C<sub>6,8</sub>), 128,42 (C<sub>5,9</sub>), 122,43 (C<sub>2</sub>), 119,40 (C<sub>13</sub>), 118,88 (C<sub>15</sub>), 114,44 (C<sub>11</sub>).

(2E)-1-(3-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona **(CHAL 2A)**Sólido amarelo escuro, **Rendimento:** 25,48%,**p.f.:** 117,6, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ 7,76

(1H, d, <sup>3</sup>J=15,7Hz, H- β), 7,59 (2H, d, H-9 e H-5), 7,37 (2H, t, <sup>3</sup>J=15,7Hz, H- α, H-13), 7,30 (1H, d, H-11), 7,27 (1H, d, H-14), 6,93 (2H, d, H-8 e H-6), 6,88 (1H, d, H-15), 3,87 (5H, d, -OCH<sub>3</sub> e -NH<sub>2</sub>). **<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 190,83 (C<sub>1</sub>), 161,64 (C<sub>7</sub>), 146,78 (C<sub>12</sub>), 144,45 (C<sub>3</sub>), 139,67 (C<sub>10</sub>), 130,20 (C<sub>9,5</sub>), 129,40 (C<sub>14</sub>), 127,74 (C<sub>4</sub>), 120,12 (C<sub>2</sub>), 119,22 (C<sub>15</sub>), 118,81 (C<sub>13</sub>), 114,44 (C<sub>8,6</sub>), 114,42 (C<sub>11</sub>), 55,42 (C<sub>16</sub>).



(2E)-1-(3-aminofenil)-3-(3,4-

dimetoxifenil)prop-2-en-1-ona **(CHAL 2B)**Sólido amarelo escuro, **Rendimento:** 82,45%,**p.f.:** 64,85 °C, **<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):** δ

7,76 (1H, d, <sup>3</sup>J=15,64, H-β), 7,40 (1H, d, H-15), 7,36 (1H, d, <sup>3</sup>J=15,65, H-α), 7,33 (1H, m, H-11), 7,29 (1H, d, H-14), 7,25 (1H, dd, H-5), 7,17 (1H, d, H-9), 6,92 (1H, d, H-13), 6,90 (1H, d, H-6), 4,81 (2H, s, -NH<sub>2</sub>), 3,97 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 3,95 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>). **<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ 190,90 (C<sub>1</sub>), 151,41 (C<sub>8</sub>), 149,28 (C<sub>7</sub>), 146,79 (C<sub>12</sub>), 144,79 (C<sub>3</sub>), 139,65 (C<sub>10</sub>), 129,40 (C<sub>14</sub>), 127,98 (C<sub>4</sub>), 123,14 (C<sub>5</sub>), 120,41 (C<sub>2</sub>), 119,24 (C<sub>13</sub>), 118,82 (C<sub>15</sub>), 114,44 (C<sub>11</sub>), 111,17 (C<sub>6</sub>), 110,14 (C<sub>9</sub>), 56,02 (C<sub>16</sub>), 55,99 (C<sub>17</sub>).

### 6.2.2 Ponto de fusão

A determinação do ponto de fusão das chalconas sintetizadas também foi realizada. Os resultados obtidos foram comparados com os dados disponíveis na literatura, conforme apresentado na Tabela 4.

**Tabela 4.** Ponto de fusão experimental e teórico para as chalconas obtidas

| <b>Composto</b> | <b>Ponto de fusão experimental<br/>(°C)</b> | <b>Ponto de fusão da literatura<br/>(°C)</b> |
|-----------------|---------------------------------------------|----------------------------------------------|
| CHAL            | 53,5                                        | 51,8-55,2 (a)                                |
| CHAL 1          | 109,3                                       | 101 (b)                                      |
| CHAL 1A         | 111,1                                       | 112 –113 (c)                                 |
| CHAL 1B         | 118,85                                      | 123 –125 (d)                                 |
| CHAL 2          | 109,95                                      | 115 – 118 (e)                                |
| CHAL 2A         | 117,6                                       | 122 – 125 (e)                                |
| CHAL 2B         | 64,85                                       | 68 – 69 (f)                                  |

a) (FANG, F.; LI, Y.; TIAN, S, 2011); b) (CHEN, F. *et al.*, 2016); c) (TRIPATHI, S.; KAPOOR, R.; YADAV, L. D. S., 2018); d) (TARESH, B. H. *et al.*, 2020); e) (KARAMAN, I. *et al.*, 2010); f) (PINGAEW, R. *et al.*, 2014); g) (DIMMOCK, J. R. *et al.*, 2003).

De maneira geral, os pontos de fusão obtidos estão próximos aos valores descritos na literatura. Eventuais variações observadas neste ensaio podem ocorrer devido à presença de umidade, impurezas ou à taxa de elevação da temperatura do equipamento utilizado (Vogel, 1989; Pavia *et al.*, 2021). Entretanto, a caracterização realizada por Ressonância Magnética Nuclear, descrita na sessão anterior, confirma a formação efetiva dos compostos de interesse.

## 6.3 ATIVIDADES ANTIOXIDANTES

### 6.3.1 Avaliação da capacidade antioxidante pelo método do DPPH

O ensaio com o radical DPPH é amplamente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de compostos orgânicos e é baseado nos mecanismos de transferência de hidrogênio e de elétrons. No caso da CHAL 2, apenas a concentração

de 8 mmol L<sup>-1</sup> apresentou solubilidade suficiente para a realização do teste. Como controle positivo, foi utilizada a quercetina, um antioxidante amplamente conhecido e bem estabelecido na literatura.

Para a análise estatística das diferentes estruturas das chalconas, inicialmente aplicou-se o teste de normalidade de Shapiro-Wilk e o teste de homogeneidade de variâncias de Levene. Ambos os testes indicaram que os dados apresentavam distribuição normal e variâncias homogêneas, com nível de significância de 5%. Diante disso, foi realizada a ANOVA para comparar os compostos entre si nas diferentes concentrações, conforme apresentado no anexo H. Para exemplificação, a Tabela 5, mostra os dados para a concentração de 8 mmol L<sup>-1</sup>.

**Tabela 5.** Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método DPPH das chalconas na concentração de 8 mmol L<sup>-1</sup>

|            | GL | SQ      | QM     | Fc    | Pr>Fc                 |
|------------|----|---------|--------|-------|-----------------------|
| Tratamento | 6  | 1691,87 | 278,47 | 65,54 | 1,92.10 <sup>-9</sup> |
| Resíduo    | 14 | 23,54   | 4,25   |       |                       |
| Total      | 20 | 1715,41 |        |       |                       |

\* T: tratamento; R: resíduo; TT: total; GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora

Os resultados da análise de variância indicaram diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos, uma vez que os valores de p obtidos (Pr > Fc) foram inferiores a 0,05. Esse resultado confirma que os compostos testados influenciaram de forma distinta a inibição do DPPH. Diante disso, foi aplicado o teste de comparações múltiplas de Tukey, com o objetivo de identificar quais estruturas apresentaram maior atividade antioxidante e verificar a existência de diferenças significativas entre elas. As análises estatísticas foram realizadas no software RStudio, e os respectivos resultados, acompanhados das médias, desvios padrão e teste de Tukey, estão apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6.** Inibição percentual do DPPH na presença de diferentes concentrações das chalconas testadas

| Concentração<br>(mmol L <sup>-1</sup> ) | 8                        | 10                       | 12                      | 14                      | 16                      |
|-----------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CHAL                                    | 4,6 ± 2,2 <sup>e</sup>   | 6,0 ± 1,5 <sup>d</sup>   | 7,7 ± 1,6 <sup>c</sup>  | 7,7 ± 1,0 <sup>c</sup>  | 9,4 ± 0,8 <sup>d</sup>  |
| CHAL 1                                  | 15,9 ± 1,9 <sup>c</sup>  | 11,7 ± 0,6 <sup>bc</sup> | 16,6 ± 2,4 <sup>b</sup> | 18,9 ± 1,1 <sup>c</sup> | 23,6 ± 0,2 <sup>b</sup> |
| CHAL 1A                                 | 11,4 ± 1,6 <sup>cd</sup> | 13,9 ± 0,5 <sup>b</sup>  | 16,6 ± 0,7 <sup>b</sup> | 13,5 ± 1,7 <sup>d</sup> | 17,0 ± 1,8 <sup>c</sup> |
| CHAL 1B                                 | 7,9 ± 2,1 <sup>de</sup>  | 8,0 ± 2,6 <sup>cd</sup>  | 14,6 ± 2,4 <sup>b</sup> | 7,7 ± 0,4 <sup>c</sup>  | 9,9 ± 2 <sup>d</sup>    |
| CHAL 2                                  | 11,7 ± 2,1 <sup>cd</sup> | -                        | -                       | -                       | -                       |
| CHAL 2A                                 | 24,1 ± 2,0 <sup>b</sup>  | 30,4 ± 0,3 <sup>a</sup>  | 31,3 ± 1,6 <sup>a</sup> | 31,3 ± 2,4 <sup>b</sup> | 41,8 ± 1,1 <sup>a</sup> |
| CHAL 2B                                 | 32,1 ± 2,4 <sup>a</sup>  | 29,1 ± 1,4 <sup>a</sup>  | 32,9 ± 1,3 <sup>a</sup> | 40,8 ± 0,8 <sup>a</sup> | 44,4 ± 0,9 <sup>a</sup> |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise de DPPH com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados na mesma concentração.

Fonte: A autora.

Neste estudo, verificou-se que todas as aminochalconas testadas apresentam uma baixa capacidade de inibição de radicais DPPH, com valores de IC<sub>50</sub> superiores a concentração máxima utilizada (16 mmol L<sup>-1</sup>). Esse resultado está em concordância com a literatura, como relatado por Zeraik *et al.* (2012) que sintetizou uma série de aminochalconas e também observou uma baixa atividade antioxidante frente ao radical DPPH.

Além disso, os resultados obtidos para as chalconas 1 e 2 indicam uma melhora significativa na atividade antioxidante em comparação à chalcona sem substituintes. Quando comparadas, a 4'-aminochalcona (CHAL 1), em 8 mmol L<sup>-1</sup>, apresentou o maior percentual de inibição, sendo estatisticamente diferente de todos os demais compostos. Já a 3'-aminochalcona (CHAL 2) apresentou um valor intermediário de inibição, situando-se entre a CHAL 1 e igual a CHAL 1A.

Entre as chalconas testadas, a aminochalcona 2B apresentou a melhor atividade antioxidante, com uma porcentagem de inibição de 32,1% ± 2,4 na concentração de 8 mmol L<sup>-1</sup>. A maior eficácia observada pode ser atribuída à presença e à posição dos grupos substituintes. Esse composto, possui um grupo amino na posição *meta* do anel aromático A, além de dois grupos metoxila nas posições *meta* e *para* do anel aromático B, o que pode favorecer a estabilização do radical.

Ademais, também foi realizada uma análise estatística para avaliar se a variação na concentração da chalcona 2B influencia significativamente sua atividade antioxidante. A Tabela 7 apresenta os resultados da ANOVA, permitindo verificar a existência de diferenças estatísticas entre as concentrações testadas.

**Tabela 7.** Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método DPPH das chalconas na concentração de 8 mmol L<sup>-1</sup>

|            | GL | SQ     | QM     | Fc    | Pr>Fc                 |
|------------|----|--------|--------|-------|-----------------------|
| Tratamento | 4  | 499,37 | 124,82 | 58,11 | 6,91.10 <sup>-7</sup> |
| Resíduo    | 10 | 21,48  | 2,15   |       |                       |
| Total      | 14 | 520,85 |        |       |                       |

\* T: tratamento; R: resíduo; TT: total; GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte: A autora

Diante disso, procedeu-se com o teste de comparações múltiplas de Tukey, Tabela 8, a fim de identificar quais concentrações diferem estatisticamente entre si.

**Tabela 8.** Inibição percentual do DPPH na presença de diferentes concentrações da chalcona 2B

| Concentração<br>(mmol L <sup>-1</sup> ) | 8                       | 10                      | 12                      | 14                      | 16                      |
|-----------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| CHAL 2B                                 | 32,1 ± 2,4 <sup>b</sup> | 29,1 ± 1,4 <sup>b</sup> | 30,0 ± 1,4 <sup>b</sup> | 40,8 ± 0,8 <sup>a</sup> | 44,4 ± 0,9 <sup>a</sup> |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise de DPPH com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes na linha indicam uma diferença significativa entre o composto analisado em diferentes concentrações.

Fonte: A autora.

Dessa forma, observou-se que as concentrações de 8, 10 e 12 mmol L<sup>-1</sup> não diferiram estatisticamente entre si ( $p > 0,05$ ), indicando que essa variação não exerce influência significativa sobre a capacidade de inibição do radical DPPH. Da mesma forma, as concentrações de 14 e 16 mmol L<sup>-1</sup> também apresentaram equivalência estatística, sugerindo que, dentro desse intervalo, o aumento da concentração não promove ganho expressivo na atividade antioxidante.

### 6.3.2 Determinação do poder antioxidante redutor de Íons Férricos (FRAP)

A atividade antioxidante dos compostos também foi avaliada por meio do Poder de Redução do Ferro (FRAP). Diferente do DPPH, essa metodologia baseia-se exclusivamente em uma reação de transferência de elétrons, na qual ocorre uma redução do complexo de  $\text{Fe}^{3+}$  para  $\text{Fe}^{2+}$ . Os resultados desse ensaio foram obtidos por medidas espectrofotométricas como mencionado na sessão anterior. No caso da chalcona 1B não foi possível realizar os cálculos finais devido à alta absorbância causada pela coloração intensa.

Para a realização da análise estatística, verificou-se inicialmente que os dados não atendiam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Sendo assim, antes da aplicação de testes não paramétricos, foi realizada a transformação dos dados por meio da raiz quadrada, considerando sua capacidade de suavizar variâncias e reduzir a assimetria leve dos dados. Após essa transformação, os dados passaram a atender aos critérios necessários para a aplicação da análise ANOVA, cujos resultados estão apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9.** Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método FRAP das chalconas na concentração de  $0,16 \text{ mmol L}^{-1}$

|            | GL | SQ     | QM      | Fc    | Pr>Fc                |
|------------|----|--------|---------|-------|----------------------|
| Tratamento | 5  | 8024,9 | 1604,97 | 77,28 | $1,05 \cdot 10^{-8}$ |
| Resíduo    | 12 | 249,2  | 20,77   |       |                      |
| Total      | 17 | 8274,1 |         |       |                      |

\* T: tratamento; R: resíduo; TT: total; GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora

A análise de variância indicou um valor de p inferior a 0,05, evidenciando diferença estatisticamente significativa entre os grupos, condição necessária para a aplicação do teste de comparações múltiplas de Tukey. Na Tabela 10, apresentam-se as médias da atividade antioxidante de cada grupo, acompanhadas dos respectivos desvios padrão e dos resultados da análise de Tukey.

**Tabela 10.** Resultado da análise antioxidante por meio do método FRAP.

| Composto | mmol eq de Fe <sup>2+</sup> / mmol de amostra |
|----------|-----------------------------------------------|
| CHAL     | 2,03 ± 0,34 <sup>d</sup>                      |
| CHAL 1   | 15,34 ± 3,07 <sup>c</sup>                     |
| CHAL 1A  | 5,50 ± 0,88 <sup>cd</sup>                     |
| CHAL 1B  | --                                            |
| CHAL 2   | 38,67 ± 6,62 <sup>b</sup>                     |
| CHAL 2A  | 34,74 ± 4,16 <sup>b</sup>                     |
| CHAL 2B  | 62,48 ± 7,3 <sup>a</sup>                      |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise de FRAP com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,16 mmol L<sup>-1</sup>. Fonte: A autora.

A partir das análises dos resultados percebe-se que, ao comparar os resultados das chalcona 1 e 2 com a chalcona sem substituinte, há um aumento significativo na redução do Fe<sup>3+</sup> para Fe<sup>2+</sup>. Esse fato sugere que a presença do grupo amino nas chalconas ainda apresenta uma melhora na atividade antioxidante pelo método FRAP. Isso pode estar relacionado ao fato do grupo amino (-NH<sub>2</sub>) possuir um par de elétrons livres, o que aumenta sua disponibilidade de interagir com o sistema  $\pi$ .

Além disso, verifica-se que o grupo amino na posição 3' do anel aromático A apresenta uma atividade antioxidante maior, sendo mais que o dobro em relação ao grupo amino na posição 4'. Isso indica que a posição *meta* é a mais favorável para a redução do ferro, evidenciado pela diferença estatística entre as amostras.

Entre os compostos analisados, destaca-se a chalcona 2B, que apresentou maior porcentagem de redução do ferro, com um valor de 62,48 ± 7,3 mmol Fe<sup>2+</sup>, sendo diferente estatisticamente dos outros compostos. Com isso, evidencia-se que a presença de dois grupos metoxila nas posições *meta* e *para* do anel aromático B potencializa a atividade antioxidante da 3'-aminochalcona. Essa melhoria pode estar relacionada com a doação de elétrons pelos grupos metoxila (OCH<sub>3</sub>) para o anel aromático, que através da deslocalização eletrônica pelo sistema  $\pi$ , favorece a transferência de elétrons para o íon Fe<sup>3+</sup>, promovendo sua redução para Fe<sup>2+</sup>.

### 6.3.3 Determinação da atividade antioxidante pela formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico

Como último método para a avaliação da atividade antioxidante, realizou-se o ensaio da peroxidação lipídica. Neste experimento, verifica-se a capacidade das chalconas inibir a peroxidação de fosfolípidos presentes na gema do ovo. Dessa forma, quando ocorre a peroxidação lipídica forma-se um composto dimérico rosa, sendo assim, quanto menor a absorbância observada, maior a atividade antioxidante do composto. Nesse contexto, para comparação, utilizou-se um controle negativo, que não contém nenhuma substância antioxidante.

Os dados obtidos na avaliação da atividade antioxidante, com base nas porcentagens de inibição dos produtos TBARS, também foram submetidos à análise estatística. Como todos os pressupostos para a aplicação da ANOVA foram atendidos, a análise foi devidamente realizada, conforme apresentado na Tabela 11.

**Tabela 11.** Análise de variância (ANOVA) para o efeito antioxidante pelo método TBARS das chalconas na concentração de 5 mmol L<sup>-1</sup>

|            | GL | SQ     | QM     | Fc    | Pr>Fc                 |
|------------|----|--------|--------|-------|-----------------------|
| Tratamento | 6  | 1092,7 | 182,12 | 19,33 | 4,97.10 <sup>-6</sup> |
| Resíduo    | 14 | 131,9  | 9,42   |       |                       |
| Total      | 20 | 1224,6 |        |       |                       |

\* T: tratamento; R: resíduo; TT: total; GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora

Com a identificação de diferenças significativas entre os grupos por meio da ANOVA, foi possível prosseguir com o teste de Tukey para comparações múltiplas. Na Tabela 12, estão dispostos os valores médios da atividade antioxidante, acompanhados pelos desvios padrão e pelas comparações estatísticas realizadas.

**Tabela 12.** Inibição percentual dos produtos TBARS na presença das chalconas sintetizadas na concentração de 5 mmol L<sup>-1</sup>.

| Composto | Porcentagem da formação de produtos TBARS |
|----------|-------------------------------------------|
| CHAL     | 36,00 ± 1,20 <sup>ab</sup>                |
| CHAL 1   | 28,2 ± 2,09 <sup>bc</sup>                 |
| CHAL 1A  | 33,89 ± 2,05 <sup>ab</sup>                |
| CHAL 1B  | 38,34 ± 5,23 <sup>a</sup>                 |
| CHAL 2   | 24,98 ± 1,40 <sup>c</sup>                 |
| CHAL 2A  | 42,20 ± 4,15 <sup>a</sup>                 |
| CHAL 2B  | 20,31 ± 3,04 <sup>c</sup>                 |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise do TBARS com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 5 mmol L<sup>-1</sup>.  
Fonte: A autora.

Em relação à chalcona e às aminochalconas sem substituição no anel aromático B, observa-se que a introdução do grupo amino na posição *meta* contribui para o aumento da capacidade antioxidante, apresentando diferença estatística significativa em comparação com os demais compostos. Nessa posição, a inibição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) foi de 24,98% ± 1,40. Por outro lado, quando o grupo amino está na posição *para*, o valor da inibição se encontra intermediário.

No grupo das aminochalconas com substituintes no anel aromático B, destaca-se a chalcona 2B, que apresentou a maior capacidade antioxidante. Esse derivado possui um grupo amino na posição 3' do anel aromático A e dois grupos metoxila nas posições 3 e 4 do anel aromático B. Apesar de apresentar uma porcentagem de inibição numericamente elevada (20,31% ± 3,04), essa diferença não foi estatisticamente significativa em relação à 3'-aminochalcona (24,98% ± 1,40). Dessa forma, a introdução desses grupos metoxila específicos não promoveu um aumento estatisticamente relevante na atividade antioxidante avaliada pelo método TBARS.

#### 6.4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E ANTIBIOFILME

A avaliação da atividade antibacteriana foi realizada frente às cepas *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 e *Escherichia coli* ATCC 25922, utilizando-se concentrações de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>. Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de crescimento bacteriano.

A seguir, apresentam-se os dados obtidos para a cepa *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente e se apresentaram dentro dos pressupostos de normalidade dos resíduos (teste de Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Com isso, fez-se a análise de variância (ANOVA) para todas as amostras (Anexo I). Para exemplificação, a Tabela 13, mostra os dados para a concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> após 24 horas de incubação.

**Tabela 13.** Análise de variância (ANOVA) para o efeito das chalconas na concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e incubação de 24 h sobre o crescimento bacteriano da *Staphylococcus aureus*.

| Concentração             | Tempo |    | GL | SQ     | QM     | Fc    | Pr>Fc                 |
|--------------------------|-------|----|----|--------|--------|-------|-----------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | T  | 6  | 1408,7 | 234,78 | 23,79 | 1,38.10 <sup>-6</sup> |
|                          |       | R  | 14 | 138,1  | 9,86   |       |                       |
|                          |       | TT | 20 | 1546,8 |        |       |                       |

\* T: tratamento; R: resíduo; TT: total; GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.  
Fonte. A autora

A partir da análise de variância, observou-se que o resultado foi estatisticamente significativo, uma vez que os valores de p obtidos ( $Pr > Fc$ ) foram inferiores a 0,05. Dessa maneira, realizou-se o teste de comparações múltiplas de Tukey. Os resultados do crescimento bacteriano, desvio padrão e teste de Tukey estão descritos na Tabela 14.

**Tabela 14.** Porcentagem de crescimento bacteriano frente a *Staphylococcus aureus* na presença das chalconas sintetizadas

| Compostos | 24 horas                  |                            | 48 horas                  |                           |
|-----------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
|           | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>   | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>  |
| CHAL      | 89,96 ± 4,2 <sup>a</sup>  | 71,99 ± 6,4 <sup>d</sup>   | -                         | -                         |
| CHAL 1    | 71,10 ± 1,9 <sup>b</sup>  | 73,48 ± 3,7 <sup>cd</sup>  | 72,05 ± 3,1 <sup>bc</sup> | 78,81 ± 0,8 <sup>ab</sup> |
| CHAL 1A   | 78,30 ± 4,6 <sup>b</sup>  | 95,23 ± 0,6 <sup>a</sup>   | 75,79 ± 4,6 <sup>ab</sup> | 77,07 ± 2,1 <sup>ab</sup> |
| CHAL 1B   | 96,15 ± 2,3 <sup>a</sup>  | 89,42 ± 6,0 <sup>ab</sup>  | 70,47 ± 2,7 <sup>c</sup>  | 83,59 ± 4,8 <sup>a</sup>  |
| CHAL 2    | 77,64 ± 0,8 <sup>b</sup>  | 77,82 ± 8,2 <sup>cd</sup>  | 77,49 ± 1,1 <sup>a</sup>  | 74,02 ± 0,5 <sup>b</sup>  |
| CHAL 2A   | 89,42 ± 4,5 <sup>a</sup>  | 81,09 ± 4,6 <sup>bcd</sup> | 78,15 ± 0,8 <sup>a</sup>  | 66,60 ± 2,4 <sup>c</sup>  |
| CHAL 2B   | 88,35 ± 0,78 <sup>a</sup> | 86,87 ± 1,7 <sup>abc</sup> | 76,18 ± 0,7 <sup>ab</sup> | 75,98 ± 3,1 <sup>ab</sup> |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise da capacidade antimicrobiana com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Fonte: A autora.

Ao comparar os resultados obtidos na concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> em 24 horas observa-se, inicialmente, que a chalcona que apresentou a maior porcentagem de inibição do crescimento bacteriano foi a CHAL 1 (71,10 ± 1,9). Esta molécula possui um grupo amino na posição *para* do anel aromático A e não apresenta substituições no anel aromático B. Embora a CHAL 2, que contém o grupo amino na posição *meta* do anel aromático A e também não possui substituintes no anel B, tenha apresentado uma porcentagem de inibição numericamente inferior, não foi observada diferença estatística significativa entre os compostos. Dessa forma, a mudança na posição do grupo amino (de *para* para *meta*) não resultou em variação estatisticamente relevante na atividade antibacteriana. O mesmo padrão é observado na CHAL 1A, que apresenta um grupo metoxila na posição *para* do anel aromático B da 4'-aminochalcona, indicando que essa modificação também não interfere significativamente na inibição do crescimento bacteriano. Resultados semelhantes foram relatados por Kozłowska *et al.* (2019), que sintetizaram 18 derivados de aminochalconas e identificaram a 4'-aminochalcona como o composto mais ativo, com inibição total do crescimento de *Staphylococcus aureus* DSM799. Os autores ressaltaram que esses derivados tendem a ser mais eficazes contra bactérias Gram-positivas do que contra Gram-negativas, como *Escherichia coli*.

A chalcona que apresentou a menor inibição do crescimento foi a CHAL 1B, com uma porcentagem de crescimento de  $96,15 \pm 2,3$  (Tabela 14). Além disso, um grupo considerável de compostos demonstrou comportamento estatisticamente semelhante ao desse composto, incluindo a chalcona sem substituintes e, principalmente, aquelas contendo grupos metoxila, como a CHAL 1A e a CHAL 2B, com exceção da CHAL 2A. Esses resultados sugerem que a presença do grupo metoxila, em combinação com o grupo amino, pode diminuir a atividade antimicrobiana dos compostos após 24 horas de incubação. O trabalho realizado por Suwito *et al.* (2015) também envolveu a síntese de uma série de chalconas contendo grupos amino e metoxila, avaliadas frente à cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25922 após 24 horas de incubação. Os autores relataram que a 4'-amino-2,3-dimetoxichalcona foi o composto com maior atividade antimicrobiana. No presente estudo, a 4'-amino-3,4-dimetoxichalcona (CHAL 1B), embora estruturalmente semelhante, apresenta uma das metoxilas em posição diferente e demonstrou atividade significativamente inferior, reforçando que a estrutura química e posição dos substituintes modulam ação antibacteriana.

Após 48 horas, ainda na mesma concentração ( $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ ), observa-se que algumas moléculas apresentaram melhora significativa na atividade ao longo do tempo. É o caso da CHAL 1B, cuja porcentagem de crescimento diminuiu de  $96,15 \pm 2,3$  para  $70,47 \pm 2,7$ , sendo estatisticamente distinta de todos os demais compostos. Chalconas como a CHAL 1 não demonstraram variação expressiva entre os dois tempos de análise, mantendo um padrão de inibição relativamente constante.

Na concentração de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ , observou-se que a chalcona sem substituintes apresentou a maior capacidade de inibição do crescimento bacteriano, sendo estatisticamente superior às demais estruturas avaliadas. Nota-se, ainda, que a introdução do grupo amino levou a uma redução da atividade inibitória, como evidenciado pelos valores obtidos para CHAL 1 ( $73,48 \pm 3,7\%$ ) e CHAL 2 ( $77,82 \pm 8,2\%$ ). A comparação entre essas duas estruturas revelou ausência de diferença estatística significativa, indicando que a posição do grupo amino não exerce influência relevante sobre essa atividade.

Considerando a mesma concentração, mas com 48 horas de incubação, verificou-se que o efeito do tempo não seguiu um padrão linear, visto que alguns compostos apresentaram redução da atividade bactericida ao longo do tempo. Nesse cenário, o composto CHAL 2A destacou-se por apresentar uma atividade

intermediária, com aproximadamente 40% de inibição do crescimento bacteriano, sendo estatisticamente diferente dos demais compostos analisados.

Com o objetivo de verificar se a atividade antibacteriana está relacionada à capacidade de formação de biofilme pela bactéria, bem como avaliar a influência dos compostos testados nesse processo, foi realizada a análise de formação de biofilme em diferentes condições experimentais. Os ensaios foram conduzidos em dois tempos de incubação (24 e 48 horas), utilizando distintas concentrações dos compostos.

Para o tratamento estatístico, verificou-se que os dados obtidos em ambas as concentrações no tempo de 48h atenderam os pressupostos para aplicação da ANOVA. Para a concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> a 24 horas os dados não atendiam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Diante disso, aplicou-se a transformação por raiz quadrada. Após a transformação, os pressupostos foram atendidos, a tabela ANOVA completa está disponível no Anexo J.

Entretanto, para a concentração de 0,2 mmol L<sup>-1</sup> em 24h, mesmo após tentativa de transformação, os dados não atenderam aos critérios necessários para a ANOVA. Assim, optou-se por uma abordagem não paramétrica, utilizando o teste de Kruskal–Wallis para verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos, o que foi confirmado por um valor de  $p=0,001462$ , respectivamente. Em seguida, realizou-se o teste *post hoc* e de Dunn para comparações par a par entre os compostos, apresentada no Anexo K.

As médias, os desvios padrão e os resultados do teste de Tukey (para os casos em que a ANOVA foi aplicável), estão apresentados na Tabela 15.

**Tabela 15.** Índice de formação de biofilme para a *Staphylococcus aureus* na presença das chalconas sintetizadas

| Compostos | 24 horas                  |                          | 48 horas                 |                           |
|-----------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
|           | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>  |
| Controle  | 2,03 ± 0,7 <sup>a</sup>   | 2,03 ± 0,7               | 2,62 ± 0,91 <sup>a</sup> | 2,62 ± 0,91 <sup>b</sup>  |
| CHAL      | 1,79 ± 0,7 <sup>ab</sup>  | 4,14 ± 0,9               | 1,52 ± 0,7 <sup>b</sup>  | 2,21 ± 0,5 <sup>c</sup>   |
| CHAL 1    | 0,73 ± 0,2 <sup>c</sup>   | 2,27 ± 0,2               | 0,81 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 2,30 ± 0,6 <sup>c</sup>   |
| CHAL 1A   | 1,19 ± 0,3 <sup>abc</sup> | 3,36 ± 1,1               | 1,33 ± 0,4 <sup>b</sup>  | 4,19 ± 0,6 <sup>a</sup>   |
| CHAL 1B   | 1,1 ± 0,2 <sup>bc</sup>   | 2,75 ± 0,3               | 1,51 ± 0,4 <sup>b</sup>  | 3,70 ± 0,9 <sup>ab</sup>  |
| CHAL 2    | 1,3 ± 0,22 <sup>abc</sup> | 3,6 ± 0,9                | 1,42 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 3,67 ± 0,3 <sup>ab</sup>  |
| CHAL 2A   | 0,99 ± 0,2 <sup>bc</sup>  | 2,69 ± 0,4               | 1,19 ± 0,2 <sup>b</sup>  | 3,24 ± 0,7 <sup>abc</sup> |
| CHAL 2B   | 0,99 ± 0,2 <sup>bc</sup>  | 2,42 ± 0,9               | 1,23 ± 0,3 <sup>b</sup>  | 3,05 ± 0,1 <sup>abc</sup> |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise da capacidade antibiofilme com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Em relação à formação de biofilme na concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> em 24 horas, observou-se que a CHAL 1 apresentou a maior capacidade de inibição. Esse resultado é compatível com sua atividade antimicrobiana superior, sugerindo que essa propriedade pode contribuir para seu maior efeito inibitório geral. Por outro lado, compostos como CHAL 1B, CHAL 2A e CHAL 2B também se mostraram estatisticamente semelhantes, com valores médios de  $1,1 \pm 0,2$ ,  $0,83 \pm 0,2$  e  $0,76 \pm 0,1$ , respectivamente. Esse resultado é relevante, pois, sob as mesmas condições, esses compostos exibiram uma das menores atividades antimicrobianas, indicando que sua ação pode estar mais relacionada à inibição da formação de biofilme do que à inibição do crescimento bacteriano propriamente dito.

Na mesma concentração (0,1 mmol L<sup>-1</sup>) e após 48 horas de incubação, todos os compostos testados apresentaram inibição mínima de 26% na formação de biofilme. Embora tenham diferido estatisticamente do controle negativo, não foi observada diferença significativa entre as chalconas. Entre elas, destaca-se a CHAL 1, que, nas mesmas condições, demonstrou desempenho intermediário, mas consistente, na inibição do crescimento bacteriano, confirmando seu potencial frente à formação de biofilmes.

Para a concentração de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ , o teste de Dunn, com ajuste do valor de  $p$ , evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre a chalcona sem substituintes (CHAL) e o controle ( $p = 0,0089$ ), bem como entre a CHAL e a CHAL 1 ( $p = 0,027$ ). No entanto, todos os demais compostos não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação a CHAL, o que impede concluir que o efeito seja válido. Esses resultados sugerem que, nas condições testadas, não houve inibição significativa da formação do biofilme bacteriano, embora tenha sido possível observar sua formação sem a presença dos compostos testados.

Ainda, ao comparar os efeitos dos compostos na mesma concentração após 48 horas de incubação, verificou-se que tanto a chalcona sem substituintes (CHAL) quanto a CHAL 1 apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação ao controle, com porcentagem de inibição da formação de biofilme próxima a 12%. A CHAL 1A também apresentou diferença significativa frente ao controle, contudo, este composto não se mostrou relevante para a análise de inibição, uma vez que, nessas condições, promoveu aumento da formação de biofilme. Tal indução pode estar relacionada a uma resposta adaptativa das bactérias ao estresse celular provocado pela exposição aos compostos químicos, mediada pela ativação de vias de sinalização responsáveis pela regulação da expressão gênica (Kaplan, 2011). Os demais compostos não apresentaram diferenças estatísticas relevantes entre si.

Além disso, foi observada uma resposta não linear entre as duas concentrações, pois, diferentemente do esperado, concentrações mais altas não resultaram em maior inibição do biofilme. Essa resposta não linear persistiu após 48 horas na mesma concentração ( $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ ), demonstrando a ausência de capacidade inibitória no maior tempo de incubação.

A seguir, são apresentados os resultados obtidos para a espécie *Escherichia coli*. De forma semelhante à análise anterior, os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variâncias (Levene), cujos pressupostos foram atendidos. Com base nesses resultados, foi elaborada a tabela de análise de variância, disponível integralmente no Anexo L. Em seguida, aplicou-se o teste de comparações múltiplas de Tukey, cujos resultados, juntamente com as médias e os desvios padrão das porcentagens de crescimento bacteriano, encontram-se descritos na Tabela 16.

**Tabela 16.** Porcentagem de crescimento da *Escherichia coli* na presença das chalconas sintetizadas

| Compostos | 24 horas                  |                           | 48 horas                   |                            |
|-----------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
|           | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>   | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>   |
| CHAL      | 84,32 ± 1,7 <sup>b</sup>  | 79,93 ± 2,2 <sup>c</sup>  | 88,65 ± 1,2 <sup>c</sup>   | 89,48 ± 0,5 <sup>c</sup>   |
| CHAL 1    | 81,70 ± 1,1 <sup>bc</sup> | 73,02 ± 0,8 <sup>d</sup>  | 91,09 ± 2,7 <sup>abc</sup> | 90,97 ± 0,7 <sup>bc</sup>  |
| CHAL 1A   | 77,53 ± 2,2 <sup>c</sup>  | 67,96 ± 0,5 <sup>d</sup>  | 90,74 ± 0,1 <sup>abc</sup> | 87,9 ± 0,9 <sup>c</sup>    |
| CHAL 1B   | 84,06 ± 1,1 <sup>b</sup>  | 87,37 ± 3,3 <sup>a</sup>  | 89,63 ± 1,4 <sup>bc</sup>  | 93,17 ± 4,12 <sup>ab</sup> |
| CHAL 2    | 91,19 ± 4,46 <sup>a</sup> | 87,31 ± 2,9 <sup>ab</sup> | 96,11 ± 2,0 <sup>a</sup>   | 96,38 ± 1,4 <sup>a</sup>   |
| CHAL 2A   | 84,99 ± 2,0 <sup>ab</sup> | 81,55 ± 1,5 <sup>bc</sup> | 94,85 ± 3,5 <sup>ab</sup>  | 92,26 ± 1,1 <sup>abc</sup> |
| CHAL 2B   | -                         | -                         | -                          | -                          |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise da capacidade antimicrobiana com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Observa-se que os resultados obtidos frente a *Escherichia coli* apresentaram valores de inibição relativamente baixos, o que pode estar relacionado à natureza Gram-negativa dessa bactéria, diferente da *Staphylococcus aureus*, esta possui uma membrana externa adicional e, conseqüentemente, pode dificultar a penetração e a interação das chalconas (Madigan *et al.*, 2010). Destaca-se, por exemplo, a chalcona 2B, que contém um grupo amino na posição *meta* do anel aromático A e dois grupos metoxila nas posições *meta* e *para* do anel aromático B, e que não demonstrou nenhuma atividade inibitória contra o crescimento bacteriano.

Em relação às modificações estruturais, a introdução de um grupo amino na posição *para* do anel aromático A (CHAL 1) não resultou em uma melhora clara na atividade antimicrobiana. Os dados mostram que a CHAL 1 apresentou resultado intermediário, situando-se entre a chalcona sem substituintes (CHAL) e a CHAL 1B em termos de porcentagem de crescimento, o que indica que essa alteração estrutural não conferiu ganho expressivo na eficácia bacteriostática. De forma semelhante, a substituição com um grupo amino na posição *meta* do anel aromático A (CHAL 2) também não conferiu vantagem, apresentando desempenho inferior ao da chalcona sem substituições. No trabalho de Suwito *et al.* (2015) a 4'-aminochalcona foi apontada como o composto que apresentou efeito inibitório contra *Escherichia coli*

ATCC 25923, em concentrações que variaram de 0 a 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  resultado que não foi observado no presente estudo nessas condições.

A CHAL 1A destacou-se como a estrutura mais ativa frente a *Escherichia coli* em 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$  e 24 h, com uma porcentagem de crescimento de  $77,53 \pm 2,2$ . Essa chalcona possui um grupo amino na posição *para* do anel aromático A e um grupo metoxila na posição *para* do anel aromático B. Além disso, foi estatisticamente diferente dos demais compostos.

Na mesma concentração, mas após 48 horas, todos os compostos apresentaram aumento nos valores de crescimento, indicando redução de eficácia ao longo do tempo. Por exemplo, CHAL 1A e CHAL 1, que inicialmente exibiram uma porcentagem de crescimento de  $77,53 \pm 2,2\%$  e  $81,70 \pm 1,1$ , respectivamente, passaram para  $90,74 \pm 0,1$  e  $91,09 \pm 2,7$ . Notavelmente, a chalcona com o grupo amino na posição *para* (CHAL 2) se manteve com a maior porcentagem de crescimento, sendo a menos ativa em ambas as condições.

Em relação à concentração de 0,2  $\text{mmol L}^{-1}$  em 24 h, observou-se redução geral na porcentagem de crescimento em comparação a 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$ , evidenciando um efeito dependente da concentração. A comparação entre CHAL 1 e CHAL 2 indicou que a posição *para* do grupo amino favoreceu a atividade antibacteriana, com CHAL 1 exibindo uma porcentagem de crescimento de  $73,02 \pm 0,8$ , resultado semelhante ao observado em 0,1  $\text{mmol L}^{-1}$ . Além disso, CHAL 1A manteve-se como a estrutura mais promissora frente a *Escherichia coli*, com  $67,96 \pm 0,5\%$  de crescimento. Entretanto, não houve diferença estatística significativa entre CHAL 1A e CHAL 1, sugerindo que a adição de um grupo metoxila na posição *para* do anel aromático B não influenciou significativamente a atividade antibacteriana.

Após 48 horas na concentração de 0,2  $\text{mmol L}^{-1}$ , a diferença entre CHAL 1 e CHAL 2 manteve-se estatisticamente significativa. Apesar do aumento geral nos valores, CHAL 1 continuou inibindo o crescimento bacteriano de forma mais eficaz, com  $90,97 \pm 0,7\%$  de crescimento. Já CHAL 1A apresentou menores valores de crescimento bacteriano, sendo estatisticamente equivalente à chalcona sem substituições, indicando ausência de diferença significativa na capacidade bacteriostática entre essas estruturas. Por outro lado, CHAL 2 continuou a exibir os maiores valores de crescimento, confirmando sua menor eficácia antimicrobiana e evidenciando perda substancial de atividade ao longo do tempo.

Além disso, com o objetivo de aprofundar a compreensão acerca capacidade de inibição apresentada pelas chalconas frente a *Escherichia coli*, também foi realizada uma avaliação da formação de biofilmes.

Em relação à análise estatística, para os dados obtidos no tempo de 24 horas, na concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup>, foi necessária a transformação por meio da raiz quadrada. Para a concentração de 0,2 mmol L<sup>-1</sup>, a transformação não foi necessária. Em ambas as condições, os pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias, exigidos para a aplicação da análise de variância (ANOVA), foram atendidos, possibilitando a realização subsequente do teste de comparações múltiplas de Tukey, conforme apresentado no Anexo M.

Por outro lado, para as amostras incubadas por 48 horas, tais pressupostos não foram atendidos. Diante dessa limitação, optou-se pela realização de análises não paramétricas. Para as concentrações de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>, os resultados do teste de Kruskal-Wallis, com valores de  $p = 0,02102$  e  $p = 0,1262$ , respectivamente, indicaram ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos analisados. Conclusão corroborada pelo teste de Dunn (com correção de Bonferroni), o qual demonstrou não haver distinções significativas entre os grupos (anexo N e O). A Tabela 17 apresenta a média do crescimento de biofilme, desvio padrão e o testes de Tukey para os casos aplicáveis.

**Tabela 17.** Índice de formação de biofilme de *Escherichia coli* na presença das chalconas sintetizadas

| Compostos | 24 horas                  |                            | 48 horas                 |                          |
|-----------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------|
|           | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>   | 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 0,2 mmol L <sup>-1</sup> |
| Controle  | 0,88 ± 0,1 <sup>a</sup>   | 0,88 ± 0,1 <sup>ab</sup>   | 0,52 ± 0,2               | 0,52 ± 0,2               |
| CHAL      | 0,64 ± 0,2 <sup>ab</sup>  | 0,81 ± 0,2 <sup>bcd</sup>  | 0,88 ± 0,18              | 0,63 ± 0,1               |
| CHAL 1    | 0,56 ± 0,1 <sup>b</sup>   | 0,83 ± 0,2 <sup>bc</sup>   | 0,62 ± 0,1               | 0,67 ± 0,1               |
| CHAL 1A   | 0,64 ± 0,16 <sup>ab</sup> | 1,14 ± 0,1 <sup>a</sup>    | 0,58 ± 0,07              | 0,77 ± 0,2               |
| CHAL 1B   | 0,49 ± 0,1 <sup>b</sup>   | 0,63 ± 0,09 <sup>bcd</sup> | 0,55 ± 0,17              | 0,54 ± 0,19              |
| CHAL 2    | 0,42 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 0,67 ± 0,11 <sup>bcd</sup> | 0,63 ± 0,24              | 0,64 ± 0,25              |
| CHAL 2A   | 0,49 ± 0,1 <sup>b</sup>   | 0,59 ± 0,11 <sup>cd</sup>  | 0,44 ± 0,16              | 0,54 ± 0,27              |
| CHAL 2B   | 0,42 ± 0,03 <sup>b</sup>  | 0,53 ± 0,08 <sup>d</sup>   | 0,60 ± 0,15              | 0,59 ± 0,08              |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise da capacidade antibiofilme com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Fonte: A autora.

Na concentração de  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , após 24 horas de incubação, verificou-se redução na formação de biofilme em comparação ao controle negativo. Embora alguns compostos tenham apresentado diferença estatisticamente significativa em relação ao controle, não houve diferenças relevantes entre si, como a CHAL 1, CHAL 1B, CHAL 2, CHAL 2A e CHAL 2B. Esses resultados indicam que a inserção de um grupo metoxila na 4'-aminochalcona, assim como a introdução de um ou dois grupos metoxila na 3'-aminochalcona, não promoveu efeito significativo sobre a atividade antibiofilme nessas condições. Observa-se o mesmo comportamento para CHAL e CHAL 1A, evidenciando que as modificações estruturais introduzidas não resultaram em melhorias substanciais na atividade antibiofilme.

Entre os compostos avaliados, em termos numéricos, destaca-se que a CHAL 2 que apresentou a maior inibição da formação de biofilme, apesar de ser estatisticamente igual a outras estruturas, no teste de atividade antimicrobiana geral mostrou uma das menores capacidades de inibição. Esse resultado sugere que sua ação pode ser mais eficaz na inibição da formação de biofilme.

Na concentração de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ , após 24 horas de incubação, observa-se que, assim como nos resultados obtidos para *Staphylococcus aureus*, a concentração não foi um fator determinante para a redução da formação de biofilme, uma vez que os dados não seguiram um padrão linear. A chalcona que apresentou a maior capacidade de inibição foi a 2B, com valor de  $0,53 \pm 0,08$ , sendo estatisticamente diferente do controle. Esse composto possui um grupo amino na posição *meta* do anel A e dois grupos metoxila na posição *meta* e *para* do anel B.

Ao analisar os resultados, observa-se que, de modo geral, os compostos testados apresentaram capacidade moderada de inibição da formação de biofilme, a depender da concentração e do tempo. A *Escherichia coli* é uma bactéria frequentemente associada à formação de biofilmes, especialmente em contextos relacionados a doenças. Uma vez estabelecido, o biofilme pode tornar as bactérias até mil vezes mais resistentes aos antibióticos em comparação com as formas planctônicas. Essa elevada resistência pode ser explicada por diversos fatores, como a dificuldade de penetração dos antibióticos na matriz do biofilme, a redução nas taxas de crescimento bacteriano, a resposta ao estresse, a presença de células persistentes e a atuação de bombas de efluxo. Embora este estudo não tenha investigado diretamente esses mecanismos, é possível que tais fatores estejam envolvidos na baixa atividade observada para os compostos analisados (Ballén *et al.*, 2022).

Apesar dos estudos aqui apresentados não tenham identificado o mecanismo específico responsável pela inibição bacteriana ou da formação de biofilme, há evidências na literatura que descrevem diversos mecanismos de ação para os flavonoides, classe à qual pertencem às chalconas. Entre esses mecanismos destacam-se: inibição da síntese de ácidos nucleicos, interferência na função da membrana citoplasmática, alteração da permeabilidade da membrana, inibição da adesão e formação de biofilme, entre outros (Xie *et al.*, 2014).

## 6.5 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A avaliação da atividade antifúngica foi realizada frente a cepa *Candida albicans* ATCC 10231. As análises foram conduzidas utilizando concentrações de 0,1 mmol L<sup>-1</sup> e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>, e os resultados foram expressos em porcentagem de crescimento, conforme a Equação 3 descrita na seção anterior.

Para a análise comparativa entre as chalconas, os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk e ao teste de variâncias de Levene. Ambos os testes indicaram que os pressupostos necessários para aplicação da análise de variância (ANOVA) foram atendidos a 5% de significância. Dessa maneira, realizou-se o teste ANOVA para as chalconas em 0,1 e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>, em 24 e 48 horas de incubação, como demonstrado no Anexo P.

A análise de variância indicou efeito significativo dos tratamentos sobre o crescimento fúngico, uma vez que  $Pr > F_c$  foi inferior a 0,05. Esse resultado demonstra diferença estatisticamente significativa entre os compostos analisados, justificando a aplicação do teste de Tukey. Os seus resultados, juntamente com as médias e os desvios padrão das porcentagens de crescimento, estão descritos na Tabela 18.

**Tabela 18.** Porcentagem de crescimento da *C. albicans* na presença das chalconas sintetizadas

| Compostos | 24 horas                 |                          | 48 horas                  |                            |
|-----------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
|           | 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 0,1 mmol L <sup>-1</sup>  | 0,2 mmol L <sup>-1</sup>   |
| CHAL      | 38,22 ± 2,1 <sup>b</sup> | 11,64 ± 4,3 <sup>d</sup> | 54,91 ± 0,8 <sup>a</sup>  | 24,99 ± 7,9 <sup>abc</sup> |
| CHAL 1    | 52,95 ± 2,8 <sup>a</sup> | 40,25 ± 1,9 <sup>b</sup> | 42,93 ± 2,2 <sup>ab</sup> | 38,97 ± 5,1 <sup>a</sup>   |
| CHAL 1A   | 40,61 ± 0,4 <sup>b</sup> | 34,91 ± 1,5 <sup>b</sup> | 30,27 ± 4,4 <sup>cd</sup> | 21,32 ± 4,7 <sup>bc</sup>  |
| CHAL 1B   | 53,74 ± 2,8 <sup>a</sup> | 52,12 ± 0,9 <sup>a</sup> | 44,50 ± 4,0 <sup>ab</sup> | 26,71 ± 4,5 <sup>abc</sup> |
| CHAL 2    | 40,61 ± 6,9 <sup>b</sup> | 23,90 ± 2,8 <sup>c</sup> | 27,46 ± 5,7 <sup>d</sup>  | 15,02 ± 6,9 <sup>c</sup>   |
| CHAL 2A   | 41,53 ± 2,3 <sup>b</sup> | 23,11 ± 0,8 <sup>c</sup> | 40,35 ± 2,6 <sup>bc</sup> | 15,13 ± 0,3 <sup>c</sup>   |
| CHAL 2B   | 51,75 ± 3,5 <sup>a</sup> | 41,35 ± 1,4 <sup>b</sup> | 48,09 ± 3,1 <sup>ab</sup> | 30,15 ± 4,3 <sup>ab</sup>  |

\* Porcentagem de inibição expressas como média ± desvio padrão (n = 3). O teste t de Student foi aplicado aos resultados da análise do TBARS com valor de  $p < 0,05$ . Letras diferentes nas colunas indicam uma diferença significativa entre os compostos analisados em concentração de 0,1 e 0,2 mmol L<sup>-1</sup>.

Fonte: A autora.

Ao comparar os resultados em 0,1 mmol L<sup>-1</sup> em 24h, observa-se inicialmente que a chalcona sem substituintes (CHAL) apresentou, em termos numéricos, uma maior porcentagem de inibição (38 ± 2,1). Embora a inserção do grupo amino na posição *meta* resultou em valores numericamente menores, não houve diferença estatística em relação à CHAL, indicando que ambas exibiram atividade antifúngica semelhante. Além disso, a introdução de um grupo metoxila na 4'-aminochalcona (CHAL 1A) ou na 3'-aminochalcona (CHAL 2A) também não resultou em diferença significativa, demonstrando que essas modificações estruturais mantiveram a mesma capacidade de inibição observada para a chalcona sem substituintes. O estudo realizado por Prasa, Rao e Rambabu (2009) que investigou 4'-aminochalconas substituídas com grupos metoxila no anel aromático B, também destacou a 4'-amino-4-metoxichalcona pela boa atividade apresentada contra *Candida albicans* após 24 horas de incubação. Além disso, nesse mesmo trabalho, foi observado que a 4'-amino-4-metoxichalcona apresentou atividade superior em comparação à 4'-amino-2,3-dimetoxichalcona, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo, já que os resultados das chalconas que apresentaram dois grupos metoxila foram menores ao que a presença de apenas um.

Ao comparar as posições do grupo amino em chalconas sem substituições no anel aromático B, observa-se que a CHAL 2, que apresenta o grupo amino na posição

*meta*, possui um potencial antifúngico significativamente maior do que aquela com o grupo amino na posição *para*. Esse resultado é coerente com o estudo de Garcia *et al.* (2025), no qual foram avaliados derivados de 3'-aminochalconas com o anel B não substituído. Nesse trabalho, os autores consideraram que, com base em testes anteriores, a substituição na posição 3' do anel aromático A era a mais favorável ao potencial antifúngico dos compostos. Assim como no presente estudo, a posição *meta* também se destacou como a mais promissora em relação à atividade avaliada.

Em 48 horas a  $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ , destaca-se que CHAL 2 apresentou a menor porcentagem de crescimento, sendo estatisticamente diferente de todas as demais chalconas testadas, o que indica sua maior atividade antifúngica nesse tempo de incubação.

Em relação à porcentagem de inibição na concentração de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$ , após 24 horas, a chalcona sem substituintes apresentou o maior valor de inibição do crescimento fúngico ( $11,64 \pm 4,3$ ). Observa-se que a inserção de um grupo amino no anel aromático A não promoveu aumento da atividade antifúngica. No entanto, ao comparar as posições de substituição, verifica-se que o grupo amino na posição *meta* resultou em inibição significativamente maior do que aquele na posição *para*, com porcentagem de inibição de  $23,90 \pm 2,8$  e  $40,25 \pm 1,9$ , respectivamente.

Quanto à inserção do grupo metoxila, observa-se que sua adição na posição *para* do anel aromático B da 3'-aminochalcona não promoveu alteração significativa na atividade antifúngica, apresentando resultados estatisticamente semelhantes à própria 3'-aminochalcona. O mesmo padrão foi observado para a CHAL 2 e CHAL 2A, indicando que essas modificações estruturais não alteraram significativamente a porcentagem de crescimento do fungo.

Ainda em relação a chalcona na concentração de  $0,2 \text{ mmol L}^{-1}$  após 48 horas, observa-se que a CHAL 2 e a CHAL 2A apresentaram as menores porcentagens de crescimento fúngico,  $15,02 \pm 6,9$  e  $15,13 \pm 0,3$ , respectivamente, sendo significativamente iguais entre si. Por outro lado, a CHAL 1, foi a que apresentou a maior porcentagem de crescimento ( $38,97 \pm 5,1$ ), sendo estatisticamente diferente das chalconas que apresentaram maior porcentagem de inibição de crescimento. Os demais compostos, CHAL, CHAL 1A, CHAL 1B e CHAL 2B exibiram valores intermediários, sem diferenças estatísticas em relação a CHAL 1 nem entre si, o que sugere um padrão de atividade antifúngica menos consistente e homogênea.

## 7 CONCLUSÃO

Neste trabalho, foi possível sintetizar aminochalconas por meio da reação de condensação de Claisen–Schmidt, embora tenham sido necessários alguns ajustes na metodologia. A caracterização dos produtos obtidos foi realizada de forma inequívoca por espectroscopia de RMN e determinação do ponto de fusão, confirmando a formação da ligação vinílica e a ausência de reagentes residuais nos compostos finais.

Nos ensaios antioxidantes, observou-se que alguns derivados apresentaram desempenho consistente, especialmente CHAL 2B, que se destacou pela capacidade de atuar tanto por mecanismos de doação de hidrogênio quanto de transferência de elétrons.

Em relação à atividade antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, os compostos apresentaram eficácia moderada. Observou-se ainda que sua atividade depende diretamente da posição e da quantidade de grupos substituintes, da concentração e do tempo de incubação, sem apresentar uma relação linear em função dessas variáveis. Dessa forma, não foi possível identificar, com clareza e significância estatística, qual chalcona se destacou de forma geral. Além disso, não se verificou uma relação direta entre a atividade antioxidante e a atividade antimicrobiana dos compostos.

Nos ensaios antibiofilme, os resultados frente a *Staphylococcus aureus* foram mais expressivos, com alguns derivados apresentando efeito mais pronunciado de inibição do biofilme do que de inibição do crescimento bacteriano. Contra *Escherichia coli*, a inibição do biofilme foi menos acentuada, mas presente em determinadas condições experimentais.

O achado mais relevante foi obtido nos ensaios antifúngicos contra *Candida albicans*, nos quais a maioria dos compostos apresentou inibição significativa do crescimento fúngico. Este resultado, aliado à simplicidade estrutural e à versatilidade química das aminochalconas, reforça o potencial dessas moléculas para o desenvolvimento de novos agentes antifúngicos e para futuras investigações da relação estrutura–atividade.

## REFERÊNCIAS

ABDULA, A. M. *et al.* 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, n. p., jun. 2024. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844024082884>. Acesso em: 28 mar. 2025;

AL-FAWARES, O. *et al.* Molecular investigation of Staphylococcus aureus isolated from inanimate surfaces in Jordanian hospitals. **Brazilian Journal of Biology**, v. 84, 2024. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjb/a/J7Gzb4nfQpr6swbMVntYDQD/?format=html&lang=en>. Acesso em: 13 fev. 2025;

ALOTAIBI, Ghazay F. Factors Influencing Bacterial Biofilm Formation and Development. **American Journal of Biomedical Science & Research**, v. 12, n. 6, p. 617–626, maio 2021. Disponível em: <https://biomedgrid.com/fulltext/volume12/factors-influencing-bacterial-biofilm-formation-and-development.001820.php>. Acesso em: 17 jul. 2025;

ALSHAZLY, O. *et al.* Amide linked chalcone derivatives, a promising class of compounds with versatile biological effects. **RSC Advances**, v. 15, n. 24, p. 19043–19068, jun. 2025. Disponível em: <https://biomedgrid.com/pdf/AJBSR.MS.ID.001820.pdf>. Acesso em: 14 mar. 2025;

AMIRI, S. *et al.* Characterization of antimicrobial peptides produced by Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium lactis BB-12 and their inhibitory effect against foodborne pathogens. **LWT**, v. 153, jan. 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643821016029>. Acesso em: 17 jul. 2025;

ANSARI, F. *et al.* Syntheses and Biological Activities of Chalcone and 1,5-Benzothiazepine Derivatives: Promising New Free-Radical Scavengers, and Esterase, Urease, and alpha-Glucosidase Inhibitors. **Chemistry & Biodiversity**, v. 2, n. 4, p. 487–496, abr. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17191997/>. Acesso em 20 fev. 2025;

ARAÚJO, E. C. A cicatrização de feridas com uso de produtos naturais. **Revista de Enfermagem**, v. 10, n. 5, n. p., maio. 2016. Disponível em: <https://periodicos.ufpe.br/revistas/index.php/revistaenfermagem/article/view/11150>. Acesso em: 10 jan. 2025;

BAILLY, C. Toward the use of Boesenbergia rotunda extracts and the chalcone panduratin A to treat periodontitis. **Journal of Oral Biosciences**, v. 64, n. 2, p. 183–192, jun. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35306173/>. Acesso em: 17 jul. 2025;

BALLÉN, V. *et al.* Clinical Escherichia coli: From Biofilm Formation to New Antibiofilm Strategies. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1103, maio 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35744621/>. Acesso em 17 jul. 2025;

BARBOSA, E. S. *et al.* Prevalência e perfil de resistência da Escherichia coli isolada de infecções do trato urinário. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 1, n.p., jan. 2022. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/24280>. Acesso em: 20 jun. 2025;

BARBOSA, K. B. F. *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629–643, ago. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-52732010000400013>. Acesso em: 21 fev. 2025;

BEDLOVICOVÁ, Z. *et al.* A Brief Overview on Antioxidant Activity Determination of Silver Nanoparticles. **Molecules**, v. 25, n. 14, n. p., jul. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/14/3191>. Acesso em: 21 fev. 2025;

BENZIE, I. F. F.; DEVAKI, M. The ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay for non-enzymatic antioxidant capacity: concepts, procedures, limitations and applications. In\_\_\_\_: **Measurement of Antioxidant Activity & Capacity**. Chichester: John Wiley & Sons, 2017. p. 77–106. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch5>. Acesso em: 16 jul. 2024;

BIAN, T. *et al.* Kava as a Clinical Nutrient: Promises and Challenges. **Nutrients**, v. 12, n. 10, n. p., out. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33027883/>. Acesso em: 15 mar. 2025;

BISHT, S. *et al.* Oxidative stress and male infertility. **Nature Reviews Urology**, v. 14, n. 8, p. 470–485, ago. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.69>. Acesso em: 21 fev. 2025;

BLOIS, M. Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199–1200, abr. 1958. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1811199a0>. Acesso em: 17 jul. 2025;

BRUICE, P. Y. **Química Orgânica**. 4ª ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006;

CABRERA, M. *et al.* Synthetic chalcones, flavanones, and flavones as antitumoral agents: biological evaluation and structure-activity relationships. **Bioorg Med Chem**. v. 15, n. 10, p. 3356-3367, maio 2007. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S096808960700212X>. Acesso em: 18 jun. 2025;

CALIXTRO, J. R.; JUNIOR, J. M. M. Desenvolvimento de Medicamentos no Brasil: Desafios. **Gazeta Médica da Bahia**, v. 78, n. 1, p. 98-106, 2008. Disponível em: <https://gmbahia.ufba.br/index.php/gmbahia/article/view/269>. Acesso em: 15 fev. 2025;

CAMELO-NUNES, I. C. Novos anti-histamínicos: uma visão crítica. **Jornal de Pediatria**, v. 82, n. 5, p. 173–180, nov. 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572006000700007>. Acesso em: 15 fev. 2025;

CAPURSO, L. Thirty Years of *Lactobacillus rhamnosus* GG. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 53, n. 1, p. 1–41, mar. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30741841/>. Acesso em: 17 jul. 2025;

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry**. New York: AMGH, 2011. Disponível em: <https://chemistlibrary.wordpress.com/wp-content/uploads/2015/07/advanced-organic-chemistry-4ed-2000-part-a-structure-and-mechanisms-carey-sundberg.pdf>. Acesso em: 14 jan. 2025;

CARVALHO, Suzi P. de *et al.* Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying SCC mec type IV and V isolated from healthy children attending public daycares in northeastern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, n. 4, p. 464–467, jul. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28482183/>. Acesso em: 17 jul. 2025;

CHANDER, M. P. *et al.* GC/MS profiling, *in vitro* anti-leptospiral and haemolytic activities of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. used as a medicinal plant by Nicobarese of Andaman and Nicobar Islands. **Natural Product Research**, v. 30, n. 10, p. 1190–1192, maio 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26114982/>. Acesso em: 12 jan. 2025;

CHANDRA, S. R.; DIWAN, A. D.; PANCHE, A. N. Flavonoids: na overview. **Nutr Sci.**, v. 5, n. 47, dez. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28620474/>. Acesso em 12 jan. 2025;

CHEN, F. *et al.* Synthesis and biological activity of the novel indanedione anticoagulant rodenticides containing fluorine **Bioengineered**, v.8, n. 1, p. 92-98, out. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/adsc.201701559>. Acesso em: 10 jan. 2025;

CHEN, S. *et al.* A Review of Classification, Biosynthesis, Biological Activities and Potential Applications of Flavonoids. **Molecules**, v. 28, n. 13, n. p., jun. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/28/13/4982>. Acesso em: 03 jan. 2025;

CHEN, X. *et al.* Antioxidative and anticancer properties of Licochalcone A from licorice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 198, p. 331–337, fev. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28111219/>. Acesso em: 03 jan. 2025;

CHIORCEA-PAQUIM, A.M. Electrochemistry of Flavonoids: A Comprehensive Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 21, n.p., out. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/21/15667>. Acesso em: 02 jan. 2025;

CHRISTODOULOU, Marios C. *et al.* Spectrophotometric Methods for Measurement of Antioxidant Activity in Food and Pharmaceuticals. **Antioxidants**, v. 11, n. 11, p. 2213, nov. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36358583/>. Acesso em: 17 jul. 2025;

CHUTIWITOONCHAI, N. *et al.* Antiviral effect of pinostrobin, a bioactive constituent of *Boesenbergia rotunda*, against porcine epidemic diarrhea virus. **Antiviral Research**,

v. 234, n. p., fev. 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39716668/>. Acesso em: 03 jan. 2025;

CLAYDEN, J.; WARREN, S. G.; GREEVES, N. **Organic Chemistry**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 2012;

CONSTANTINESCU, T.; LUNGU, C. N. Anticancer Activity of Natural and Synthetic Chalcones. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 21, n. p., out. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/21/11306>. Acesso em: 11 ago. 2025;

COSTA, A. L. P.; SILVA JUNIOR, A. C. S. Resistência bacteriana aos antibióticos e Saúde Pública: uma breve revisão de literatura. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 7, n. 2, p. 45, 23 ago. 2017. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/e9dd/6f9ef66c2f4cb74b683178b78d45d83d46e6.pdf>. Acesso em: 17 jul. 2025;

COWEN, Leah E. *et al.* Mechanisms of Antifungal Drug Resistance. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 5, n. 7, n.p., jul. 2015. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4484955/>. Acesso em: 17 jul. 2025;

DAKER, M. *et al.* Antioxidant from maize and maize fermented by *Marasmiellus* sp. as stabiliser of lipid-rich foods. **Food Chemistry**, set. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.027>. Acesso em: 25 mar. 2025;

DÍAZ-TIELAS, C. *et al.* Biological Activities And Novel Applications Of Chalcones. **Planta Daninha**, v. 34, n. 3, p. 607–616, set. 2016. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pd/a/GGBWtzRDvBzM8KYYvyPSdhH/?lang=en>. Acesso em 10 jul. 2025;

DIMMOCK, J. R. *et al.* Cytotoxic 4'-aminochalcones and related compounds. **Pharmazie**, v. 58, n. 4, p. 227-232, abr., 2003. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12749401/>. Acesso em: 28 mar. 2025;

DUTRA, A. S. *et al.* Desafios e inovações na terapêutica de doenças negligenciadas: O papel dos fitoterápicos na busca por soluções eficientes. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, v. 6, n. 2, p. 1967–1994, fev. 2024. Disponível em: <https://bjih.emnuvens.com.br/bjih/article/view/1535>. Acesso em: 17 jul. 2025;

ELKANZI, N. A. A. *et al.* Synthesis of Chalcones Derivatives and Their Biological Activities: A Review. **ACS Omega**, v. 7, n. 32, p. 27769–27786, ago. 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01779>. Acesso em 15 fev. 2025;

FANG, F.; LI, Y.; TIAN, S. Stereoselective Olefination of N -Sulfonyl Imines with Stabilized Phosphonium Ylides for the Synthesis of Electron-Deficient Alkenes. **European Journal of Organic Chemistry**, v. 2011, n. 6, p. 1084-1091, 2011. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10977923/>. Acesso em: 28 mar. 2025;

FEITOSA, B. F. *et al.* Bioactive Natural Products for Chemical Control of Microorganisms: Scientific Prospecting (2001–2021) and Systematic Review. **Molecules**, v. 27, n. 18, n.p., set. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/18/5917>. Acesso em: 17 jul. 2025;

FELIPPE, W.Q. *et al.* Antifungal effects of thiosemicarbazone-chalcones on *Aspergillus*, *Candida* and *Sporothrix* strains. **Archives of Microbiology**, v. 207, n. 1, n.p., jan. 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39754673/>. Acesso em: 20 jun. 2025;

FREO, U. *et al.* Paracetamol: A Review of Guideline Recommendations. **Journal of Clinical Medicine**, v. 10, n. 15, n. p., jul. 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34362203/>. Acesso em: 20 jun.2025;

GALEANO, R. M. S. *et al.* New Strains of *Trichoderma* with Potential for Biocontrol and Plant Growth Promotion Improve Early Soybean Growth and Development. **Journal of Plant Growth Regulation**, v. 43, n. 11, p. 4099–4119, nov. 2024. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00344-024-11374-z>. Acesso em: 17 jul. 2025;

GHANI, M. A. *et al.* Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry**, v. 230, p. 195–207, set. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28407901/>. Acesso em: 20 mar. 2025;

GLOBAL BIODIVERSITY INFORMATION FACILITY – GBIF. Imagens disponíveis em: <https://www.gbif.org/>. Acesso em: 18 jun. 2025;

GOMES, M. *et al.* Chalcone Derivatives: Promising Starting Points for Drug Design. **Molecules**, v. 22, n. 8, n. p., jul. 2017. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/8/1210>. Acesso em: 20 fev. 2025;

GONSALVES, A. *et al.* Proposta de síntese one-pot: práticas experimentais de química orgânica e medicinal a partir da preparação do heterociclo tiazol. **Química Nova**, 2025. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/wSqZGg9JKctr7QRmPHfLmtv/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 05 fev. 2025;

GRACIANI, J. *et al.* Evaluation of efficacy of new chalcone-based endodontic irrigant against dual biofilm *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*: a study in vitro. **Odontology**, v. 111, n. 3, p. 573–579, jul. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36414881/>. Acesso em: 05 fev. 2025;

GUIJA-GUERRA, H.; GUIJA-POMA, E.. Radicales libres y sistema antioxidante. **Horizonte Médico (Lima)**, v. 23, n. 2, n. p., mar. 2023. Disponível em: <https://www.horizontemedico.usmp.edu.pe/index.php/horizontemed/article/view/2158/1499>. Acesso em: 03 fev. 2025;

GULCIN, İ. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651–715, mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>. Acesso em: 04 fev. 2025;

GUZMÁN-GUTIÉRREZ, S. *et al.* Mexican Propolis: A Source of Antioxidants and Anti-Inflammatory Compounds, and Isolation of a Novel Chalcone and  $\epsilon$ -Caprolactone Derivative. **Molecules**, v. 23, n. 2, n. p., fev. 2018. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/23/2/334>. Acesso em: 25 fev. 2025;

HAMLAOUI, I. *et al.* Experimental and theoretical study on DPPH radical scavenging mechanism of some chalcone quinoline derivatives. **Journal of Molecular Structure**, v. 1156, p. 385–389, mar. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.11.118>. Acesso em: 17 jun. 2025;

HAQ, I. U. *et al.* Synthetic piperidine-substituted chalcones as potential hits for  $\alpha$ -amylase inhibitory and antioxidant activities. **Future Med Chem**, v. 15, n. 6, p. 497–515, abr. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37092302/>. Acesso em: 03 fev. 2025;

HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J.; MABRY, H. **The Flavonoids**. Boston: Springer, 1975. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-1-4899-2915-0.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2025;

HOSSAIN, C. M. *et al.* Antifungals and Drug Resistance. **Encyclopedia**, v. 2, n. 4, p. 1722–1737, out. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2673-8392/2/4/118>. Acesso em 20 jul. 2025;

HUANG, Hui *et al.* Towards the biofilm characterization and regulation in biological wastewater treatment. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 3, p. 1115–1129, fev. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30483847/>. Acesso em: 04 fev. 2025;

HURLLOW, J. *et al.* Clinical Biofilms: A Challenging Frontier in Wound Care. **Advances in Wound Care**, v. 4, n. 5, p. 295–301, maio 2015. DOI: 10.1089/wound.2014.0567; IRFAN, R. *et al.* A comprehensive review of aminochalcones. **Molecules**, v. 25, v. 22, nov. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/22/5381>. Acesso em: 05 fev. 2025;

ISA, N. M. *et al.* In vitro anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of boesenbergin A, a chalcone isolated from Boesenbergia rotunda (L.) (fingerroot). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 45, n. 6, p. 524–530, jun. 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bjmbr/a/kBwspQNfNSmMc3TjKdwQh4f/?lang=en>. Acesso em: 02 fev. 2025;

JFOSTER, T. **Staphylococcus aureus**. In: Molecular Medical Microbiology. [S.l.]: Elsevier, 2002. p. 839–888;

JING, R. *et al.* Indigenous fungi derived from a municipal wastewater treatment plant with rapid flocculation of Chlorella sp.: Convenience, mechanisms, and conditions optimization. **Journal of Water Process Engineering**, v. 73, maio 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2214714425007652>. Acesso em: 20 jun. 2025;

KAPLAN, J. B. Antibiotic-Induced Biofilm Formation. **The International Journal of Artificial Organs**, v. 34, n. 9, p. 737–751, set. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22094552/>. Acesso em: 14 jun. 2025;

KARAMAN, I. *et al.* Screening of Biological Activities of a Series of Chalcone Derivatives against Human Pathogenic Microorganisms. **Chemistry & Biodiversity**, v. 7, n.2, p. 400-408, mar., 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20151389/>. Acesso em: 13 fev. 2025;

KEDARE, S. B.; SINGH, R. P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal of Food Science and Technology**, v. 48, n. 4, p. 412–422, ago. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23572765/>. Acesso em: 14 abr. 2025;

KEREK, A. L. *et al.* Exploring the antioxidant potential of hydroxychalcones: A comprehensive investigation integrating theoretical and experimental analyses. **Journal of Molecular Structure**, v. 1322, n. p., fev. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2024.140521>. Acesso em: 02 fev. 2025;

KHARE, S.; DEWANGAN, R. P.; KUMAR, A. **Structure-Activity Relationship of Flavonoids: Recent Updates**. In: The Chemistry inside Spices & Herbs: Research and Development: bentham science publishers, 2022. p. 237–259. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/chapter/16879>. Acesso em: 06 abr. 2025;

KLAUNIG, J. E. *et al.* Oxidative stress and oxidative damage in chemical carcinogenesis. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 254, n. 2, p. 86–99, jul. 2011. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21296097/>. Acesso em: 07 abr. 2025;

KOZLOWSKA, J. *et al.* Synthesis and Biological Evaluation of Novel Aminochalcones as Potential Anticancer and Antimicrobial Agents. **Molecules**, v. 24, n. 22, n.p., nov. 2019. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/22/4129>. Acesso em: 06 fev. 2025;

KRETZER, C. *et al.* Natural chalcones elicit formation of specialized pro-resolving mediators and related 15-lipoxygenase products in human macrophages. **Biochemical Pharmacology**, v. 195, n. p., jan. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34762841/>. Acesso em: 04 jul. 2025;

KUTTITHODI, A. M. *et al.* Antioxidant, Antimicrobial, Cytotoxicity, and Larvicidal Activities of Selected Synthetic Bis-Chalcones. **Molecules**, v. 27, n. 23, n. p., nov. 2022. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/27/23/8209>. Acesso em: 03 jul. 2025;

LEBOT, V.; MERLIN, M.; LINDSTROM, L. **Kava: The pacific Elixir: The Definitive Guide to its Ethnobotany, History, and Chemistry**. 1<sup>a</sup> ed. Rochester: Healing Arts Press, 1992;

LEON, A. D. L., J.; BORGES, C. R. Evaluation of Oxidative Stress in Biological Samples Using the Thiobarbituric Acid Reactive Substances Assay. **Journal of**

**Visualized Experiments**, n. 159, maio 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32478759/>. Acesso em: 06 abr. 2025;

LIGA, S.; PAUL, C.; PÉTER, F. Flavonoids: Overview of Biosynthesis, Biological Activity, and Current Extraction Techniques. **Plants**, v. 12, n. 14, n. p., jul. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2223-7747/12/14/2732>. Acesso em: 03 fev. 2025;

LIMA, W. G. *et al.* Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of chalcone-bearing tetrahydropyranyl and 2,4-dihydroxyl moieties. **Rev. Colom. Cienc. Quím. Farm**, v. 49, n. 1, p.218-233, abr. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v49n1.87036>. Acesso em: 10 fev. 2025;

LIU, W. *et al.* The Flavonoid Biosynthesis Network in Plants. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12824, nov. 2021. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/23/12824>. Acesso em: 05 fev. 2025;

LOGAN, A.; WOLFE, A.; WILLIAMSON, John C. Antifungal Resistance and the Role of New Therapeutic Agents. **Current Infectious Disease Reports**, v. 24, n. 9, p. 105–116, set. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35812838/>. Acesso em: 06 mar. 2025;

MACIAS-PAZ, I, U, *et al.* *Candida albicans* the main opportunistic pathogenic fungus in humans. **Revista Argentina de Microbiología**, v. 55, n. 2, p. 189–198, abr. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36411138/>. Acesso em: 05 jun. 2025; MADIGAN, M, T. *et al.* **Brock: biology of microorganisms**. Boston, MA: Pearson Education, 2011;

MAHAPATRA, D. K.; BHARTI, S. K.; ASATI, V. Chalcone Derivatives: Anti-inflammatory Potential and Molecular Targets Perspectives. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 17, n. 28, p. 3146–3169, nov. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28914193/>. Acesso em: 05 mar. 2025;

MENEZES, J. C. J. M. D. S.; DIEDERICH, M. F. Natural dimers of coumarin, chalcones, and resveratrol and the link between structure and pharmacology. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 182, p. 111637, nov. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31494471/>. Acesso em: 16 ago. 2025;

MIN, K.; NEIMAN, A. M.; KONOPKA, J. B. Fungal Pathogens: Shape-Shifting Invaders. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 11, p. 922–933, nov. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31494471/>. Acesso em: 16 ago. 2025;

MUHAMMAD, M. H. *et al.* Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, maio 2020. Disponível: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32508772/>. Acesso em: 18 jul. 2025;

MURAKAMI, A. *et al.* Chalcone Tetramers, Lophirachalcone and Alatachalcone, from *Lophira alata* as Possible Anti-tumor Promoters. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 56, n. 5, p. 769–772, 12 jan. 1992. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1369383/>. Acesso em: 15 fev. 2025;

NARWAL, S.; KUMAR, S.; VERMA, P. K. Synthesis and biological activity of new chalcone scaffolds as prospective antimicrobial agents. **Research on Chemical Intermediates**, v. 47, n. 4, p. 1625–1641, abr. 2021. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/348404506\\_Synthesis\\_and\\_biological\\_activity\\_of\\_new\\_chalcone\\_scaffolds\\_as\\_prospective\\_antimicrobial\\_agents](https://www.researchgate.net/publication/348404506_Synthesis_and_biological_activity_of_new_chalcone_scaffolds_as_prospective_antimicrobial_agents). Acesso em: 02 jun. 2025;

NIEGO, A. G. T. *et al.* The contribution of fungi to the global economy. **Fungal Diversity**, v. 121, n. 1, p. 95–137, 12 jul. 2023. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13225-023-00520-9>. Acesso em: 20 fev. 2025;

NIMSE, S. B.; PAL, D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. **RSC Advanced**, v. 5, 27986–28006, mar. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C4RA13315C>. Acesso em: 26 fev. 2025;

O'toole, G. A.; Kolter, R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. **Molecular microbiology**, v. 28, n. 3, p. 449–461, 1998. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9632250/>. Acesso em: 22 mar. 2025;

OLLOQUEQUI, J. *et al.* Licochalcone A: A Potential Multitarget Drug for Alzheimer's Disease Treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 18, n. p., 16 set. 2023. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/18/14177>. Acesso em: 25 mar. 2025;

PAL, A. *et al.* Iron in Alzheimer's Disease: From Physiology to Disease Disabilities. **Biomolecules**, v. 12, n. 9, n. p., 6 set. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36139084/>. Acesso em: 26 mar. 2025;

PANKEY, G. A.; SABATH, L. D. Clinical Relevance of Bacteriostatic versus Bactericidal Mechanisms of Action in the Treatment of Gram-Positive Bacterial Infections. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 6, p. 864–870, mar. 2004. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14999632/>. Acesso em: 20 mar. 2025;

PAPAGIANNI, M.. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 3, p. 189–259, jan. 2004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S073497500300168X>. Acesso em: 15 abr. 2025;

PAVIA, D. L. *et al.* **Introdução à espectroscopia**. Tradução: Pedro Barros e Roberto Sergio Santos. São Paulo: Cengage Learning, 2021;

PERRIN, C. L.; CHANG, K.-L. The Complete Mechanism of an Aldol Condensation. **The Journal of Organic Chemistry**, v. 81, n. 13, p. 5631–5635, jul. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.joc.6b00959>. Acesso em: 12 abr. 2025;

PIA, M. G. D. *et al.* Biological Effects of Licochalcones. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 8, p. 647–656, abr. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30049263/>. Acesso em: 20 abr. 2025;

PINGAEW, R. *et al.* Synthesis, biological evaluation and molecular docking of novel chalcone-coumarin hybrids as anticancer and antimalarial agentes. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 85, p. 65-76, 2014. Disponível em: [10.1016/j.ejmech.2014.07.087](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2014.07.087). Acesso em: 02 mar. 2025;

POIREL, *et al.* Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. **Microbiol Spectr.**, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30003866/>. Acesso em: 25 mar. 2025;  
POPOOLA, O. *et al.* Inhibition of Oxidative Stress and Skin Aging-Related Enzymes by Prenylated Chalcones and Other Flavonoids from *Helichrysum teretifolium*. **Molecules**, v. 20, n. 4, p. 7143–7155, abr. 2015. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/20/4/7143>. Acesso em: 22 mar. 2025;

PRASA, Y. R.; RAO, A. S.; RAMBABU, R. Synthesis of Some 4'-Amino Chalcones and their Antiinflammatory and Antimicrobial Activity. **Asian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 907–914, 2009. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/289649364\\_Synthesis\\_of\\_New\\_4'-amino\\_chalcones\\_and\\_their\\_anti-inflammatory\\_and\\_antimicrobial\\_activity](https://www.researchgate.net/publication/289649364_Synthesis_of_New_4'-amino_chalcones_and_their_anti-inflammatory_and_antimicrobial_activity). Acesso em: 21 mar. 2025;

PRETSCH, E.; SEIBL, J.; SIMON, W. Tables of Spectral Data For Struture Determonation of Organic Compunds. Heidelberg: Springer,1989. Disponível em: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-662-10207-7>. Acesso em: 26 mar. 2025;  
PROESTOS, C.; KOMAITIS, M. Antioxidant capacity of hops. **Beer in health and disease prevention**, p. 467-474. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780123738912000456>. Acesso em: 13 mar. 2025;

PULIKEYIL, A. *et al.* Are bactericidal antibiotics necessary to effectively treat bloodstream infections? **CMI Communications**, v. 2, n. 2, n.p., jun. 2025. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2950590925000186>. Acesso em: 26 fev. 2025;

RADAELLI, V. A Nova Conformação Setorial da Indústria Farmacêutica Mundial: redesenho nas pesquisas e ingresso de novos atores. **Revista Brasileira de Inovação**, v. 7, n. 2, n.p., jun. 2008. Disponível em: <https://periodicos.sbu.unicamp.br/ojs/index.php/rbi/article/view/8648971>. Acesso em: 23 abr. 2025;

RAMMOHAN, A. *et al.* Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v.18, p. 433-458 mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00959-w>. Acesso em: 15 abr. 2025;

RANA, MD. S. *et al.* Antioxidant activity of Schiff base ligands using the DPPH scavenging assay: an updated review. **RSC Advances**, v. 14, n. 45, p. 33094–33123, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D4RA04375H>. Acesso em: 15 abr. 2025;

REYGAERT, W. An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. **AIMS Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 482–501, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31294229/>. Acesso em: 23 mar. 2025;

GARCIA, M. A. *et al.* Synthesis and evaluation of the antifungal and antibiofilm potential of aminochalcones. **Archives of Microbiology**, v. 207, n. 2, n. p., fev. 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39831986/>. Acesso em: 13 abr. 2025;  
ROCHA, L. P. B. *et al.* Uso de plantas medicinais: Histórico e relevância. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, n. p., ago. 2021. Disponível em: <https://rsdjournal.org/rsd/article/view/18282>. Acesso em: 15 mar. 2025;

ROSETE, M. I. DE S. F. *et al.* Hepatite Colestática Aguda Secundária a Amoxicilina/Ácido Clavulânico. **Gazeta Médica**, v. 7, n. 4, dez. 2020. Disponível em: <https://www.gazetamedica.pt/index.php/gazeta/article/download/378/253/3020>. Acesso em: 12 mar. 2025;

RUPASINGHE, H. P. V. Special Issue “Flavonoids and Their Disease Prevention and Treatment Potential”: Recent Advances and Future Perspectives. **Molecules**, v. 25, n. 20, n. p., out. 2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/20/4746>. Acesso em: 12 abr. 2025;

SACHETT, A. *et al.* **Antioxidant activity by FRAP assay: in vitro protocol**, mar. 2021. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/352416693\\_Antioxidant\\_activity\\_by\\_FRAP\\_assay\\_in\\_vitro\\_protocol](https://www.researchgate.net/publication/352416693_Antioxidant_activity_by_FRAP_assay_in_vitro_protocol). Acesso em: 22 mar. 2025;

SAHU, K. N. *et al.* Exploring Pharmacological Significance of Chalcone Scaffold: A Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 2, p. 209–225, jan. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22320299/>. Acesso em: 12 mar. 2025;

SAKATA, R. P. *et al.* Synthesis and biological evaluation of 2'-Aminochalcone: A multi-target approach to find drug candidates to treat Alzheimer's disease. **Bioorganic Chemistry**, v. 103, n. p., out. 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32890999/>. Acesso em: 05 fev. 2025;

SANGI, D. P. Estratégias De Síntese Na Descoberta De Fármacos: O Emprego Da Síntese Orientada Pela Diversidade Estrutural. **Quim. Nova**, v. 39, n. 8, p.995-1006, set. 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160089>. Acesso em: 03 fev. 2025;

SANMUGAVELAN, R. *et al.* *In vitro* and in silico studies of chalcone synthase variant 2 in Boesenbergia rotunda and its substrate specificity. **Turkish Journal Of Biology**, v. 42, n. 3, jun. 2018. Disponível em: <http://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30814883/>. Acesso em: 05 fev. 2025;

SANTIAGO, R. N. S. *et al.* FT-Raman and FT-IR spectra and DFT calculations of chalcone (2E)-1-(4-aminophenyl)-3-phenyl-prop-2-en-1-one. **Vibrational Spectroscopy**, v. 97, p. 1–7, 1 jul. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.04.007>. Acesso em: 12 mar. 2025;

SANTOS L., THASSYA A. *et al.* In silico activity and effect of synthetic chalcones on *Candida albicans* and *Candida tropicalis* biofilms. **Biochimie**, v. 234, p. 29–39, jul. 2025. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40113030/>. Acesso em: 15 mar. 2025;

SANTOS, M. B. *et al.* Antiproliferative and pro-apoptotic activities of 2'- and 4'-aminochalcones against tumor canine cells. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 138, p. 884–889, set. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28738308/>. Acesso em: 26 mar. 2025;

SCHAEFER, C. C. S. *et al.* Cândida auris: características clínicas de uma levedura nosocomial emergente resistente a medicamentos *Candida auris*: clinical characteristics of an emerging drug-resistant nosocomial yeast. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 37062–37077, maio, 2022. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/47983>. Acesso em: 15 abr. 2025;

SELEPE, M; VAN HEERDEN, F. Application of the Suzuki-Miyaura Reaction in the Synthesis of Flavonoids. **Molecules**, v.18, n. 4, p. 4739-4765, abr. 2013. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/18/4/4739>. Acesso em: 12 abr. 2025;

SEO, W. D. *et al.* Sulfonamide chalcone as a new class of  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 15, n. 24, p. 5514–5516, dez. 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16202584/>. Acesso em 09 abr. 2025;

SHALABY, M. A.; RIZK, S. A.; FAHIM, A. M. Synthesis, reactions and application of chalcones: a systematic review. **Organic & Biomolecular Chemistry**, v. 21, n. 26, p. 5317–5346, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/D3OB00792H>. Acesso em: 20 abr. 2025;

SHANG, Z. *et al.* Chemical analysis of the Chinese herbal medicine licorice (Gan-Cao): An update review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 299, n. p., dez. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36067839/>. Acesso em 25 abr. 2025;  
SHEN, N. *et al.* Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 383, n. p., jul. 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35413752/>. Acesso em: 15 jun. 2025;

SILVA, L. O. P.; ESTEVAM, L. B.; NOGUEIRA, J. M. R. Disseminação da resistência aos antimicrobianos no contexto de saúde única: uma breve revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 56, n. 1, n. p., 2024. Disponível em: [10.21877/2448-3877.202400149](https://doi.org/10.21877/2448-3877.202400149). Acesso em 20 jun. 2025;

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Tradução: Ricardo Bicca de Alencastro. Rio de Janeiro: LTC, 2007;

SIRIVIBULKOVIT, K.; NOUANTHAVONG, S.; SAMEENOI, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. **ANAL. SCI.**, v. 34, p. 795-800, jul. 2018. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.2116/analsci.18P014>. Acesso em: 15 jun. 2025;

SOUZA, M. B. R.; MORAES, S. J. V.; ALVIM, H. G. O. Boldo e seus benefícios em doenças gastrointestinais. **Revista JRG de estudos acadêmicos**, v. 5, n. 9, p. 15–26, dez. 2021. Disponível em: <https://zenodo.org/records/5079879>. Acesso em: 13 mar. 2025;

SULPIZO, C. Synthesis, structure, and antioxidant activity of methoxy- and hydroxyl-substituted 2'-aminochalcones. **Monatshefte für Chemie - Chemical Monthly**, v. 147, p. 1747-1757, ago., 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1812-9>. Acesso em: 17 mar. 2025;

SUWITO, H. *et al.* Anticancer and antimicrobial activity of methoxy amino chalcone derivatives. **Der Pharma Chem**, v. 7, n. 3, p. 89–94, jan. 2015. Disponível em: <https://www.derpharmachemica.com/pharma-chemica/anticancer-and-antimicrobial-activity-of-methoxy-amino-chalcone-derivatives.pdf>. Acesso em: 12 mar. 2025;

SÖKMEN, M.; AKRAM, K. M. The antioxidant activity of some curcuminoids and chalcones. **Inflammopharmacology**, v. 24, n. 2–3, p. 81–86, jun. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27188988/>. Acesso em: 07 jun. 2025;

TAKAHASHI, J. A. *et al.* Fungos Filamentosos e Química: Velhos Conhecidos, Novos Aliados. **Rev. Virtual Quim.**, v. 9, n. 6, p. 2351–2382, 2017. Disponível em: <https://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/2171>. Acesso em: 18 maio 2025;

TARESH, B. H. *et al.* Novel 3,5-Diaryl-4,5-dihydro-1H-pyrazole Derivatives: Synthesis, Antioxidant, Antimicrobial and Docking Study Against Glucosamine-6-phosphate Synthase. **To Chemistry Journal**, v. 6, p. 175-183, ago., 2020. Disponível em: <https://purkh.com/index.php/tochem>. Acesso em: 14 maio 2025;

TARIQ, H. *et al.* Flavonoid Production: Current Trends in Plant Metabolic Engineering and De Novo Microbial Production. **Metabolites**, v. 13, n. 1, n. p., jan. 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36677049/>. Acesso em: 25 maio 2025;

TEETHAISONG, Y. *et al.* Boesenbergia rotunda (L.) Mansf. extract potentiates the antibacterial activity of some  $\beta$ -lactams against  $\beta$ -lactam-resistant staphylococci. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 12, p. 207–213, mar. 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29102774/>. Acesso em: 12 fev. 2025;

TEIXEIRA, A.; FIGUEIREDO, A. F. C.; FRANÇA, R. F. Resistência bacteriana relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos. **Revista Saúde em Foco**, p. 853–873, 2019. Disponível em: [https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/09/077\\_RESIST%C3%80NCIA-BACTERIANA-RELACIONADA-AO-USO-INDISCRIMINADO-DE-ANTIBI%C3%93TICOS.pdf](https://portal.unisepe.com.br/unifia/wp-content/uploads/sites/10001/2019/09/077_RESIST%C3%80NCIA-BACTERIANA-RELACIONADA-AO-USO-INDISCRIMINADO-DE-ANTIBI%C3%93TICOS.pdf). Acesso em: 14 maio 2025;

TENAILLON, O. *et al.* The population genetics of commensal Escherichia coli. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 3, p. 207–217, mar. 2010. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrmicro2298>. Acesso em: 25 jun. 2025;

TOMAR, V. *et al.* Synthesis of new chalcone derivatives containing acridinyl moiety with potential antimalarial activity. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 45,

n. 2, p. 745–751, fev. 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20022412/>. Acesso em: 02 mar. 2025;

TRIPATHI, S.; KAPOOR, R.; YADAV, L. D. S. Visible Light Activated Radical Denitrative Benzoylation of  $\beta$ -Nitrostyrenes: A Photocatalytic Approach to Chalcones. **Advanced Synthesis & Catalysis**, v. 360, n. 7, p. 1401-1413, abr 2018. Disponível em: <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/adsc.201701559>. Acesso em: 09 jul. 2025;

UŠJAK, D. *et al.* Antimicrobial activity of novel chalcones and modulation of virulence factors in hospital strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. **Microbial Pathogenesis**, v. 131, p. 186–196, jun. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30980878/>. Acesso em: 09 jun. 2025;

VASCONCELOS, L. C. *et al.* Cell Viability of *Candida albicans* Against the Antifungal Activity of Thymol. **Brazilian Dental Journal**, v. 25, n. 4, p. 277-281, jul. 2014. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/bdj/a/8PgLjtcGHGN4YSnBj8qfZvk/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 10 jul. 2025;

VOGEL, A. I. **Practical Organic Chemistry**. 5. Ed. London: Longman Group, 1989; WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, p. 485–493, jun. 2001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11402179/>. Acesso em: 22 fev. 2025;

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Who fungal priority pathogens list to guide research, development and public health action**. Geneva: World Health Organization, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240060241>. Acesso em: 26 mar. 2025;

WU X; NEUMANN, H.; BELLER, M. Palladium Catalyzed Coupling Reactions: Carbonylative Heck Reactions To Give Chalcones. **Angewandte Chemie**, v. 122, n. 31, p. 5412-5416, jun. 2010. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.201002155>. Acesso em: 12 mar. 2025;

XIE, Y. *et al.* Antibacterial Activities of Flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 132–149, nov. 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25245513/>. Acesso em: 17 mar. 2025; XUE, Y. *et al.* Theoretical study on the antioxidant properties of 2'-hydroxychalcones: H-atom vs. electron transfer mechanism. **Journal of Molecular Modeling**, v. 19, n. 9, p. 3851–3862, set. 2013. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00894-013-1921-x>. Acesso em: 15 mar. 2025;

YANG, L. *et al.* Inhibitory effects and mode of antifungal action of isobavachalcone on *Candida albicans* growth and virulence factors. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 179, n.p., out. 2024. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222401237X>. Acesso em: 12 jun. 2025;

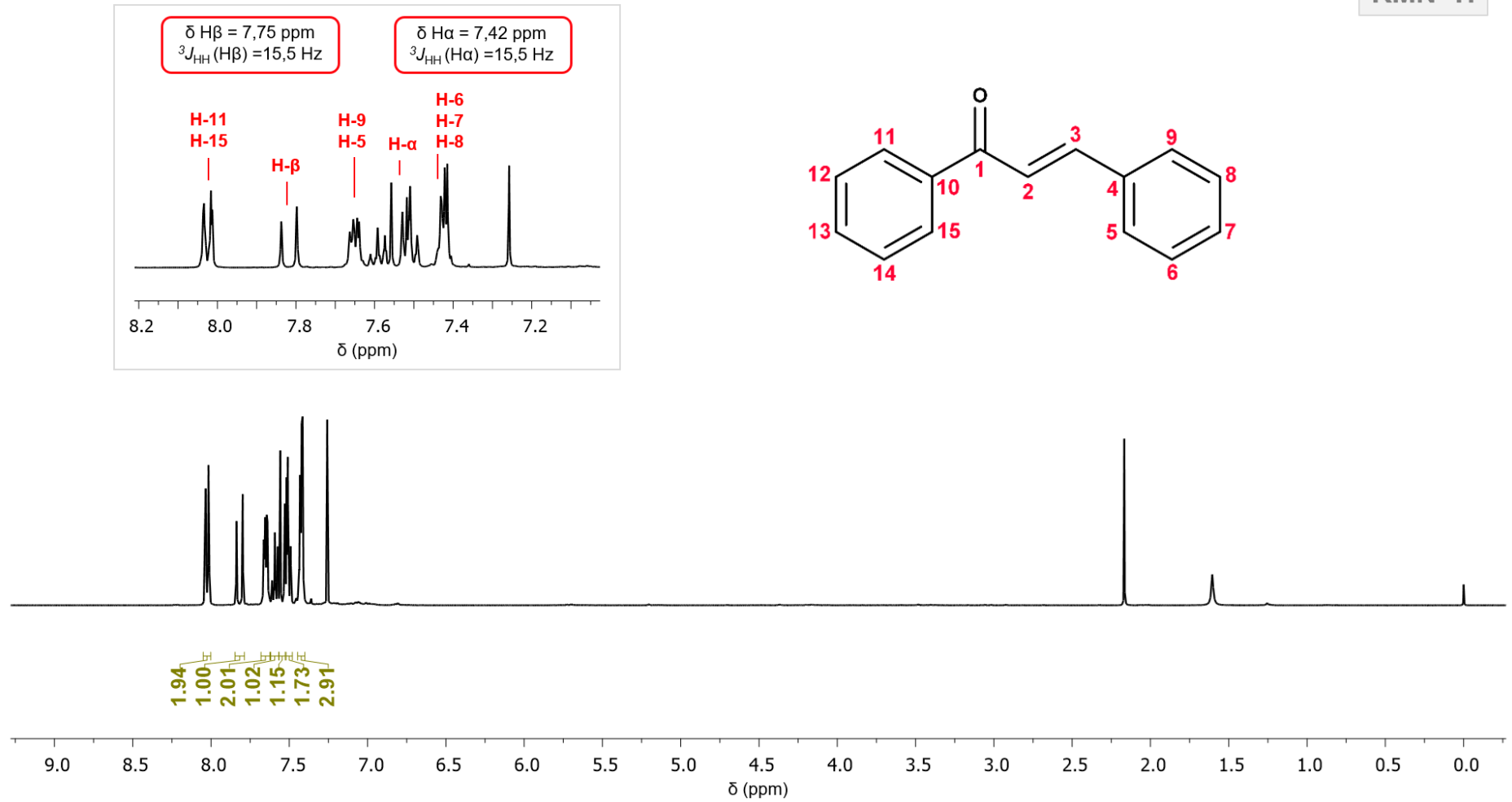
YANG, Y. M. *et al.* Chaperone-directed ribosome repair after oxidative damage. **Molecular Cell**, v. 83, n. 9, p. 1527- 1537, maio 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37086725/>. Acesso em: 15 mar. 2025;

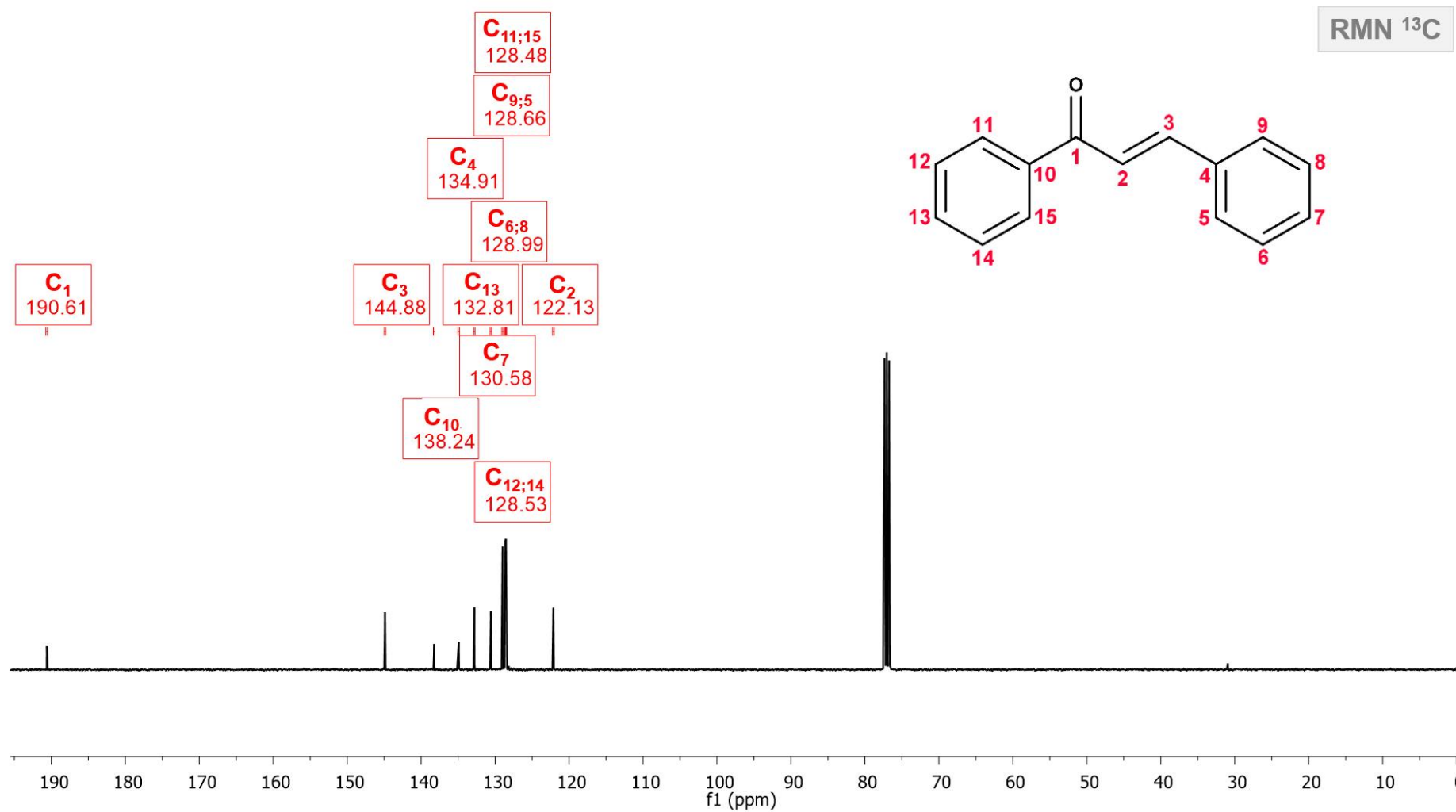
ZAKARYAN, H. *et al.* Flavonoids: promising natural compounds against viral infections. **Archives of Virology**, v. 162, n. 9, p. 2539–2551, set. 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28547385/>. Acesso em: 16 jun. 2025;

ZERAIK, M. L. *et al.* 4'-Aminochalcones As Novel Inhibitors of the Chlorinating Activity of Myeloperoxidase. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, n. 31, p. 5405-5413, 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22963624/>. Acesso em 25 fev. 2025;  
ZHUANG, C. *et al.* Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry. Chemical Reviews. **Chem. Rev.**, v. 117, n. 12, p. 7762-7810, 28 jun. 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.chemrev.7b00020>. Acesso em: 03 fev. 2025;

ANEXO A- ESPECTROS DE RMN PARA A CHALCONA (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)

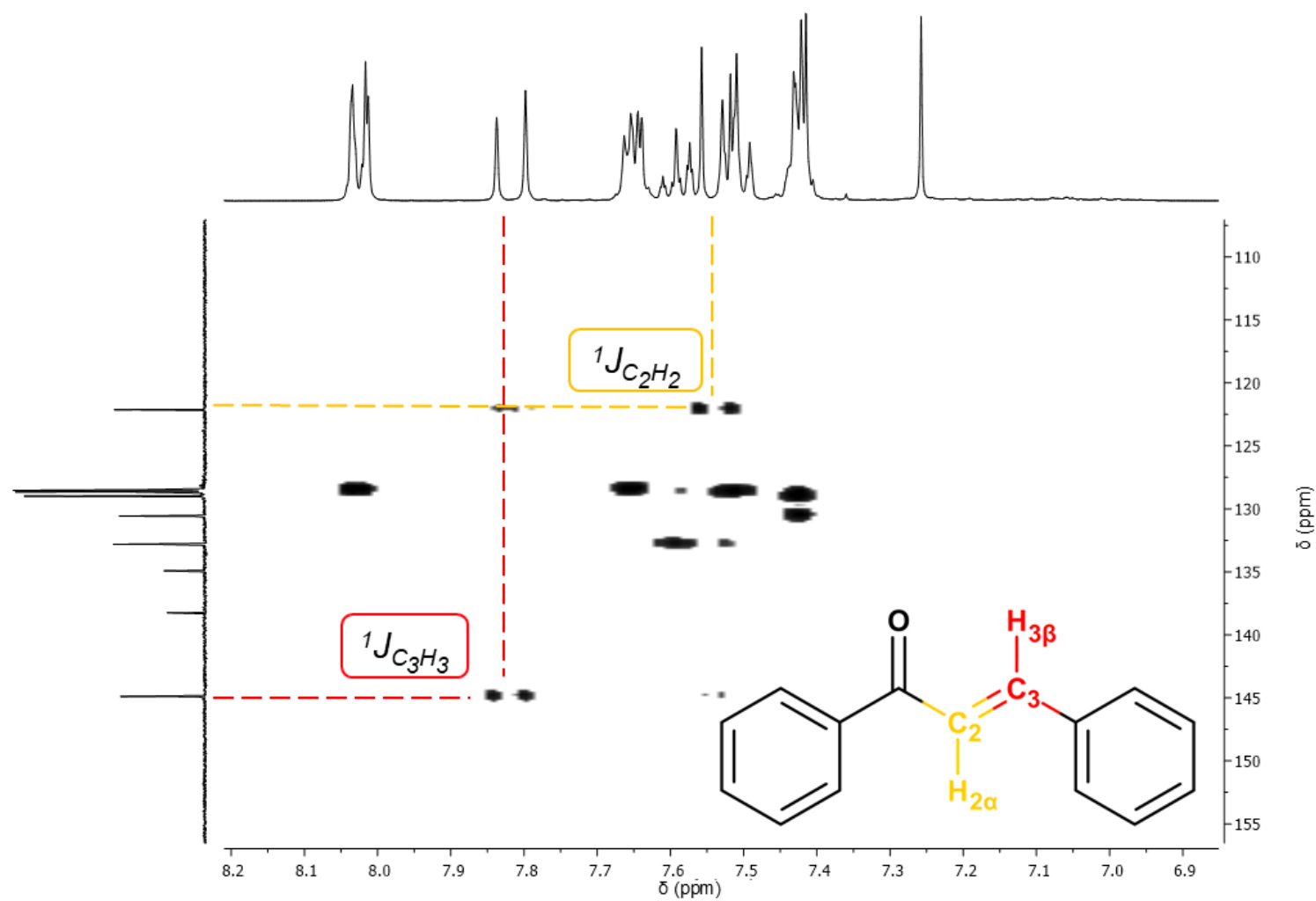
RMN  $^1\text{H}$



ANEXO A- ESPECTROS DE RMN PARA A CHALCONA (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) - CONTINUAÇÃO

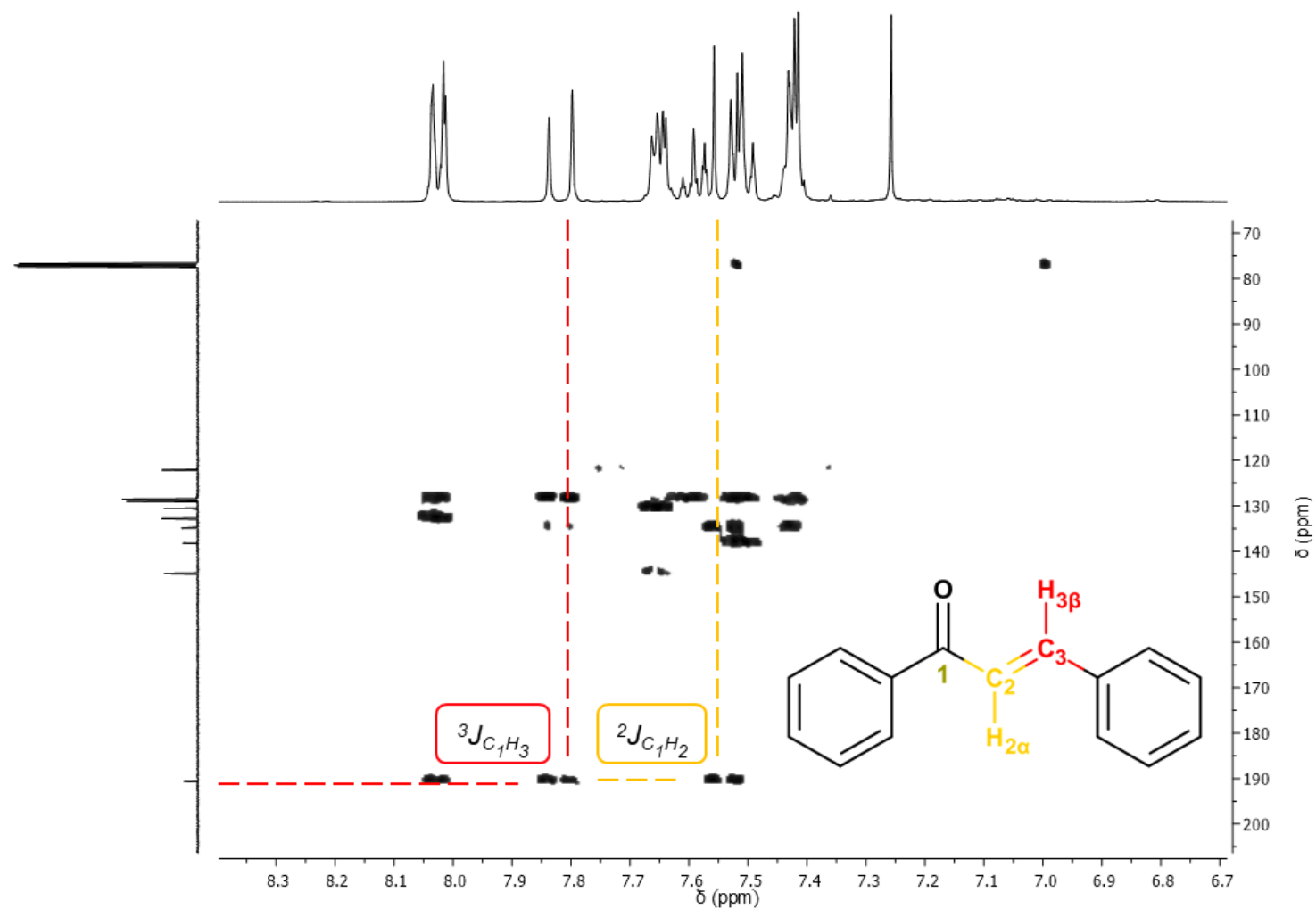
ANEXO A- ESPECTROS DE RMN PARA A CHALCONA (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

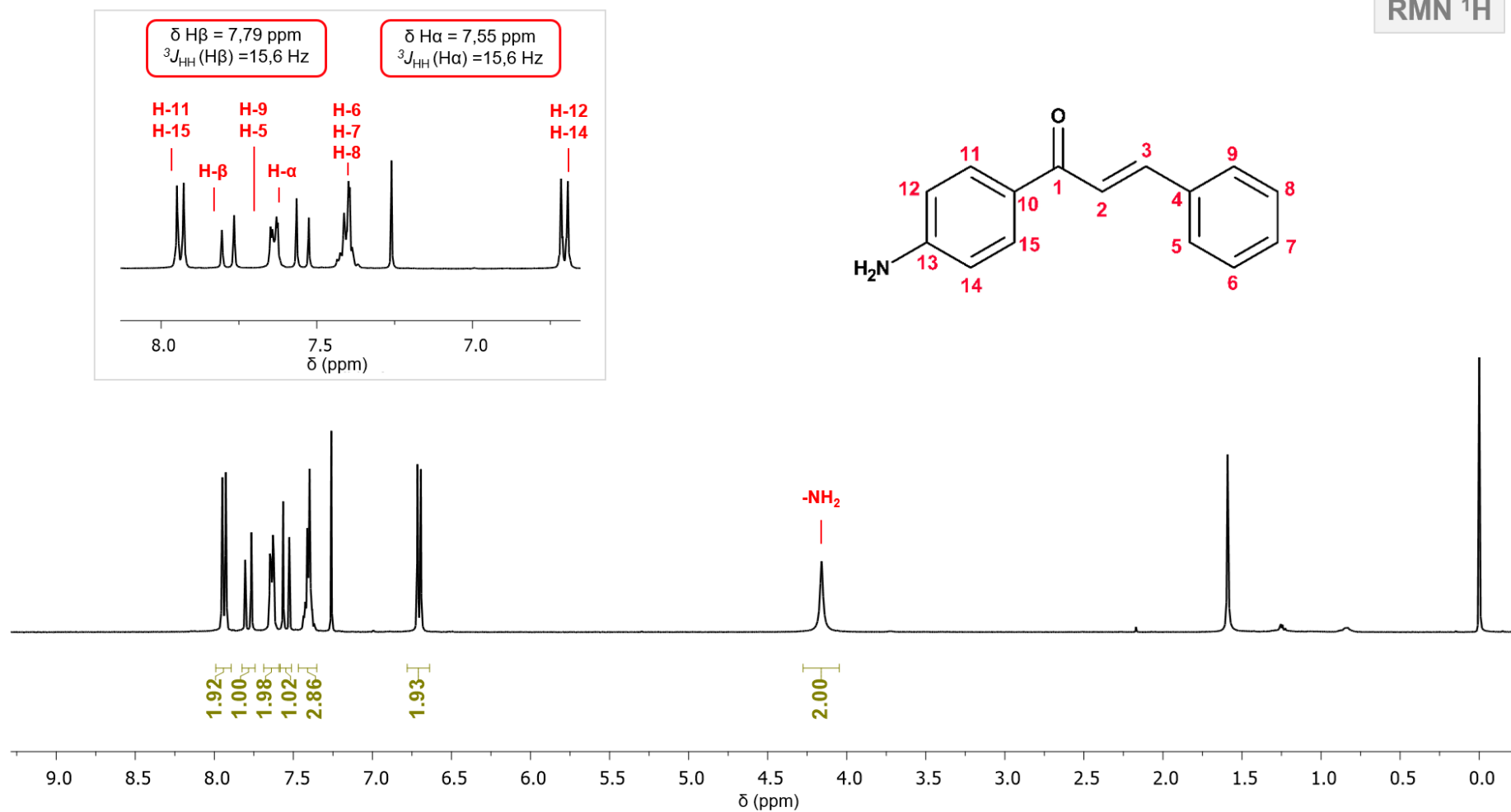
HSQC

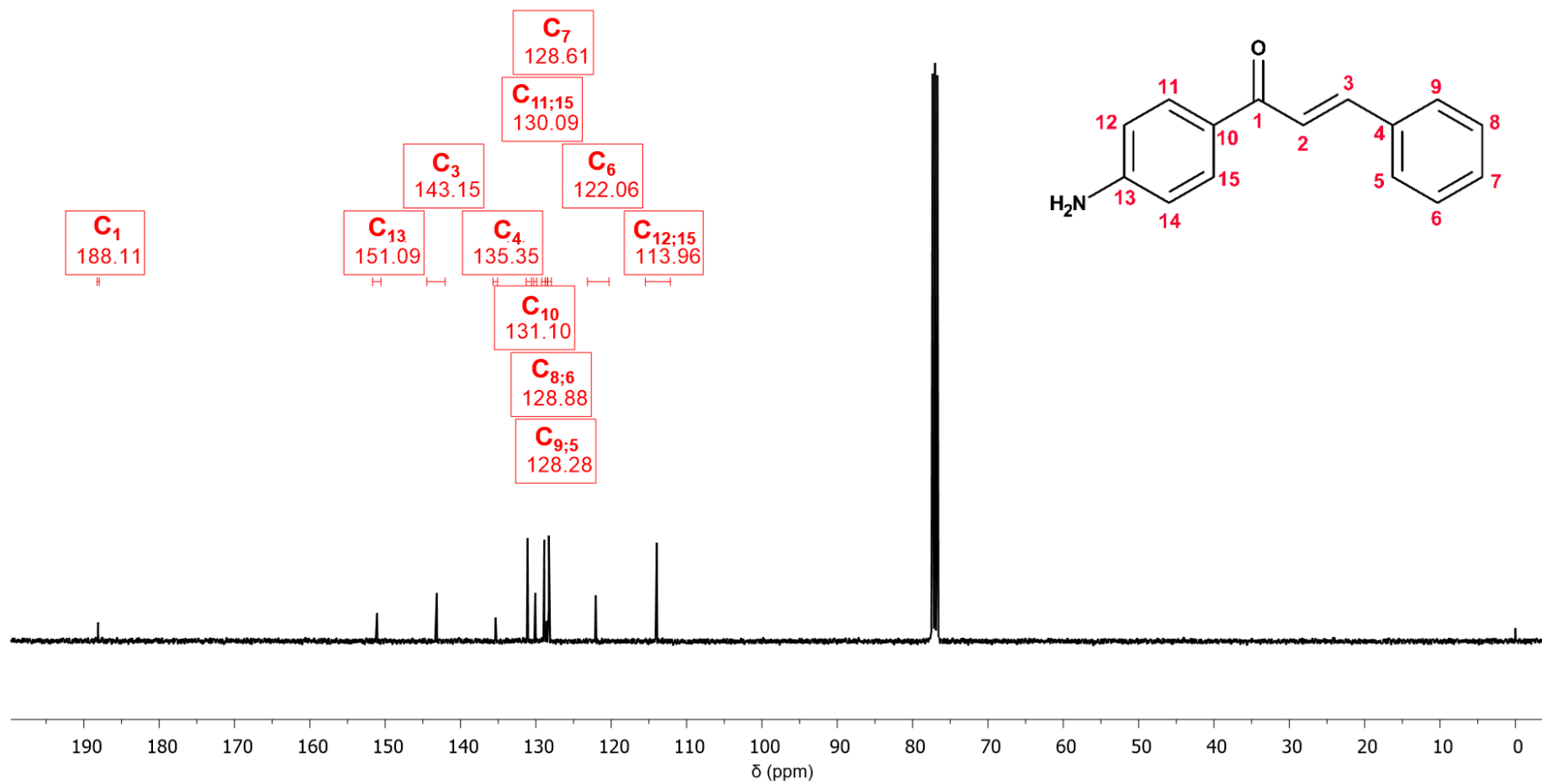


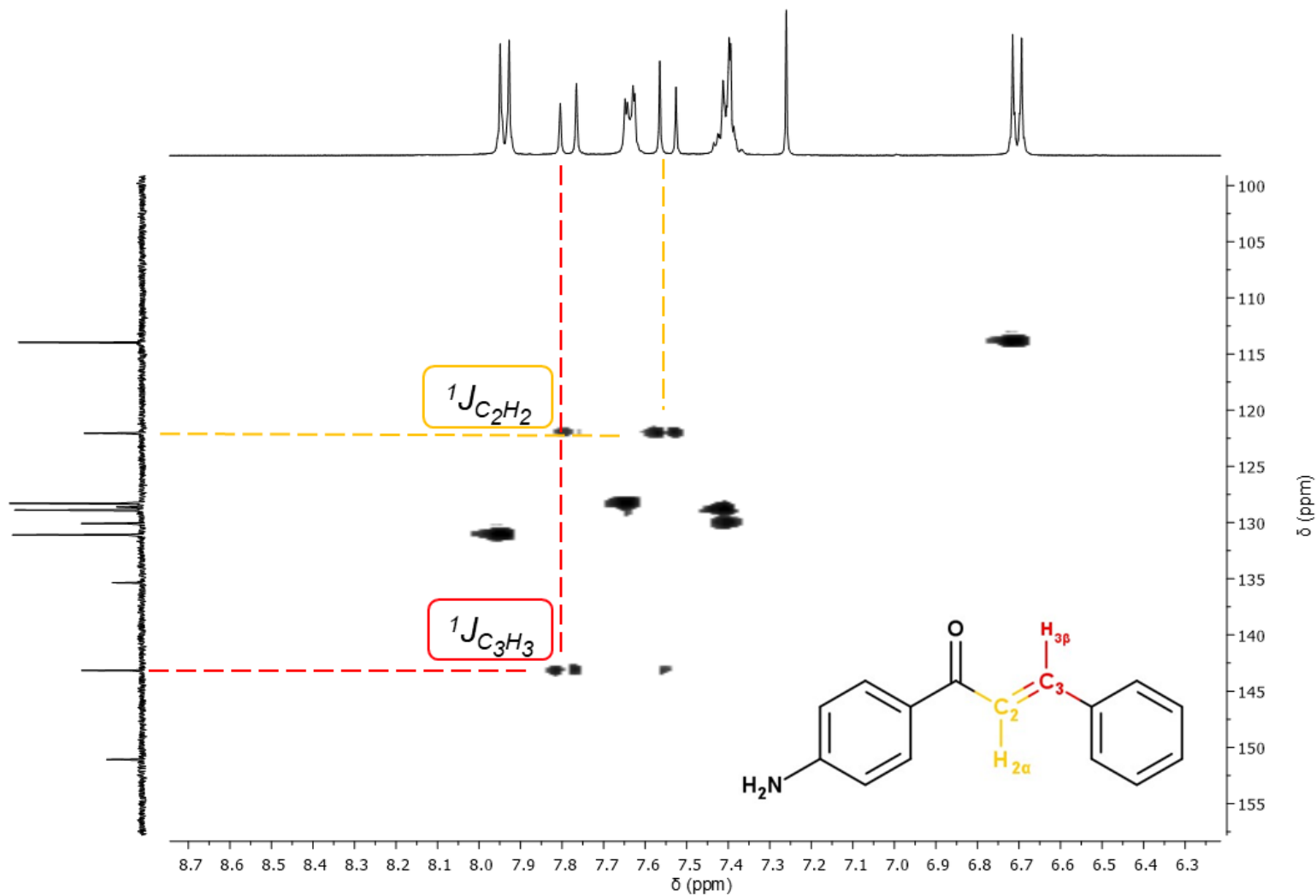
ANEXO A- ESPECTROS DE RMN PARA A CHALCONA (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC



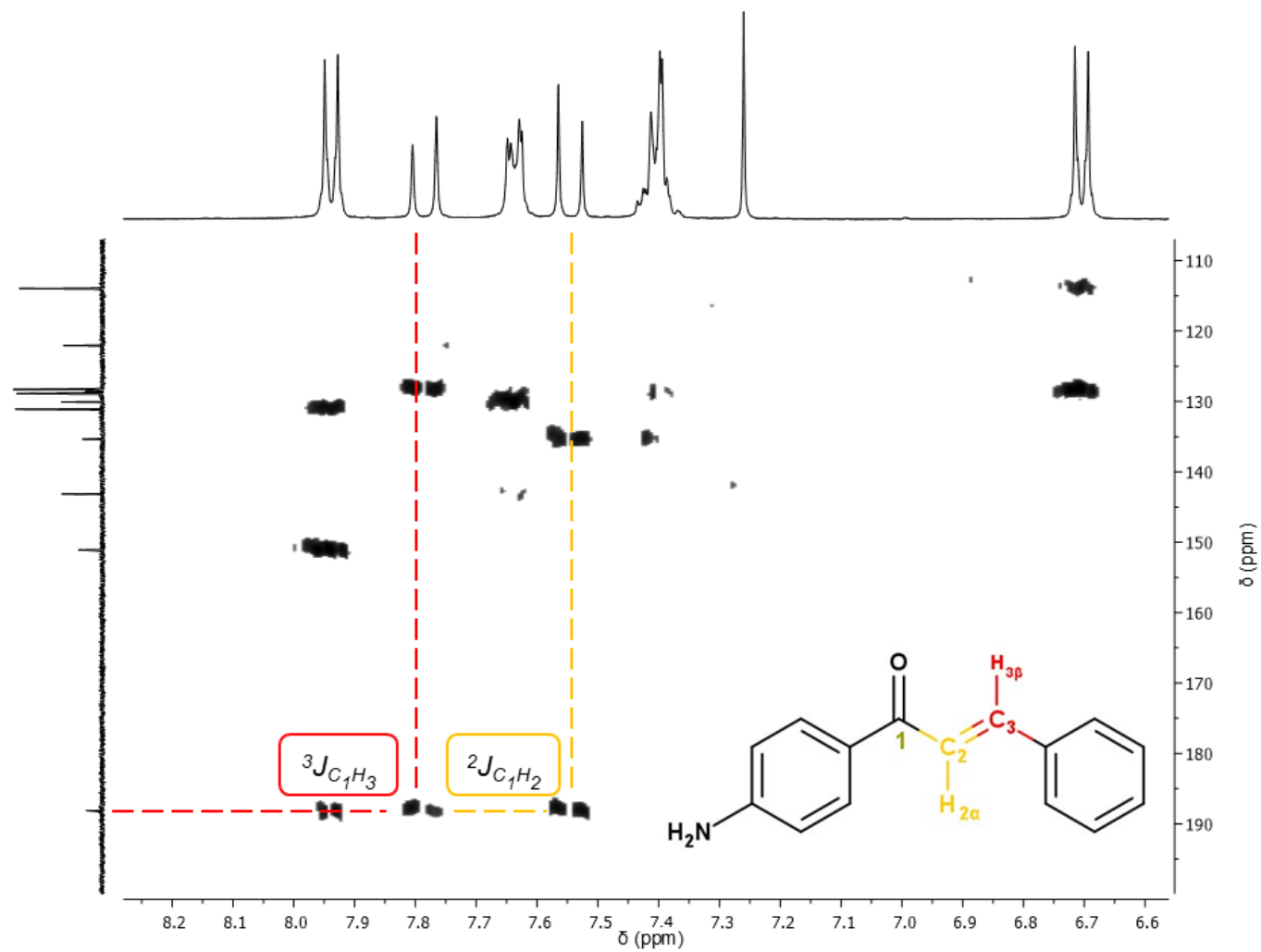
ANEXO B- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)RMN  $^1\text{H}$ 

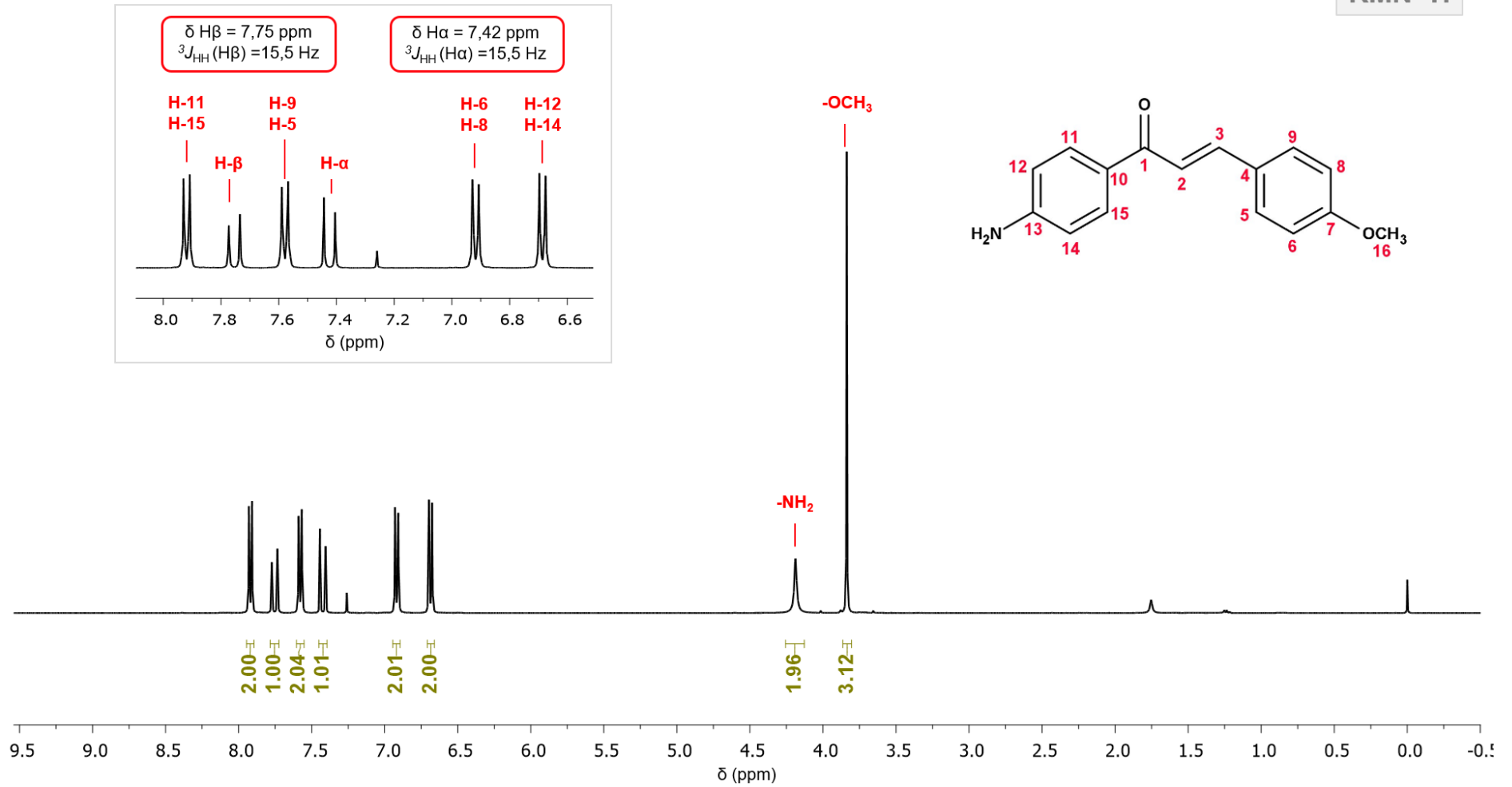
ANEXO B- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃORMN  $^{13}\text{C}$ 

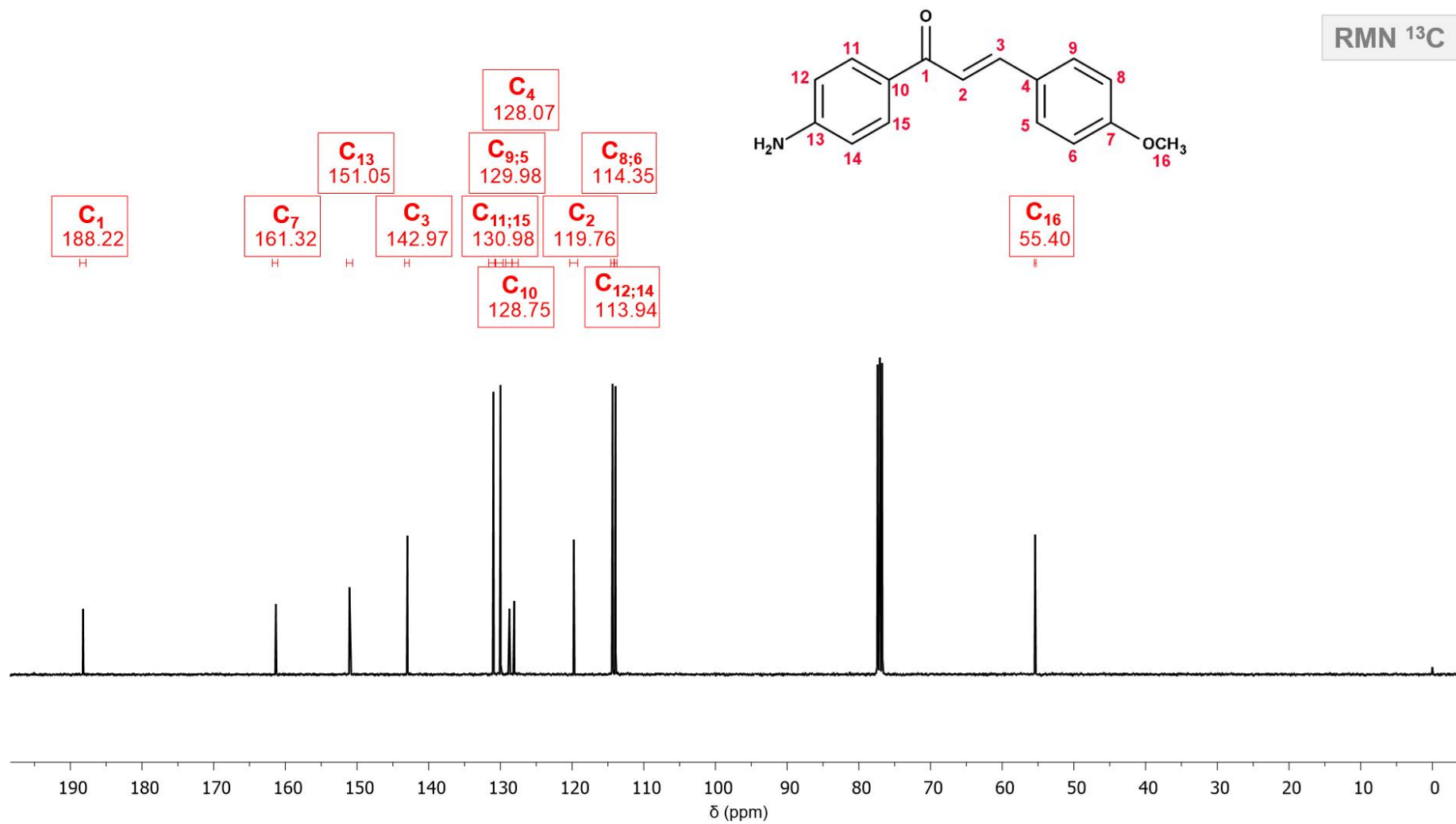
ANEXO B- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

ANEXO B- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC

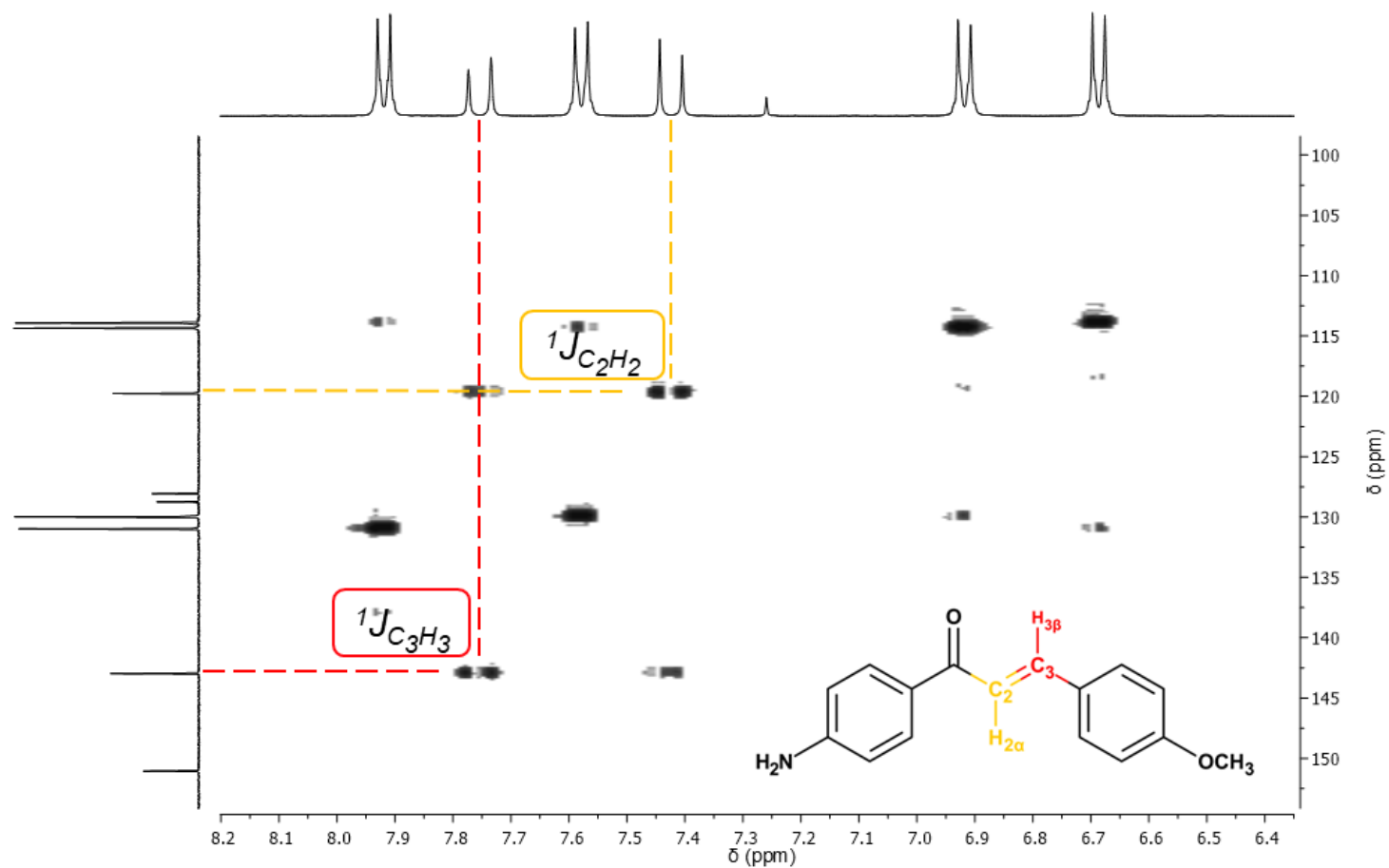


ANEXO C- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1A (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)RMN <sup>1</sup>H

ANEXO C- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1A (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) - CONTINUAÇÃO

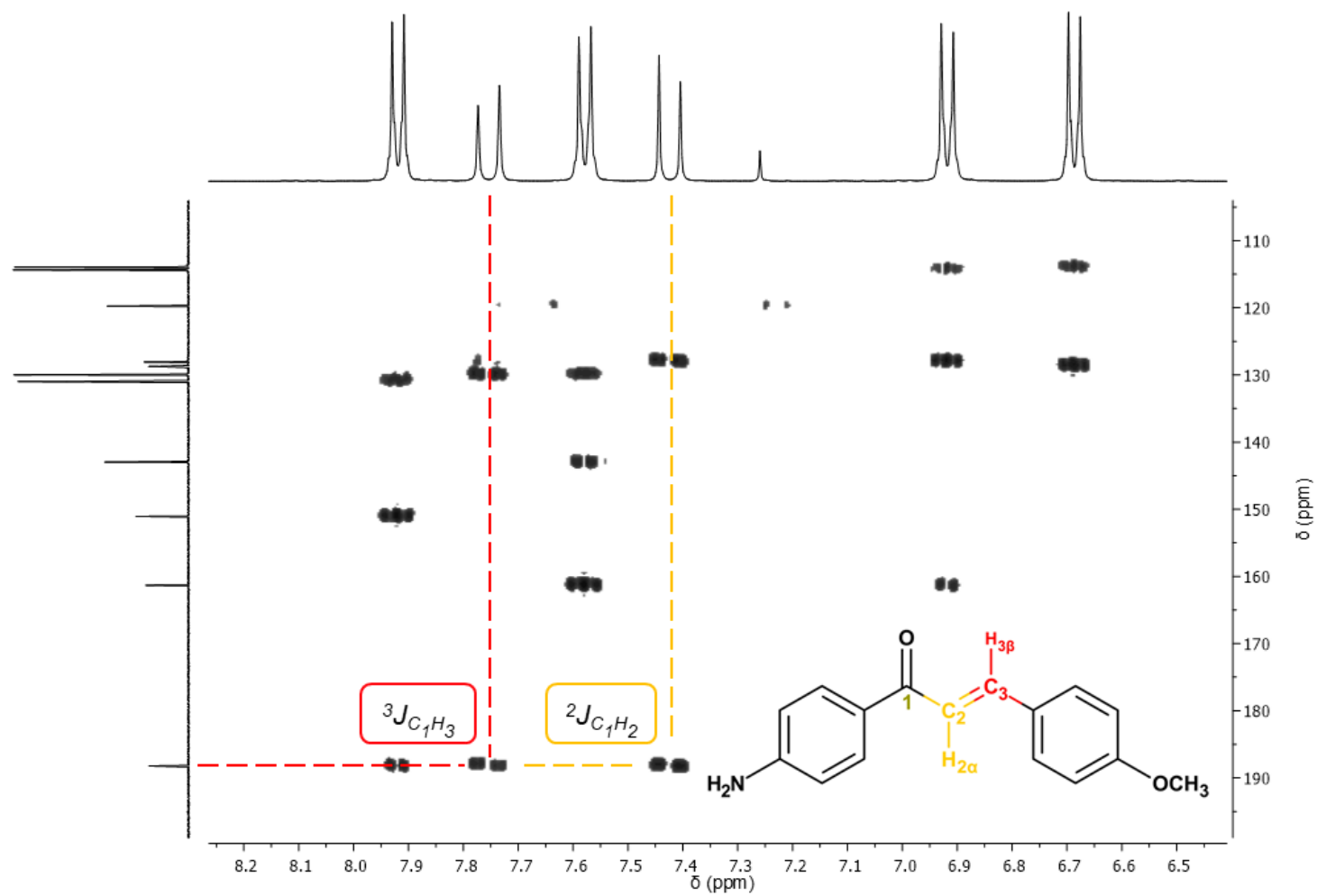
ANEXO C- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HSQC

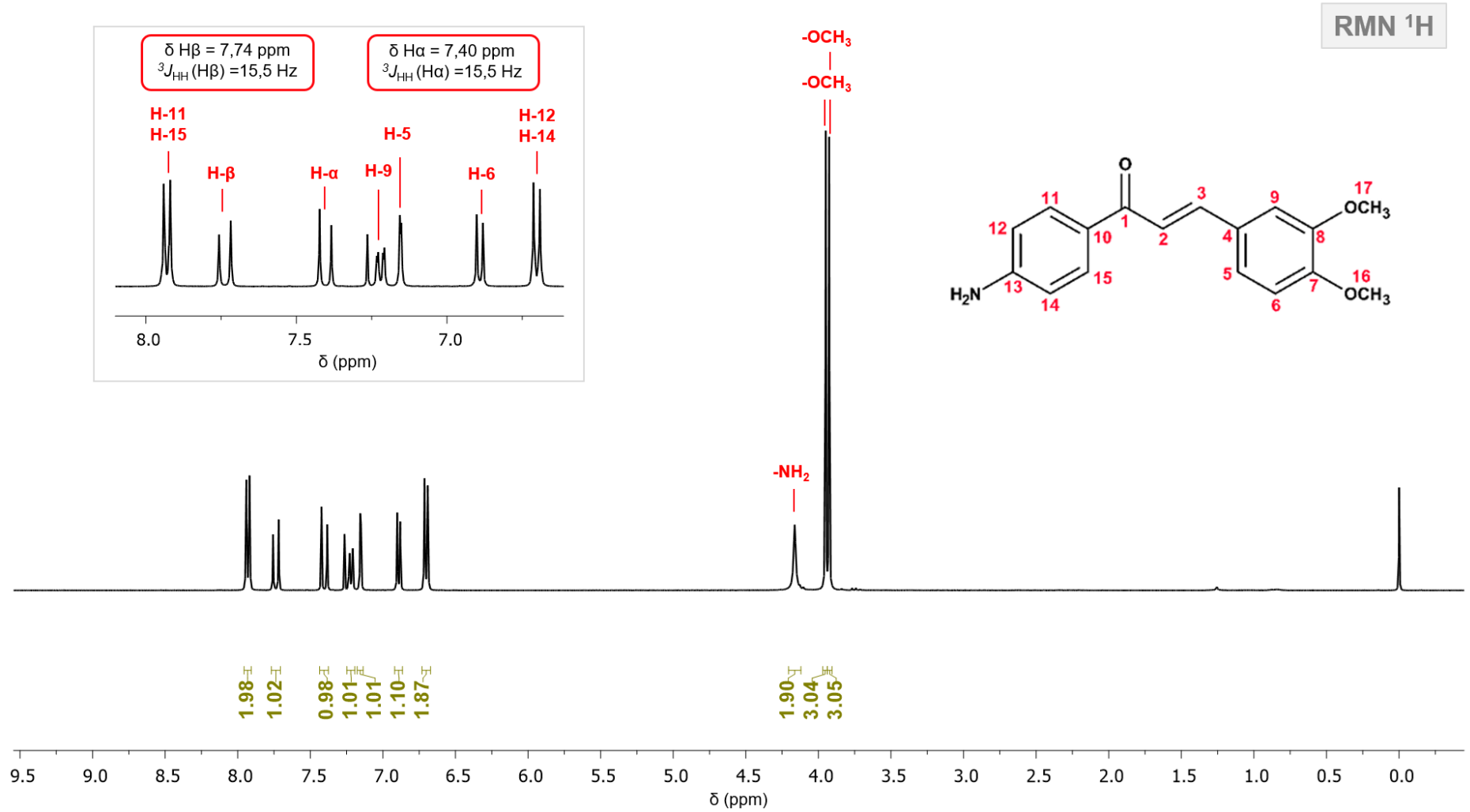


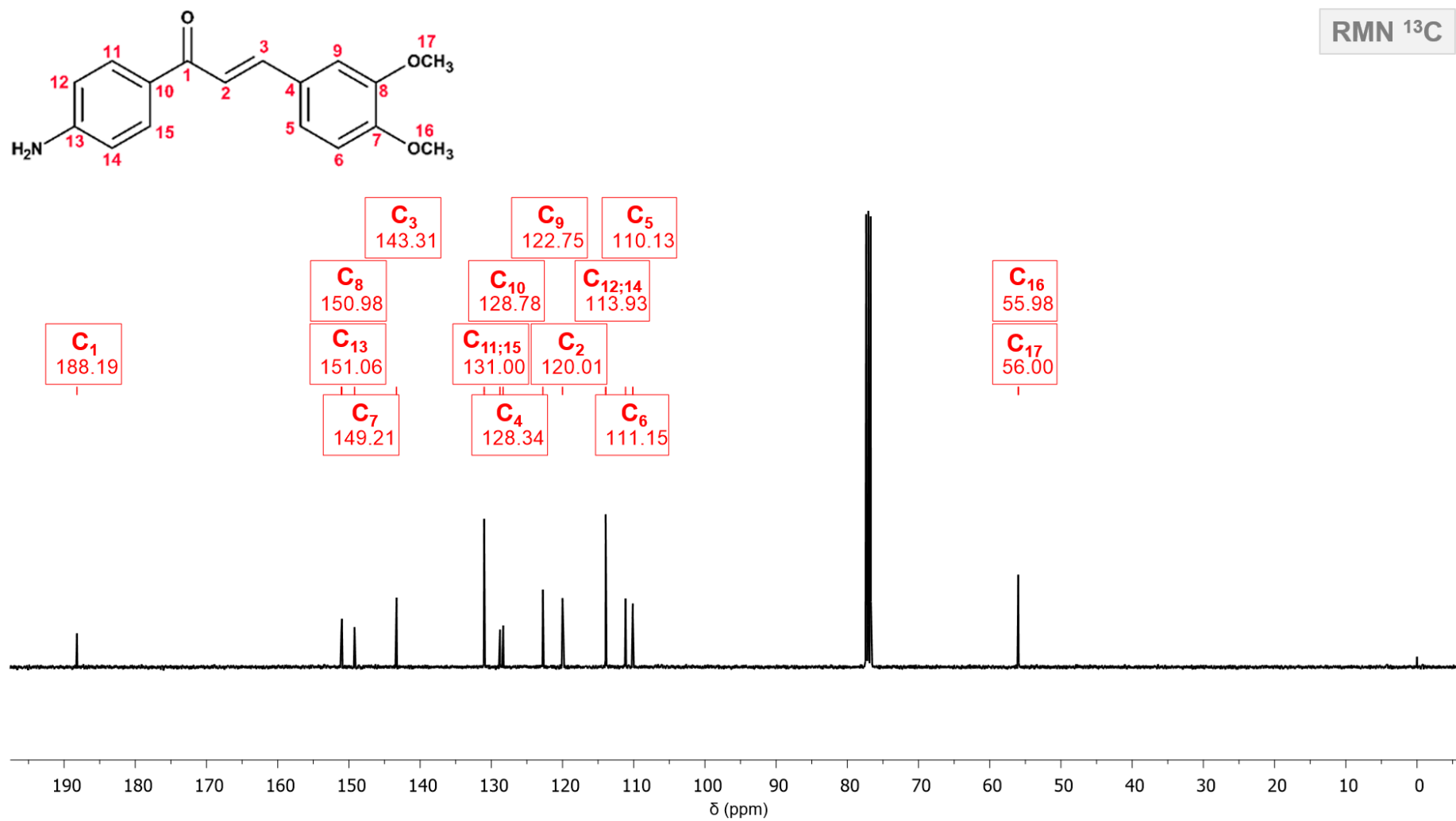
ANEXO C- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC



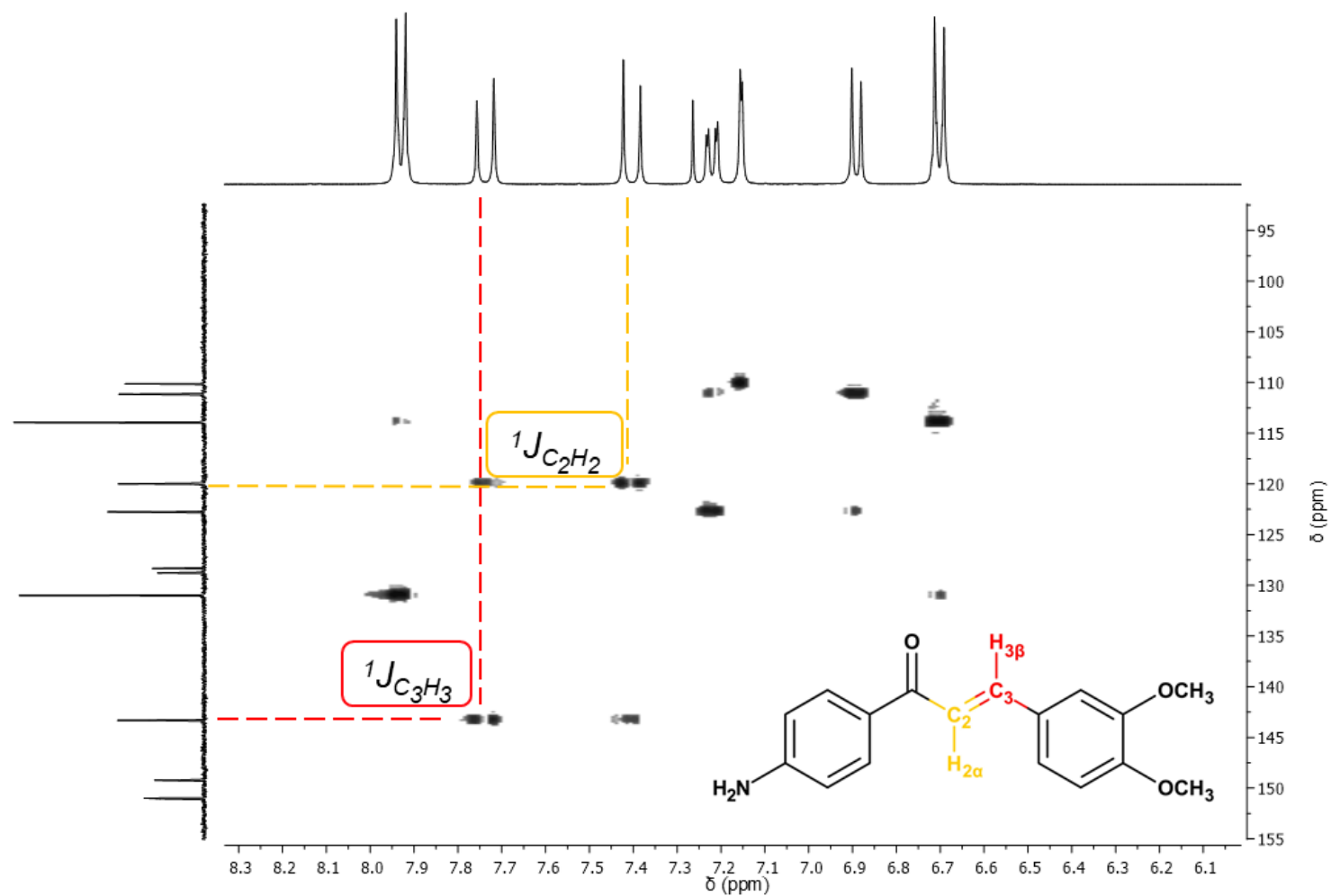
# ANEXO D- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)



ANEXO D- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) – CONTINUAÇÃO

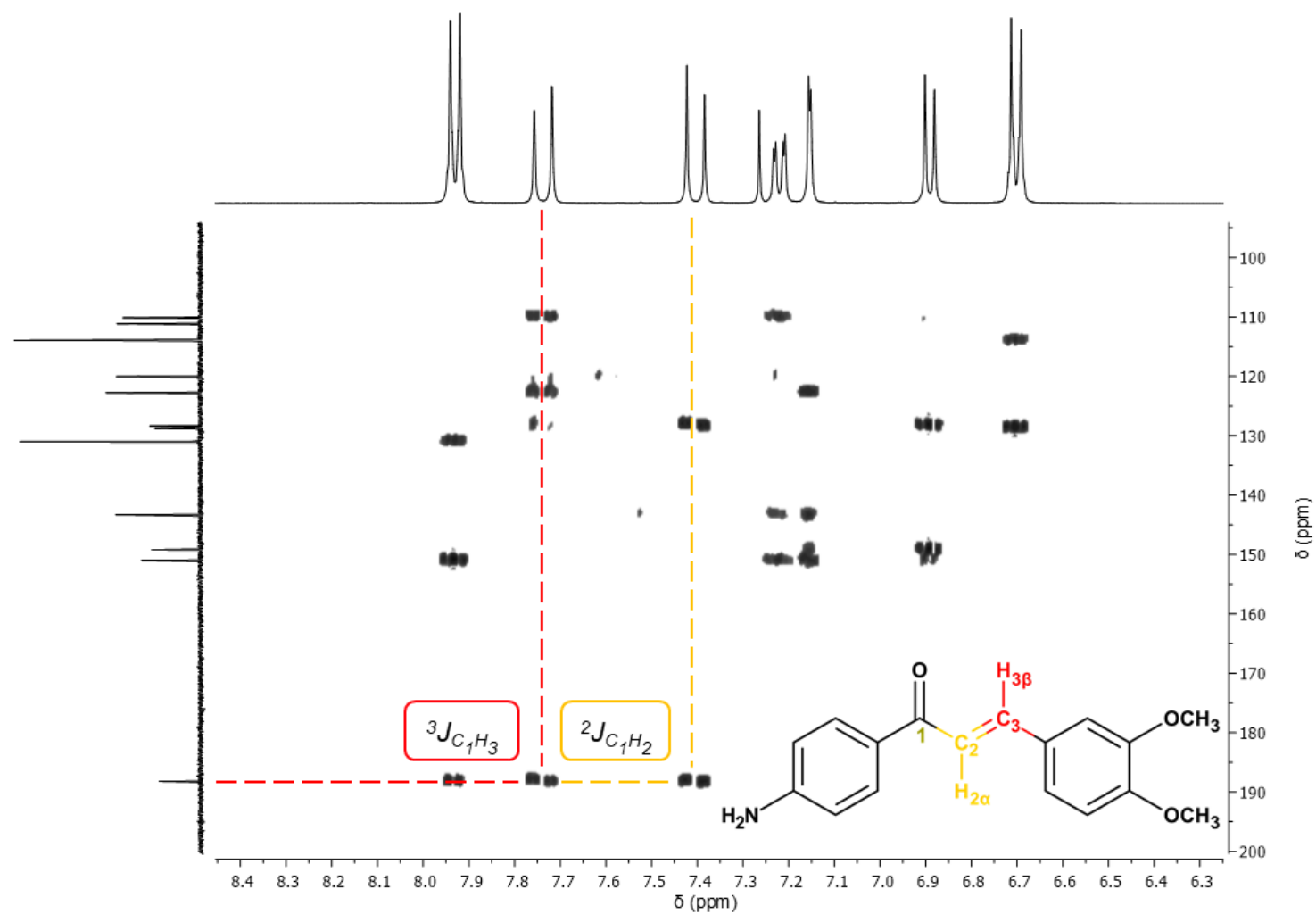
ANEXO D- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1B (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) – CONTINUAÇÃO

HSQC



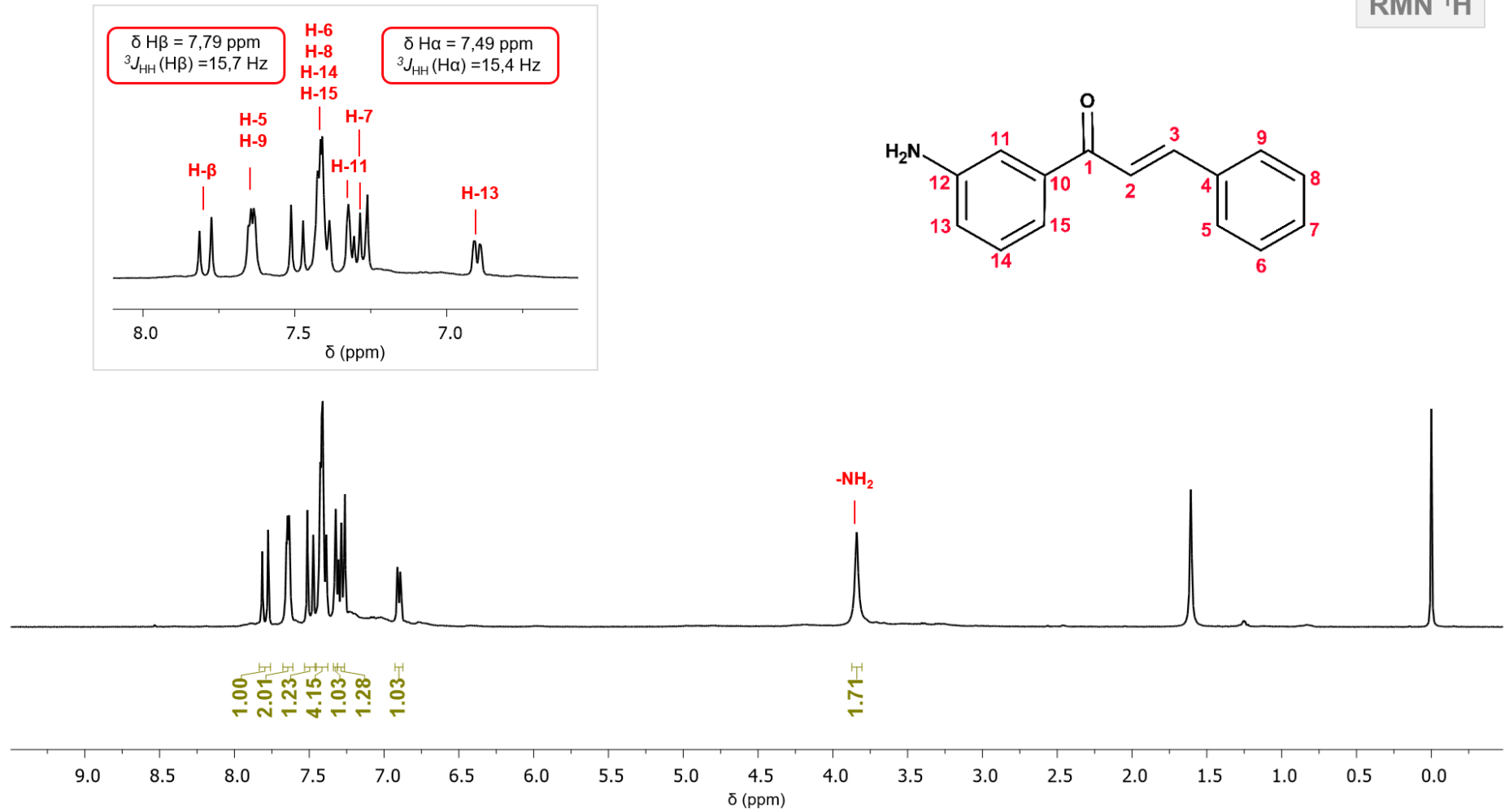
ANEXO D- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 1B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) – CONTINUAÇÃO

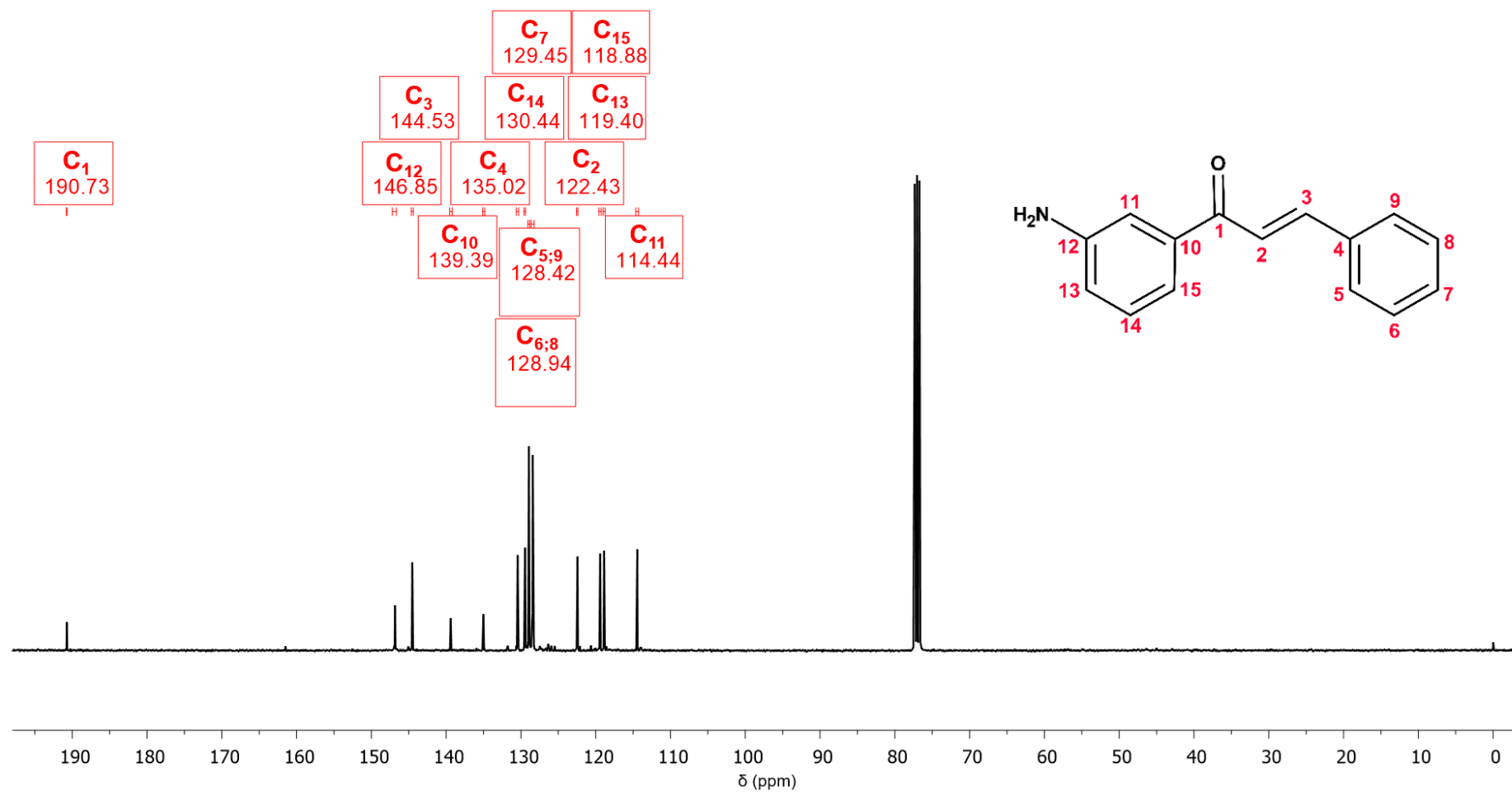
HMBC



# ANEXO E- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2 (em $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)

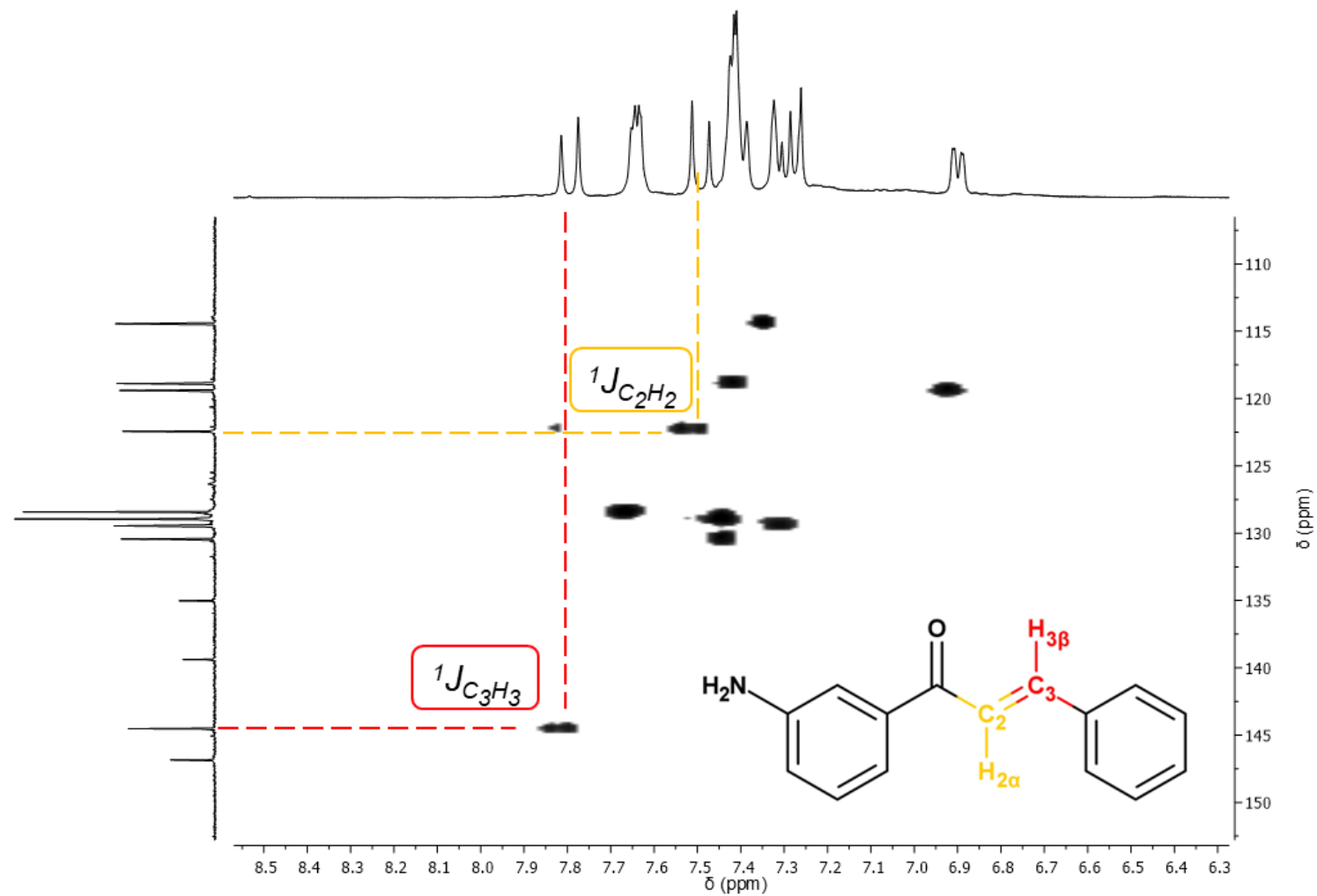
RMN  $^1\text{H}$



ANEXO E- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃORMN  $^{13}\text{C}$ 

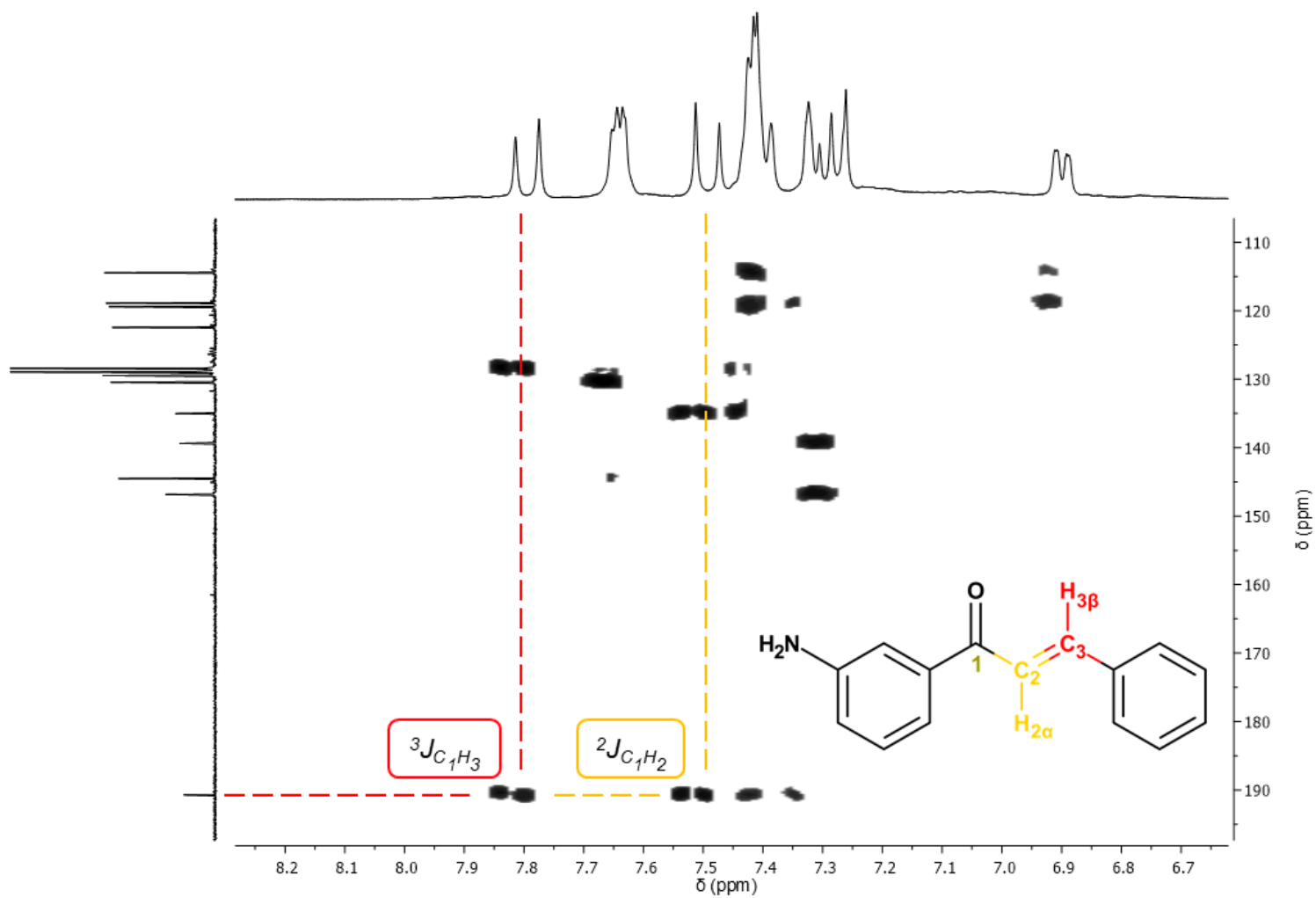
ANEXO E- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) – CONTINUAÇÃO

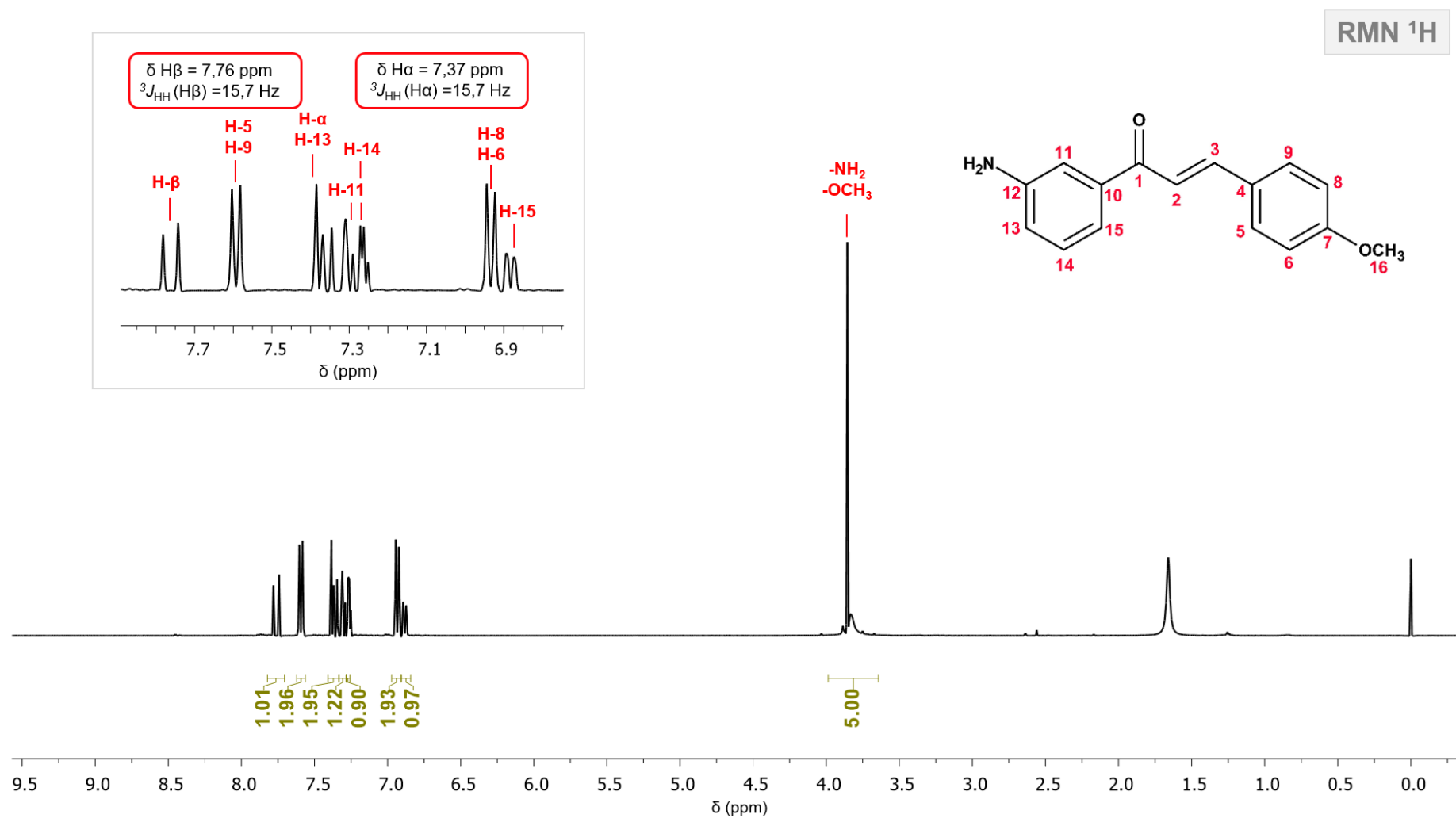
HSQC

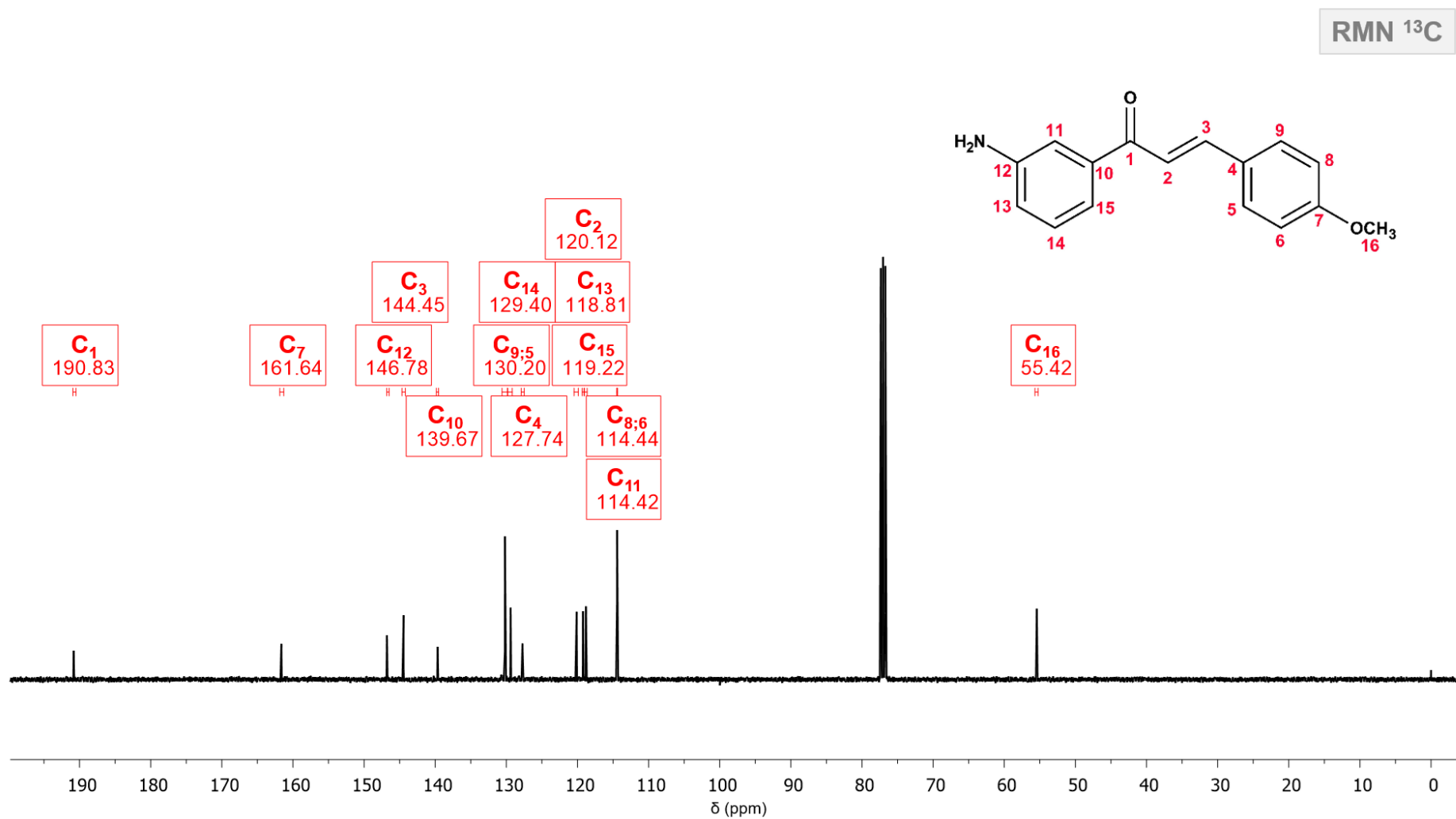


ANEXO E- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2 (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC

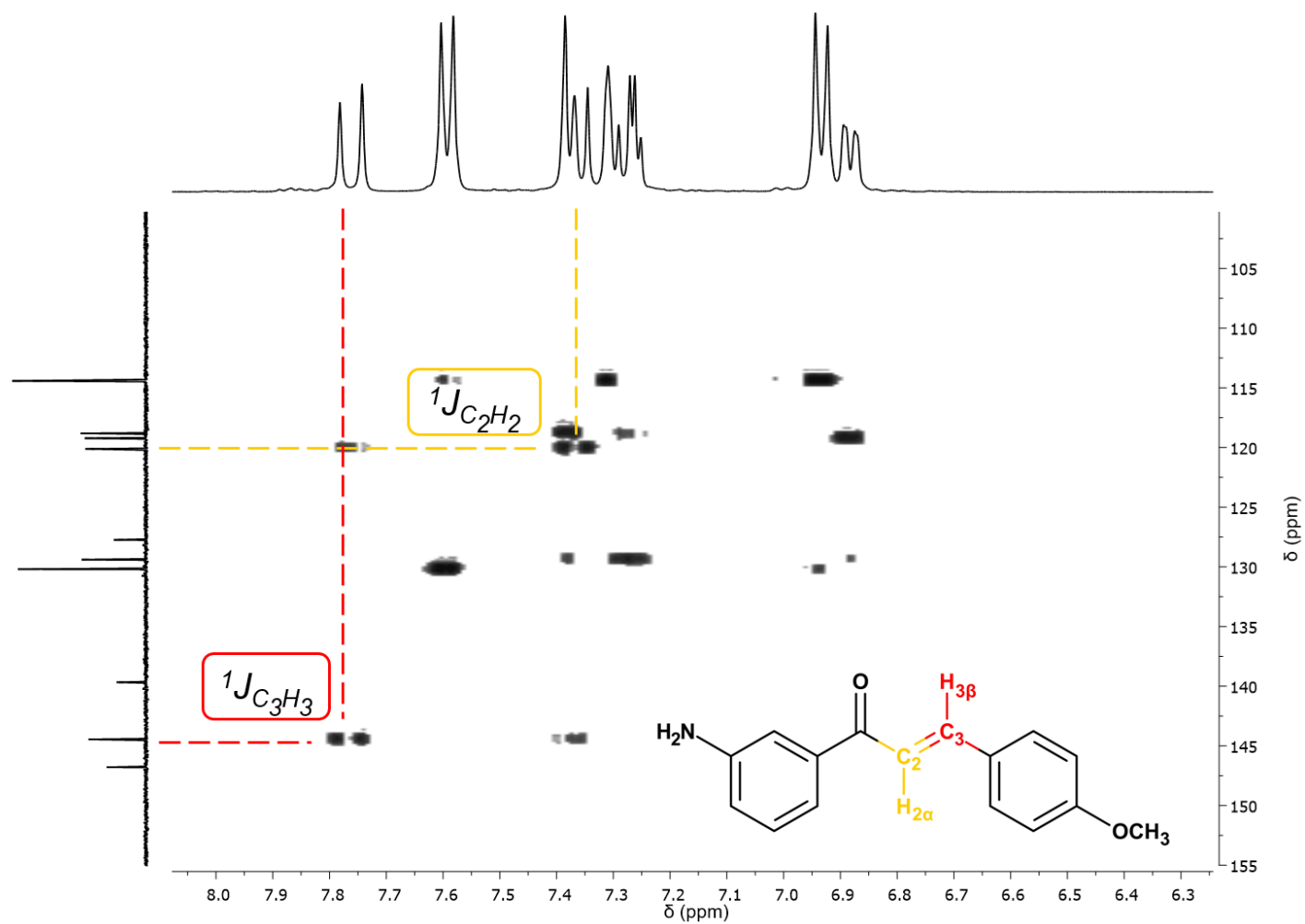


ANEXO F- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz)

ANEXO F- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

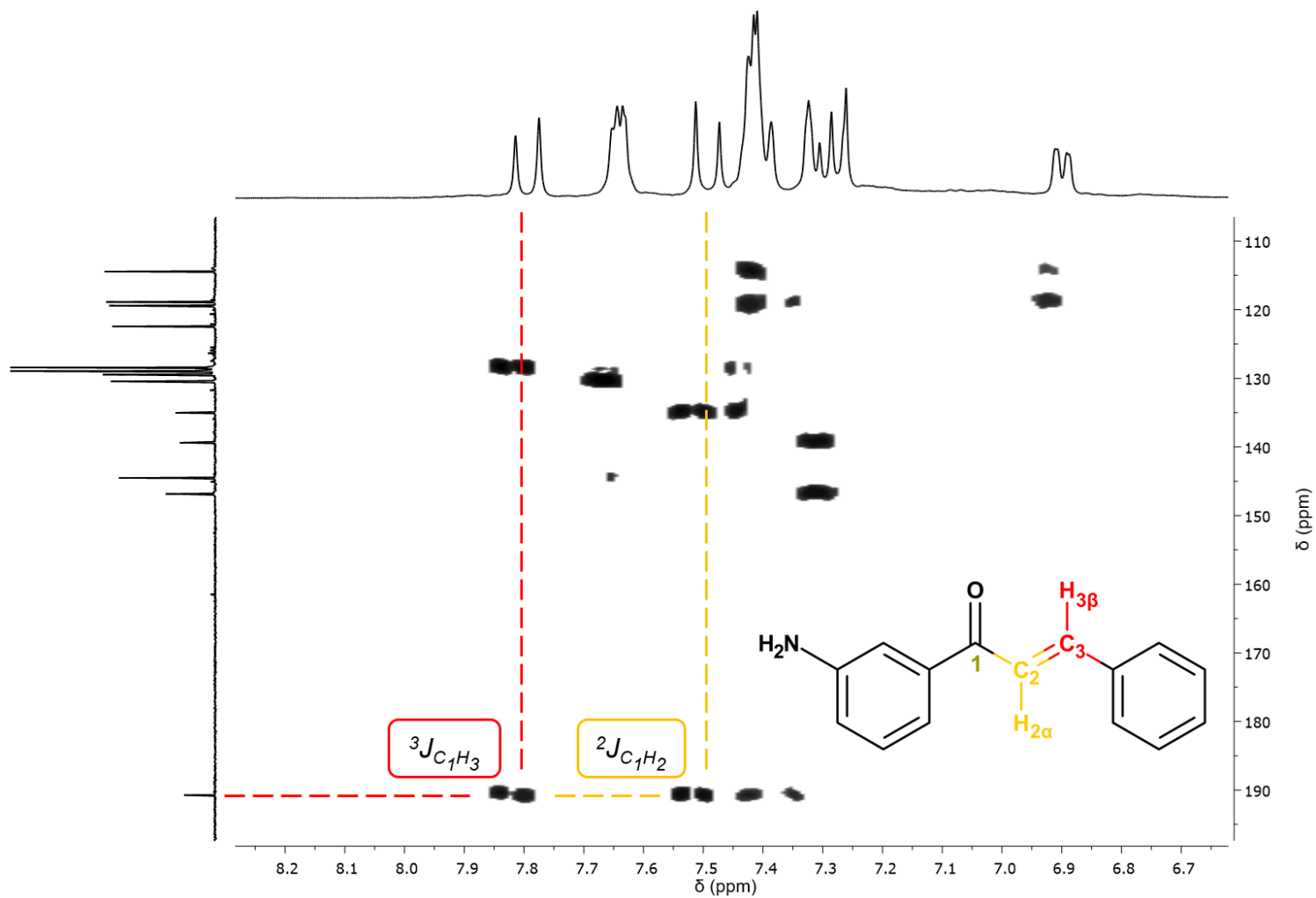
ANEXO F- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) – CONTINUAÇÃO

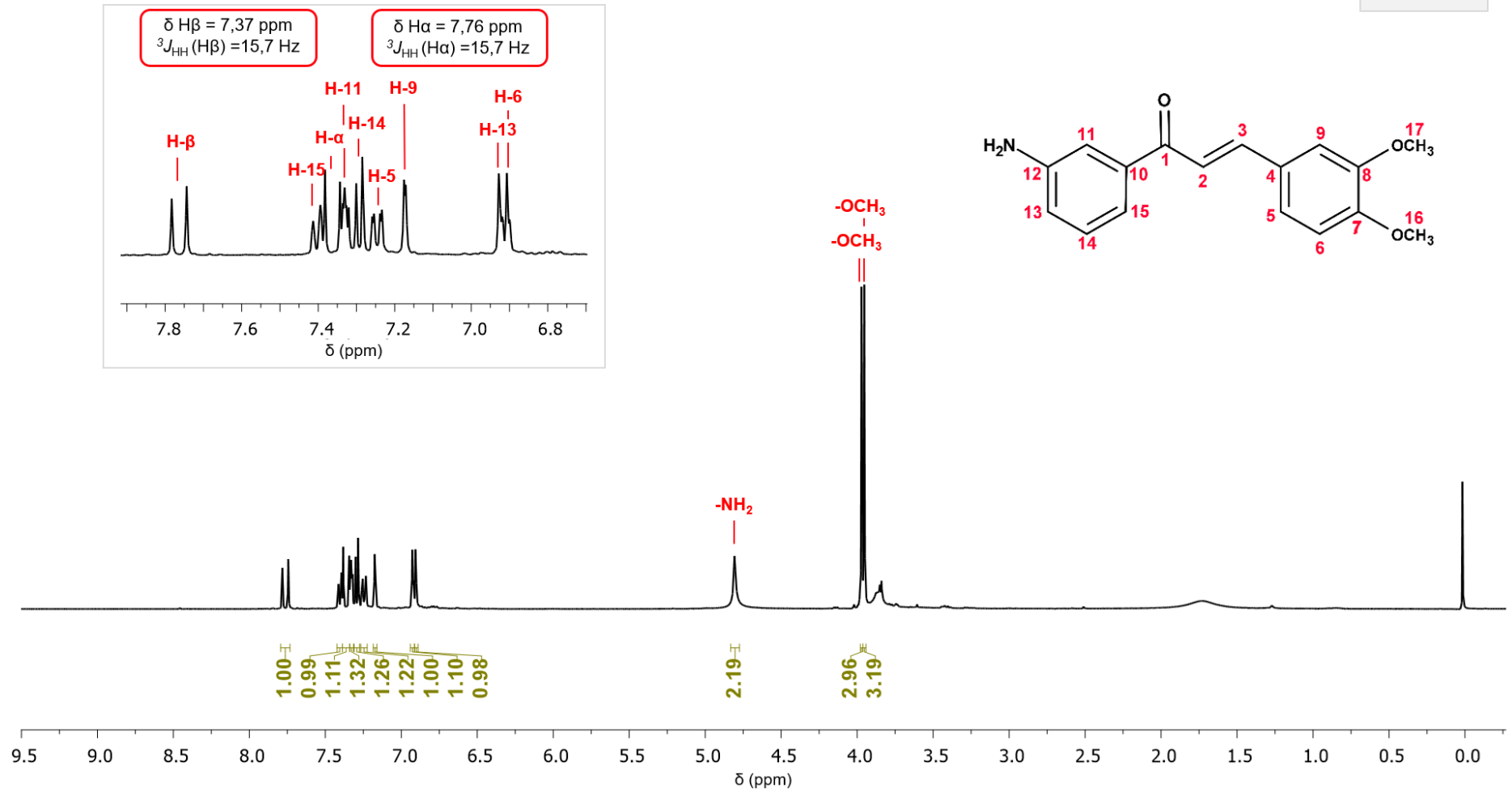
HSQC

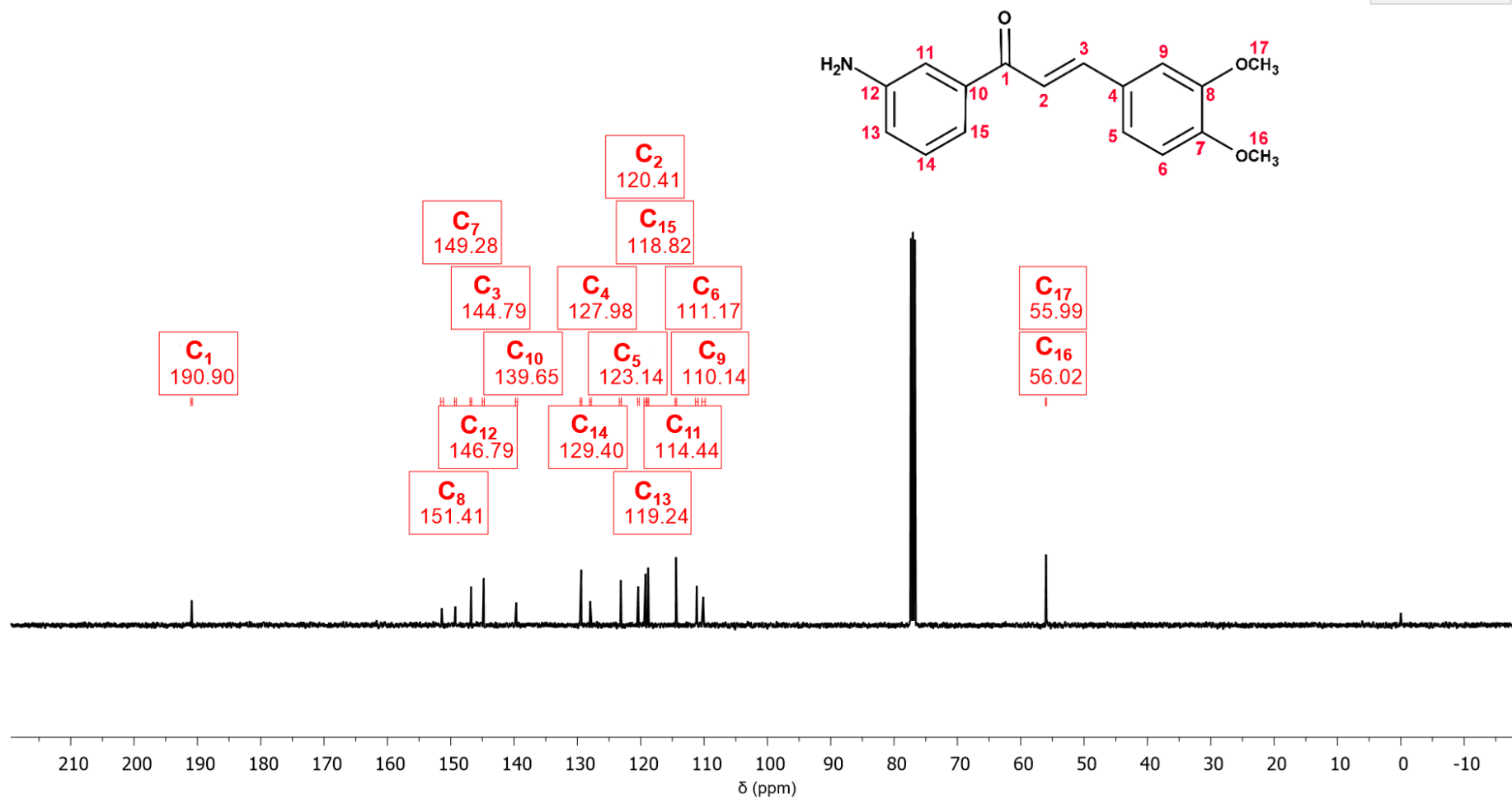


ANEXO F- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2A (em  $\text{CDCl}_3$ , 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC

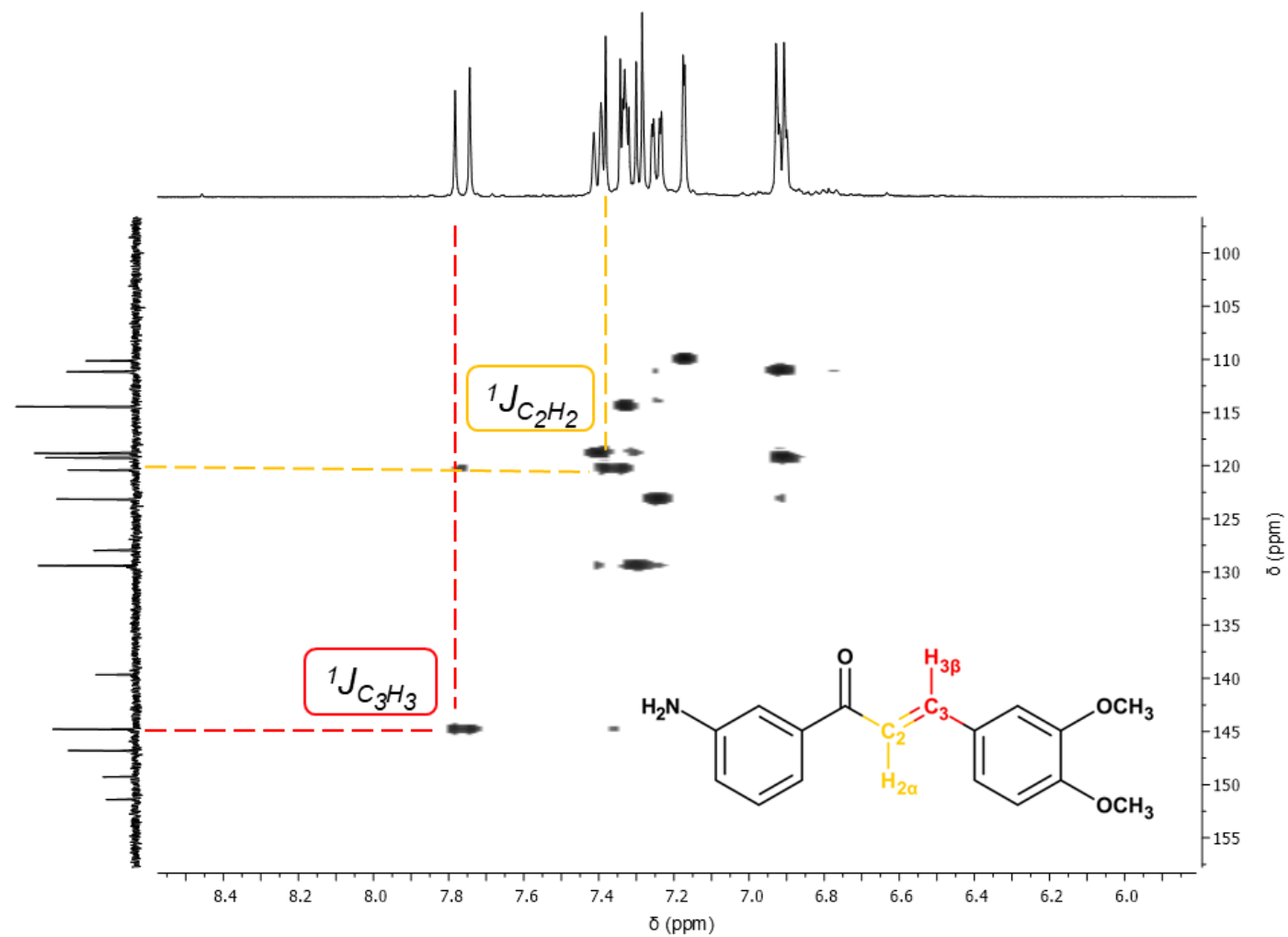


ANEXO G- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz)RMN <sup>1</sup>H

ANEXO G- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) - CONTINUAÇÃORMN <sup>13</sup>C

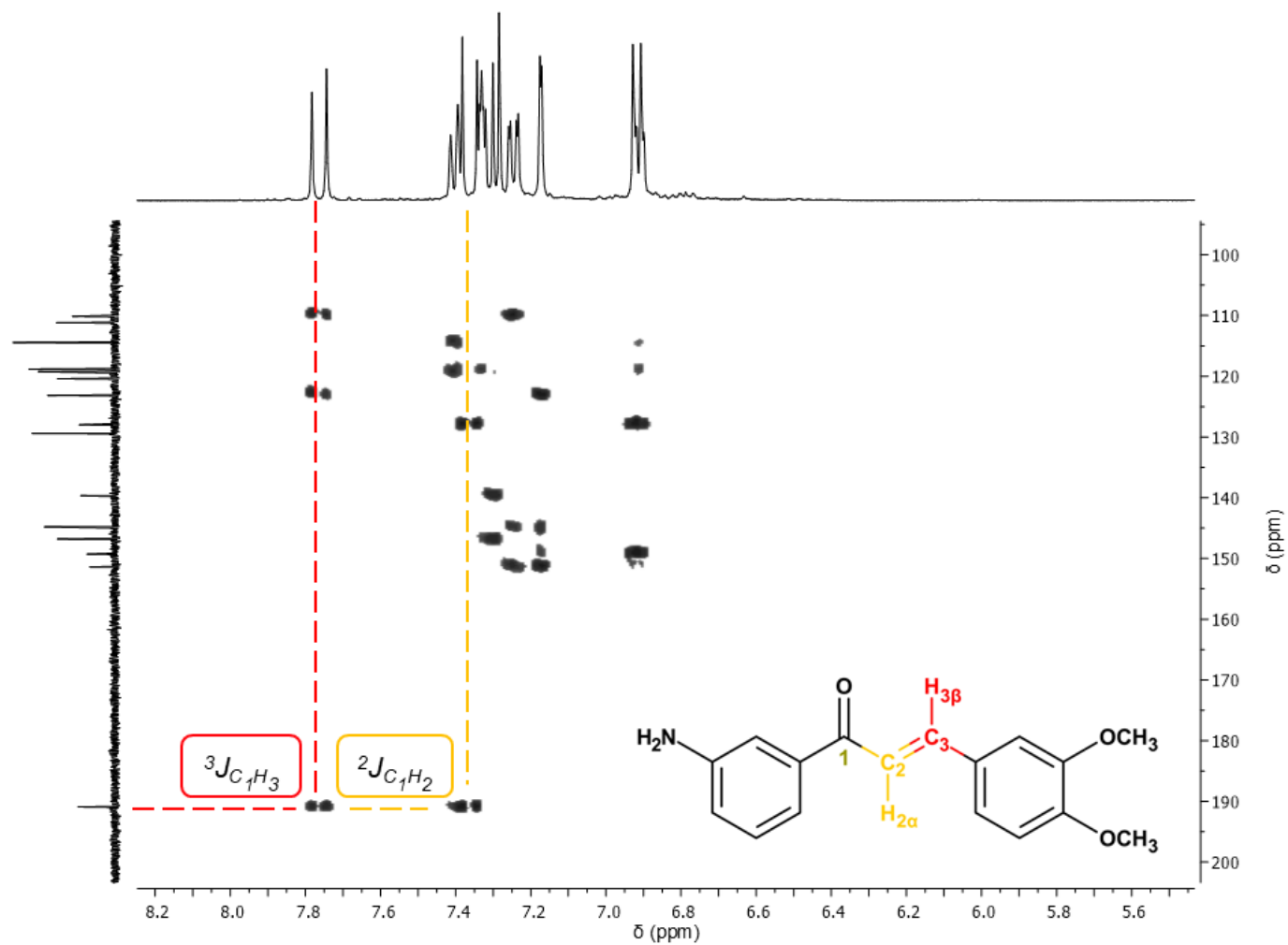
ANEXO G- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HSQC



ANEXO G- ESPECTROS DE RMN PARA A CHAL 2B (em CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) - CONTINUAÇÃO

HMBC



**ANEXO H- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA A ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES SOBRE O DPPH**

| Concentração            |            | GL | SQ      | QM      | Fc     | Pr>Fc                    |
|-------------------------|------------|----|---------|---------|--------|--------------------------|
| 16 mmol L <sup>-1</sup> | Tratamento | 5  | 3574,6  | 714,93  | 412,73 | 5,4347.10 <sup>-13</sup> |
|                         | Resíduo    | 12 | 20,8    | 1,73    |        |                          |
|                         | Total      | 17 | 3595,4  |         |        |                          |
| 14 mmol L <sup>-1</sup> | Tratamento | 5  | 2723,89 | 544,78  | 279,09 | 5,5709.10 <sup>-12</sup> |
|                         | Resíduo    | 12 | 23,42   | 1,95    |        |                          |
|                         | Total      | 17 | 2747,31 |         |        |                          |
| 12 mmol L <sup>-1</sup> | Tratamento | 5  | 1497,86 | 299,572 | 93,001 | 3,5974.10 <sup>-9</sup>  |
|                         | Resíduo    | 12 | 38,65   | 3,221   |        |                          |
|                         | Total      | 17 | 1536,51 |         |        |                          |
| 10 mmol L <sup>-1</sup> | Tratamento | 5  | 1691,87 | 338,37  | 172,48 | 9,6246.10 <sup>-11</sup> |
|                         | Resíduo    | 12 | 23,54   | 1,96    |        |                          |
|                         | Total      | 17 | 1715,41 |         |        |                          |
| 8 mmol L <sup>-1</sup>  | Tratamento | 6  | 1670,82 | 278,471 | 65,539 | 1,9221.10 <sup>-9</sup>  |
|                         | Resíduo    | 14 | 59,49   | 4,249   |        |                          |
|                         | Total      | 20 | 1730,31 |         |        |                          |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.  
Fonte. A autora.

**ANEXO I- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L<sup>-1</sup>) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

| Concentração             | Tempo |            | GL | SQ      | QM      | Fc     | Pr>Fc                   |
|--------------------------|-------|------------|----|---------|---------|--------|-------------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 6  | 1408,72 | 234,787 | 23,794 | 1,3861.10 <sup>-6</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 138,14  | 9,867   |        |                         |
|                          |       | Total      | 20 | 1546,86 |         |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 5  | 142,101 | 28,4202 | 7,9241 | 0,0016589               |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 43,038  | 3,5865  |        |                         |
|                          |       | Total      | 27 | 185,139 |         |        |                         |
| 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 6  | 1529,01 | 254,835 | 9,7733 | 0,00024594              |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 365,04  | 26,075  |        |                         |
|                          |       | Total      | 20 | 1894,05 |         |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 5  | 395,66  | 79,131  | 10,849 | 0,00040227              |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 87,52   | 7,294   |        |                         |
|                          |       | Total      | 17 | 483,18  |         |        |                         |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora.

**ANEXO J- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L<sup>-1</sup>) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

| Concentração             | Tempo |            | GL | SQ      | QM       | Fc     | Pr>Fc                   |
|--------------------------|-------|------------|----|---------|----------|--------|-------------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 7  | 1,0652  | 0,152171 | 4,0531 | 4,1171.10 <sup>-5</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 32 | 0,6904  | 0,21575  |        |                         |
|                          |       | Total      | 39 | 1,7556  |          |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 7  | 9,6163  | 1,37376  | 5,8074 | 0,00021052              |
|                          |       | Resíduo    | 32 | 7,5697  | 0,23655  |        |                         |
|                          |       | Total      | 39 | 17,1860 |          |        |                         |
| 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | -  | -       | -        | -      | -                       |
|                          |       | Resíduo    | -  | -       | -        |        |                         |
|                          |       | Total      | -  |         |          |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 7  | 17,799  | 2,54266  | 6,1623 | 0,0001302               |
|                          |       | Resíduo    | 32 | 13,204  | 0,41261  |        |                         |
|                          |       | Total      | 39 | 31,002  |          |        |                         |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora.

**ANEXO K- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,2 MMOL L<sup>-1</sup> E 24 H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

| <b>Comparação</b>  | <b>p-ajustado para 48h</b> |
|--------------------|----------------------------|
| CHAL - CHAL 1      | 0.02706106                 |
| CHAL - CHAL 1A     | 1.00000000                 |
| CHAL 1 - CHAL 1A   | 1.00000000                 |
| CHAL - CHAL 1B     | 1.00000000                 |
| CHAL 1 - CHAL 1B   | 1.00000000                 |
| CHAL 1A - CHAL 1B  | 1.00000000                 |
| CHAL - CHAL 2      | 1.00000000                 |
| CHAL 1 - CHAL 2    | 0.19124716                 |
| CHAL 1A - CHAL 2   | 1.00000000                 |
| CHAL 1B - CHAL 2   | 1.00000000                 |
| CHAL - CHAL 2A     | 1.00000000                 |
| CHAL 1 - CHAL 2A   | 1.00000000                 |
| CHAL 1A - CHAL 2A  | 1.00000000                 |
| CHAL 1B - CHAL 2A  | 1.00000000                 |
| CHAL 2 - CHAL 2A   | 1.00000000                 |
| CHAL - CHAL 2B     | 0,09756638                 |
| CHAL 1 - CHAL 2B   | 1.00000000                 |
| CHAL 1A - CHAL 2B  | 1.00000000                 |
| CHAL 1B - CHAL 2B  | 1.00000000                 |
| CHAL 2 - CHAL 2B   | 0,56006003                 |
| CHAL 2A - CHAL 2B  | 1.00000000                 |
| CHAL - CONTROLE    | 0.00899054                 |
| CHAL 1 - CONTROLE  | 1.00000000                 |
| CHAL 1A - CONTROLE | 0,48421762                 |
| CHAL 1B - CONTROLE | 1.00000000                 |
| CHAL 2 - CONTROLE  | 0.07496140                 |
| CHAL 2A - CONTROLE | 1.00000000                 |
| CHAL 2B - CONTROLE | 1.00000000                 |

**ANEXO L- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS NA CONCENTRAÇÃO DE 0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L<sup>-1</sup> TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DA *E. COLI***

| Concentração             | Tempo |            | GL | SQ      | QM      | Fc     | Pr>Fc                   |
|--------------------------|-------|------------|----|---------|---------|--------|-------------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 5  | 300,00  | 60,0000 | 10,578 | 0,00045284              |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 68,07   | 5,672   |        |                         |
|                          |       | Total      | 17 | 368,06  |         |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 5  | 987,63  | 197,526 | 42,789 | 3,0688.10 <sup>-7</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 55,40   | 4,616   |        |                         |
|                          |       | Total      | 17 | 1043,02 |         |        |                         |
| 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 5  | 134,097 | 26,8194 | 5,935  | 0,0054674               |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 54,226  | 4,5189  |        |                         |
|                          |       | Total      | 17 | 188,323 |         |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | 5  | 167,744 | 33,549  | 9,1751 | 0,00086902              |
|                          |       | Resíduo    | 12 | 43,878  | 3,657   |        |                         |
|                          |       | Total      | 17 | 211,622 |         |        |                         |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.  
Fonte. A autora.

**ANEXO M- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS NA CONCENTRAÇÃO DE 0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L<sup>-1</sup> E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA *E. COLI***

| Concentração             | Tempo |            | GL | SQ      | QM       | Fc     | Pr>Fc                   |
|--------------------------|-------|------------|----|---------|----------|--------|-------------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 7  | 0,32215 | 0,046022 | 7,3174 | 2,9676.10 <sup>-5</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 32 | 0,20126 | 0,006289 |        |                         |
|                          |       | Total      | 39 | 0,52341 |          |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | -  | -       | -        | -      | -                       |
|                          |       | Resíduo    | -  | -       | -        |        |                         |
|                          |       | Total      | -  | -       |          |        |                         |
| 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 7  | 1,34857 | 0,192653 | 10,046 | 1,3981.10 <sup>-6</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 32 | 0,51367 | 0,019177 |        |                         |
|                          |       | Total      | 39 | 1,96224 |          |        |                         |
|                          | 48hrs | Tratamento | -  | -       | -        | -      | -                       |
|                          |       | Resíduo    | -  | -       | -        |        |                         |
|                          |       | Total      | -  | -       |          |        |                         |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.  
Fonte. A autora.

**ANEXO N- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,1 MMOL L<sup>-1</sup> EM 48H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA *E.COLI***

| <b>Comparação</b>  | <b>p-ajustado</b> |
|--------------------|-------------------|
| CHAL - CHAL 1      | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 1A     | 1,0000000         |
| CHAL 1 – CHAL 1A   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 1B     | 0,332668883       |
| CHAL 1 - CHAL 1B   | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 1B  | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 2      | 1,0000000         |
| CHAL 1 - CHAL 2    | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 2   | 1,0000000         |
| CHAL 1B - CHAL 2   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 2A     | 0,008099944       |
| CHAL 1 - CHAL 2A   | 0,852986476       |
| CHAL 1A - CHAL 2A  | 1,0000000         |
| CHAL 1B - CHAL 2A  | 1,0000000         |
| CHAL 2 - CHAL 2A   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 2B     | 0,9128416         |
| CHAL 1 - CHAL 2B   | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL 1B - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL 2 - CHAL 2B   | 1,0000000         |
| CHAL 2A - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL – CONTROLE    | 00089421296       |
| CHAL 1 – CONTROLE  | 1,0000000         |
| CHAL 1A – CONTROLE | 1,0000000         |
| CHAL 1B – CONTROLE | 1,0000000         |
| CHAL 2 – CONTROLE  | 1,0000000         |
| CHAL 2A – CONTROLE | 1,0000000         |
| CHAL 2B - CONTROLE | 1,0000000         |

**ANEXO O- RESUMO DO TESTE DE DUNN PARA O EFEITO DAS CHALCONA EM 0,2 MMOL L<sup>-1</sup> EM 48H SOBRE O CRESCIMENTO DO BIOFILME DA *E.COLI***

| <b>Comparação</b>  | <b>p-ajustado</b> |
|--------------------|-------------------|
| CHAL - CHAL 1      | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 1A     | 1,0000000         |
| CHAL 1 – CHAL 1A   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 1B     | 1,0000000         |
| CHAL 1 - CHAL 1B   | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 1B  | 0,9128416         |
| CHAL - CHAL 2      | 1,0000000         |
| CHAL 1 - CHAL 2    | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 2   | 1,0000000         |
| CHAL 1B - CHAL 2   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 2A     | 1,0000000         |
| CHAL 1 - CHAL 2A   | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 2A  | 0,4497924         |
| CHAL 1B - CHAL 2A  | 1,0000000         |
| CHAL 2 - CHAL 2A   | 1,0000000         |
| CHAL - CHAL 2B     | 1,0000000         |
| CHAL 1 - CHAL 2B   | 1,0000000         |
| CHAL 1A - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL 1B - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL 2 - CHAL 2B   | 1,0000000         |
| CHAL 2A - CHAL 2B  | 1,0000000         |
| CHAL – CONTROLE    | 1,0000000         |
| CHAL 1 – CONTROLE  | 1,0000000         |
| CHAL 1A – CONTROLE | 0,4175374         |
| CHAL 1B – CONTROLE | 1,0000000         |
| CHAL 2 – CONTROLE  | 1,0000000         |
| CHAL 2A – CONTROLE | 1,0000000         |
| CHAL 2B - CONTROLE | 1,0000000         |

**ANEXO P- RESUMO DA ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) PARA O EFEITO DAS CHALCONAS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES (0,1 MMOL L<sup>-1</sup> E 0,2 MMOL L<sup>-1</sup>) E TEMPOS DE INCUBAÇÃO (24 H E 48 H) SOBRE DA *C. ALB/CANS*.**

| Concentração             | Tempo |            | GL | SQ       | QM      | Fc     | Pr>Fc                    |
|--------------------------|-------|------------|----|----------|---------|--------|--------------------------|
| 0,1 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 6  | 1579,53  | 263,25  | 20,345 | 7,8524.10 <sup>-5</sup>  |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 174,11   | 12,437  |        |                          |
|                          |       | Total      | 20 | 10732,03 |         |        |                          |
|                          | 48hrs | Tratamento | 6  | 1579,53  | 263,25  | 20,345 | 3,6395.10 <sup>-6</sup>  |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 181,16   | 12,94   |        |                          |
|                          |       | Total      | 20 | 1760,69  |         |        |                          |
| 0,2 mmol L <sup>-1</sup> | 24hrs | Tratamento | 6  | 3321,0   | 553,50  | 107,49 | 6,7759.10 <sup>-11</sup> |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 72,1     | 5,15    |        |                          |
|                          |       | Total      | 20 | 3393,1   |         |        |                          |
|                          | 48hrs | Tratamento | 6  | 1271,84  | 211,973 | 7,6047 | 0,00089484               |
|                          |       | Resíduo    | 14 | 390,23   | 27,874  |        |                          |
|                          |       | Total      | 20 | 1662,07  |         |        |                          |

\* GL: graus de liberdade; SQ: soma de quadrados; QM: quadrado médio; Fc: valor de F calculado; CV: coeficiente de variação.

Fonte. A autora