



instituto de **química**

Universidade Federal do Rio de Janeiro

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS
INIBIDORES DA ENZIMA ENOIL-ACP
REDUTASE DO *Mycobacterium tuberculosis*

LUCAS SOUZA MATHIAS

Projeto Final de Curso

PROF. RAONI SCHROEDER B. GONÇALVES, D.SC.

04/2022

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS INIBIDORES DA ENZIMA ENOIL-ACP REDUTASE DO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

LUCAS SOUZA MATHIAS

Projeto Final de Curso submetido ao Corpo Docente do Instituto de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Químico.

Aprovado por:

José C. B. Neto, D. Sc

Camilo H. S. Lima, D. Sc

Raoni S. B. Gonçalves, D. Sc

Rio de Janeiro, RJ – Brasil
Abril de 2022

Mathias, L. S.

Desenvolvimento de novos inibidores da enzima enoil-ACP redutase do *Mycobacterium tuberculosis* / Lucas Souza

Mathias. Rio de Janeiro: UFRJ/IQ, 2022.

122p.; il. (número de páginas)

(Projeto Final de Curso) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, 2022.

Orientador: Raoni Schroeder B. Gonçalves

1. Química Medicinal. 2. Síntese Orgânica. 3. Modelagem Molecular. 4. Projeto Final de Curso. (Graduação – UFRJ/IQ).

Raoni Schroeder B. Gonçalves I. Desenvolvimentos de novos inibidores da enzima enoil-ACP redutase do *Mycobacterium tuberculosis*.

Dedico este trabalho à minha família, minha esposa e amigos que sempre me apoiaram durante todos os anos dessa graduação. Ao meu orientador que me apresentou a esse trabalho incrível e abriu os meus olhos para a ciência que eu pretendo defender.

“[...] Observo a mim mesmo em silêncio,
porque é nele onde mais e melhor se diz[...].”
(Forfun)

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, aos meus pais, Deise Souza e Marcial Mathias por sempre me apoiarem em tudo, por terem me ensinado a ser quem sou e por serem os melhores pais que eu poderia ter.

Quero agradecer a minha família: avós, dindos, tios e primos, não vou citar todos, pois são tantos e os amo muito.

Quero agradecer aos meus amigos de infância, da época do condomínio e da FAETEC por todos os momentos bons, ruins e icônicos que passamos juntos.

Agradecer também a UFRJ pelo privilégio de estudar o que amo e me apresentar a pessoas incríveis e amigos que levarei para sempre, em especial a minha esposa Bruna Lemos por estar comigo desde o início da graduação.

Resumo do Projeto Final apresentado ao Instituto de Química como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de Química.

DESENVOLVIMENTO DE NOVOS INIBIDORES DA ENZIMA ENOIL-ACP REDUTASE DO MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS

Lucas Souza Mathias

Abril de 2022

Orientador Responsável: Prof. Raoni S. B. Golçalves, D.Sc

A bactéria *Mycobacterium tuberculosis* quando se instala em um tecido do corpo humano causa a doença conhecida como Tuberculose. Por ser transmitida pelo ar, normalmente essa bactéria se fixa ao pulmão da pessoa, gerando a doença Tuberculose Pulmonar (TB). Por volta de 90% casos de TB são assintomáticos, porém outros casos podem gerar sintomas graves ou até mesmo situações de morte. Muitas das vezes isso ocorre por falta de um tratamento correto, podendo causar uma mutação da cepa no indivíduo, evoluindo para casos de bactérias resistentes aos insumos ativos. Tendo em vista essa adversidade, para o presente trabalho foram sintetizadas duas novas moléculas: [(*E*)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona e (*E*)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-metóxi-fenil)-prop-2-en-1-ona], com os rendimentos globais iguais a 29,5% e 20,2%, respectivamente. Com o objetivo de entender suas possíveis conformações, mediante a possibilidade de reações de metilação no anel naftílico dentro da bactéria, também foram modeladas, ao todo, 8 moléculas no software Spartan. Todas as moléculas são candidatos a fármacos que possuem a enzima enoil-ACP-redutase como alvo terapêutico, para inibir a construção da parede celular da *Mycobacterium tuberculosis* facilitando assim o tratamento da TB.

Abstract do Projeto Final apresentado ao Instituto de Química como parte dos requisitos necessários para conclusão do curso de Química.

**DESENVOLVIMENTO DE NOVOS INIBIDORES DA ENZIMA ENOIL-ACP REDUTASE DO MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS**

Lucas Souza Mathias

Abril de 2022

Orientador Responsável: Prof. Raoni S. B. Golçalves, D.Sc

ABSTRACT

The bacterium *Mycobacterium tuberculosis* when it settles in a human body tissue causes the disease known as Tuberculosis. Since it is transmitted through the air, this bacterium usually attaches itself to the person's lung, causing the disease Pulmonary Tuberculosis (TB). Around 90% of TB cases are asymptomatic, but other cases can generate severe symptoms or even death. Often this occurs due to lack of a correct treatment, which can cause a mutation of the strain in the individual, evolving into cases of bacteria resistant to active ingredients. In face of this adversity, the present work aims to synthesize two new molecules [(*E*)-1-(4,8-dimethoxy-naphthalen-1-yl)-3-(3-nitro-phenyl)-prop-2-en-1-one and (*E*)-1-(4,8-dimethoxy-naphthalen-1-yl)-3-(3-methoxy-phenyl)-prop-2-en-1-one], with overall yields equal to 29.5% and 20.2%, respectively. In order to understand their possible conformations, through the possibility of methylation reactions on the naphthyl ring inside the bacteria, a total of 8 molecules were also modeled in the Spartan software. All molecules are drug candidate, which have the enzyme enoyl-ACP-reductase as a therapeutic target, to inhibit the cell wall construction of *Mycobacterium tuberculosis* and thus facilitate the treatment of TB.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1. O tratamento da TB.....	12
1.2. Tuberculose resistente	13
1.3. O tratamento da MDR-TB e XDR-TD	14
1.4. Enzima enoil-ACP redutase	15
1.5. Descoberta do ZINC 19 como um possível inibidor da enoil-ACP redutase (InhA)	15
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral	16
2.2. Objetivo Específico.....	16
3. METODOLOGIA	17
3.1. Síntese	17
3.2. Modelagem Molecular dos Derivados propostos	18
3.2.1. Metodologia do Programa Spartan	19
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	19
4.1. Síntese	19
4.1.1. Síntese do 1,5-dimetóxi-naftaleno.....	20
4.1.2. Síntese do 1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)etanona.....	20
4.1.3. Reação de Claisen-Schmidt	21
4.1.3.1. (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona	22
4.1.3.2. (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1. Resultados das Sínteses	24
5.2. Resultados Spartan	27
5.2.1. Chalcona 3-NO ₂	28
5.2.2. Chalcona 3-OCH ₃	30
6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS	32
7. REFERÊNCIAS.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Fármacos utilizados no tratamento de primeira escolha da tuberculose.	13
Figura 2 – Fármacos utilizados no tratamento de segunda escolha da TB.....	14
Figura 3 – Zinc19.....	16
Figura 4 – Análise retrossintética para os compostos da série proposta.	17
Figura 5 – Proposta para a Rota Sintética.....	18
Figura 6 – 1,5-di-metóxi-naftaleno	20
Figura 7 – 4,8-dimetoxi-naftalenil-etanona	21
Figura 8 – Síntese da (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona.....	22
Figura 9 – Síntese da (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-metóxi-fenil)-prop-2-en-1-ona .	23
Figura 10 – Reação de metilação do 1,5-dihidroxi-naftaleno.....	24
Figura 11 – Reação da formação do Acílio	24
Figura 12 – Reação de Acilação	25
Figura 13 – Formação do intermediário carbânion.....	26
Figura 14 – Reação Condensação Aldólica	26
Figura 15 – 4-OCH ₃ -8-OCH ₃	28
Figura 16 – 4-OCH ₃ -8-OH.....	29
Figura 17 – 4-OH-8-OCH ₃	29
Figura 18 – 4-OH-8-OH.....	30
Figura 19 – 4-OCH ₃ -8-OCH ₃	31
Figura 20 – 4OCH ₃ -8-OH	31
Figura 21 – 4-OH -8-OCH ₃	32
Figura 22 – 4-OH-8-OH.....	32

ÍNDICE DE SIGLAS

- TB – Tuberculose Bacteriana
- OMS - Organização Mundial de Saúde
- INH – Isoniazida
- ETB – Etambutol
- PZA – Pirazinamida
- RIP - Rifampicina
- SUS – Sistema Único de Saúde
- MDR-TB – Multidrug-resistant tuberculosis
- XDR-TB – Extensively drug-resistant tuberculosis
- InhA – Enzima ACP-redutase
- ACP – Proteína Carregadora de grupo Acila
- KatG – Enzima catalase-peroxidase micobacteriana
- PDB – Protein Data Bank
- RMN -Ressonância Nuclear Magnética
- IV – Infravermelho
- QM-MM - Quantum mechanics-molecular mechanics
- GC-MS – Gas chromatography-mass spectrometry

1. INTRODUÇÃO

A Tuberculose é uma doença bacteriana causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis*. Essa bactéria se destaca por conta de sua morfologia, sua parede celular rica em lipídios e sua característica álcool-ácido resistente. Lehmann e Neumann classificaram o novo gênero *Mycobacterium* com a descoberta da bactéria *Mycobacterium tuberculosis*, também conhecido como Bacilo de Koch. O nome do gênero “*Mycobacterium*” foi inspirado do latim “fungus bacterium”, devido a bactéria ter características semelhantes a fungos quando cultivada em meio líquido.

Dentre outras bactérias do gênero *Mycobacterium*, a espécie *tuberculosis* se destaca pela capacidade infectocontagiosa em humanos, onde há uma reação granulomatosa causando uma intensa inflamação no local em que a bactéria se instala, causando até uma lesão tissular no tecido onde se instala. A doença gerada a partir do desenvolvimento dessa bactéria em seu hospedeiro é conhecida como Tuberculose (TB). A TB pode se manifestar em diversas partes do corpo, como: ossos, rins, linfonodos e órgãos abdominais, porém, normalmente, o indivíduo sadio inala os bacilos em gotículas de água, levando à instalação das bactérias nos alvéolos ou bronquíolos, causando assim de forma mais frequente a TB pulmonar.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS)² estima-se que, no mundo, a cada 4 pessoas, uma está infectada com o *M. tuberculosis*. Dessas, aproximadamente 5 a 15% desenvolvem a doença na sua forma ativa e sintomática, enquanto o restante permanece assintomático, incapaz de transmitir a doença. Anualmente, cerca de 10 milhões de pessoas adoecem de TB e 1,5 milhões de pessoas morrem decorrente da doença, sendo 95% dos casos de mortes em países emergentes. Segundo uma pesquisa de 2019 da Fiocruz³, cerca de 4 mil pessoas morrem a cada ano, no Brasil.

1.1. O tratamento da TB

O tratamento convencional de TB consiste na administração de 4 princípios ativos, sendo eles: a isoniazida (INH)(1), etambutol (ETB)(2), pirazinamida (PZA)(3) e rifampicina (RIP)(4), cujas estruturas estão ilustradas na Figura 1. O tratamento, que tem duração de 6 meses é gratuito no Brasil e disponibilizado pelo Sistema Único de Saúde (SUS), necessitando acompanhamento médico durante todo o período.

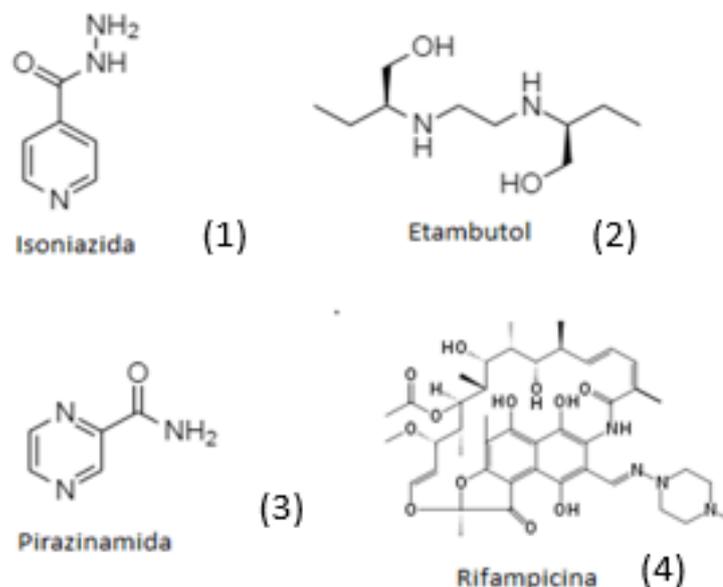


Figura 1 – Fármacos utilizados no tratamento de primeira escolha da tuberculose.

Como relata o Ministério da Saúde⁴, nas primeiras semanas de tratamento, o paciente se sente melhor e, por isso, precisa ser orientado pelo profissional de saúde a realizar o tratamento até o final, independentemente da melhoria dos sintomas. O tratamento convencional, quando bem realizado, possui índice de 95% de eficácia. Porém, devido ao seu longo período, seus efeitos colaterais, e a perceptível melhora do paciente no primeiro mês, muitos pacientes acabam abandonando o tratamento.

É importante lembrar que o tratamento irregular pode complicar a doença e resultar no desenvolvimento de TB resistente. Esse desenvolvimento de novas cepas de TB resistentes, são caracterizados como novas doenças, derivadas da TB comum, sendo elas: Tuberculose multirresistente (MDR-TB) e Tuberculose Extensivamente Resistente (XDR-TB).

1.2. Tuberculose resistente

A MDR-TB é uma cepa de *Mycobacterium tuberculosis* mais resistentes aos insumos ativos do tratamento convencional da doença, sendo resistente à INH e à RIP, os dois fármacos mais eficientes contra TB. Segundo a OMS⁴, em 2016, cerca de 500 mil pessoas pelo mundo se encontravam com MDR-TB.

Cerca de 6,2% dos casos de MDR-TB evoluem para XDR-TB, contabilizando mais de 30 mil pessoas no mundo. A XDR-TB, além de ser resistente a RIP e INH, assim como a MDR-TB, ela ainda é, também, resistente a fluoroquinolonas, tipo levofloxacino (5) ou ofloxacino (6), e é resistente a pelo menos um dos três remédios injetáveis utilizados no tratamento de segunda escolha, dentre eles a amicacina (7), capreomicina (8), canamicina (9), ou cicloserina (10). A Figura 2 apresenta as estruturas dos respectivos fármacos citados.

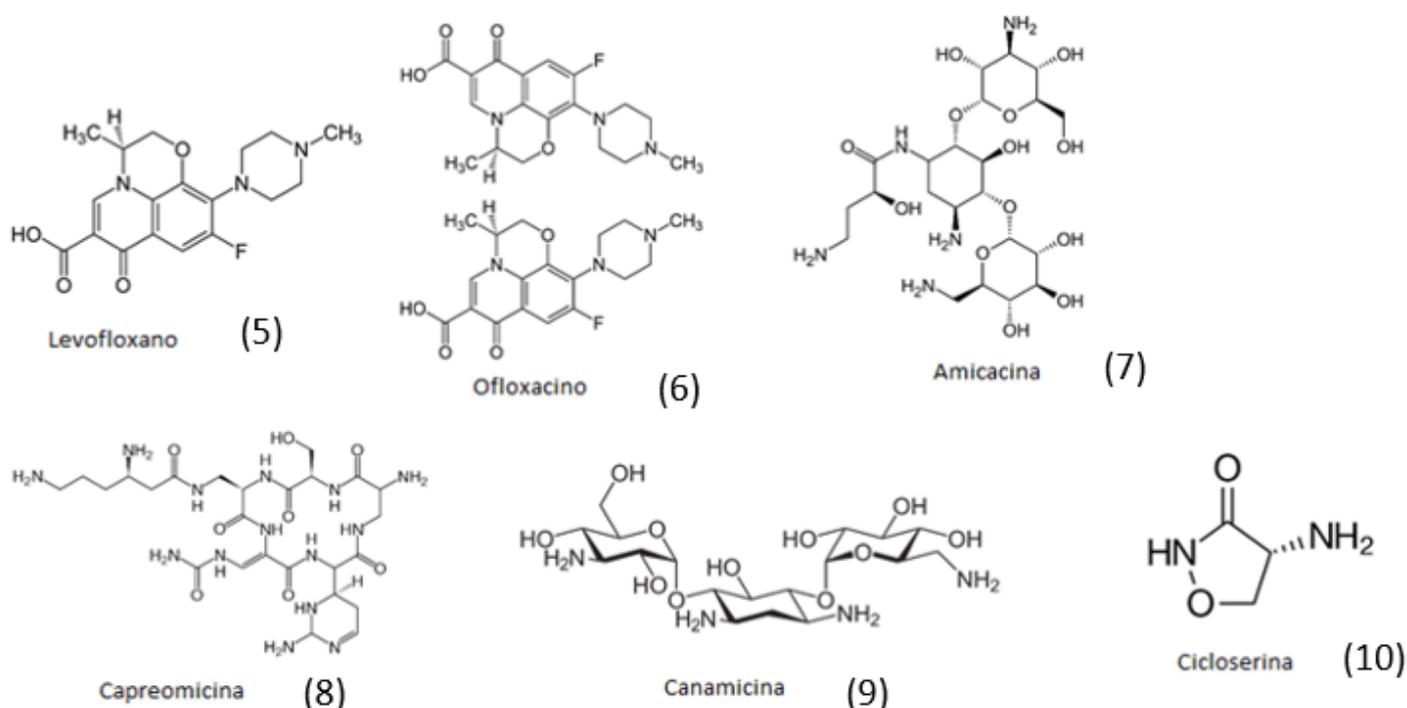


Figura 2 – Fármacos utilizados no tratamento de segunda escolha da TB.

1.3. O tratamento da MDR-TB e XDR-TD

Para o tratamento de cepas resistentes do *M. tuberculosis*, são selecionados fármacos de segunda escolha, sendo eles: cicloserina, canamicina, amicacina, fluoroquinolonas entre outros. Além de possuir mais efeitos colaterais, esse tratamento tem um tempo mais elevado que o anterior, entre 18 e 24 meses, pois os insumos possuem ação bactericida menor. Nesse contexto, torna-se imprescindível o desenvolvimento de novos fármacos contra a TB. Principalmente, fármacos que sejam

capazes de atuar em cepas resistentes dessa bactéria. Dessa forma, no presente trabalho, foi escolhida a enzima enoil-ACP redutase (InhA) como alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos.

1.4. Enzima enoil-ACP redutase

O motivo pela qual foi escolhida a enzima InhA como alvo terapêutico, se dá em função de sua importância para a construção da parede celular do *M. tuberculosis*. Essa enzima catalisa a redução estereoespecífica de ácidos graxos trans- α,β -insaturados, que se encontram ligados com a proteína carregadora de grupo acila (ACP), onde essa reação só acontece na presença do NADH.

No tratamento de TB, a INH faz essa função de inibir a InhA, porém a INH necessita de uma pré-ativação através da formação de um aduto dela com o NAD, cuja síntese é catalisada pela enzima catalase-peroxidase micobacteriana (KatG).

Tendo em vista que, cepas de TB (MDR-TB e XDR-TB) resistentes a INH possuem mutações na KatG, uma alternativa seria um fármaco que inibisse diretamente a InhA, sem necessitar da ativação da KatG.

1.5. Descoberta do ZINC 19 como um possível inibidor da enoil-ACP redutase (InhA)

Em estudos prévios do grupo de pesquisa⁵, foi realizada uma busca por estruturas cristalográficas da InhA publicadas no Protein Data Bank (PDB), e através do processo de docagem molecular, analisou-se os modos de interação entre o sítio catalítico da proteína e de possíveis inibidores. A primeira etapa de docagem molecular foi realizada para analisar os modos de interações entre as moléculas já descritas na literatura como inibidoras, e o sítio catalítico da enzima. Na etapa de dinâmica molecular, também foram testados os derivados das moléculas. Após a etapa de dinâmica molecular, identificou-se quais resíduos importantes para as interações dos ligantes com o sítio ativo.

Utilizando-se da ferramenta QSAR-3D, foi construído um mapa farmacofórico, com a finalidade de confirmar ou descartar hipóteses para o mecanismo de ação a nível eletrônico e molecular de diversos fármacos e, finalmente, identificar interações específicas entre os fármacos e receptores, definindo os grupamentos farmacofóricos.

Após um screening virtual utilizado-se o servidor ZINCPharmer, 100 possíveis candidatos foram selecionados. Logo então, removeu-se os candidatos que possuem centros estereogênicos. Com 32 candidatos ainda viáveis, foi realizada uma nova docagem molecular com predição in silico ADMET e o melhor resultado encontrado foi o composto ZINC19(11), cuja estrutura está apresentada na Figura 3.

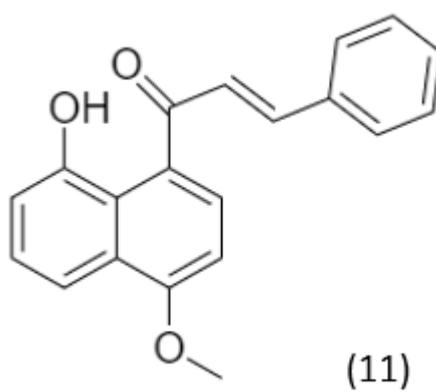


Figura 3 – Zinc19

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo a síntese de duas chalconas derivadas do Zinc 19 que sejam potenciais inibidores da enzima InhA do *M. tuberculosis* e a realização de estudos iniciais de modelagem molecular com esses compostos, frente ao alvo molecular proposto.

2.2. Objetivo Específico

- 1) Sintetizar e purificar dois diferentes compostos apresentando o arcabouço estrutural apresentado na Figura 3.
- 2) Caracterizar os compostos utilizando métodos espectroscópicos (RMN de ^1H e ^{13}C e IV).

- 3) Realizar estudos iniciais de modelagem molecular com os dois compostos sintetizados e suas respectivas variações de substituintes nos carbonos 4 e 8 do anel naftílico.

3. METODOLOGIA

3.1. Síntese

A partir da análise retrossintética apresentada na Figura 4 foi proposta uma rota sintética descrita para os derivados desejados (Figura 5). Onde a partir de uma molécula modificada do Zinc 19 é proposta a retrosíntese, começando com a desconexão da dupla ligação do carbono alfa a carbonila. Em seguida é proposta a desconexão da ligação entre o anel e o aldeído. E, como últimas desconexões, a ligação entre os carbonos e oxigênios dos dois grupos metilas do anel.

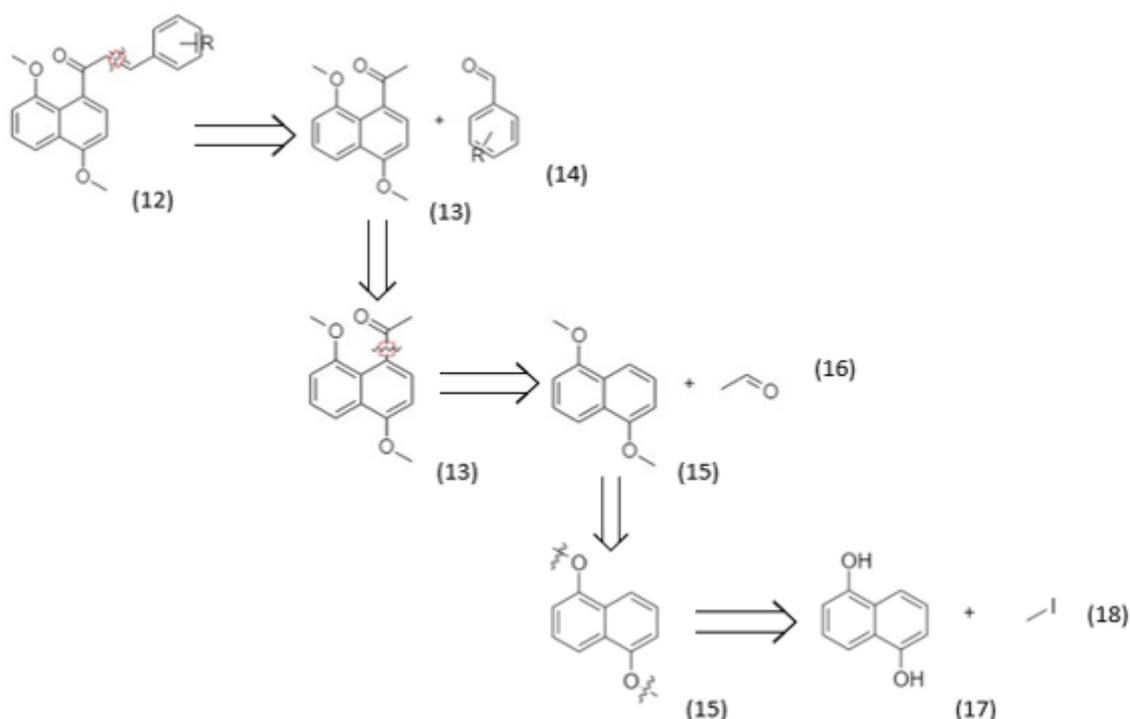


Figura 4 – Análise retrossintética para os compostos da série proposta.

Onde a proposta da síntese é iniciada com a reação de Alquilação no 1,5-naftol. Seguindo para a reação de Acilação de Friedel-Crafts para obter a cetona. E, na

sequência, a reação de Condensação Aldólica modificando os aldeídos para as diferentes sínteses.

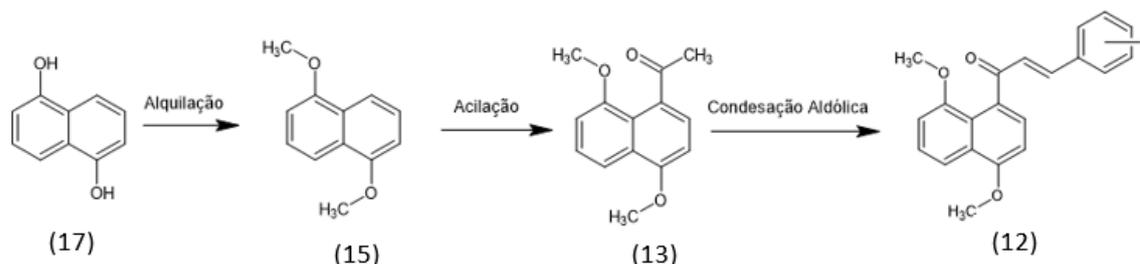


Figura 5 – Proposta para a Rota Sintética

3.2. Modelagem Molecular dos Derivados propostos

Com o desenvolvimento da computação e o fácil acesso das instituições a computadores cada vez mais potentes, os estudos da química com modelagem molecular, em específico no âmbito da Química Medicinal, têm se intensificado nas pesquisas de novos fármacos. Desde o início dos anos 90 o termo "virtual screening" tem crescido cada vez mais nas publicações em revistas com fator de impacto maior que 2, como mostra Antonio Lavecchia em sua publicação⁶.

O modelo de "Virtual Screening" pode ser explicado de forma parecida ao conceito de chave-fechadura, explicado por Eliezer⁷, ambos explicam as interações pesquisadas entre uma macromolécula X (por vezes uma proteína alvo) e uma molécula Y onde é calculada a força das interações entre as duas em um pré-determinado sítio catalítico dentro da macromolécula X.

Como explicou Eliezer⁷ "A modelagem molecular consiste em um conjunto de ferramentas para a construção, edição, visualização, análise e armazenamento de sistemas moleculares complexos". O estudo de modelagem molecular tem como base algumas ferramentas computacionais, como os programas: Gold, Spartan e AutoDock. Onde as moléculas são transcritas e tratadas para o ensaio da interação (docking). O programa Spartan é responsável pela criação da molécula de forma preparada para o docking nos demais programas. Tanto o Gold, quanto o AutoDock são programas de docking, o que nos permite um comparativo de resultados entre eles. Porém, o presente trabalho terá foco no resultado do software Spartan.

3.2.1. Metodologia do Programa Spartan

O programa Spartan foi utilizado para criar as moléculas no formato possível de ser lido nos outros programas para o docking. Neste programa foi dada as características computacionais da molécula, como estrutura, rotação, tratamento energético e características QM-MM (Quantum Mechanics-Molecular Mechanics), ou semi-quântico seguindo o modelo de Hartree-Fock.

4. MATERIAS E MÉTODOS

4.1. Síntese

Todas as reações foram monitoradas por cromatografia em camada fina (CCF) usando sílica gel (cromatofolhas de alumínio KieselGel 60 F254 Merck) como fase estacionária e, como fase móvel, acetona/clorofórmio, diclorometano/acetato e acetato/hexano em diversas proporções. As placas de CCF foram visualizadas utilizando luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm. A separação e purificação dos produtos foi realizada por cromatografia em coluna, usando sílica gel (230-400 flash /Merck) como fase estacionária e, como fase móvel, hexano/acetato de etila ou diclorometano/acetato de etila, em diversas proporções.

Os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C foram obtidos com os espectrômetros Bruker DRX-300 (7,05 T), Bruker AVHD400 (9,4 T) e Bruker AVIII500 (11,7 T) operando a 300, 400 e 500 MHz, respectivamente (IQ-UFRJ). Os deslocamentos químicos (δ) foram dados em partes por milhão (ppm) a partir do tetrametilsilano (TMS) como padrão interno, e os valores da constante de acoplamento (J) foram dados em Hertz (Hz). O solvente deuterado utilizado para a obtenção dos espectros foi o clorofórmio (CDCl_3), utilizando tubos de vidro específicos de RMN de 5 mm de diâmetro. As áreas dos sinais dos espectros de RMN foram obtidas por integração eletrônica e as multiplicidades foram descritas do seguinte modo: s (simpleto); sl (sinal largo); d (duplete); t (triplete), m (multiplete), dd (duplo dublete) e dt (duplo triplete).

Os espectros de infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro de IV por transformada de Fourier (Nicolet 6700 FT-IR) (IQ-UFRJ) usando pastilhas de

brometo de potássio (KBr). Os pontos de fusão foram determinados no aparelho Fisatom, modelo:431, série: 1498905, 115 V, 60 Hz, 50 W.

4.1.1. Síntese do 1,5-dimetóxi-naftaleno

A síntese do 1,5-dimetoxi-naftaleno foi feita em um reator com tampa de teflon de 100mL, onde se adicionou 1,5 g de 1,5-dihidroxi-naftaleno (9,375 mmol), 32 mL de acetonitrila (como solvente da reação), iodeto de metila 3mL (21,14 mmol ou 2,25 equivalentes da reação) e 2,85 g de carbonato de potássio anidro (20,62 mmol ou 2,2 equivalentes). Após a adição, trocou-se a atmosfera interna do balão, com auxílio de um borbulhador e uma bexiga com gás argônio. Realizou-se a reação sob agitação e aquecimento de 80°C overnight, acompanhando o fim da reação com uma cromatografia de camada fina (CCF).

Evaporou-se a acetonitrila da reação em um rota-evaporador e foi adicionado 20 mL de clorofórmio e 20 ml de hidróxido de sódio 0,1 M para separar as fases polares e apolares. Após agitação, transferiu-se a mistura para um funil de separação, obtendo a fase orgânica em um erlenmeyer com sulfato de sódio anidro para absorver a fase aquosa. Transferiu-se a fase orgânica para um balão de fundo redondo, onde evaporou-se o clorofórmio em um rota-evaporador. Obteve-se 1,37 g de um produto amarronzado, denominado 1,5-di-metóxi-naftaleno com o rendimento de 77,7% como mostra a Figura 6:

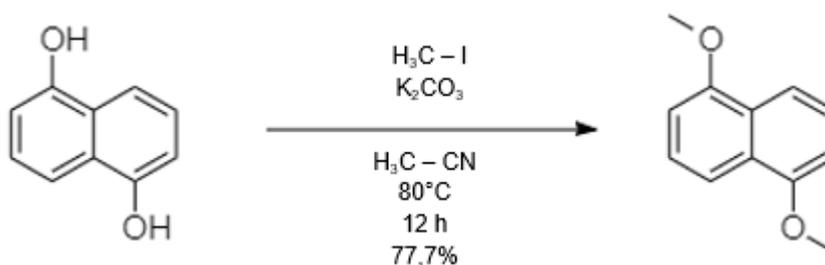


Figura 6 – 1,5-di-metóxi-naftaleno

4.1.2. Síntese do 1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)etanona

Em um balão de fundo redondo, sob agitação magnética e banho de gelo a 0°C , adicionou-se 0,2 g de 1,5-dimetoxi-naftaleno (1,06 mmol), 2 mL de anidrido

acético (Ac_2O) (21,1 mmol) e 0,4 mL de eterato de trifluoreto de boro ($\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$) (3,24 mmol). A reação (Figura 7) foi acompanhada por cromatografia gasosa acoplada com detector de massas (GC-MS), onde interrompeu-se a primeira aparição do sub-produto di-acetilado com a adição de bicarbonato de sódio 10% até a neutralização do meio reacional.

A mistura foi transferida para um funil de separação com adição de 20 mL de clorofórmio e 20 mL de hidróxido de sódio 0,1 N, obtendo a fase orgânica em um erlenmeyer com sulfato de sódio anidro para absorver a fase aquosa. Transferiu-se a fase orgânica para um balão de fundo redondo, onde evaporou-se o clorofórmio em um rota- evaporador, obtendo 0,13 g de um sólido marrom. Foi realizada uma coluna cromatográfica de sílica gel, com auxílio de uma bomba de pressão externa, utilizando uma fase móvel de hexano/acetato de etila (7/3). O produto de interesse foi separado e evaporado o solvente, obtendo 0,13 g de 4,8-dimetoxi-naftalenil-etanona, com o rendimento de 52%, como mostra a Figura 7:

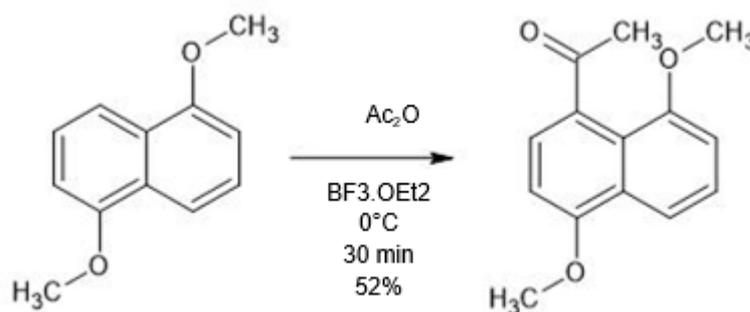


Figura 7 – 4,8-dimetoxi-naftalenil-etanona

4.1.3. Reação de Claisen-Schmidt

Em um balão de fundo redondo, foi adicionado 0,1 g de 4,8-dimetoxi-naftalenil-etanona (0,43 mmol), hidróxido de potássio (96 mg ou 4 equivalentes), 10 ml de metanol/água 8:2 e o aldeído de interesse (3- NO_2 -benzaldeído ou 3- OCH_3 -benzaldeído) aproximadamente 1,5 equivalentes, sob aquecimento a 155°C e refluxo em um período overnight. Os rendimentos das reações foram de 73% (item 4.1.3.1.) e 50% (item 4.1.3.2.), conforme apresentados nas Figuras 8 e 9, respectivamente.

Após análise de CCF para constatar o final da reação, em um funil de separação é separada a fase orgânica da fase aquosa, com lavagens de água

destilada e diclorometano. Evaporada a fase orgânica, foi preparada uma coluna de cromatografia líquida em sílica gel e fase móvel hexano 70% e acetato de etila 30%, para a separação do produto desejado.

4.1.3.1. (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona

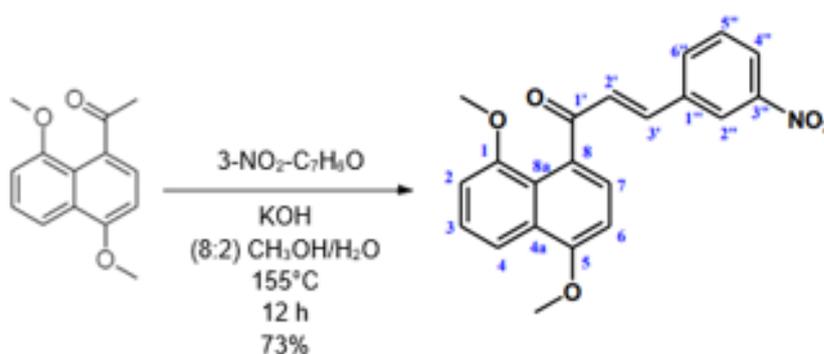


Figura 8 – Síntese da (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona

Rendimento: 73%, sólido amarelo, P. F. 77-79°C. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 8,26 (1H, dd, H-2'', $J_1 = 1,6$ Hz, $J_2 = 1,5$ Hz), 8,17 (1H, dd, H-4'', $J_1 = 8,2$ Hz, $J_2 = 1,4$ Hz), 7,95 (1H, d, H-4, $J = 8,4$ Hz), 7,76 (1H, d, H-6'', $J = 7,8$ Hz), 7,52 (1H, t, H-5'', $J = 7,9$ Hz), 7,46 (1H, t, H-3, $J = 8,0$ Hz), 7,33 (1H, d, H-7, $J = 7,9$ Hz), 7,16 (1H, d, H-3', $J = 16,1$ Hz), 7,11 (1H, d, H-2', $J = 16,1$ Hz), 6,92 (1H, d, H-2, $J = 7,7$ Hz), 6,87 (1H, d, H-6, $J = 7,9$ Hz), 4,05 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 3,81 (3H, s, $-\text{OCH}_3$). $^{13}\text{C RMN}$ (CDCl_3 , 500 MHz) δ : 197,21. 156,68. 154,62. 148,70. 138,51. 136,98. 133,47. 131,69. 129,83. 129,00. 126,93. 126,27. 125,87. 124,08. 123,63. 122,43. 115,13. 107,19. 103,61. 55,80. 55,58. IV v, cm^{-1} : 3488 (C-H Ar), 3071 (C-H Ar), 3039 (C-H Ar), 2991 (C-H OCH_3), 2924 (C-H OCH_3), 2854 (C-H OCH_3), 2117 (C-H OCH_3), 1923, 1864, 1797, 1742, 1716, 1669 (C=O), 1612 (C=C), 1590 (C=C), 1577 (N=O), 1531 (N=O), 1510 (N=O), 1463, 1450 (C=C), 1410 (C-H Ar), 1377 (N=O), 1353, 1336 (N=O), 1305 (C-N), 1263 (C-O), 1226 (C-H Ar), 1202 (C-H Ar), 1165 (C-O), 1093 (C-O), 1075 (C-O), 1051 (C-O), 978 (C-O), 944 (C-

O), 925 (C-O), 900 (C-O), 871 (C-H Ar), 863 (C-H Ar), 848 (N=O), 829 (C-H Ar), 807 (C-H Ar), 771 (C-H Ar), 759 (C-H Ar), 739 (C-H Ar), 716 (C-H Ar), 692, 666 (C-H Ar), 633, 609 (C-H Ar), 600, 568, 538, 528 (C-H Ar), 508 (C-H Ar), 462 (C-H Ar).

4.1.3.2. (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-nitro-fenil)-prop-2-en-1-ona

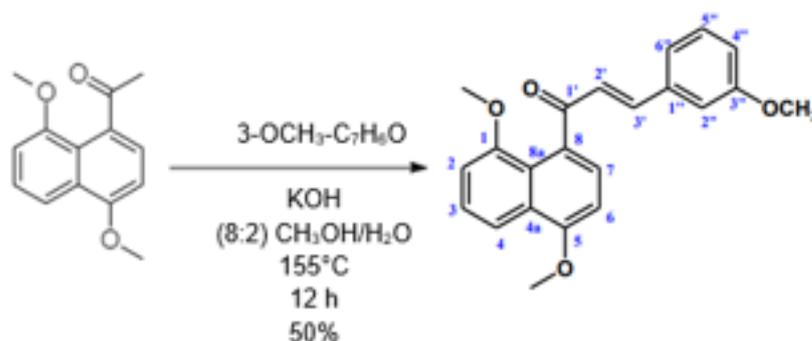


Figura 9 – Síntese da (E)-1-(4,8-dimetóxi-naftalen-1-il)-3-(3-metóxi-fenil)-prop-2-en-1-ona

Rendimento: 50%, sólido vermelho, P. F. 81-86°C. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 7,97 (1H, d, H-4, *J*=8,5 Hz), 7,48 (1H, t, H-3, *J*=7,9 Hz), 7,34 (1H, d, H-7, *J*=7,9 Hz), 7,29 (1H, d, H-5'', *J*=5,9 Hz), 7,11 (1H, d, H-3', *J*=16,1 Hz), 7,08 (1H, d, H-6''), 7,03 (1H, d, H-2', *J*=16,1 Hz), 6,99-6,89 (4H, m, H-2, H-6, H-2'', H-4''), 4,07 (3H, s, -OCH₃), 3,84 (3H, s, -OCH₃), 3,82 (3H, s, -OCH₃). ¹³C RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ: 198,43. 159,88. 156,31. 154,85. 142,49. 136,45. 129,80. 129,48. 126,89. 126,13. 125,60. 123,76. 120,79. 119,11. 115,93. 114,86. 112,90. 106,98. 103,61. 55,76. 55,56. 55,29. **IV v, cm⁻¹**: 3107 (C-H Ar), 3080 (C-H Ar), 3053 (C-H Ar), 3027 (C-H Ar), 3004 (C-H Ar), 2958 (C-H OCH₃), 2933 (C-H OCH₃), 2904 (C-H OCH₃), 2839 (C-H OCH₃), 1742, 1656 (C=O), 1627 (C=C), 1592 (C=C), 1573, 1536, 1511 (C=C), 1485, 1460 (C=C), 1436, 1408 (C-H Ar), 1381 (C-H Ar), 1330, 1295, 1278 (C-O), 1261 (C-O), 1241 (C-O), 1224 (C-H Ar), 1200 (C-H Ar), 1180 (C-O), 1174 (C-H Ar), 1159 (C-O), 1113 (C-H Ar), 1085 (C-O), 1057 (C-O), 1045 (C-O), 1009 (C-O), 993 (C-H Ar), 973 (C-O), 967 (C-O), 957 (C-O), 934 (C-O), 923 (C-O), 895 (C-H Ar), 883 (C-H Ar), 862 (C-H Ar), 820 (C-H Ar), 788 (C-H Ar), 767 (C-H Ar), 749 (C-H Ar), 728 (C-H Ar), 709 (C-H Ar), 683, 611, 586, 561 (C-H Ar), 528, 452.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Resultados das Sínteses

5.1.1. Reação de Alquilação

A síntese é realizada em três etapas, tendo como material de partida, o 1,5-dihidroxi-naftaleno (12) uma matéria-prima encontrada comercialmente. Na primeira reação, utilizou-se de iodeto de metila para a reação de metilação das hidroxilas, originando o primeiro produto intermediário, o 1,5-di-metoxinaftaleno (13).

A reação acontece com a desprotonação da hidroxila pelo carbonato, permitindo o ataque nucleofílico do fenolato ao iodeto de metila, conforme descrito na Figura 10, levando à formação do produto dimetoxilado.

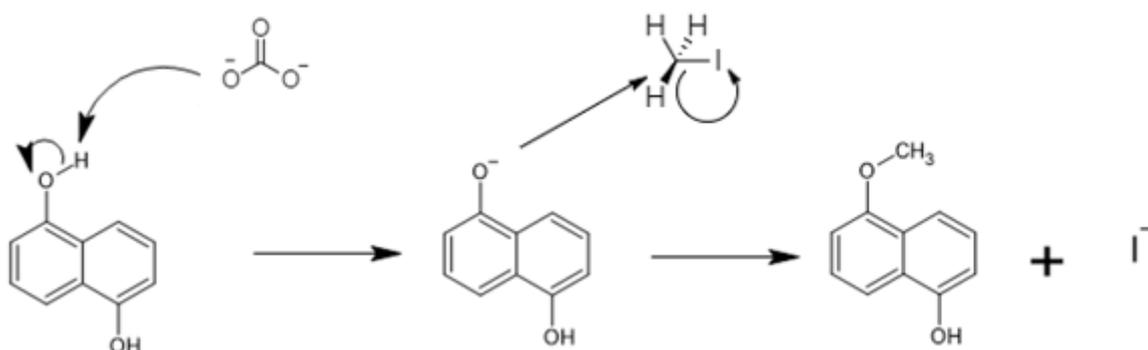


Figura 10 – Reação de metilação do 1,5-dihidroxi-naftaleno.

5.1.2. Reação Acilação de Friedel-Crafts

Em seguida, foi feita uma reação de acilação de Friedel-Crafts, utilizando-se anidrido acético para obter-se o 1,5-dimetil-naftil-cetona (14) como segundo produto intermediário. O anidrido acético é protonado, seguido de uma reação de eliminação que leva à formação do íon acílio, como mostra a Figura 11.

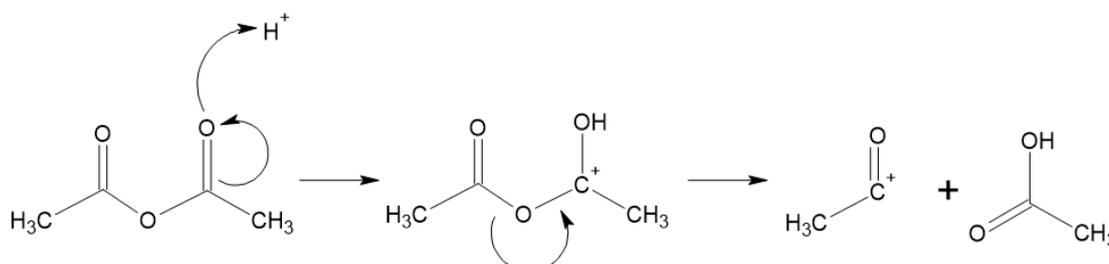


Figura 11 – Reação da formação do Acílio

Após a formação do íon acílio, a reação segue com a adição eletrofílica ao anel naftalênico na posição alfa, seguida da desprotonação, conforme descrito na Figura 12.

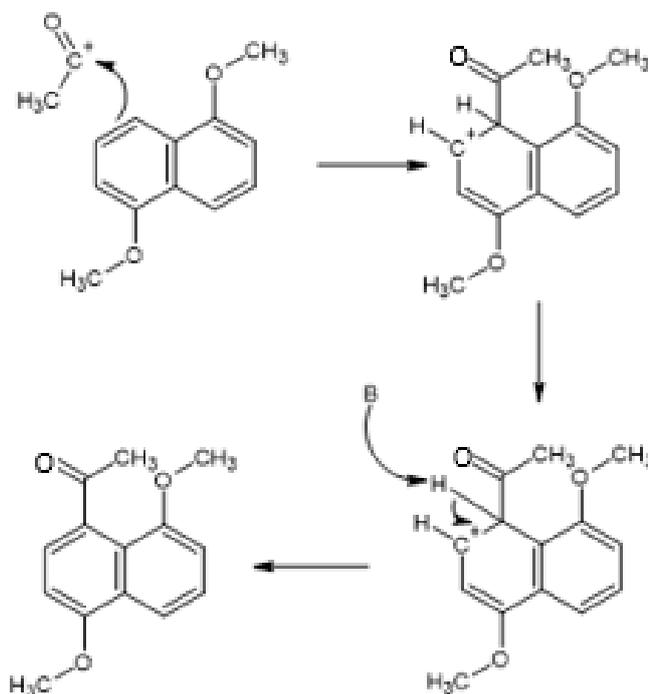


Figura 12 – Reação de Acilação

5.1.3. Reação Condensação Aldólica

Na terceira etapa de síntese foi realizada uma condensação aldólica entre o 1,5-dimetil-naftil-cetona (14) e o respectivo benzaldeído (3-OCH₃-benzaldeído ou 3-NO₂-benzaldeído), levando à formação dos produtos desejados. A reação acontece em meio básico para forçar a desprotonação no carbono alfa à carbonila, levando à formação do enolato, como mostra a Figura 13:

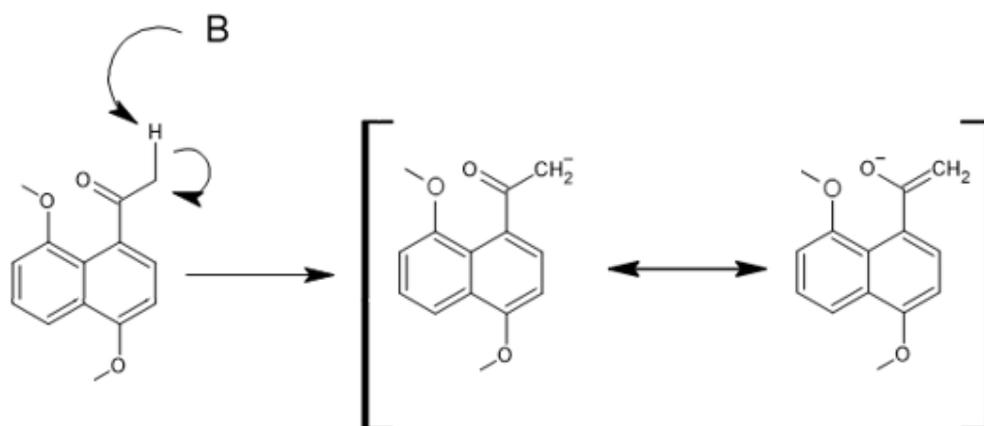


Figura 13 – Formação do intermediário carbânion

O enolato faz o ataque nucleofílico no carbono da carbonila do aldeído e, após a protonação do alcóoxido, ocorre a reação de eliminação de primeira ordem a partir da base conjugada (E1cb), levando à formação da chalcona (Figura 14).

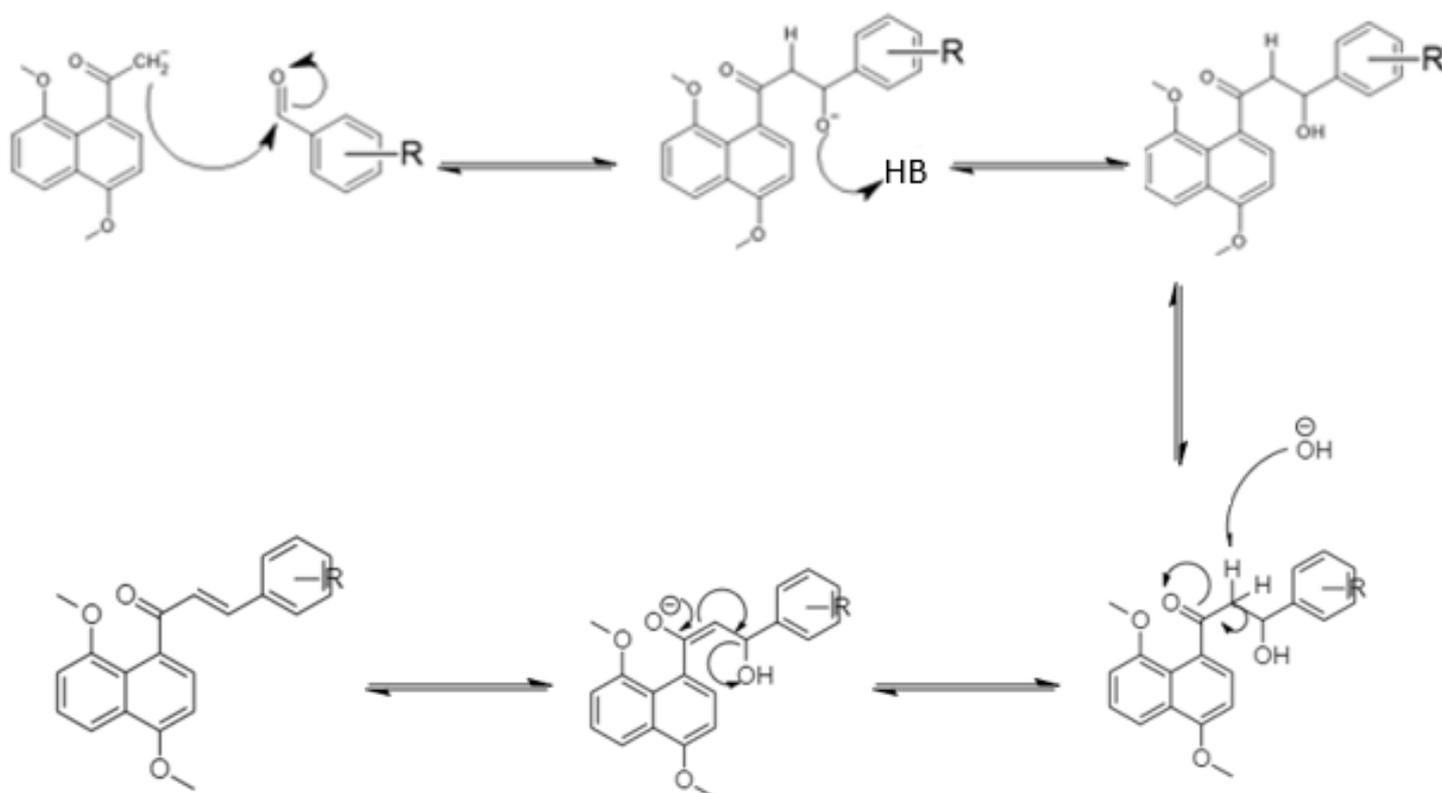


Figura 14 – Reação Condensação Aldólica

Cada reação, dependendo do aldeído, teve um rendimento diferente, como foram apresentados nos itens 4.1.3, sendo: 73% e 50% respectivamente. Como ambas as reações tiveram a molécula 4,8-dimetoxi-naftalenil-etanona como material

de partida, o rendimento global de cada reação é calculado a partir de seu rendimento: 40,4%. Como o rendimento parcial da reação contendo o aldeído 3-NO₂ é igual a 73%, tendo rendimento global de 29,5%. Já o rendimento parcial da reação contendo o aldeído 3-OCH₃ é igual a 50%, seu rendimento global é de 20,2%.

5.2. Resultados Spartan

No presente trabalho, foram utilizadas as técnicas de modelagem no programa Spartan para dar as características às moléculas sintetizadas e suas respectivas configurações. Em estudos futuros, poderão ser realizadas as interações entre as moléculas e a enzima alvo. A enzima alvo é retirada, já cristalizada, da literatura de uma base de dados cristalográficas PDB.

O docking é feito a partir do encontro da enzima cristalizada (rígida) e a molécula com livres rotações energéticas (flexível) dentro de uma "caixa", ou grid, pré-estabelecida dentro da molécula, pois se reconhece esse espaço como o sítio ativo da molécula. Por isso a importância das características energéticas das moléculas na preparação, antes do docking, no programa Spartan.

As figuras dos itens 5.2.1 e 5.2.2 demonstram as características tridimensionais das moléculas preparadas no programa Spartan. Apesar das diferentes posições, foram retiradas as respectivas figuras para observar os diferentes ângulos em uma figura 2D.

Todas as 2 moléculas (Chalcona com substituinte no anel benzílico: 3-NO₂; 3-OCH₃) foram preparadas no programa Spartan, levando em consideração o cálculo para seu tratamento rotacional e eletrostático, segundo o modelo de Hartree-Fock. Ao todo 8 moléculas foram trabalhadas, pois em cada uma adicionou-se 4 configurações possíveis ao anel Naftílico:

1. 4-OH,8-OH
2. 4-OCH₃-8OH
3. 4-OH-8CH₃

4. 4-OCH₃-8-OCH₃

5.2.1. Chalcona 3-NO₂

As Figuras 15, 16, 17 e 18 apresentam as 4 estruturas moleculares da chalcona 3-NO₂ em suas diferentes configurações, obtidas pelo programa Spartan.

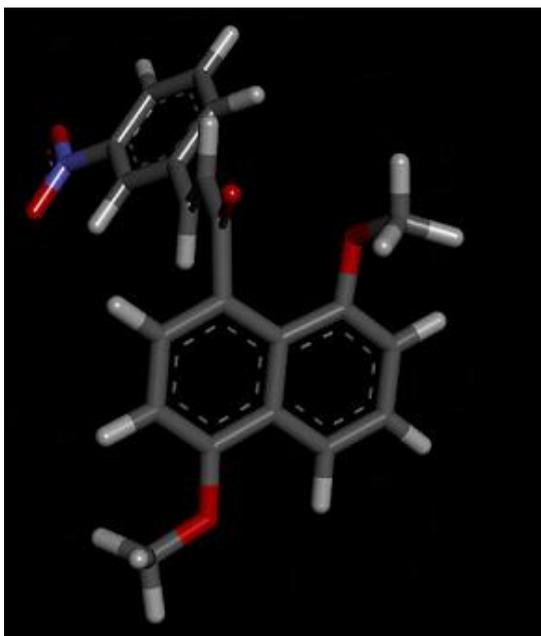
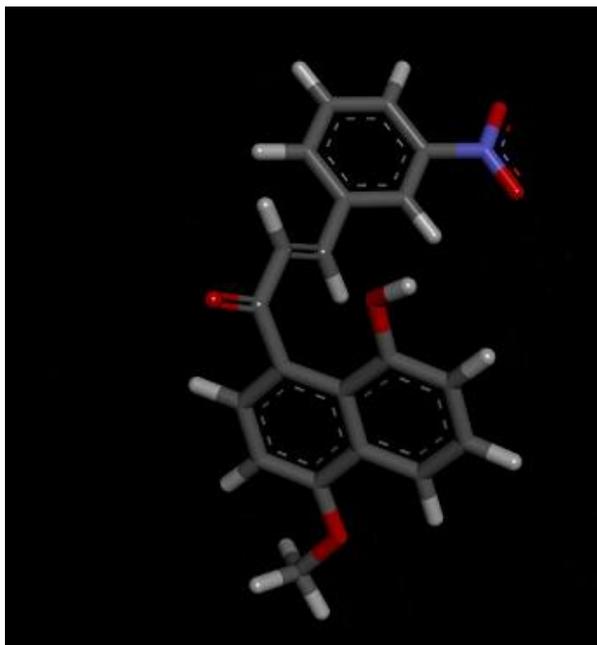
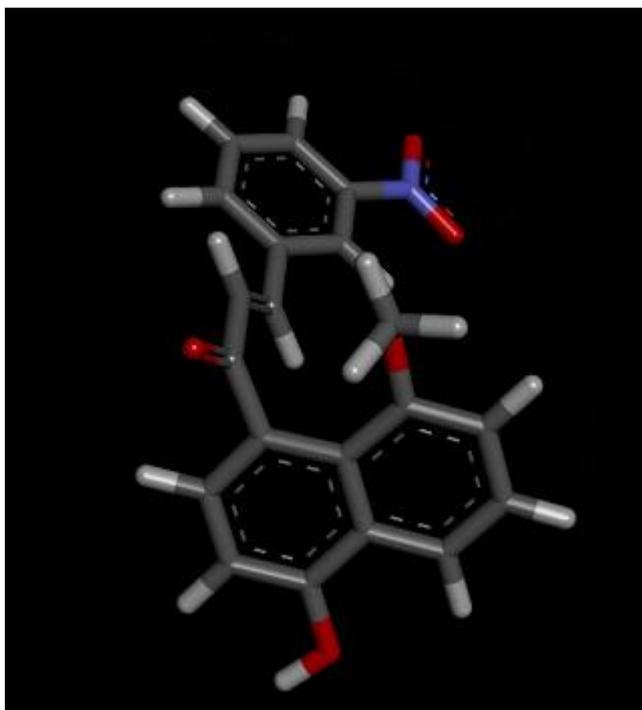


Figura 15 – 4-OCH₃-8-OCH₃

Figura 16 – 4-OCH₃-8-OH-Figura 17 – 4-OH-8-OCH₃

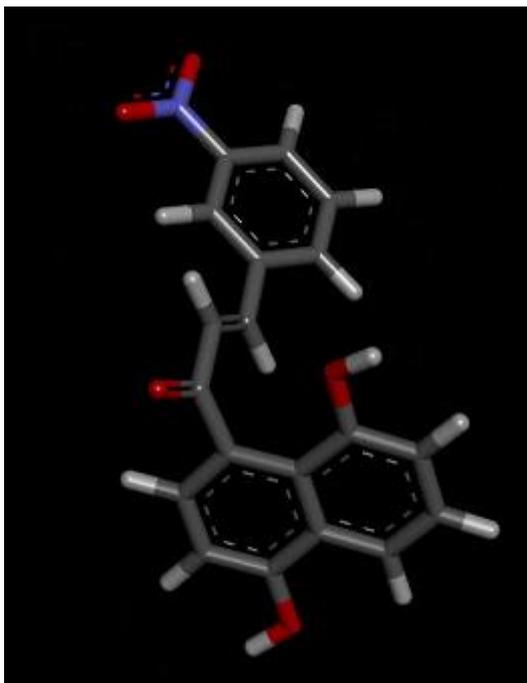
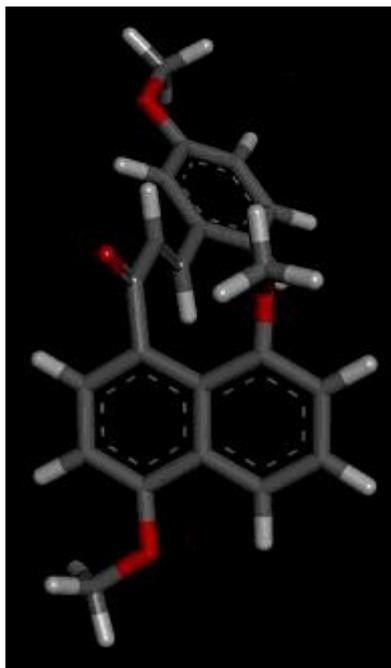
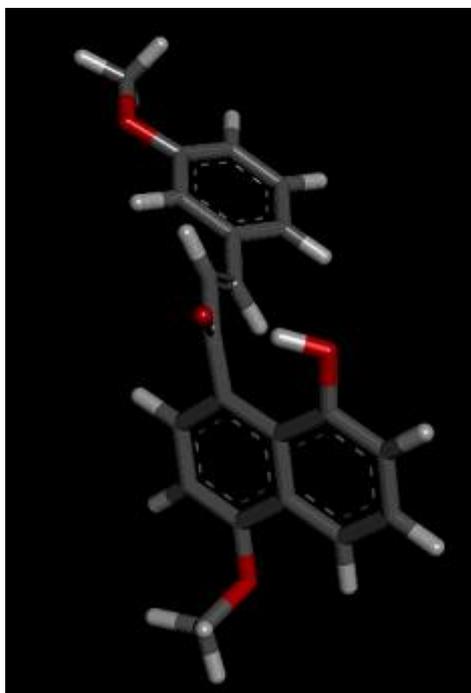


Figura 18 – 4-OH-8-OH

Observa-se que os grupos metóxi do carbono 8 (Figuras 15 e 17) se encontram a um ângulo de aproximadamente 180° devido a repulsão estérica do grupo benzílico.

5.2.2. Chalcona 3-OCH₃

As Figuras 19, 20, 21 e 22 apresentam as 4 estruturas moleculares da chalcona 3-OCH₃, em suas respectivas configurações, obtidas pelo programa Spartan. O mesmo fenômeno que fora observado para o grupo metóxi nas Figuras 15 e 17 também é observado nas figuras 19 e 21, onde o grupo metóxi do carbono 8 do anel naftílico encontra-se ortogonalmente invertido em relação a benzoila.

Figura 19 – 4-OCH₃-8-OCH₃Figura 20 – 4OCH₃-8-OH

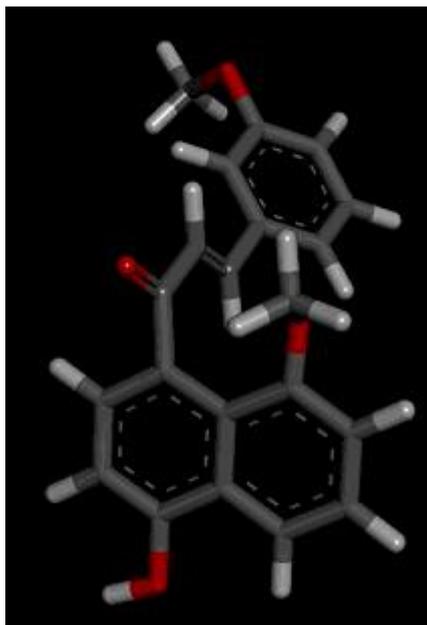
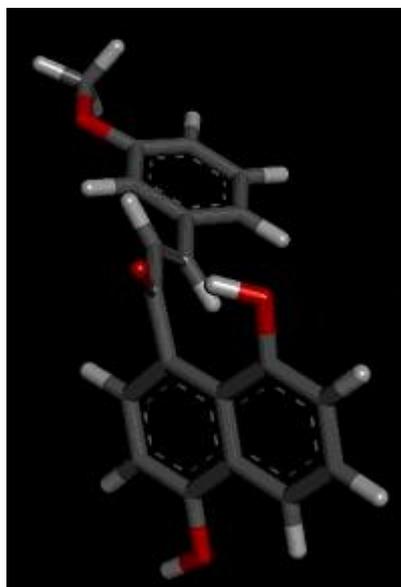
Figura 21 – 4-OH -8-OCH₃

Figura 22 – 4-OH-8-OH

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

6.1. Conclusão

No presente trabalho foi proposta a síntese de duas novas chlaconas, derivadas do composto Zinc 19, com potencial atividade frente à enzima enoil-ACP-redutase do *Mycobacterium tuberculosis*. Os compostos foram obtidos em três etapas

a partir do 1,5-dihidroxi-naftaleno, sendo devidamente caracterizados por RMN ^1H e ^{13}C e IV. Em seguida, foi realizada a otimização das estruturas dos compostos através do programa Spartan, como uma etapa prévia para a realização de estudos de docking. Verificou-se que o substituinte OCH_3 do carbono 8 do anel naftílico (8- OCH_3) sempre se encontra com o ângulo aproximado de 180° em relação ao grupo benzílico, devido a repulsão estérica, independente do grupo substituinte.

6.2. Perspectivas

Como perspectivas futuras espera-se:

- Realizar o aprimoramento da síntese em relação a etapa da reação de acilação de Friedel-Crafts, visando a obtenção de um maior rendimento global.
- Realizar o estudo de docking entre a enzima e as 8 moléculas modeladas.
- Sintetizar novas moléculas com diferentes aldeídos
- Realizar o estudo biológico de forma a avaliar a eficácia da inibição da *Mycobacterium tuberculosis* em cepas resistentes.

7. REFERÊNCIAS

1. BRASIL. **Manual nacional de vigilância laboratorial da tuberculose e outras micobactérias**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 436 p., 2008.

2. **TURBECULOSIS.** World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/health-topics/tuberculosis#tab=tab_1>. Acesso em 18 de Setembro de 2020.
3. OLIVEIRA, V. **Tuberculose: medicamento produzido por Farmanguinhos facilita adesão ao tratamento.** FIOCRUZ, 2019. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/tuberculose-medicamento-produzido-por-farmanguinhos-facilita-adesao-ao-tratamento>>. Acesso em 16 de Agosto de 2020.
4. **TUBERCULOSE.** Governo Federal, 2020. Disponível em: <<https://saude.gov.br/saude-de-a-z/tuberculose>>. Acesso em 18 de Agosto de 2020.
5. LIMA, C. H. S. **Planejamento, síntese e avaliação farmacológica de novos candidatos a agentes tuberculostáticos contendo o núcleo pirazínico.** UFRJ, 2011.
6. **TUBERCULOSIS: MULTIDRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS (MDR-TB).** World Health Organization, 2018. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/q-a-detail/what-is-multidrug-resistant-tuberculosis-\(mdr-tb\)-and-how-do-we-control-it](https://www.who.int/news-room/q-a-detail/what-is-multidrug-resistant-tuberculosis-(mdr-tb)-and-how-do-we-control-it)>. Acesso em 16 de Agosto de 2020.
7. BARREIRO, E.J., RODRIGUES, C.R., ALBUQUERQUE M.G., SANT'ANNA, C.M.R., ALENCASTRO, R.B. **Modelagem Molecular: Uma Ferramenta para o Planejamento Racional de Fármacos em Química Medicinal.** Química Nova, v. 20, n. 3, p. ,1997.
8. OLIVEIRA, L.N. **Docagem de Chalconas na Enoil-Acp Redutase do Mycobacterium tuberculosis, Síntese e Avaliação Biológica.** Dissertação de Mestrado em Química. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2020.

9. NOGUEIRA, A.F., FACCHINETTI, V., SOUZA, M.V.N., VASCONCELOS, T.R.A. **Tuberculose: uma abordagem geral dos principais aspectos.** Revista Brasileira de Farmácia, v. 93, n. 1, p. 3-9, 2012.

10. **TUBERCULOSE.** Saúde e bem estar.pt. 2020. Disponível em: <<https://www.saudebemestar.pt/pt/medicina/pneumologia/tuberculose/>>. Acesso em 25 de Janeiro de 2021.