

# **AVALIAÇÃO SINÉRGICA DE CHALCONAS OBTIDAS DE 2-HIDROXI-3,4,6-TRIMETOXIACETOFENONA ISOLADAS DE *Croton anisodontus* CONTRA CEPAS FÚNGICAS**

**Layanne Mesquita Albuquerque Lopes<sup>1</sup>, Priscila Teixeira da Silva<sup>2</sup>, Hécio Silva dos Santos<sup>3</sup>, Raquel Oliveira dos Santos Fontenelle<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Mestranda no Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, CCT-UECE; E-mail: layanne\_lopes@hotmail.com

<sup>2</sup>Discente no Curso de Química, CCET-UVA; E-mail: priscila.teixeira\_@hotmail.com

<sup>3</sup>Docente no Curso de Química, CCET-UVA; E-mail: helciodossantos@gmail.com

<sup>4</sup>Orientadora no Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais, CCT-UECE; E-mail: raquelbios@yahoo.com.br

**Resumo:** Esta pesquisa teve como objetivo avaliar a capacidade sinérgica das Chalconas (E)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (Chalcona 01) e (E)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (Chalcona 02) isoladas a partir do *Croton anisodontus*. Para tanto, o teste de microdiluição em caldo revelou que as Chalconas 01 e 02 apresentaram MICs frente todas as cepas de *Candida* spp. (LABMIC 0105, 0107, 0110 e 0111) porém, somente os resultados da Chalcona 01 frente as cepas LABMIC 0105 e 0107 mostraram-se como os de maior interesse. No ensaio de atividade da modulação não houve sinergismo, contudo foi possível observar que a Chalcona 01 manifestou, quando unida à Anfotericina B, efeito aditivo contra a cepa LABMIC 0105 e efeito indiferente contra a cepa LABMIC 0107.

**Palavras-Chave:** Atividade antifúngica, *Candida* spp., Chalconas.

## **INTRODUÇÃO**

Os recursos naturais, em sua totalidade, vêm sendo incorporados na terapêutica de diversas enfermidades há milhares de anos sendo, desta forma, considerados como um caminho medicamentoso de relevante potencial farmacológico observado tanto em grandes metrópoles quanto em comunidades rurais (Aguiar *et al.* 2016).

De uma forma geral, pesquisas fitoquímicas revelam a constituição vegetal inserida no grupo de metabólitos secundários, os quais são responsáveis pela proteção e manutenção vegetal que podem ser afetados por agentes abióticos como temperatura, precipitação, vento, altitude, condições pedológicas e horário de coleta. Considerando a biodiversidade existente, a composição química presente em espécies de *Croton* spp. consiste em triterpenos, esteroides, terpenóides e flavonoides (Sousa *et al.* 2015).

Para Di Carlo *et al.* (1999), a classe de flavonoides representa um dos mais notórios grupos químicos que possuem chalconas como intermediários de sua síntese. As chalconas, por sua vez, podem ser obtidas de maneira abrangente em plantas, frutas, chás e legumes (Abbas *et al.* 2014) ou através da reação de condensação de Claisen-Schmidt de forma a apresentar substâncias de crescente interesse ao setor químico e farmacêutico devido ao amplo campo de atividades biológicas onde, entre tantas, faz-se presente a atividade antimicrobiana (Prasad *et al.* 2013).

Para tanto, a referida pesquisa buscou avaliar e mensurar a ação modulatória de Chalconas aqui sintetizadas a partir de 2-hidroxi-3,4,6-trimetoxiacetofenona isoladas de *Croton anisodontus* frente a cepas de *Candida* spp.

## METODOLOGIA

A primeira etapa do experimento ocorreu no Laboratório Químico de Produtos Naturais – UVA para a síntese de 02 Chalconas viabilizada através da reação de condensação de Claisen-Schmidt que consiste na interação, por 72 horas, dos grupos cetona e aldeído em presença de base forte (NaOH a 50%). Posteriormente, realizou-se a verificação de pH da mistura recém obtida onde, quando esta mostrou-se ácida, adicionaram-se gotas da base NaOH a 50% e, quando mostrou-se básica, adicionaram-se gotas de HCl a 10%. Logo em seguida, ocorreu a filtração, lavagem com água fria e secagem em temperatura ambiente das mesmas. Por fim, houve a verificação de pureza das amostras em placas de Cromatografia em Camada Fina (TLC).

Na segunda etapa, as amostras foram induzidas ao Laboratório de Microbiologia (LABMIC) - UVA para realização de testes de sensibilidade frente a 04 cepas fúngicas (LABMIC 0105 - *Candida albicans*; LABMIC 0107 - *C. albicans*; LABMIC 0110 - *C. tropicalis*; LABMIC 0111 - *C. tropicalis*) provenientes da Coleção de Cultura (URM) do Departamento de Micologia – UFPE e do Hospital Santa Casa de Misericórdia de Sobral. Os MIC e MFC das Chalconas contra leveduras foram determinados através do método de microdiluição em caldo utilizando microplacas de 96 poços. Portanto, foram adicionados 100 µL do meio de cultura RPMI à todos os poços da microplaca, 100 µL da amostra apenas na primeira coluna com sucessivas diluições seriadas, 100 µL de inóculo fúngico realizado em suspensão salina 0,85% estéril ( $\sim 10^6$  UFC/mL) e 100 µL de Anfotericina B foi utilizado no controle antimicótico (0,125 – 16 mg/mL). As placas foram conduzidas à estufa em temperatura de 37°C e após 24 horas foi realizada a leitura. Este ensaio ocorreu em duplicata e de acordo com CLSI (2008).

Para realização do teste de sinergismo, o qual consiste na determinação da menor quantidade de amostra combinada ao antifúngico que seja capaz de inibir o crescimento do micro-organismo

através da concentração inibitória fracional (FIC), adicionou-se 50 µL de RPMI à microplaca, 50 µL da amostra apenas na primeira coluna com posterior diluição seriada, 50 µL de diferentes concentrações de Anfotericina B a cada linha (0,125 – 16 mg/mL) e, por fim, 100 µL do inóculo a cada micropoço. Células tratadas com Chalcona ou Anfotericina B com respectivos valores de MICs juntamente com suspensões fúngicas não tratadas foram usadas como controles. Por fim, as placas foram incubadas em estufa na temperatura de 37°C e lidas após 24 horas. O FICI foi mensurado pela adição de FIC (A) + FIC (B), em que A refere-se a Chalcona testada e B refere-se a Anfotericina B. Portanto, é definido como sinergismo quando  $FICI \leq 0,5$ , aditivo quando  $0,5 < FICI \leq 4,0$  e antagonismo quando  $FICI > 4,0$  (CLSI, 2008).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As resultantes da reação de condensação de Claisen-Schmidt em presença de base forte (NaOH a 50%) foram: 1) (E)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil)-3-(4-metoxifenil)prop-2-en-1-ona (Chalcona 01) e 2) (E)-1-(2-hidroxi-3,4,6-trimetoxifenil)-3-fenilprop-2-en-1-ona (Chalcona 02), ambas puras segundo a verificação em placas de TLC.

Para o teste de microdiluição em caldo, os MICs da Chalcona 01 foram 0,31 mg/mL para LABMIC 0105, 1,25 mg/mL para LABMIC 0107, 0,62 mg/mL para LABMIC 0110, 0,62 mg/mL para LABMIC 0111 e para Chalcona 02 foram 0,62 mg/mL para LABMIC 0105, 0,62 mg/mL para LABMIC 0107, 2,5 mg/mL para LABMIC 0110 e 0,62 mg/mL para LABMIC 0111. Sabendo disto, apenas o MIC da Chalcona 01 frente as cepas LABMIC 0105 e 0107 foram satisfatórios para realização do ensaio de sinergismo. Os resultados para o teste de modulação da Chalcona 01, juntamente com Anfotericina B, frente a LABMIC 0105 e 0107 estão dispostos na Tabela 1, ao mesmo passo em que o FIC da amostra e antimicótico e FICI encontram-se detalhados na Tabela 2.

Os resultados observados nesta pesquisa convergem com Santana *et al.* (2015), onde os mesmos documentam susceptibilidade de cepas de *Candida* spp. a ação de Chalconas aliadas a Anfotericina B apresentando MIC compreendido entre 0,08 – 1,0 mg/mL. A razão destes componentes químicos demonstrar maior êxito em determinadas circunstâncias deve-se, provavelmente, à quantidade de constituintes majoritários e minoritários existentes em sua composição, o que corrobora no retardo ou lise fúngica.

## TABELAS

Tabela 1. Resultado de sinergismo da Chalcona 01 e Anfotericina B.

Amostra	LABMIC 0105	LABMIC 0107
Chalcona 01	F3*	E8**
Anfotericina B		

\*Linha F e coluna 3 na microplaca. \*\*Linha E e coluna 8 na microplaca.  
 Fonte: A autora, 2018.

Tabela 2. FIC e FICI da Chalcona 01 junto a Anfotericina B frente LABMIC 0105 e 0107.

Amostra	FIC (A) - Amostra	FIC (B) - Anf. B	FICI (A + B)	Efeito
Chalcona 01	0,248	0,5	0,748	Aditivo*
	0,0072	1	1,0072	Indiferente**

\*Aditivo frente a LABMIC 0105. \*\*Indiferente frente a LABMIC 0107.  
 Fonte: A autora, 2018.

## CONCLUSÃO

Em resumo, a pesquisa indica que das Chalconas 01 e 02 sintetizadas apenas a Chalcona 01 apresentou MICs relevantes frente as 04 cepas de *Candida* spp., onde apenas LABMIC 0105 e 0107 revelaram maior inibição de crescimento. Desta forma, a Chalcona 01 assume efeito aditivo quando posta em atividade harmônica à Anfotericina B contra LABMIC 0105 e efeito indiferente contra LABMIC 0107, permitindo-nos concluir que a importância de pesquisas na busca de testes abrangendo produtos naturais torna-se cada vez mais crescente, de modo a objetivar na incorporação dos mesmos na formulação de medicamentos contra micro-organismos nocivos.

## AGRADECIMENTOS

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, Universidade Estadual do Ceará – UECE e Universidade Estadual Vale do Acaraú por possibilitarem a realização desta pesquisa.

## REFERÊNCIAS

Abbas, A.; Naseer, M.M.; Hasan, A.; Hadda, T.B. Synthesis and Cytotoxicity of 4-Alkoxychalcones as New Antitumor Agents. *J. Mater. Environ.*, v. 5, p. 281-292, 2014.

Aguiar, F. L. L.; Morais, S. M.; Santos, H. S.; Albuquerque, M. R. J. R.; Bandeira, P. N.; Brito, E. H. S.; Rocha, M. F. G.; Fontenelle, R. O. S. Antifungal activity and synergistic effect of acetophenones isolated from species *Croton* against dermatophytes and yeasts. *J. Med. Plan. Research.*, v. 10, p. 216-222, 2016.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (Approved Standard. Document M27. CLSI). Third ed.vol. M27-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2008.



Di Carlo, G.; Mascolo, N.; Izzo, A. A.; Capasso, F. Flavonoids: Old and New aspects of a class of natural therapeutic drugs. *Life Sci.*, v.65, p. 337-353, 1999.

Prasad, Y.R.; Rani, V. J.; Rao, A. S. *In vitro* Antioxidant Activity and Scavenging Effects of Some Synthesized 4'-Aminochalcones. *Asian. Journal of Chemistry*, v. 25, p. 52 -58, 2013.

Santana, D. P.; Ribeiro, T. F.; Ribeiro, E. L.; Aquino, L. B.; Naves, P. L. F. Ação de chalconas contra a formação de biofilme de *Candida albicans*. *Rev. de Ciênc. Farm. Bás. e Apl.*, v. 36, p. 83-90, 2015.

Sousa, A. H.; Junior, J. N. S.; Guedes, M. L. S.; Braz-Filho, R.; Costa-Lotufo, L.V.; Araújo, A. J.; Silveira, E. R.; Lima, M. A. S. New Terpenoids from *Croton limae* (Euphorbiaceae). *J. Braz. Chem.*, v. 26, p. 1533-1741, 2015.

