



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

CAMILLA THAYS MELQUIADES TAVARES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA,
ANTIDIABÉTICA E ANTI-HIPERTENSIVA DE ACETAIS OBTIDOS POR QUÍMICA
COMBINATÓRIA**

Recife
2024

CAMILLA THAYS MELQUIADES TAVARES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA,
ANTIDIABÉTICA E ANTI-HIPERTENSIVA DE ACETAIS OBTIDOS POR QUÍMICA
COMBINATÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre(a) em Biotecnologia. Área de concentração: Microbiologia, bioprocessos e bioprodutos.

Orientador (a): Profa. Dr^a Amanda Reges de Sena

Coorientador: Prof. Dr. Gilson Bezerra da Silva

Recife

2024

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Oliveira, Camilla Thays Melquiades Tavares de.

Avaliação da atividade antioxidante, antibacteriana, antidiabética e anti-hipertensiva de acetais obtidos por química combinatória / Camilla Thays Melquiades Tavares de Oliveira. - Recife, 2024.

61f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, 2024.

Orientação: Amanda Reges de Sena.

Coorientação: Gilson Bezerra da Silva.

1. Aldeído benzoico; 2. alfa-amilase; 3. alfa-glicosidase; 4. Enzima Conversora de Angiotensina; 5. *Klebsiella pneumoniae*. I. Sena, Amanda Reges de. II. Silva, Gilson Bezerra da. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

CAMILLA THAYS MELQUIADES TAVARES DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, ANTIBACTERIANA,
ANTIDIABÉTICA E ANTI-HIPERTENSIVA DE ACETAIS OBTIDOS POR QUÍMICA
COMBINATÓRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de mestre(a) em Biotecnologia. Área de concentração: Microbiologia, bioprocessos e bioprodutos.

Aprovado em: 29/08/2024

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **AMANDA REGES DE SENA**
Data: 22/09/2024 14:38:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Amada Reges de Sena (Orientadora)

Instituto Federal de

Pernambuco - IFPE

Documento assinado digitalmente
 **JORGE LUIZ SILVEIRA SONEGO**
Data: 23/09/2024 13:39:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Jorge Luiz Silveira Sonogo (Examinador Interno)

Universidade Federal
UFPE

Documento assinado digitalmente
 **TONNY CLEY CAMPOS LEITE**
Data: 24/09/2024 09:42:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

de Pernambuco -

Dr. Tonny Cley Campos Leite (Examinador Externo)

Instituto Federal de Pernambuco - IFPE

Aos meus pais, **Vanecleide dos Santos Oliveira** e **Jacques Douglas Tavares da Silva**, por todo amor, cuidado, ensinamentos, por sempre me darem forças e incentivo para chegar até aqui.

A minha avó, **Maria José Melquiades Tavares**, por todo amor incondicional, por me mostrar ser forte, por sempre está ao meu lado me ajudando a conquistar os meus sonhos.

A minha avó, **Irene dos Santos Oliveira (*in memoriam*)**, embora não tenha visto me tornar a mulher que sou hoje, sempre foi exemplo de uma mulher guerreira e sempre esteve presente nas minhas pequenas grandes conquistas.

Dedico!

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha vida, por ter me escolhido como filha, pelo seu amor, pela sua infinita graça e misericórdia, por predestinar tudo que estou vivendo e por ter me sustentado até aqui. Palavras serão insuficientes para agradecer a este Deus tão poderoso a qual eu sirvo e que certamente tem cuidado tanto de mim.

A minha mãe, por sempre está ao meu lado, mesmo quando pensei que não conseguiria, sua sabedoria soube me guiar e me mostrar o quanto sou amada e especial as pessoas ao meu redor.

Ao meu pai, que sempre quando preciso não mede esforços para me ajudar e me ver feliz, pai e mãe, vocês são exemplos de que nunca devemos desistir dos nossos sonhos, amo vocês.

A minha família, em especial meu irmão Jacques Junior, minha prima Itauanne, meu avô José Maria, pela paciência quando eu não podia estar junto ajudando de forma direta devido a minha ausência quando precisava me dedicar ao curso. Sei que a recompensa pelo esforço não é só minha, mas também de todos vocês.

Ao meu amor, Tiago Henrique, por ter chegado em minha vida e ter tornado ela mais especial. Por ter segurado a minha mão e está presente nos meus momentos bons e ruins, pelos concelhos e por toda ajuda nessa jornada, amo você.

A minha avó paterna, aos meus tios e tias, pelo incentivo a educação e não medir esforços para me ajudar em todos os sentidos sempre quando precisei.

As minhas primas e primos e aos meus verdadeiros amigos (as), que mesmo longe sempre estiveram orando e torcendo por mim.

A todas as pessoas que passaram pela minha vida e me ajudaram com palavras de incentivo, pelo acolhimento nos momentos em que precisei ficar alguns dias em Recife, e por todo o carinho, que Deus abençoe suas vidas. Muito obrigada.

Aos meus irmãos e irmãs da Igreja Presbiteriana de Barreiros-PE, obrigada pelo acolhimento, e pelas orações sempre que precisava, sei que Deus ouviu e ouve a cada uma delas.

A professora Amanda Reges de Sena, pela orientação científica, pela paciência e disponibilidade em passar seus conhecimentos, creio que Deus a colocou no meu caminho para me ajudar a realizar o meu sonho. Vejo sua dedicação e comprometimento com tudo o que faz, é um exemplo de ser humano

que acolhe seus alunos além da vida acadêmica, devo muito por todo aprendizado e por ter me mostrado a luz da ciência, meu muito obrigado.

Ao técnico do antigo laboratório de Bromatologia do IFPE Campus Barreiros, Tonny Campus Leite, agora Laboratório de Biotecnologia, Produtos Naturais e Síntese, não é à toa que todo o trabalho e dedicação de anos junto com a professora Amanda, alguns professores e alunos do Instituto Federal, fizeram destacar este espaço tão importante para promoção da ciência. Agradeço também pela paciência e aprendizado.

Ao professor Gilson Bezerra, pela oportunidade de coorientação e me proporcionar aprender um pouco sobre esse universo da química.

A Universidade Federal de Pernambuco e, especialmente, ao Departamento de Antibióticos – Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia, pela oportunidade de realização de mestrado e a todos os professores e secretário.

Ao Instituto Federal de Pernambuco – Campus Barreiros, por disponibilizar o laboratório e toda estrutura para que eu pudesse realizar a pesquisa.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos aqueles que de forma direta ou indiretamente contribuíram com a minha jornada.

A todos vocês, meu muitíssimo obrigada!

“Fé é dá o primeiro passo mesmo quando não se vê o fim da escada”. (Martin Luther King).

RESUMO

A produção de Radicais Livres (RL) no organismo quando em excesso causam estresse oxidativo podendo levar à degradação de estruturas biológicas essenciais para o funcionamento celular adequado. A produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio (ERO) está intimamente ligada à patogênese da diabetes, hipertensão, bem como outras patologias. Todavia, o comprometimento do sistema imune torna-se alvo de fácil acesso a bactérias oportunistas capazes de causarem infecções graves. Esses micro-organismos já possuem alta resistência aos antibióticos administrados na clínica, por conseguinte, a química combinatória dispõe de funcionalidades capazes de desenvolver novas medidas profiláticas através da síntese de compostos orgânicos como os acetais. O objetivo deste trabalho buscou avaliar as atividades antibacteriana, antioxidante, antidiabética e anti-hipertensiva de acetais de aldeído benzoico. Durante a síntese e caracterização dos acetais, examinou-se a reatividade de misturas contendo componentes hidroxílicos, nomeadamente álcoois e fenóis, em uma reação com CH_2Cl_2 e ambiente básico. O diclorometano foi escolhido como substrato devido à presença de dois grupos abandonadores. A atividade antibacteriana foi realizada por método de diluição em caldo. A atividade antidiabética foi realizada com metodologia de inibição das enzimas α -amilase e α -glicosidase. As atividades antioxidantes dos acetais foram testadas pelos métodos de eliminação dos radicais $\text{ABTS}^{\bullet+}$, DPPH^{\bullet} , quelante de Cu^{2+} e Fe^{2+} e a atividade anti-hipertensiva foi realizado pelo método de inibição da ECA. Foram obtidos três acetais, todos caracterizados e designados como acetal 01, 02 e 03, com 53%, 35% e 41% de rendimento, respectivamente. Os acetais apresentaram atividades contra todas as bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Streptococcus pyogenes* UFPEDA 07, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Bacillus subtilis* UFPEDA 86), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Serratia marcescens* UFPEDA 816, *Eschechiria coli* UFPEDA 224, *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396) e uma álcool-ácido resistente (*Mycobacterium smegmatis* UFPEDA 71), com Concentrações Mínimas Inibitórias entre 20 e 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Os dados apresentados indicaram que os acetais sintetizados não exibiram propriedades antioxidantes e quelantes significativas, indicando que tais compostos possivelmente não possuem grupos funcionais doadores de elétrons. Na inibição da α -amilase os acetais apresentaram valores entre 0,00 % e 52,53 % e para a α -glicosidase, acima de 85 %. A atividade inibitória da ECA revelou resultados satisfatórios, entre 20 e 96,59%. Os resultados evidenciam os acetais como promissores candidatos para o desenvolvimento de novos compostos com diversas atividades biológicas. Este estudo pioneiro destaca o potencial biotecnológico dos compostos sintetizados, abrindo caminho para futuras pesquisas e estimulando sua aplicação em fármacos.

Palavras-chave: Aldeído benzoico. α -amilase. α -glicosidase. Enzima Conversora de Angiotensina. *Klebsiella pneumoniae*.

ABSTRACT

The production of Free Radicals (FR) in the organism, when excessive, causes oxidative stress, which can lead to the degradation of biological structures essential for proper cellular function. The exacerbated production of reactive oxygen species (ROS) is closely linked to the pathogenesis of diabetes, hypertension, and other pathologies. However, the compromise of the immune system becomes an easy target for opportunistic bacteria capable of causing severe infections. These microorganisms already exhibit high resistance to antibiotics administered in clinical settings. Consequently, combinatorial chemistry offers functionalities capable of developing new prophylactic measures through the synthesis of organic compounds such as acetals. This study aimed to evaluate the antibacterial, antioxidant, antidiabetic, and antihypertensive activities of benzaldehyde acetals. During the synthesis and characterization of the acetals, the reactivity of mixtures containing hydroxyl components, namely alcohols and phenols, was examined in a reaction with CH₂Cl₂ under basic conditions. Dichloromethane was chosen as the substrate due to the presence of two leaving groups. The antibacterial activity was performed using a broth dilution method. The antidiabetic activity was assessed using enzyme inhibition methodologies for α -amylase and α -glucosidase. The antioxidant activities of the acetals were tested using the ABTS^{•+}, DPPH[•] radical elimination methods, and Cu²⁺ and Fe²⁺ chelation assays, while the antihypertensive activity was evaluated using the ACE inhibition method. Three acetals were obtained, all characterized and designated as acetal 01, 02, and 03, with yields of 53%, 35%, and 41%, respectively. The acetals exhibited activity against all gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Streptococcus pyogenes* UFPEDA 07, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Bacillus subtilis* UFPEDA 86), gram-negative bacteria (*Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Serratia marcescens* UFPEDA 816, *Escherichia coli* UFPEDA 224, *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA 396), and an acid-resistant alcohol (*Mycobacterium smegmatis* UFPEDA 71), with Minimum Inhibitory Concentrations ranging from 20 to 1000 μ g/mL. The data indicated that the synthesized acetals did not exhibit significant antioxidant and chelating properties, suggesting that these compounds likely do not possess electron-donating functional groups. In the α -amylase inhibition assay, the acetals showed values ranging from 0.00% to 52.53%, and for α -glucosidase, above 85%. The inhibitory activity of ACE revealed satisfactory results, ranging from 20% to 96.59%. The results highlight the acetals as promising candidates for the development of new compounds with diverse biological activities. This pioneering study emphasizes the biotechnological potential of the synthesized compounds, paving the way for future research and encouraging their application in pharmaceuticals.

Keywords: Benzaldehyde, α -amylase, α -glucosidase, Angiotensin-Converting Enzyme, *Klebsiella pneumoniae*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.....	1
Figura 2. Estabilização do cátion radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.....	1
Figura 3. Reações de Fenton e Haber-Weiss. Produção de radical hidroxila na presença de cobre e/ou ferro livres.....	1
Figura 4a. Espectro RMN de ¹ H do acetal 01.....	1
Figura 4b. Espectro RMN de ¹³ C do acetal 01.....	34
Figura 5a. Espectro RMN de ¹ H do acetal 02.....	34
Figura 5b. Espectro RMN de ¹³ C do acetal 02.....	35
Figura 6a. Espectro RMN de ¹ H do acetal 03.....	35
Figura 6b. Espectro RMN de ¹³ C do acetal 03.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados para a atividade antibacteriana de acetais obtidos por química combinatória.....	1
Tabela 2. Resultados de atividade antioxidante de acetais por química combinatória.....	1
Tabela 3. Resultados para a atividade quelante de Fe ²⁺ e Cu ²⁺ de acetais obtidos por química combinatória.....	1
Tabela 4. Resultados das diferentes concentrações de acetal na inibição da α-amilase e α-glicosidase.....	1
Tabela 5. Resultados das diferentes concentrações de acetais na inibição da ECA.	1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 Objetivo geral	16
2.2 Objetivos específicos	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 Resistência Microbiana	17
3.2 Estresse oxidativo	19
3.3 Diabetes	22
3.4 Hipertensão	24
3.5 Química combinatória na descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com potencialidades terapêuticas	25
3.5.1 Aplicação da química combinatória na síntese e otimização de acetais	26
4 MATERIAIS E MÉTODOS	27
4.1 Síntese de acetais	27
4.2 Caracterização	27
4.3 Atividade antibacteriana	27
4.4 Atividade antioxidante	28
4.4.1 Atividade Sequestradora do Radical ABTS•+	28
4.4.2 Atividade Sequestradora do Radical DPPH•	29
4.5 Atividade quelante de cobre e ferro	29
4.5.1 Atividade Quelante de Cobre	29
4.5.2 Atividade Quelante de Ferro	30
4.6 Atividade antidiabética	30
4.6.1 Atividade Inibitória da enzima α -amilase	30
4.6.2 Atividade Inibitória da enzima α -glicosidase	31
4.7 Atividade anti-hipertensiva	32
4.7.1 Atividade de inibição da ECA	32
4.8 Análises estatísticas	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Síntese e caracterização dos acetais	33
5.2 Atividade antibacteriana dos acetais	36
5.3 Atividade antioxidante	41
5.4 Atividade antidiabética	46

5.5 Atividade anti-hipertensiva	49
5.5.1 Atividade de inibição da ECA	49
6 CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS	51

1 INTRODUÇÃO

A produção de Radicais Livres (RL) no organismo quando em excesso causam estresse oxidativo podendo levar à degradação de estruturas biológicas essenciais para o funcionamento celular adequado. Alguns desses radicais livres são Espécies Reativas de Oxigênio (EROs) altamente instáveis e reativas, sendo um dos fatores determinantes do câncer, doenças cardiovasculares e diabetes. Manter um equilíbrio entre a produção de RL e os antioxidantes é essencial para prevenir danos oxidativos (Zhang *et al.*, 2022).

Os RL produzidos dentro das mitocôndrias também desempenham um papel no processo de destruição das células beta pancreáticas que são responsáveis pela produção de insulina. Essas células são especialmente vulneráveis aos danos causados pelos radicais livres devido à menor expressão de enzimas antioxidantes nas ilhotas de Langerhans (Chen *et al.*, 2018).

Além disso, a inflamação crônica no organismo resultante de certos estilos de vida é precursora de várias complicações associadas à síndrome metabólica, como resistência à insulina, hipertensão e hiperlipidemia. Os RL em excesso podem agravar a inflamação e contribuir para o desenvolvimento e a progressão dessas condições metabólicas, criando um ciclo vicioso de inflamação e dano celular (Masenga *et al.*, 2023).

Todavia, indivíduos com sistema imunológico comprometido devido a doenças crônicas, tratamentos imunossupressores, câncer, HIV/AIDS ou outras condições, há uma propensão para o aumento da multiplicação de bactérias oportunistas, podendo resultar em infecções mais graves (Loffler; Tuchscher, 2021). Neste sentido, o tratamento inclui o uso de antibióticos específicos para as bactérias causadoras da infecção, no entanto, a crescente resistência aos antibióticos torna-se a terapia mais desafiadora (Huemer *et al.*, 2020).

Deste modo, o desenvolvimento de fármacos eficazes contra microorganismos super-resistentes é um desafio crucial. O uso inadequado de antimicrobianos na medicina humana e veterinária contribui significativamente para a resistência microbiana, essa prática proporciona oportunidades para que bactérias e microrganismos em geral se adaptem e desenvolvam mecanismos de inativação do fármaco, resultando em infecções mais difíceis de se tratar (Llor *et al.*, 2023). Portanto, a descoberta de novas moléculas com potenciais terapêuticos, seja de fontes naturais ou de forma sintética, são alternativas para o desenvolvimento de

medicamentos para o tratamento de uma variedade de doenças (Guarcia *et al.*, 2022).

A química combinatória neste contexto, busca acelerar a descoberta e o desenvolvimento de novos materiais, fármacos, catalisadores, polímeros e outras substâncias com propriedades específicas, isto envolve síntese, combinação e análise de grandes coleções de compostos químicos. Portanto, o principal objetivo é utilizar abordagens sistemáticas e integradas que combinam síntese química, automação e triagem biológica de forma rápida e eficaz (Niedbala; Jurczak, 2020).

Além disso, vários grupos funcionais desempenham um papel crucial na descoberta de novas drogas, pois são essenciais para interagir com alvos biológicos, determinar propriedades físico-químicas, estrutura molecular e otimização química das moléculas (Sangi, 2016).

Neste sentido, a química combinatória pode ser utilizada para gerar bibliotecas e otimizar classes químicas, como os acetais. A função acetal é amplamente utilizada na química orgânica para proteger grupos carbonila em aldeídos e tem aplicações na síntese e desenvolvimento de novos fármacos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar as atividades antibacteriana, antioxidante, antidiabética e anti-hipertensiva de acetais obtidos a partir de álcoois e fenóis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar os acetais por meio de Química combinatória;
- Caracterizar os produtos obtidos;
- Avaliar as atividades antibacteriana, antioxidante, antidiabética e anti-hipertensiva.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Resistência Microbiana

Segundo a Organização Panamericana da Saúde (OPAS) a resistência microbiana é definida como a capacidade de micro-organismos como bactérias, vírus, fungos e parasitas, resistirem aos efeitos dos medicamentos antimicrobianos que costumavam ser eficazes no tratamento de diversas infecções. O órgão também enfatiza que a resistência microbiana é impulsionada principalmente pelo uso inadequado e excessivo dessas drogas, automedicação, prescrição incorreta e a utilização de doses inadequadas (OPAS, 2023).

Portanto, nas últimas décadas, houve um aumento significativo no surgimento de bactérias multirresistentes. Esta resistência, por conseguinte, tem sido reconhecida como uma doença emergente de escala global sendo um desafio significativo, podendo nos levar a uma era pós-antibióticos. Embora existam várias alternativas possíveis a esses medicamentos, a maioria deles ainda estão em fase de desenvolvimento (Carlie; Boucher; Bragg, 2020).

Logo, o mecanismo de resistência bacteriana pode ocorrer pela produção de enzimas como as beta-lactamases, que são capazes de inativar certos antibióticos como as penicilinas e cefalosporinas (Tooke *et al.*, 2019). Elas também podem alterar as proteínas-alvo dos antibióticos, como os ribossomos ou enzimas envolvidas na síntese da parede celular, de forma com que a droga não consiga mais se ligar ou inibir adequadamente esses alvos. Utilizam sistemas de bombeamento para expelir o fármaco, alteram rotas metabólicas e a permeabilidade celular. A resistência também pode ocorrer por mutações genéticas ou transferência de genes (Glen; Lamont, 2021).

Algumas espécies bacterianas já são popularmente conhecidas pela sua resistência a quase todos os antibióticos como a *Staphylococcus aureus*, bactéria gram-positiva que em condições normais, não são prejudiciais a pele e mucosa humana, no entanto, rapidamente desenvolveu resistência à penicilina apenas dois anos após sua introdução. Em resposta, foi desenvolvido o antibiótico metilina na década de 50, mas a resistência a essa droga surgiu clinicamente em 1960. Infecções por cepas resistentes de *S. aureus* à metilina têm taxas de mortalidade mais elevadas em comparação com cepas sensíveis (Lakhundi; Zhang, 2018).

Outra bactéria que desperta interesse em novos estudos para o desenvolvimento de antibióticos é a *Klebsiella pneumoniae*, uma espécie gram-

negativa resistente a carbapenêmicos, que são frequentemente considerados a última opção para tratar infecções graves causadas por bactérias multirresistentes. A resistência da *K. pneumoniae* é atribuída à produção de carbapenemases, enzimas que inativam os carbapenêmicos e podem ser transmitidas entre bactérias através de plasmídeos, facilitando a propagação da resistência (Tian et al., 2022).

Na ciência, diversas metodologias são utilizadas para analisar amostras com potencial antimicrobiano, visando combater bactérias multirresistentes. A técnica de microdiluição em caldo é amplamente empregada para determinar a Concentração Mínima Inibitória (CMI) de um microrganismo em condições *in vitro*, ao longo de um período específico (CLSI, 2024).

A análise do teste antibacteriano segue as diretrizes estabelecidas pelo *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) que especifica a metodologia e os materiais a serem empregados no teste. O caldo Muller Hinton (CMH) é o mais amplamente utilizado, pois, contém extrato de carne bovina e hidrolisado de caseína para fornecer nitrogênio, vitaminas, carbono, aminoácidos e outros nutrientes para apoiar o crescimento de microrganismos (Åhman; Matuschek; Kahlmeter, 2020).

A padronização do inóculo nos testes é essencial para garantir a concentração adequada de bactérias, assegurando resultados confiáveis. O método turbidimétrico é usado para alcançar concentrações conhecidas, utilizando como referência a escala McFarland 0,5, que equivale a uma suspensão de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL. Esse padrão de turbidez é comparado à turbidez de um tubo de salina com a cepa inoculada. Para isso, colônias são transferidas para um tubo de solução salina estéril até que a turbidez se iguale ao padrão McFarland 0,5, indicando que a concentração é de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL (Ostrosky et al., 2008).

Nos testes microbiológicos padrão, é comum utilizar uma temperatura de incubação em torno de 37 °C para o cultivo de culturas bacterianas. A escolha da temperatura é significativa, uma vez que se aproxima a temperatura corporal humana o que proporciona um ambiente propício para o seu crescimento e reprodução de microrganismos (Dey; Bokka; Sen, 2020).

A viabilidade celular na atividade antimicrobiana pode ser avaliada através da reação de oxi-redução da resazurina. A alteração de cor evidenciada pela transição da resazurina de púrpura/azul para rósea/vermelha, serve como um indicador visual do crescimento microbiano na amostra. Esta mudança de coloração, iniciada pelo contato com o metabolismo microbiano, resulta na redução da resazurina para

resorufina, manifestando-se em uma tonalidade rósea no poço correspondente à CIM (Roca *et al.*, 2019; Silva; Castanho., 2023).

3.2 Estresse oxidativo

O corpo humano possui um sistema antioxidante complexo que funciona como mecanismo de defesa contra os radicais livres. Esses radicais são formados continuamente durante o metabolismo celular normal e em diversos eventos patológicos, onde, esses processos levam à oxidação de biomoléculas, resultando na perda de suas funções biológicas e perturbando a homeostase. Esse dano oxidativo potencial representa uma ameaça às células e tecidos (Meo; Venditti, 2020).

Assim, o desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes no organismo é conhecido como estresse oxidativo. Desta forma, a oxidação é essencial para o equilíbrio da célula, mas pode levar à formação de radicais livres, conhecidos como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, que desempenham funções importantes no organismo, mas em excesso causam danos a vida celular (Daenen *et al.*, 2018).

Os radicais livres são gerados de maneira natural nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma. Durante a respiração mitocondrial, pequenas quantidades de Espécies Reativas de Oxigênio (EROS) são formadas como subprodutos. Um desses subprodutos, o radical hidroxila ($\text{OH}\cdot$), pode danificar proteínas, DNA e lipídios mitocondriais. Esse radical pode se converter em superóxido ($\text{O}_2\cdot$), que, por sua vez, pode ser transformado em peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a espécie menos reativa gerada pela mitocôndria (Pomatto; Davies, 2018).

Esses processos ocorrem por reações específicas, desta forma, para a formação do superóxido, o oxigênio recebe um elétron. O peróxido de hidrogênio é gerado pela dismutação do ânion-radical superóxido, catalisada pela enzima superóxido dismutase (SOD) que o converte em H_2O_2 . Em seguida, o peróxido de hidrogênio dá origem a radicais hidroxila por meio da Reação de Haber-Weiss, a qual é catalisada por íons de ferro e cobre (Velloso *et al.*, 2021). O radical hidroxila também pode ser o principal produto na reação de Fenton, no qual o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) interage com cátions de um metal de transição, como o ferro ou cobre (Rynkowski; Stępnik; Karbownik-Lewińska, 2020).

Logo, o estresse oxidativo pode ser a chave para diversas doenças como, patologias cardiovasculares (Yi *et al.*, 2022), doença renal crônica (Daenen *et al.*, 2018), doenças neurológicas como Alzheimer e Parkinson (D'errico *et al.*, 2021), doenças hepáticas e câncer (Uchida *et al.*, 2020). Além disso, o estresse pode ser influenciado por fatores exógenos, desencadeados por agentes ambientais como radiação ionizante ou de raios-X, radiação ultravioleta, poluentes, fumaça de cigarro, metais pesados e certas drogas (Kowalczyk *et al.*, 2021).

Alguns antioxidantes desempenham papéis fundamentais na ajuda e combate ao estresse oxidativo ocasionados pelas EROS. Estes antioxidantes podem ser obtidos através da dieta ou produzidos pelo organismo e são classificados em componentes enzimáticos e não enzimáticos. Entre eles, a superóxido dismutase (SOD, EC 1.15.1.1)), a catalase (CAT, EC 1.11.1.6)) e as peroxidases (POX, 1.11.1.7) (Nobari *et al.*, 2021).

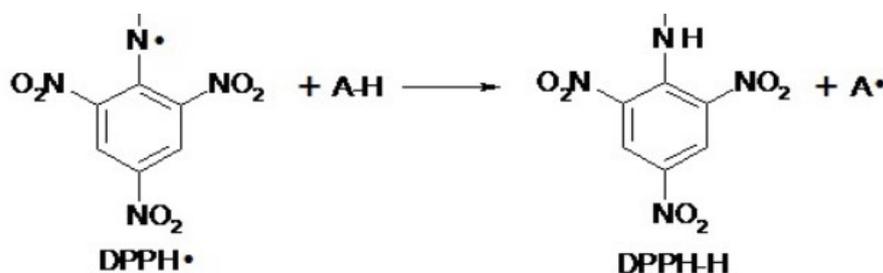
Essas enzimas ajudam na redução do superóxido (O_2^-) para peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Além disso, os componentes não enzimáticos tais como vitaminas, flavonoides, glutathione, carotenoides, lipídios e compostos fenólicos também desempenham um papel importante na proteção contra o estresse oxidativo (Nadarajah, 2020).

Os metais essenciais, como Zinco (Zn), Ferro (Fe) e Cobre (Cu), possuem papéis em diversas atividades biológicas no organismo, como a formação da hemoglobina, envolvimento em funções proteicas e enzimáticas, e reações antioxidantes. Entretanto, o acúmulo excessivo desses metais pode ser prejudicial, resultando na peroxidação de moléculas biológicas. Logo, o crescente interesse em antioxidantes destaca-se devido aos seus efeitos protetores, especialmente nos setores de alimentos e produtos farmacêuticos (Nurchi *et al.*, 2020).

Alguns fármacos quelantes são essenciais para promover a eliminação adequada de íons de ferro acumulados no organismo. Um exemplo é a deferiprona, que contém a função acetal, utilizados como grupos de proteção para aldeídos e cetonas em reações químicas, devido à sua estabilidade em meio neutro e básico., minimizando assim os riscos associados à toxicidade. A relevância do desenvolvimento de medicamentos com função acetal, especialmente aqueles com características antioxidantes, destaca-se como uma estratégia eficaz para tratar adequadamente os desequilíbrios metabólicos e mitigar os danos provocados pelo estresse oxidativo (Hruby *et al.*, 2021).

Em estudos *in vitro*, diversas metodologias podem ser empregadas para avaliar as propriedades antioxidantes e quelantes de diferentes substâncias. Cada método tem uma característica única na determinação da resposta (Medeiros, 2019). O método DPPH é amplamente utilizado para avaliar a capacidade antioxidante de substâncias, envolve a eliminação do radical por um composto antioxidante que ao doar um elétron o converte em uma forma mais estável que é o composto hidrogenado DPPH (hidrazina). Após a redução para DPPH, o radical apresenta uma coloração roxa escura em solução, mas quando totalmente reduzido, torna-se

Figura 1. Mecanismos de reação entre o radical DPPH• e um antioxidante através da transferência de um átomo de hidrogênio.

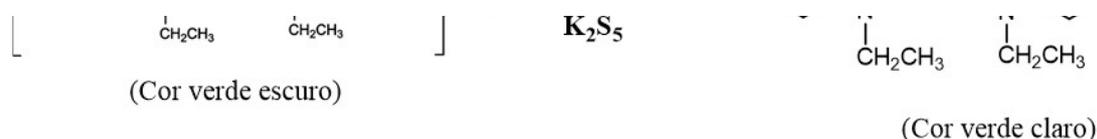


incolor ou amarelo claro (Baliyan *et al.*, 2022) (Figura 1).

Fonte: Oliveira, 2015.

De forma semelhante, o método de avaliação antioxidante ABTS é amplamente utilizado para analisar a atividade de diversos compostos. Ele se destaca por sua simplicidade e versatilidade. Assim, o radical ABTS•+ é gerado pela reação de oxidação entre o sal de persulfato de potássio ($K_2S_2O_8$) e a solução aquosa de 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico). Esta metodologia é bastante empregada nos laboratórios pela capacidade de medir compostos de natureza hidrofílica e lipofílica (Kuskoski *et al.*, 2005). (Figura 2).

Figura 2. Estabilização do cátion radical ABTS•+ por um antioxidante e sua formação pelo persulfato de potássio.



Fonte: Rufino *et al.*, 2007.

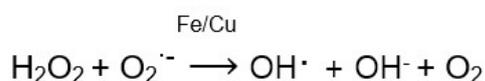
Os íons de ferro e cobre possuem grande atividade em reações de óxido-redução. Na sua forma livre, o ferro presente no citoplasma de células hepáticas não ligado à sua proteína transportadora (ferritina) é ativo e capaz de participar de reações de óxido-redução e, por conseguinte, de geração de radicais livres. Sua participação predominante ocorre por meio das reações de Fenton e Haber-Weiss. A primeira envolve a produção do radical OH• pela interação do H₂O₂ com esses íons, enquanto na segunda, os íons catalisam a reação entre o H₂O₂ e o radical O₂• gerando também o radical OH• (Barbosa *et al.*, 2010) (Figura 3).

Figura 3. Reações de Fenton e Haber-Weiss. Produção de radical hidroxila na presença de cobre e/o u ferro livres.

Reação de Feton



Reação de Haber-Weiss



Fonte: Schneider e Oliveira, 2004.

3.3 Diabetes

A diabetes é uma doença de condição crônica endócrina, caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue que afeta milhares de pessoas. Constitui um dos maiores problemas de saúde pública mundial, o que acarreta grande número de mortalidade e impacto socioeconômico quanto aos investimentos do setor público para prevenção e tratamento da doença (Cole; Florez, 2020).

O diagnóstico precoce é uma das medidas essenciais para reduzir a incidência da doença, além de proporcionar cuidados adequados e a implementação de medidas preventivas que possam melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes e minimizar os efeitos negativos da doença (Antunes *et al.*, 2021).

A Diabetes Mellitus 1 (DM1) é uma condição autoimune em que o sistema imunológico ataca e destrói as células beta produtoras de insulina no pâncreas. Isso resulta na ausência ou na produção insuficiente de insulina, geralmente diagnosticada em crianças e jovens adultos. Essa condição requer que pessoas com

DM1 necessitem de injeções diárias de insulina para controlar seus níveis de glicose no sangue. Já a DM2 é o tipo mais comum de diabetes e geralmente ocorre em adultos, embora também possa afetar crianças e adolescentes (Redondo *et al.*, 2022).

Nesse último caso (DM2), o organismo desenvolve resistência à insulina ou não produz insulina suficiente. Fatores como obesidade, estilo de vida sedentário e histórico familiar aumentam o risco de desenvolvê-lo. O tratamento pode envolver mudanças no estilo de vida, como dieta saudável, exercícios físicos, perda de peso e, em alguns casos, medicamentos orais ou insulina. A diabetes gestacional (DMG) ocorre durante a gravidez e geralmente desaparece após o parto, os hormônios podem dificultar o uso eficiente da insulina pelo corpo, resultando em níveis elevados de hiperglicemia (Redondo *et al.*, 2020).

De acordo com estudos recentes, estima-se que mais de 470 milhões de pessoas em todo o mundo serão afetadas pela condição de pré-diabetes. Para tal, são utilizados exames laboratoriais que avaliam os níveis séricos de glicose no sangue. O diagnóstico é realizado em testes de glicemia em jejum, tolerância à glicose oral e hemoglobina glicada. Essa abordagem desempenha um papel fundamental na identificação precoce da pré-diabetes, permitindo intervenções adequadas e oportunas para prevenir o desenvolvimento da doença e suas complicações associadas (Khan *et al.*, 2019).

Uma estratégia terapêutica para a DM2 é retardar a absorção da glicose inibindo as enzimas α -glicosidase e α -amilase no sistema digestivo. Essas enzimas facilitam a digestão e absorção de carboidratos, resultando na liberação de glicose na corrente sanguínea após as refeições. Quando os níveis de glicose aumentam, as células betas pancreáticas absorvem a glicose por meio do Transportador de Glicose 2 (GLUT2) (Riyaphan *et al.*, 2021; Machado, 1998).

Logo, a glicose ativa o catabolismo, aumentando ATP/ADP e fechando canais de potássio, o que despolariza a membrana e abre canais de cálcio. O aumento de Ca^{2+} estimula a fusão dos grânulos de insulina com a membrana, promovendo a exocitose de insulina. No entanto, em casos de deficiência ou resistência à insulina, a glicose não é adequadamente absorvida, resultando em hiperglicemia. Inibidores enzimáticos como a acarbose, retardam a digestão e absorção de carboidratos, ajudando a controlar os níveis de glicose e prevenir picos pós-prandiais (Galicia-Garcia *et al.*, 2020; Bischoff, 1995).

3.4 Hipertensão

A hipertensão arterial sistêmica é uma das condições de risco cardiovasculares mais prevalentes, afetando principalmente a população de países pobres (Herrera-Añazco *et al.*, 2021). Seu diagnóstico leva em consideração a pressão arterial sistólica (PAS) excedente a 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica (PAD) superior a 90 mmHg (Dziedziak *et al.*, 2022).

A patogenia da doença aumenta significativamente a ocorrência de eventos como infarto agudo do miocárdio, acidente vascular cerebral, danos renais, dentre outras complicações associadas que estão relacionados a diversos fatores fisiopatológicos como, genética, idade, etnia, estresse, estilo de vida pouco saudável, obesidade, níveis elevados de colesterol e associação com diabetes mellitus, consumo excessivo de álcool e sódio que corroboram para a adesão das complicações da doença (Villafuerte *et al.*, 2020).

Além disso, situações socioeconômicas como baixa escolaridade, condições inadequadas de moradia e renda familiar são contextos para aumento e prevalência da hipertensão. Portanto, o tratamento envolve mudanças no estilo de vida, incluindo adoção de dieta saudável, redução do consumo de sódio, prática de atividade física regular, evitar a ingestão excessiva de álcool, manter o peso saudável e gerenciamento da saúde mental, em alguns casos é necessário a utilização de medicamentos anti-hipertensivos associados também ao estilo de vida supracitados (Ghorani *et al.*, 2022).

O aumento da pressão arterial geralmente inicia com sinais que indicam uma necessidade de ajustar a pressão para manter a perfusão adequada dos órgãos. As células justaglomerulares, localizadas nos rins, detectam quando a pressão arterial ou o volume de sangue que chega aos rins está baixo, um estado conhecido como hipoperfusão renal. Em resposta à hipoperfusão, essas células liberam renina na corrente sanguínea, mediador da ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (Guessoum *et al.*, 2021).

A renina por sua vez, converte o angiotensinogênio, produzido pelo fígado, em angiotensina I, que por si só é inativa. Ela é então convertida em angiotensina II pela Enzima Conversora de Angiotensina (ECA), principalmente nos pulmões. Sendo a angiotensina II um potente vasoconstritor, aumenta a resistência vascular, levando a um aumento da pressão arterial, além disto, estimula as glândulas adrenais a liberarem aldosterona, que faz os rins reterem sódio e água, aumentando

o volume sanguíneo e, assim, elevando ainda mais a pressão sanguínea (Le *et al.*, 2021).

Em indivíduos com disfunção renal ou outras condições que afetam a função arterial, a produção de angiotensina II pode ser elevada, resultando em um aumento da pressão arterial. Nesses casos, é essencial o uso de medicamentos inibidores da ECA, combinados com a adoção de um estilo de vida saudável, para controlar a hipertensão (Hu *et al.*, 2023).

3.5 Química combinatória na descoberta e desenvolvimento de novas moléculas com potencialidades terapêuticas

As doenças infecciosas e crônicas são um desafio significativo para a saúde global afetando milhões de pessoas em todo o mundo. Atualmente, o tratamento dessas condições segue uma abordagem tradicional que envolve o uso de diferentes medicamentos direcionados a cada doença específica. No entanto, essa abordagem tem suas limitações, pois, pode resultar em maior complexidade no tratamento e potenciais interações medicamentosas (McArthur, 2019).

Assim, o aumento da resistência aos medicamentos vem sendo uma corrida global na busca de alternativas que possam superar a resistência dos micro-organismos aos antibióticos. É importante destacar que o desenvolvimento de novos compostos terapêuticos é um processo complexo que envolve pesquisa científica intensiva, testes rigorosos e aprovação regulatória. No entanto, os avanços nessa área têm o potencial de transformar a abordagem tradicional, simplificando-a e oferecendo maiores benefícios (Jha *et al.*, 2023; Roth *et al.*, 2019; Moustafa *et al.*, 2021; Kulesa *et al.*, 2019).

A Química Combinatória (QC) é amplamente reconhecida como uma das abordagens mais promissoras no âmbito da pesquisa e desenvolvimento de novas substâncias com potencial terapêutico. Essa metodologia de síntese permite a formação simultânea de múltiplos produtos, os quais podem ser testados biologicamente de maneira conjunta ou individualmente (Uay-García *et al.*, 2022).

A abordagem baseia-se na síntese de uma biblioteca diversificada de compostos químicos, em que diferentes variações estruturais são introduzidas em um conjunto de moléculas relacionadas. Essa diversidade estrutural permite explorar um amplo espaço químico, aumentando as chances de encontrar compostos com atividades biológicas relevantes. Além disso, oferece a possibilidade de otimizar

propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas dos compostos, por meio de modificações estruturais sistemáticas (Furka, 2021).

3.5.1 Aplicação da química combinatória na síntese e otimização de acetais

A síntese de acetais de aldeído benzoico e avaliação de suas atividades biológicas podem fornecer informações valiosas para a área de desenvolvimento de novos medicamentos. A exemplo, vários grupos funcionais desempenham um papel crucial na prevenção ou atraso do crescimento bacteriano, destacando-se os éteres, álcoois, aldeídos, acetais e fenóis. Dentre esses compostos, o grupo aldeído possui grande versatilidade, pois, seu mecanismo de ação é capaz de atuar diretamente na inibição de proteínas e DNA bacteriano, conseqüentemente, a atividade resulta em danos e lesões celulares significativas (Silva, 2022).

Em geral, os acetais são gerados a partir do tratamento de aldeídos ou cetonas com álcoois na presença de catalisadores ácidos típicos (HCl, H₂SO₄, entre outros) (Dong *et al.*, 2018). Os acetais de formaldeído (ROCH₂OR) podem ser sintetizados em condições básicas por meio de uma dupla substituição em dihalometanos XCH₂Y (X e Y = F, Cl, Br e I) ou em meio ácido, utilizando compostos como paraformaldeído ou dimetoximetano (Wuts, 2014). Vários tipos desse composto são conhecidos até o momento, no entanto, suas propriedades químicas não foram bastante elucidadas (Morgalyuk, 2014).

Desta forma, o grupo acetal é bastante utilizado na síntese e desenvolvimento de novos fármacos (Wu; Meanwell, 2021). A Vancomicina, antibiótico utilizado para tratar infecções graves causadas por bactérias resistentes a outros medicamentos, possui uma estrutura contendo grupos acetal que contribuem para sua atividade antimicrobiana (Mühlberg *et al.*, 2020). De maneira geral, alguns estudos preliminares sugerem que certos acetais podem exibir atividade anticancerígena promissora como ação antiproliferativa de células HeLa (Doboszewski *et al.*, 2023), além de atividade antifúngicas (Arnold *et al.*, 2000) e tratamento de leishmaniose (Palit *et al.*, 2009).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Síntese de acetais

Foi realizado no Laboratório de Química (IFPE/Barreiros). A reatividade da mistura contendo componentes hidroxílicos, como álcoois e fenóis, foi investigada em uma reação com CH_2Cl_2 em ambiente básico, de acordo com Doboszewski *et al.* (2021) e Silva *et al.*, 2023. O diclorometano foi escolhido como substrato devido à presença de dois grupos abandonadores, o que permite a ocorrência de substituições nucleofílicas, semelhantes a outros haletos de alquila.

4.2 Caracterização

A caracterização e purificação dos compostos sintetizados foram realizadas utilizando técnicas analíticas para garantir a identidade e pureza dos produtos finais. A purificação foi efetuada por cromatografia em coluna ou recristalização, enquanto as estruturas dos compostos foram analisadas por espectroscopia de Infravermelho, Espectrometria de Massas e Ressonância Magnética Nuclear (RMN de ^1H e ^{13}C). Os experimentos de caracterização foram realizados em colaboração com o Departamento de Química Fundamental da Universidade Federal da Paraíba.

4.3 Atividade antibacteriana

As linhagens de bactérias utilizadas foram obtidas a partir da Coleção de Micro-organismos do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco (UFPEDA). Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Streptococcus pyogenes* UFPEDA 07, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Bacillus subtilis* UFPEDA 86) gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Serratia marcescens* UFPEDA 816, *Eschechiria coli* UFPEDA 224, *Klebisiella pneumoniae* UFPEDA 396) e uma álcool-ácido resistente (*Mycobacterium smegmatis* UFPEDA 71).

A avaliação das amostras frente aos microrganismos foi baseada no *Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) (2018). A determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) foi realizada utilizando placas com 96 poços estéreis, próprias para microdiluição. Inicialmente foi adicionado 90 μL do meio Caldo Muller Hinton (CMH) em todos os poços. A primeira coluna foi considerada o controle negativo uma vez que só apresentou o caldo.

A partir da terceira coluna, foi adicionado 90 µL da amostra teste em uma concentração inicial de 4 mg/mL. Esta alíquota foi homogeneizada e transferida para a quarta coluna (A4) e assim por diante até a décima segunda coluna (A12), que recebeu a amostra teste na concentração de 0,03 mg/mL. Como controle positivo se utilizou a gentamicina a uma concentração inicial de 2 mg/mL.

Por último, a partir da segunda coluna (controle positivo para o crescimento microbiano), foi adicionada uma alíquota de 10 µL da suspensão do micro-organismo. A suspensão bacteriana foi preparada em solução fisiológica estéril (NaCl, a 0,9%) e padronizada na escala 0,5 de McFarland, correspondente a uma concentração de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL.

Posteriormente, as placas contendo o meio, amostras testes e micro-organismos foram incubadas por 24 horas (37 °C). Após o período supracitado, em cada poço, foram adicionados 30 µL de resazurina (0,1 mg/mL) diluída em água estéril. Seguiu-se a incubação por 3 a 5 horas. A determinação da CMI ocorre após mudança de coloração do azul para o rosa após reação de oxi-redução. A resazurina (azul) quando entra em contato com as mitocôndrias microbianas ativas é reduzida em resorufina e passa a revelar cor rósea, apresentando tonalidade violeta na transição do poço contendo a CMI (Roca *et al.*, 2019).

4.4 Atividade antioxidante

4.4.1 Atividade Sequestradora do Radical ABTS•+

O teste foi realizado de acordo com a metodologia proposta por Re *et al.* (1999). Neste ensaio, o radical ABTS•+ foi gerado a partir de 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) a 7 mM e persulfato de potássio a 2,45 mM, seguido de incubação ao abrigo da luz por 16 horas a 30 °C. Previamente ao uso, a solução do radical ABTS•+ foi ajustada para uma absorvância de $0,70 \pm 0,05$ a 734 nm, por diluição em etanol. Para a reação, 50 µL das amostras (3,9 a 62,4 µg/mL) foram misturados com 950 µL da solução do radical ABTS•+. Um controle negativo foi preparado, com a utilização de etanol ao invés das amostras. Os ensaios foram incubados a 30 °C por seis minutos e lidos a 734 nm. Todos os ensaios ocorrerão em duplicata. A atividade antioxidante foi calculada em relação à atividade de eliminação do radical (%), de acordo com a seguinte equação (1):

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \frac{(\text{Abs}_{\text{controle}} - \text{Abs}_{\text{amostra}})}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \times 100. \quad (1).$$

Onde $Abs_{controle}$ é a absorvância do controle negativo, contendo apenas a solução etanólica do radical ABTS^{•+} e etanol, e $Abs_{amostra}$ é a absorvância do radical na presença da amostra.

4.4.2 Atividade Sequestradora do Radical DPPH•

Para análise de atividade antioxidante total (Brand-Williams *et al.*, 1995) foram pipetados, em tubos eppendorfs, 50 µL do acetal (3,9 a 62,4 µg/mL) e 1,95 mL de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) a 60 µM (diluído em etanol). Os tubos foram agitados e postos para reagir por 20 minutos ao abrigo da luz. Um controle negativo foi utilizado, trocando-se a amostra por etanol. Decorrido o tempo, foram medidas as absorvâncias das amostras a 515 nm. A capacidade de sequestro de radical DPPH• foi calculada de acordo com a equação (2):

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = (Abs_{controle} - Abs_{amostra}) / Abs_{controle} \times 100. (2).$$

Onde $Abs_{controle}$ correspondeu à absorvância do controle negativo, contendo apenas a solução etanólica do radical e etanol, e $Abs_{amostra}$ a absorvância na presença da amostra.

4.5 Atividade quelante de cobre e ferro

4.5.1 Atividade Quelante de Cobre

A atividade quelante de cobre dos acetais foi realizada de acordo com metodologia de Sánchez-Vioque *et al.* (2012). A mistura reacional foi composta por 500 µL de tampão acetato (50 mM, pH 6,0), 12,5 µL de CuSO₄ (5 mM) e 125 µL dos acetais (3,9 a 62,4 µg/mL). Transcorridos 30 minutos à temperatura ambiente, 12,5 µL de violeta de pirocatecol (VP) a 4 mM foram adicionados aos ensaios. Após 30 minutos, a absorvância foi mensurada a 632 nm, em espectrofotômetro. A porcentagem de inibição (%) da formação do complexo VP-Cu²⁺ foi calculada seguindo a seguinte equação (3):

$$\text{Atividade quelante (\%)} = (Abs_{controle} - Abs_{amostra}) / Abs_{controle} \times 100. (3).$$

Onde, $Abs_{controle}$ foi a absorvância do controle, com água destilada; e $Abs_{amostra}$ foi a absorvância das amostras contendo os acetais. O EDTA (0,045%, p/v) foi utilizado como padrão positivo.

4.5.2 Atividade Quelante de Ferro

A habilidade do acetal em quelar o Fe^{2+} foi avaliada de acordo com metodologia de Sánchez-Vioque *et al.* (2012). A mistura reacional foi composta por 125 μ L dos acetais (3,9 a 62,4 μ g/mL), 500 μ L de tampão acetato de sódio (0,1 M a pH 4,9) e 12,5 μ L de $FeCl_2$. Após incubação da mistura reacional por 30 minutos à temperatura ambiente, 50 μ L de ferrozina (5 mM) foram adicionados aos ensaios. Após mais 30 minutos, a absorvância foi mensurada a 562 nm em espectrofotômetro.

A atividade quelante de ferro foi expressa em porcentagem de inibição da formação do complexo ferrozina- Fe^{2+} (%) e calculada segundo a seguinte equação (4):

$$\text{Atividade quelante (\%)} = (Abs_{controle} - Abs_{amostra}) / Abs_{controle} \times 100. \quad (4).$$

Onde, $Abs_{controle}$ foi a absorvância do controle, com água destilada; e $Abs_{amostra}$ foi a absorvância da amostra contendo os acetais. O EDTA (0,045%, p/v) foi utilizado como padrão positivo.

4.6 Atividade antidiabética

4.6.1 Atividade Inibitória da enzima α -amilase (EC 3.2.1.1)

A inibição da α -amilase foi avaliada segundo metodologia proposta por Kim *et al.* (2004) com poucas modificações. O meio reacional foi composto por 50 μ L da α -amilase (40 U.mL⁻¹, solubilizada em tampão fosfato de sódio (pH 6,9 a 20 mM), 50 μ L dos acetais (3,9 a 62,4 μ g/mL) e incubado por 15 minutos a 37 °C em banho-maria. Após a incubação, foram acrescentados 50 μ L de solução de amido (1%, m/v, solubilizado em tampão fosfato de sódio, pH 6,9 a 20 mM) e então incubados por mais 10 minutos, na mesma temperatura. A reação foi interrompida pela adição de 100 μ L de DNS e os ensaios levados as banho-maria (100 °C) por 5 minutos. Um branco foi ensaiado, nas mesmas condições, substituindo as amostras por tampão. A acarbose (3,9 a 62,4 μ g/mL) em solução aquosa foi usada como controle positivo

para a inibição da atividade enzimática. A atividade da α -amilase foi mensurada a 540 nm e a sua inibição calculada segundo a equação (5):

$$\text{Atividade inibitória de } \alpha\text{-amilase (\%)} = [(A-B) / A] \times 100.$$

Onde A representa a densidade ótica do controle (as amostras foram substituídas por tampão) e B representa a densidade ótica da reação realizada com as amostras dos acetais.

4.6.2 Atividade Inibitória da enzima α -glicosidase (EC 3.2.1.20)

Para determinação do potencial dos compostos como inibidores da α -glicosidase, foi utilizada a metodologia descrita por Kim *et al.* (2004), com poucas modificações. Cerca de 5 μ L α -glicosidase (1 U.mL⁻¹, solubilizada em tampão fosfato de potássio 0,1 M e pH 6,8) foram misturados a 10 μ L dos acetais (3,9 a 62,4 μ g/mL) e a 620 μ L de tampão fosfato de potássio (0,1 M e pH 6,8). A reação foi incubada por 20 minutos a 37 °C em banho-maria. Após o período de incubação adicionou-se ao meio reacional 10 μ L de p-nitro-fenil-glicopiranosídeo (pNPG a 10 mM), onde permaneceram por mais 30 minutos a 37 °C. A reação foi interrompida pela adição de 650 μ L de Na₂CO₃ (1 M) e o produto liberado pela reação (p-nitrofenol) foi mensurado a 410 nm. Um branco foi ensaiado, nas mesmas condições, substituindo as amostras por tampão. A acarbose (3,9 a 62,4 μ g/mL) em solução aquosa foi usada como controle positivo para a inibição da atividade enzimática. A atividade inibitória de α -glicosidase foi expressa em porcentagem (%) e calculada de acordo com a equação:

$$\text{Atividade inibitória de } \alpha\text{-glicosidase (\%)} = [(A-B) / A] \times 100.$$

Onde A representa a densidade ótica do controle (as amostras foram substituídas por tampão) e B representa a densidade ótica da reação realizada com as amostras dos acetais.

4.7 Atividade anti-hipertensiva

4.7.1 Atividade de inibição da ECA (EC 3.4.15.1)

A habilidade dos acetais em inibir a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) foi realizada seguindo ensaio proposto por Zhang *et al.* (2009), com modificações. O meio reacional inicial foi composto por 25 µL das amostras e 25 µL de ECA a 5 mU (solubilizado em tampão fosfato de potássio a 50 mM, pH 8,3) foram incubados por 5 minutos a 37 °C. Decorrido o período, 25 µL de N-Hippuril-L-histidil-L-leucina (HHL) a 5 mM (solubilizado em tampão fosfato de sódio pH 8,3 a 50 mM) foi adicionado e o meio reacional permaneceu por mais 30 minutos a 37 °C em banho-maria. Em seguida, 75 µL de HCl (1 M) e 500 µL de acetato de etila foram adicionados aos ensaios. Após 15 segundos, foi realizada a centrifugação a 4000 RPM por 10 minutos e 250 µL da fase orgânica (acetato de etila) foram transferidos para tubos de ensaios e levado a banho fervente por 15 minutos. O resíduo de ácido hipúrico presente no sobrenadante, após a evaporação do acetato de etila, foi ressuspenso em 1,5 mL de água destilada. O captopril (3,9 a 62,4 µg/mL) em solução aquosa foi usado como controle positivo para a inibição da atividade enzimática. A absorbância dos ensaios foi mensurada a 228 nm em espectrofotômetro. A atividade anti-hipertensiva foi expressa em porcentagem (%), de acordo com a seguinte equação:

$$\text{Atividade anti-hipertensiva (\%)} = [1 - (B/A)] \times 100.$$

Onde A representa a densidade ótica do controle (as amostras foram substituídas por tampão) e B representa a densidade ótica da reação realizada com as amostras dos acetais. Todas as amostras foram corrigidas pelo valor ácido hipúrico formado na amostra do branco (a enzima foi substituída por tampão).

4.8 Análises estatísticas

Os dados foram analisados através do programa Sistema de Análise de Variância (FERREIRA, 2011), realizando-se a comparação de médias pelo teste de Tukey ao nível de 5 % de significância. Considerando que os compostos avaliados estavam puros foi encontrada no Programa Excel, por meio de regressão linear, a Concentração Inibitória Média (CI₅₀), nos casos pertinentes. Todos os ensaios foram realizados aleatoriamente, em duplicata e repetido duas vezes.

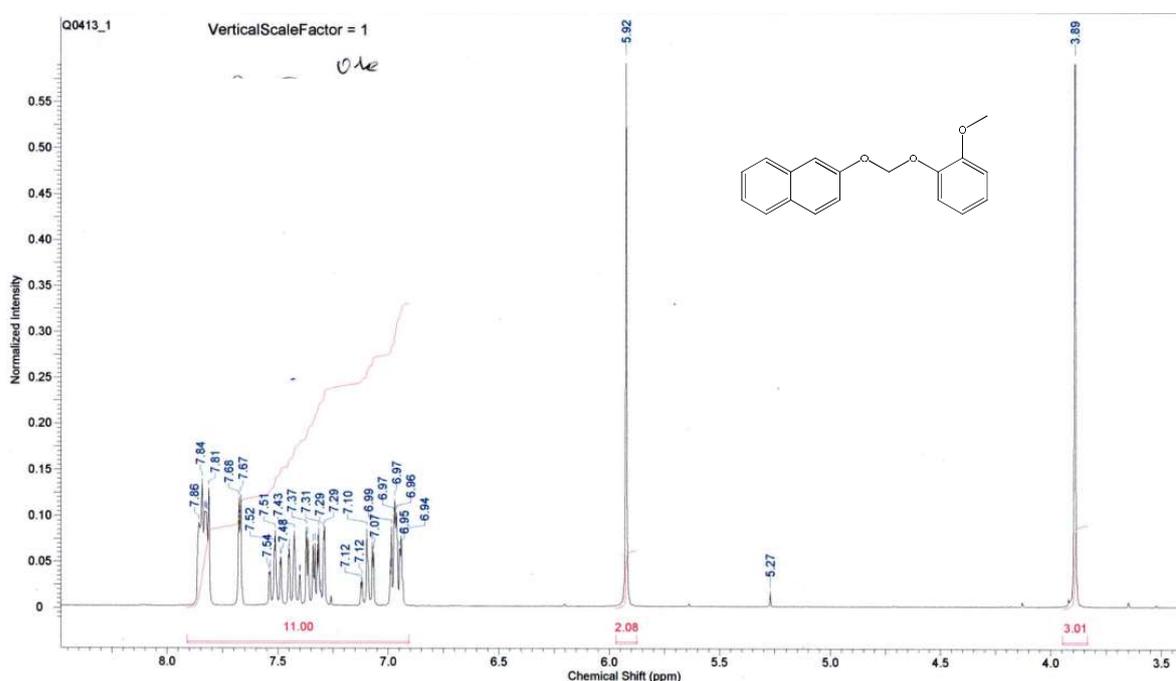
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Síntese e caracterização dos acetais

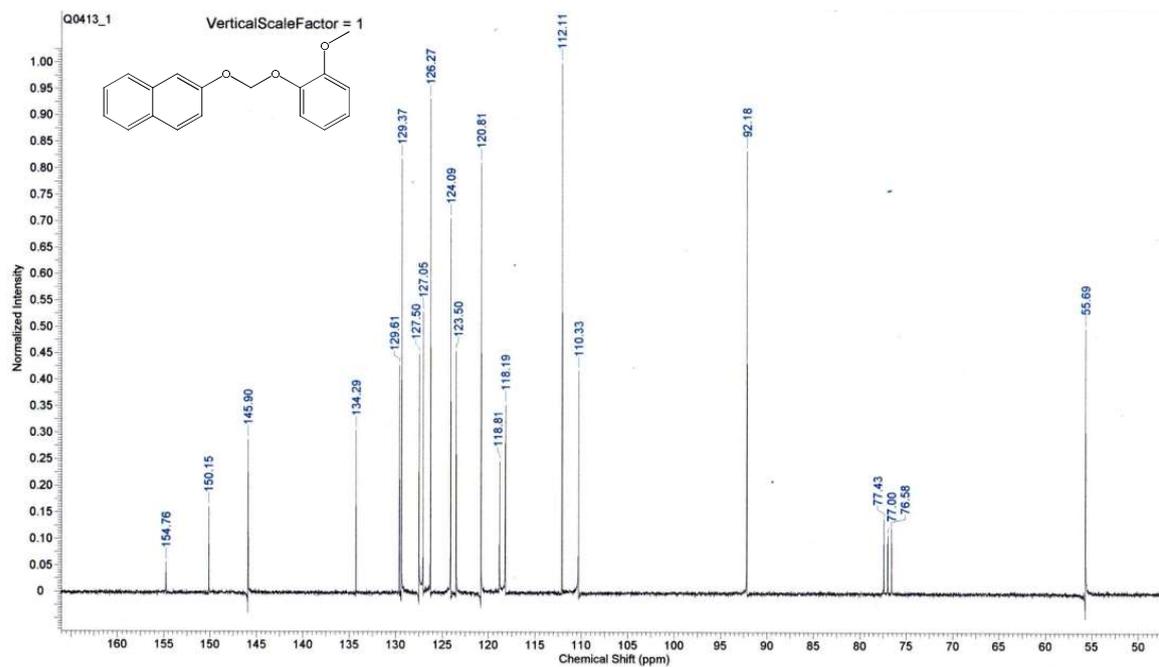
Neste estudo, repetiu-se a reatividade de misturas contendo componentes hidroxílicos, nomeadamente álcoois e fenóis, em uma reação com CH_2Cl_2 em um ambiente básico conforme a metodologia proposta por Doboszewski *et al.* (2021).

Esta reação foi realizada sob as condições de catálise de transferência de fase sólido-líquido, resultando na formação de misturas contendo três possíveis acetais de formaldeído. Esses acetais foram prontamente separados por cromatografia em coluna convencional. Empregando uma abordagem que incorpora fenóis diferentes e álcoois distintos, conseguiu sintetizar três compostos. Os acetais foram caracterizados e designados como composto 01, 02 e 03, a seguir são apresentados os espectros de ^1H e ^{13}C (Figuras 4a, 4b, 5a, 5b, 6a e 6b). Os dados obtidos estão de acordo com os da literatura (Doboszewski *et al.*, 2023).

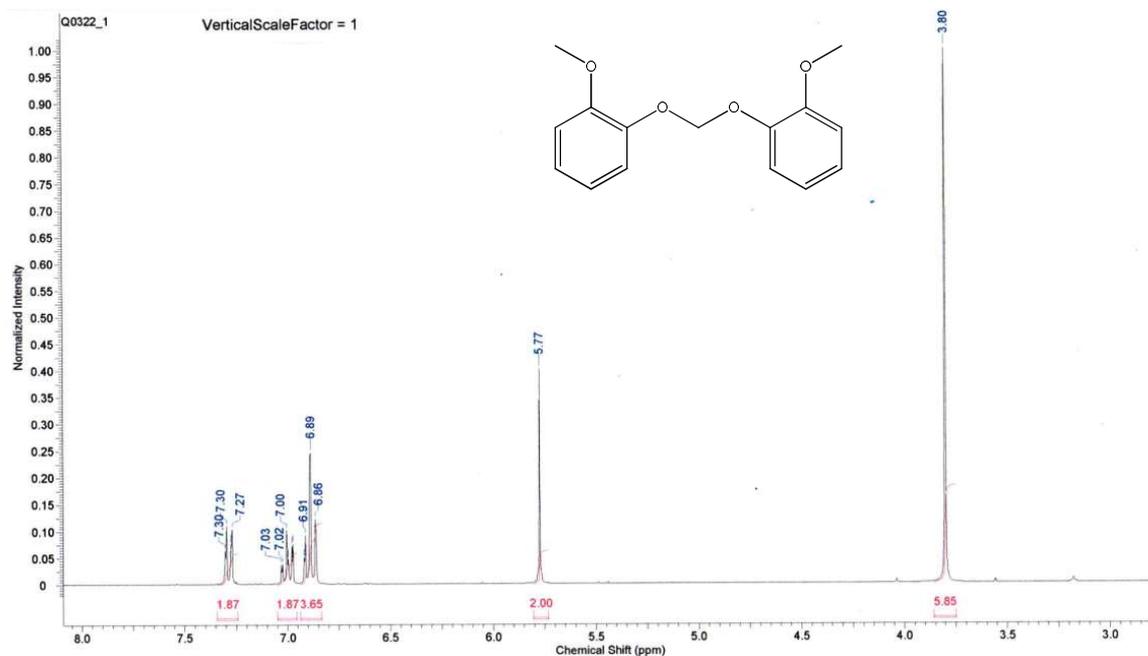
Figura 4a. Espectro RMN de ^1H do acetal 01.



Fonte: A autora, 2024.

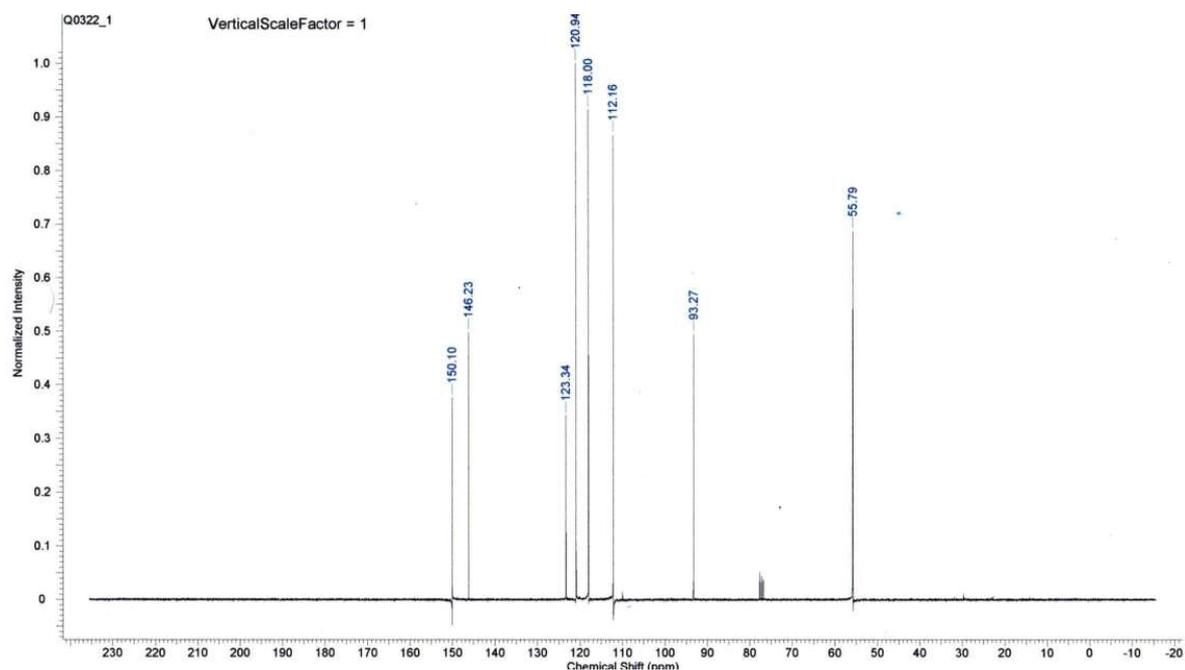
Figura 4b. Espectro RMN de ^{13}C do acetal 01

Fonte: A autora, 2024.

Figura 5a. Espectro RMN de ^1H do acetal 02.

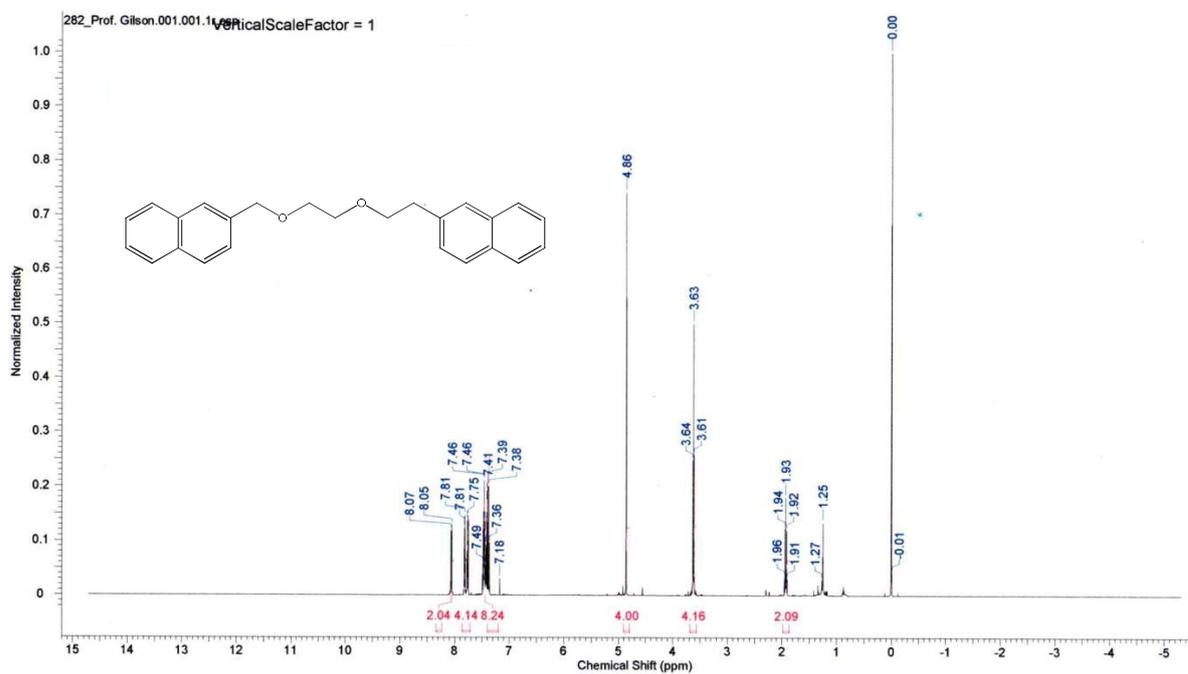
Fonte: A autora, 2024.

Figura 5b. Espectro RMN de ^{13}C do acetal 02



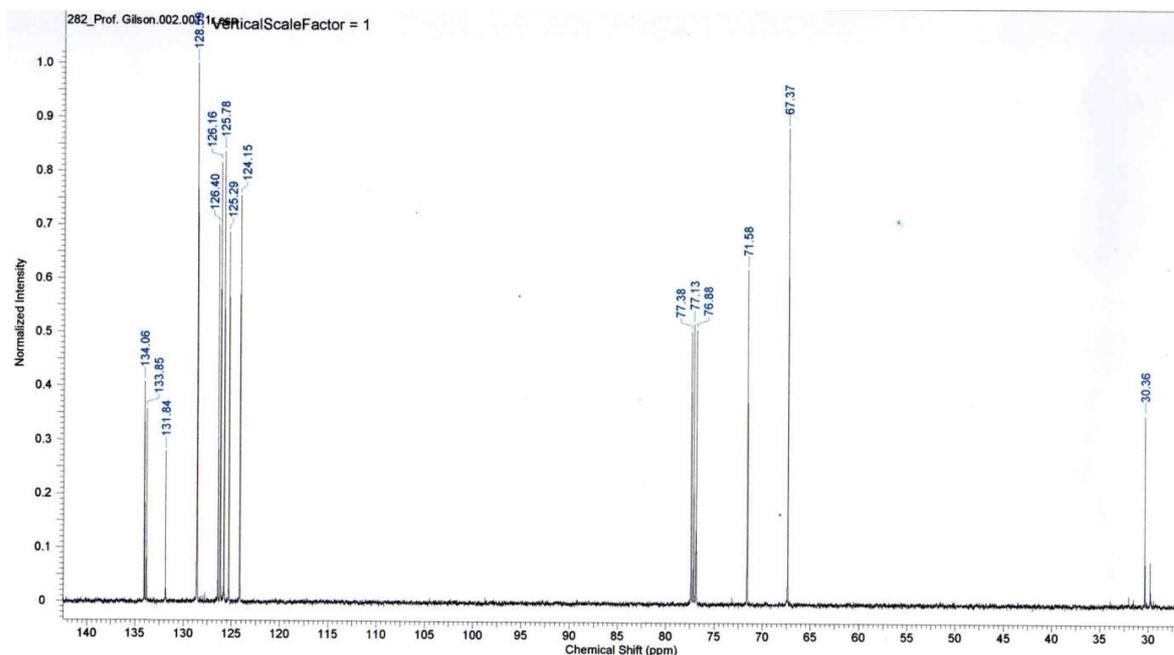
Fonte: A autora, 2024.

Figura 6a. Espectro RMN de ^1H do acetal 03.



Fonte: A autora, 2024.

Figura 6b. Espectro RMN de ^{13}C do acetal 03.



Fonte: A autora, 2024.

5.2 Atividade antibacteriana dos acetais

Os acetais de formaldeído exibem uma variedade de atividades, tais como propriedades antifúngicas (Arnoldi *et al.*, 2000), antibacterianas (Mathela; Singh; Gupta, 2010) e antileishmanial (Palit *et al.*, 2009).

A Tabela apresenta a Concentração Mínima Inibitória (CMI) dos acetais denominados 01, 02 e 03, indicando a eficácia desses compostos na inibição de bactérias gram-positivas (*Staphylococcus aureus* UFPEDA 02, *Streptococcus pyogenes* UFPEDA 07, *Enterococcus faecalis* UFPEDA 138, *Bacillus subtilis* UFPEDA 86), gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416, *Serratia marcescens* UFPEDA 816, *Eschechiria coli* UFPEDA 224, *Klebisiella pneumoniae* UFPEDA 396) e álcool-ácido-resistente, *Mycobacterium smegmatis* UFPEDA 71.

Tabela 1. Resultados para a atividade antibacteriana de acetais obtidos por química combinatória.

Micro-organismos	01 CMI (µg/mL)	02 CMI (µg/mL)	03 CMI (µg/mL)	C+ CMI (µg/mL)
Gram positiva				
<i>Staphylococcus aureus</i> UFPEDA 02	1000	500	63	20
<i>Streptococcus pyogenes</i> UFPEDA 07	250	63	63	NA
<i>Enterococcus faecalis</i> UFPEDA 138	500	125	500	40
<i>Bacillus subtilis</i> UFPEDA 86	500	500	500	80
Gram-negativa				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> UFPEDA 416	500	500	500	20
<i>Serratia marcescens</i> UFPEDA 816	250	250	250	NA
<i>Eschechiria coli</i> UFPEDA 224	500	100	500	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i> UFPEDA 396	20	100	500	20
Álcool-ácido-resistente				
<i>Mycobacterium smegmatis</i> UFPEDA 71	1000	63	1000	NA

CMI: Concentração Mínima Inibitória. C+: Controle positivo para a inibição (Gentamicina). NA: Não avaliado.

Fonte: A autora, 2024.

Como pode ser observado na tabela supracitada, os acetais apresentaram atividades que variaram entre 20 e 1000 µg/mL. Dentre as substâncias testados frente às bactérias gram-positivas, o acetal 02 demonstrou melhor eficácia de inibição com CMI abaixo de 1000 µg/mL, indicando que uma menor quantidade do composto é suficiente para deter o crescimento bacteriano. Logo, os dados indicam que ele é especialmente potente contra *S. pyogenes* UFPEDA 07 e *M. smegmatis* UFPEDA 71 com CMI de 63 µg/mL, demonstrando sua alta eficácia.

Desta forma, à medida que a CMI diminui, observa-se uma maior potência do composto em sua capacidade de inibir o crescimento do micro-organismo em análise (Andrews, 2001). Embora a *M. smegmatis* UFPEDA 71 não possua alta virulência, sua notável taxa de crescimento a coloca em destaque no gênero *Mycobacterium*. Isso se deve à codificação de milhares de ortólogos de genes micobacterianos conservados e à semelhança em arquitetura e fisiologia celular. Desta forma, a *M. smegmatis* torna-se uma bactéria modelo para todas as espécies de *Mycobacterium* e gêneros relacionados (Sparks *et al.*, 2023).

Para as demais bactérias gram-positivas testadas, o acetal 02 ainda se mostrou mais eficaz que as outras substâncias, com CMI variando entre 125 µg/mL, para *E. faecalis* UFPEDA 138, e 500 µg/mL para *S. aureus* UFPEDA 02 e *B. subtilis* UFPEDA 86. Isso sugere que o composto 02 tem um amplo espectro de atividade contra bactérias gram-positivas e pode ser considerado um candidato promissor para o desenvolvimento de novos agentes antibacterianos.

Por sua vez, a função acetal é amplamente utilizada na química orgânica para proteger grupos carbonilo em aldeídos durante reações. Além disso, desempenha um papel importante na síntese e desenvolvimento de novos medicamentos, especialmente antimicrobianos. Assim, muitos antibióticos já disponíveis no mercado como a rifampicina e claritromicina, contêm a função acetal e são considerados fármacos de amplo espectro, eficazes no combate a bactérias gram-positivas (Wu; Meanwell., 2021).

Sapozhnikov *et al.* (2021) avaliaram a atividade antibacteriana de compostos derivados de piridoxina, que foram funcionalizados com grupos de amônio quaternário e acetais cíclicos de 6 membros. Dois compostos sintetizados apresentaram resultados promissores contra bactérias gram-positivas (*S. aureus*, *B. subtilis* e *M. luteus*) e gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*). As substâncias apresentaram um CMI entre 1 e 2 µg/mL contra as bactérias gram-positiva e, entre 4 e 64 µg/mL contra as gram-negativa.

O acetal 03 também apresenta forte potencial de inibição contra os gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*. Os resultados indicaram uma CMI de 63 µg/mL para *S. aureus* UFPEDA 02 e *S. pyogenes* UFPEDA 07. Além disso, *E. faecalis* UFPEDA 138 e *B. subtilis* UFPEDA 86 foram inibidas com uma CMI de 500 µg/mL, apresentando desempenho moderado. Já para *M. smegmatis* UFPEDA 71, a CMI foi de 1000 µg/mL, sendo assim, embora uma concentração maior seja necessária, o

componente químico 03 ainda pode ser eficiente contra bactérias do gênero *Mycobacterium*.

Keiko *et al.* (2009) em estudo sobre atividade antimicrobiana de compostos aldeídicos e acetálicos revelaram resultados expressos em CMI contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Os aldeídos 2,4-dibutiltio-pentanodial (II) e 2,3-dibutiltio-propanal (III) demonstraram atividade antimicrobiana considerada ótimo, com CMI de 15 µg/mL e 31 µg/mL para *S. aureus* e 31 µg/mL para *E. coli*.

Os acetais 2-butoxi-5-butiltio-2,3-di-hidro-4H-pirano (IV-VI) exibiram atividade antimicrobiana mais fraca, com CMIs de 250 g/mL em ambas as cepas. A diferença na atividade entre aldeídos e acetais pode ser explicada pelas variações nas propriedades químicas e estruturais desses compostos, influenciando sua eficácia contra os micro-organismos testados (Keiko *et al.*, 2019).

Referente ao acetal 01, o composto apresentou inibição para as bactérias *M. smegmatis* UFPEDA 71, *E. faecalis* UFPEDA 138 e *B. subtilis* UFPEDA 86, com CMI de 1000 µg/mL, 500 µg/mL e 500 µg/mL, respectivamente, exatamente iguais ao acetal 03. Isso sugere que tanto o composto 01 quanto o acetal 03 possuem eficácia semelhante contra essas bactérias específicas.

Em relação aos microrganismos *S. aureus* UFPEDA 02 e *S. pyogenes* UFPEDA 07 as CMI do componente 01 são relativamente maiores se comparadas ao composto 03, que apresentou CMI de 63 µg/mL para ambas. Isso indica que o acetal 03 é mais eficaz contra *S. aureus* e *S. pyogenes* do que a substância 01.

Este contraste na eficácia sugere que, embora o acetal 01 seja eficaz contra uma gama de bactérias, o composto 03 é especialmente potente contra certas bactérias gram-positivas, tornando-o uma opção mais promissora para o tratamento de infecções causadas por *S. aureus* e *S. pyogenes*.

Para o microrganismo *S. marcescens* UFPEDA 816, as substâncias 01, 02 e 03 demonstraram uma CMI de 250 µg/mL, o que mostra que todos são eficazes em inibir o crescimento bacteriano em concentrações relativamente baixas. Esses resultados indicam uma eficácia dos três compostos contra a *S. marcescens*, evidenciando sua capacidade de suprimir o crescimento bacteriano de forma eficaz, independentemente do analito utilizado.

Priem *et al.* (2017) realizaram um estudo com análogos da Gramicidina S, um peptídeo antibacteriano modificado com acetais cíclicos de cinco membros. Apenas o análogo 1.28 demonstrou atividade antibacteriana significativa contra todas as

cepas de bactérias Gram-positivas (*S. aureus*, *S. epidermidis* e *E. faecalis*), com valores de CMI entre 4 e 8 µg/mL, e atividade ligeiramente reduzida contra as cepas de bactérias Gram-negativas (*E. coli* e *P. aeruginosa*), com valores de CMI mais altos, entre 64 e 128 µg/mL. Os demais análogos foram inativos ou mostraram atividade mínima contra ambas as espécies de bactérias.

Entre as gram-negativas, *Pseudomonas aeruginosa* UFPEDA 416 e *Serratia marcescens* UFPEDA 816 foram inibidas com valores satisfatórios pelos três acetais, com CMI de 500 µg/mL e 250 µg/mL, respectivamente. Notavelmente, *S. marcescens*, mostrou um valor de inibição melhor (250 µg/mL) em comparação com *P. aeruginosa* (500 µg/mL). Portanto, embora os compostos sejam eficazes contra ambas as bactérias, eles são mais potentes contra *S. marcescens*, com capacidade de uma menor concentração para inibir seu crescimento.

As substâncias 01, 02 e 03 foram testadas contra as enterobactérias *E. coli* UFPEDA 224 e *K. pneumoniae* UFPEDA 396, gerando CMI de ≤ 500 µg/mL. Os acetais 02 e 03 para ambas as bactérias obtiveram uma CMI de 100 µg/mL e 500 µg/mL nesta ordem. Já a substância 01 conseguiu inibir o crescimento da *E. coli* UFPEDA 224 até 500 µg/mL e *K. pneumoniae* UFPEDA 396 20 µg/mL. Os resultados demonstram que os compostos tiveram resultados significativos contra espécimes gram-negativas, onde, todos os valores de inibição foram ≤ 500 µg/mL.

Sapozhnikoy *et al.* (2021) em estudo, investigaram a atividade antibacteriana de derivados de piridoxina quaternizados com grupos de amônia, funcionalizados com acetais cíclicos de seis membros (1.26, 1.27) visando o desenvolvimento de agentes antimicrobianos suaves. Por sua vez, tais antibióticos são projetados para se decompor em substâncias não tóxicas após exercerem sua ação antimicrobiana, minimizando os efeitos adversos e reduzindo o impacto ecológico.

De todos os derivados sintetizados e avaliados, os compostos chamados de 1.26 e 1.27 mostraram os resultados mais promissores contra as espécies de bactérias estudadas (gram-positivas: *S. aureus*, *B. subtilis* e *M. luteus*; gram-negativas: *E. coli* e *P. aeruginosa*). O derivado 1.26 apresentou valores de CMI entre 1 e 2 µg/mL para as gram-positivas e entre 4 e 32 µg/mL para as gram-negativas. Já a substância 1.27 conseguiu valores de CMI entre 1 e 2 µg/mL para as bactérias gram-positivas, enquanto para as gram-negativas os valores de CMI variaram entre 8 e 64 µg/mL (Sapozhnikoy *et al.*, 2021).

Os resultados obtidos com os acetais testados evidenciam um potencial promissor como agentes antibacterianos contra uma variedade de bactérias gram-positivas, gram-negativas e álcool-ácido-resistente. No entanto, os acetais foram mais efetivos contra as bactérias gram-negativas (20 a 500 µg/mL). Comparando os resultados apresentados para os acetais avaliados e os obtidos com o controle positivo de inibição (gentamicina), verifica-se que os acetais 1 e 3 destacaram-se uma vez que apresentaram uma CMI próxima ou igual a gentamicina.

Estes achados indicam que os acetais possuem amplo espectro de ação e podem ser desenvolvidos como potenciais agentes antibacterianos, oferecendo novas alternativas para o tratamento de infecções bacterianas resistentes.

5.3 Atividade antioxidante

5.3.1 Atividade sequestradora do radical ABTS^{•+} e DPPH[•]

A capacidade de doar elétrons de maneira controlada e estável, frequentemente associada à presença de grupos funcionais doadores de elétrons e ressonância eletrônica, é uma propriedade química fundamental para que uma substância atue como um bom antioxidante. Nesse contexto, a habilidade de neutralizar espécies reativas de oxigênio (EROs) e proteger contra danos oxidativos é crucial.

Os dados apresentados indicaram que os acetais sintetizados não exibiram propriedades antioxidantes significativas, indicando que tais compostos possivelmente não possuem grupos funcionais doadores de elétrons. Pelo método de ABTS os resultados variaram entre 0 e 4,62% e pelo DPPH entre 1,053 e 4,56% (Tabela 2). A atividade antioxidante observada, para o método DPPH, não diferiu entre os compostos e concentrações avaliadas.

Embora a atividade antioxidante do acetal 02, pelo método ABTS, aumente com a concentração, os resultados indicam que, apesar desse crescimento, a eficácia antioxidante do composto permanece relativamente baixa.

Para a eliminação do radical ABTS^{•+} (Tabela 2), os acetais sintetizados apresentaram porcentagem de eliminação baixas ou praticamente nulas (0,00% - 4,62%). Esses resultados sugerem que mesmo em concentrações mais elevadas, esses compostos não têm capacidades suficientes para sequestrar o radical.

Somente o composto 02 apresentou uma discreta atividade antioxidante nas concentrações de 31,2 µg/mL e 62,4 µg/mL (estatisticamente superior), com valores de 4,51% e 4,62%, respectivamente.

DPPH (AA %)			
µg/mL	01	02	03
3,9	1,089 ± 0,44 a	1,22 ± 0,86 a	2,55 ± 0,47 a
7,8	2,64 ± 0,44 a	1,71 ± 0,44 a	1,053 ± 0,24 a
15,6	3,049 ± 0,24 a	3,040 ± 0,43 a	1,39 ± 0,24 a
31,2	3,55 ± 0,00 a	3,50 ± 0,21 a	1,87 ± 0,26 a
62,4	4,21 ± 1,41 a	4,56 ± 0,86 a	2,051 ± 0,24 a
ABTS (AA %)			
µg/mL	01	02	03
3,9	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00
7,8	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00
15,6	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 c	0,00 ± 0,00
31,2	0,00 ± 0,00	4,51 ± 0,87 b	0,00 ± 0,00
62,4	0,00 ± 0,00	4,62 ± 1,10 a	0,00 ± 0,00

Tabela 2. Resultados de atividade antioxidante de acetais por química combinatória.

AA: Atividade antioxidante. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

Fonte: A autora, 2024.

Em pesquisa de Dodson *et al.* (2014), foram avaliados a capacidade antioxidante de três acetais sintetizados, medindo a redução do radical DPPH· ao longo do tempo. A eficácia antioxidante foi quantificada pela concentração de acetal necessária para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH· (CI_{50}). Entre os compostos, o acetal de glicerol e anisaldeído (GA) apresentou o menor valor de CI_{50} , indicando a maior atividade antioxidante. Em seguida, o acetal de glicerol e furfural (GF) apresentou uma eficácia intermediária, enquanto o acetal de glicerol e benzaldeído (GB) teve o maior valor de CI_{50} , demonstrando a menor eficácia.

Os resultados obtidos para os acetais 01, 02 e 03 indicam que tais compostos não apresentaram atividade antioxidante significativa no ensaio DPPH em comparação com o composto 1, isolado por Prapalert *et al.* (2014).

Prapalert *et al.* (2014) isolaram um novo alcaloide na forma de seu derivado acetal butílico, denominado como composto 1, junto com peristrofina, das frações de n-butanol (n-BuOH) e acetato de etila (AcOEt) do extrato bruto de metanol (MeOH) da planta *Peristrophe lanceolaria*. A atividade antioxidante das frações de n-BuOH e AcOEt foi avaliada pelo método DPPH e mostraram uma atividade antioxidante significativa, com valores de CI_{50} de 50 $\mu\text{g/mL}$ e 57 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. O composto 1, isolado dessas frações, apresentou uma atividade ainda maior, com um CI_{50} de 23 $\mu\text{g/mL}$.

Outros métodos antioxidantes podem ser aplicados para melhor compreender esses resultados, como o ensaio do poder antioxidante redutor férrico (FRAP), a capacidade redutora de Folin-Ciocalteu (ensaio FCR), a eliminação de radicais peróxido (ROO·) e superóxido ($O_2^{\cdot-}$), além dos ensaios de eliminação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e do radical hidroxila ($OH\cdot$), entre outros. A aplicação dessas metodologias complementares permitirá uma avaliação mais abrangente da capacidade antioxidante dos compostos estudados, oferecendo uma visão mais completa sobre o potencial desses acetais em diferentes sistemas oxidativos (Gulcin, 2020).

5.3.2 Atividade quelante de Fe²⁺ e Cu²⁺

A eliminação dos cátions Fe²⁺ foi observada apenas nas concentrações mais elevadas de 31,2 µg/mL e 62,4 µg/mL, com reduções de 13,1% e 9,29%, respectivamente, para o acetal 01. Esses resultados sugerem que o composto 01 possui uma capacidade quelante de íons ferro, mas nas concentrações avaliadas não diferiram estatisticamente entre si (Tabela 3).

Isso pode indicar uma interação fraca entre o acetal 01 e os íons Fe²⁺, exigindo uma quantidade maior do composto para que uma quantidade significativa de cátions seja quelado. A eficácia reduzida do acetal 01 em quelar Fe²⁺ também pode ser comparada ao padrão EDTA, que exibe um poder quelante quase completo dos íons Fe²⁺ (98,05% ± 0,31), destacando ainda mais a limitação do acetal 01 como agente quelante de ferro em condições experimentais.

Tabela 3. Resultados para a atividade quelante de Fe²⁺ e Cu²⁺ de acetais obtidos por

AQ Fe ²⁺ (%)			
µg/mL	01	02	03
3,9	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00
7,8	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00
15,6	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00
31,2	13,10 ± 4,61 a	5,73 ± 0,28 a	0,00 ± 0,00
62,4	9,29 ± 4,47 a	6,22 ± 0,70 a	0,00 ± 0,00
AQ Cu ²⁺ (%)			
µg/mL	01	02	03
3,9	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 b	0,00 ± 0,00 e
7,8	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 b	17,40 ± 7,82 b
15,6	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00 b	18,10 ± 1,95 a
31,2	0,00 ± 0,00	11,50 ± 3,42 a	16,050 ± 0,10 c
62,4	0,00 ± 0,00	11,70 ± 5,13 a	15,38 ± 3,35 d

química combinatória.

AQ: Atividade quelante (%). Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. $AQ_{EDTA Fe^{2+}} (\%) = 98,052 \pm 0,31$. $AQ_{EDTA Cu^{2+}} (\%) = 83,94 \pm 3,66$.

Fonte: A autora, 2024.

De forma semelhante ao composto 01, o acetal 02 só apresentou atividade de eliminação de cátions Fe^{2+} em concentrações elevadas, os resultados dos dados mostraram um percentual de 5,73% na concentração de 31,2 $\mu\text{g/mL}$ e 6,22% na concentração de 62,4 $\mu\text{g/mL}$. Esses percentuais revelam uma atividade ainda mais restrita, apontando para uma afinidade relativamente baixa deste acetal pelos íons de ferro.

O acetal 03 não demonstrou qualquer atividade quelante significativa contra cátions Fe^{2+} em todas as concentrações testadas, sugerindo uma incapacidade de interagir efetivamente com os íons de ferro, reforçando a limitação de seu potencial quelante em comparação com os demais compostos avaliados.

É importante ressaltar que agentes quelantes são comumente referidos como sequestrantes. A capacidade quelante do acetal, pode ter implicações em diversos ramos, como em processos industriais ou terapias médicas. No entanto, para aplicações específicas que demandam uma maior eficiência quelante, pode ser necessário otimizar a síntese ou explorar modificações estruturais, bem como utilização de outros compostos acetais.

Nos testes de quelação do cobre, o acetal 01 não demonstrou nenhuma atividade quelante. Enquanto o mesmo apresentou alguma capacidade em quelar íons de Fe^{2+} em concentrações mais altas, sua eficácia como agente quelante de cobre foi inexistente.

Para o composto 02, as três primeiras concentrações não foram capazes de quelar o íon cobre, assim, apenas demonstrou ação nas duas últimas concentrações de 31,2 e 62,4 $\mu\text{g/mL}$, com valores estatisticamente iguais.

Para o acetal 03, apenas a menor concentração testada apresentou ausência de atividade quelante. No entanto, as demais concentrações mostraram resultados superiores em comparação aos compostos 01 e 02, destacando-se pela maior atividade em quelar os íons Cu^{2+} .

Esses resultados reforçam a necessidade de explorar outras estratégias para aprimorar a eficácia desses compostos ou investigação de outros métodos de análise antioxidantes.

5.4 Atividade antidiabética

5.4.1 Atividade de inibição da alfa-amilase e alfa-glicosidase

A diabetes mellitus é uma doença metabólica caracterizada por elevados níveis de glicose no sangue (hiperglicemia). Diversas estratégias são empregadas para controlar essa condição, buscando principalmente aumentar a disponibilidade de insulina ou promover uma remoção mais eficiente de glicose (Santoso *et al.*, 2022).

A atividade de inibição da α -amilase e α -glicosidase em diferentes concentrações dos acetais sintetizados estão evidenciadas na Tabela 4.

Os resultados experimentais demonstram que para os acetais 1 e 2, não houve uma diferença estatisticamente significativa, na inibição enzimática, entre as concentrações testadas, indicando que a menor concentração já seria o suficiente para o efeito desejado.

Tabela 4. Resultados das diferentes concentrações de acetal na inibição da α -

α -amilase (I %)			
(40 U/mL)			
$\mu\text{g/mL}$	01	02	03
3,9	52,53 \pm 0,14 a	0,00 \pm 0,00 b	18,30 \pm 0,50 e
7,8	15,23 \pm 0,90 a	0,00 \pm 0,00 b	20,70 \pm 2,25 d
15,6	27,27 \pm 0,00 a	0,00 \pm 0,00 b	25,46 \pm 0,81 c
31,2	37,78 \pm 0,14 a	25,10 \pm 2,59 a	29,62 \pm 0,75 a
62,4	40,81 \pm 0,67 a	42,50 \pm 1,063 a	29,089 \pm 2,25 b
α -glicosidase (I %)			
(1 U/mL)			
$\mu\text{g/mL}$	01	02	03
amilase e α -glicosidase.			

3,9	90,63 ± 0,00 b	85,94 ± 2,21 e	90,63 ± 1,10 e
7,8	99,13 ± 0,00 a	88,28 ± 1,10 d	98,47 ± 0,72 d
15,6	99,27 ± 0,00 a	98,90 ± 0,10 c	98,76 ± 0,10 c
31,2	99,34 ± 0,10 a	99,34 ± 0,10 b	99,17 ± 0,11 b
62,4	99,49 ± 0,10 a	99,49 ± 0,10 a	99,19 ± 0,10 a

I: Porcentagem de inibição. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. CI_{50} da acarbose na inibição da α -amilase: 21,44 $\mu\text{g/mL}$. CI_{50} da acarbose na inibição da α -glicosidase: 24,22 $\mu\text{g/mL}$.

Fonte: A autora, 2024.

Nos dados apresentados sobre o acetal 02, não foi possível evidenciar qualquer atividade que possa inibir a atividade da alfa-amilase nas três primeiras concentrações

Nos estudos realizados com o acetal 03, observou-se diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações avaliadas, destacando-se a 31,20 $\mu\text{g/mL}$ (29,60 %). Esse aumento progressivo possui uma relação direta entre a concentração e o grau de inibição, com a eficácia aumentando conforme a quantidade do composto disponível para interagir com a enzima. Entretanto, ao elevar a concentração para 62,4 $\mu\text{g/mL}$, a taxa de inibição observada foi de 29,0%, o que representa uma estabilidade relativa em comparação com a concentração de 31,2 $\mu\text{g/mL}$.

A partir da análise, conclui-se que os acetais sintetizados proporcionam um efeito inibitório mediano, o que o torna adequado para diversas aplicações, especialmente na formulação de medicamentos antidiabéticos. Os dados apresentados sugerem que os acetais podem ser uma opção valiosa na produção de tratamentos voltados para o controle da atividade da alfa-amilase, contribuindo assim para um tratamento eficaz dos níveis de glicose no sangue.

Para a alfa-glicosidase, os resultados indicam que todos os compostos testados exibiram uma capacidade altamente eficaz de inibição, com a maioria das concentrações atingindo taxas superiores a 85 %. No entanto, o acetal 1 apresentou inibições a partir da segunda concentração, estatisticamente iguais entre si. Já os demais compostos apresentam inibições crescentes e dependentes das concentrações avaliadas.

O acetal 01 apresentou uma média de 97,37 % na redução da atividade enzimática. Somente na menor concentração testada houve uma inibição de 90%, enquanto nas concentrações restantes o composto alcançou mais de 99 % de inibição, demonstrando sua elevada eficácia e estabilidade ao longo das diferentes concentrações analisadas.

O acetal 02 demonstrou uma elevada capacidade de inibição da α -glicosidase em todas as concentrações testadas, com uma média geral de inibição de 94,79 %. Embora em concentrações mais baixas o efeito inibitório seja menos pronunciado, à medida que a concentração aumenta, a inibição da enzima torna-se quase completa.

Em contraste, o acetal 03 apresentou uma média de inibição em torno de 97,64 %. Os resultados indicam que o composto tem uma eficácia elevada na inibição da α -glicosidase, com inibição próxima ou superior a 98 % a partir de 7,8 $\mu\text{g/mL}$. O desvio padrão decrescente nas concentrações mais altas sugere que o comportamento do composto é altamente previsível e reproduzível nessas condições, tornando-o um inibidor eficaz e confiável da α -glicosidase, especialmente em concentrações elevadas.

Ma *et al.* (2008) conduziram a síntese e a avaliação da atividade inibitória da alfa-glicosidase de derivados mono e dicetal/acetal do ácido clorogênico. Os resultados indicaram que os derivados dicetal exibem uma atividade inibitória significativamente mais potente em comparação com os monocetais. Esses dicetais alcançaram taxas de inibição notáveis, confirmando sua eficácia e potencial como agentes terapêuticos.

Ponnam *et al.* (2014) sintetizaram uma série de novos derivados 1,9-acetais de forskolinas (1, 2 e 3) a partir de *Coleus forskohlii*, utilizando CAN como catalisador, e avaliaram sua atividade inibitória sobre a α -glicosidase. Os compostos 1g ($\text{IC}_{50} = 0,76 \text{ mg/mL}$) e 1p ($\text{IC}_{50} = 0,74 \text{ mg/mL}$) demonstraram inibição significativa da α -glicosidase em ensaios *in vitro*, comparável ao controle padrão, a acarbose ($\text{IC}_{50} = 0,45 \text{ mg/mL}$).

A maioria dos inibidores da α -glicosidase são açúcares ou derivados de açúcar existindo apenas alguns compostos não sacarídeos que inibem eficazmente a mesma. Isso demonstra uma possível inovação do presente trabalho no desenvolvimento de compostos farmacêuticos.

5.5 Atividade anti-hipertensiva

5.5.1 Atividade de inibição da ECA

A atividade inibitória dos acetais sobre a Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) está detalhada na Tabela 5. O composto 01 apresentou uma média geral de inibição de 43,38% e uma CI_{50} de 15,60 $\mu\text{g/mL}$. Observa-se que a inibição da ECA aumenta com a concentração do composto.

Enzima conversora de Angiotensina (I %)			
(5 mU)			
$\mu\text{g/mL}$	01	02	03
3,9	20,00 \pm 0,00 e	62,50 \pm 1,36 e	68,56 \pm 1,87 e
7,8	27,69 \pm 2,18 d	84,83 \pm 2,41 d	75,16 \pm 0,31 d
15,6	50,00 \pm 0,00 c	88,20 \pm 3,31 c	78,54 \pm 2,68 c
31,2	54,81 \pm 1,36 b	95,51 \pm 4,28 b	87,30 \pm 7,00 b
62,4	64,42 \pm 1,36 a	96,59 \pm 0,00 a	88,95 \pm 0,00 a

Tabela 5. Resultados das diferentes concentrações de acetais na inibição da ECA.

I: Porcentagem de inibição. Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey. Curva do captopril: variou entre 93,12 % (3,9 $\mu\text{g/mL}$) e 95,74 % (62,4 $\mu\text{g/mL}$).

Fonte: A autora, 2024.

Embora todos os acetais (01, 02 e 03) apresentaram perfis de atividade inibitória crescentes, os compostos 02 e 03 destacaram-se com atividades inibitórias significativamente maiores em comparação ao acetal 01.

O aumento progressivo de inibição, para todos os compostos testados, sugere uma relação dose-dependente em sua atividade inibitória. Ou seja, sua capacidade de bloquear a ECA melhora com maiores concentrações dos compostos.

Os resultados apresentados indicam que o acetal 02 possui uma capacidade de inibição da ECA superior aos demais acetais testados, o que pode ser explorado em aplicações terapêuticas para o controle da pressão arterial e outras condições relacionadas ao sistema renina-angiotensina.

6 CONCLUSÕES

Todos os acetais apresentaram baixa atividade antioxidante em todos os métodos empregados, indicando a ausência de grupos doadores de elétrons. Os acetais sintetizados apresentaram atividade antidiabética, anti-hipertensiva e antibacteriana. Os acetais 01, 02 e 03 apresentaram atividade antibacteriana, principalmente contra bactérias gram-negativas, com CMI's variando entre 20 e 1000 $\mu\text{g/mL}$, 63 e 500 $\mu\text{g/mL}$ e, 63 e 1000 $\mu\text{g/mL}$. No entanto, os acetais 1 e 3 destacaram-se por apresentar CMI próximo ou igual à gentamicina.

Já na inibição da ECA, o acetal 02 também destacou-se entre os demais. Em relação às enzimas glicolíticas, o acetal 01 destacou-se entre os demais acetais avaliados, apresentando valores acima de 99 % para a α -glicosidase na maioria das concentrações testadas.

Por tanto, este estudo revelou resultados promissores ao empregar acetais como uma alternativa viável na obtenção de produtos farmacêuticos, utilizando a abordagem da química combinatória. Destaca-se que este trabalho representa as primeiras análises na exploração dos acetais para a obtenção de substâncias sintéticas com atividades biológicas, abrindo caminhos para investigações mais aprofundadas, visando explorar o potencial biotecnológico.

REFERÊNCIAS

ÅHMAN, J.; MATUSCHEK, E.; KAHLMETER, G. EUCAST evaluation of 21 brands of Mueller–Hinton dehydrated media for disc diffusion testing. **Clinical Microbiology And Infection**, v. 26, n. 10, p. 14121-14125, 2020.

ANDREWS, J. M. Determination of minimum inhibitory concentrations. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 5-16, 2001.

ANTUNES, Y. R., *et al.* Diabetes Mellitus tipo 2: a importância do diagnóstico precoce da diabetes. **Brazilian Journal Of Development**, v. 7, n. 12, p. 116526-116551, 2021.

ARNOLDI, A., *et al.* Synthesis, fungicidal activity, and QSAR of a series of 2-dichlorophenyl-3-triazolylpropyl ethers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 2547-2555, 2000.

BALIYAN, Siddartha *et al.* Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of ficus religiosa. **Molecules**, v. 27, n. 4, p. 1326-0, 2022.

BARBOSA, Kiriague Barra Ferreira *et al.* Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER, M.E; BERSER, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v.28, p.25-30, 1995.

BISCHOFF, H. The mechanism of alpha-glucosidase inhibition in the management of diabetes. **Clinical and Investigative Medicine**, v.8, n.4, p.303-11, 1995.

CARLIE, S. MC; BOUCHER, C. E.; BRAGG, R.R. Molecular basis of bacterial disinfectant resistance. **Drug Resistance Updates**, v. 48, p. 100672, 2020.

CHEN, J., *et al.* Mitochondrial reactive oxygen species and type 1 diabetes. **Antioxid Redox Signal**, v.29, n.14, p. 1361-1372, 2018.

Clinical and laboratory Standards Institute (CLSI). Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Four Informational Supplement. Document M11-A07. **Clinical and Laboratory Standards Institute**, 2018.

COLE, J. B.; FLOREZ, J. C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. **Nature Reviews Nephrology**, v. 16, n. 7, p. 377-390, 2020.

DAENEN, K., *et al.* Oxidative stress in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v. 34, n. 6, p. 975-991, 2018.

DEY, A; BOKKA, V; SEN, S. Dependence of bacterial growth rate on dynamic temperature changes. **let Systems Biology**, v. 14, n. 2, p. 68-74, 2020.

D'ERRICO, M., *et al.* The interplay between mitochondrial functionality and genome integrity in the prevention of human neurologic diseases. **Archives Of Biochemistry and Biophysics**, v. 710, p. 108977, 2021.

DOBOSZEWSKI, B; BEZERRA, G. B; AGUIAR, J. S; OLIVEIRA, E. B. Síntese e atividade anticancerígena in vitro de Bis-(2-naftiloxi)-(phenil)-metano, Bis-(4-alil-2-metoxifeniloxi)-metano e acetais mistos R1OCH2OR2 obtidos via química combinatória pela aquilação de diclorometano. Depositante: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Pernambuco. BR 10 2021 011239 5 A2.

Depósito: 10 jun. 2021. Disponível em:

<<https://busca.inpi.gov.br/pePI/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=1614669&SearchParameter=ACETAIS%20%20%20%20%20%20&Resumo=&Titulo=>>>. Acesso em: 27. ago. 2023.

DODSON, J. R., *et al.* Glycerol acetals with antioxidant properties. **Pure And Applied Chemistry**, v. 86, n. 6, p. 905-911, 2014.

DONG, J.; YU, L; XIE, J. A Simple and Versatile Method for the Formation of Acetals/Ketals Using Trace Conventional Acids. **Acs Omega**, v. 3, n. 5, p. 4974-4985, 2018.

DZIEDZIAK, J., *et al.* Impact of arterial hypertension on the eye: a review of the pathogenesis, diagnostic methods, and treatment of hypertensive retinopathy. **Medical Science Monitor**, v. 28, p. 0-0, 7 jan. 2022.

FERREIRA, D. F. **Estatística multivariada**. 2. ed. Lavras: UFLA, 675 p, 2011.

FURKA, A. Combinatorial technology revitalized by DNA-encoding. **Medcomm**, v. 2, n. 3, p. 481-489, 2021.

GALICIA-GARCIA, U., *et al.* Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 21, n. 17, p. 6275, 2020.

GLEN, K. A; LAMONT, L. L. β -lactam resistance in pseudomonas aeruginosa: current status, future prospects. **Pathogens**, v. 10, n. 12, p. 1638, 2021.

GHORANI, H. A., *et al.* Arterial hypertension – Clinical trials update 2021. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 32, n. 1, p. 21-31, 2022.

GUARCIA, B.S., *et al.* Virtual combinatorial chemistry and pharmacological screening: a short guide to drug design. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p.1620, 2022.

GUESSOUM, O. *et al.* Deciphering the Identity of Renin Cells in Health and Disease. **Trends In Molecular Medicine**, v. 27, n. 3, p. 280-292, 2021.

GULCIN, I. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. **Archives Of Toxicology**, v. 94, n. 3, p. 651-715, 2020.

HERRERA-AÑAZCO, P., *et al.* National trends in age-standardized mortality attributable to hypertension in Peru. **Brazilian Journal of Nephrology**, v. 43, n. 3, p. 417-421, 2021.

HU, Y. *et al.* Angiotensin-converting enzyme inhibitor induced cough compared with placebo, and other antihypertensives: a systematic review, and network meta :analysis. **The Journal Of Clinical Hypertension**, v. 25, n. 8, p. 661-688, 2023.

HUEMER, M., *et al.* Antibiotic resistance and persistence—Implications for human health and treatment perspectives. **Embo Reports**, v. 21, n. 12, 2020.

HRUBY, M., *et al.* Chelators for treatment of iron and copper overload: shift from low-molecular-weight compounds to polymers. **Polymers**, v. 13, n. 22, p. 3969, 2021.

JHA, N. G., *et al.* Engineered biosensors for diagnosing multidrug resistance in microbial and malignant cells. **Biosensors**, v. 13, n. 2, p. 235-0, 2023.

KHAN, R., *et al.* From pre-diabetes to diabetes: diagnosis, treatments and translational research. **Medicina**, v. 55, n. 9, p. 546, 2019.

KEIKO, N. A. *et al.* Synthesis and antimicrobial activity of new aldehydes and acetals. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 43, n. 9, p. 20-22, 2009.

KIM, Y. M.; WANG, M. H.; RHEE, H. I. A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. **Carbohydrate Research**, v. 339, p. 715–717, 2004.

KOWALCZYK, P. *et al.* Mitochondrial oxidative stress—a causative factor and therapeutic target in many diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13384, 2021.

KULESA, A., *et al.* Combinatorial drug discovery in nanoliter droplets. **Proceedings Of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 26, p. 6685-6690, 2018.

- KUSKOSKI, E.M., *et al.* Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, n.4, p.726-732, 2005.
- LAKHUNDI, S; ZHANG, K. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: molecular characterization, evolution, and epidemiology. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, 2018.
- LÖFFLER, B; TUCHSCHERR, L. *Staphylococcus aureus* toxins: promoter or handicap during infection? **Toxins**, v. 13, n. 4, p. 287, 2021.
- LE, D. *et al.* Two opposing functions of angiotensin-converting enzyme (ACE) that links hypertension, dementia, and aging. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 22, n. 24, p. 13178, 2021.
- LLOR C., *et al.* New paradigms on antibiotic recommendations for community-acquired infections in Spain. **Aten Primaria**, v. 55, n. 8, 2023.
- MACHADO, U. F. Transportadores de glicose. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 42, n. 6, p. 413-421, 1998.
- MA, C., *et al.* Chlorogenic Acid Derivatives with Alkyl Chains of Different Lengths and Orientations: Potent α -Glucosidase Inhibitors. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, p.6188-6194, 2008.
- MASENGA, S. K. *et al.* Mechanisms of Oxidative Stress in Metabolic Syndrome. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 24, n. 9, p. 7898, 2023.
- MATHELA, C.S; SINGH K.K; GUPTA V.K. Synthesis and in vitro antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 67, n. 4, p. 375-380, 2010.
- MEDEIROS, S. C. G.; CECHINEL-ZANCHETT, C. C. Kombucha: efeitos in vitro e in vivo. **Infarma-Ciências Farmacêuticas**, v. 31, n. 2, p. 73-79, 2019.

MEO, Sergio di; VENDITTI, Paola. Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2020, p. 1-32, 24 2020.

MCARTHUR, D. B. Emerging Infectious Diseases. **Nursing Clinics Of North America**, v. 54, n. 2, p. 297-311, 2019.

MORGALYUK, V. Chemistry of Phosphorylated Formaldehyde Derivatives. Part I. **Molecules**, v. 19, n. 9, p. 12949-13009, 2014.

MOUSTAFA, D. A., *et al.* Peptide-conjugated phosphorodiamidate morpholino oligomers retain activity against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in vivo. **Mbio**, v. 12, n. 1, 2021.

MÜHLBERG, E., *et al.* Renaissance of vancomycin: approaches for breaking antibiotic resistance in multidrug-resistant bacteria. **Canadian Journal Of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 11-16, 2020.

NADARAJAH, K. K. ROS Homeostasis in abiotic stress tolerance in plants. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 21, n. 15, p. 5208, 2020.

NOBARI, H., *et al.* An Overview on How Exercise with Green Tea Consumption Can Prevent the Production of Reactive Oxygen Species and Improve Sports Performance. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, v. 19, n. 1, p. 218, 2021.

NIEDBALA, P; JURCZAK, J. One-Pot parallel synthesis of unclosed cryptands-searching for selective anion receptors via static combinatorial chemistry techniques. **ACS Omega**, v. 5, n. 40, p. 26271-26277, 2020.

NURCHI, V. M., *et al.* Chelating agents in soil remediation: a new method for a pragmatic choice of the right chelator. **Frontiers In Chemistry**, v. 8, 2020.

OLIVEIRA, G.L. Determinação da capacidade antioxidante de produtos naturais in vitro pelo método do DPPH: estudo de revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 17, n. 1, p. 36-44, 2015.

OSTROSKY, E. A. *et al.* Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

Organização Panamericana de Saúde (OPAS). Resistência antimicrobiana. 2023. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/resistencia-antimicrobiana>> Acesso: 15 jun. 2023.

PRAPALERTA, W., *et al.* A New 1,6-Benzoxazocine-5-one Alkaloid isolated from the Aerial Parts of *Peristrophe lanceolaria*. **Natural Product Communications**, v. 9, n.10, p.1433-1435, 2014.

PRIEM, Christoph *et al.* Scaling the Amphiphilic Character and Antimicrobial Activity of Gramicidin S by Dihydroxylation or Ketal Formation. **The Journal Of Organic Chemistry**, v. 82, n. 23, p. 12366-12376, 2017.

POMATTO, L. C. D.; DAVIES, K. J. A. Adaptive homeostasis and the free radical theory of ageing. **Free Radical Biology And Medicine**, v. 124, p. 420-430, 2018.

PONNAM, D., *et al.* Synthesis of cyclic 1,9-acetal derivatives of forskolin and their bioactivity evaluation. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 87, p. 735-744, 2014.

PALIT, P., *et al.* Phase transfer catalyzed synthesis of bis-quinolines: antileishmanial activity in experimental visceral leishmaniasis and in vitro antibacterial evaluation. **European journal of medicinal chemistry**, v. 44, p. 845-853, 2009.

REDONDO M.J., *et al.* Type 1 diabetes in diverse ancestries and the use of genetic risk scores. **Lancet Diabetes Endocrinol**, v. 10, n. 8, p. 597-608, 2022.

REDONDO, M. J., *et al.* The clinical consequences of heterogeneity within and between different diabetes types. **Diabetologia**, v. 63, n. 10, p. 2040-2048, 2020.

RE, R., *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.

RIYAPHAN, J., *et al.* In Silico Approaches to Identify Polyphenol Compounds as α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitors against Type-II Diabetes. **Biomolecules**, v. 11, n. 12, p. 1877, 2021.

ROCA, B.M., *et al.* Avaliação do uso da resazurina em teste de suscetibilidade in vitro frente a *Sporothrix brasiliensis*. **Revista de Ciências da Saúde**, v. 31, n. 2, p.32-37, 2019.

ROTH, N., *et al.* The application of antibiotics in broiler production and the resulting antibiotic resistance in *Escherichia coli*: a global overview. **Poultry Science**, v. 98, n. 4, p. 1791-1804, 2019.

RUFINO, M. S. M., *et al.* Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS•+ (Comunicado técnico online, 128). Fortaleza, CE: Embrapa, 2007.

RYNKOWSKA, A; STEPNIAK, J; KARBOWNIK-LEWINSKA, M. Fenton reaction-induced oxidative damage to membrane lipids and protective effects of 17 β -estradiol in porcine ovary and thyroid homogenates. **International Journal Of Environmental Research And Public Health**, v. 17, n. 18, p. 6841, 2020.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R., *et al.* In vitro antioxidant and metal chelating properties of corm, tepal and leaf from saffron (*Crocus sativus L.*). **Industrial Crops and Products**, v. 39, p. 149–153, 2012.

SANGI, D. P. Estratégias de síntese na descoberta de fármacos: o emprego da síntese orientada pela diversidade estrutural. **Química Nova**, v. 39, n. 8, p. 995-1006, 2016.

SANTOSO, M., *et al.* Synthesis, α -glucosidase inhibition, α -amylase inhibition, and molecular docking studies of 3,3-di(indolyl)indolin-2-ones. **Heliyon**, v. 8, n. 3, e09045, 2022.

SAPOZHNIKOV, S. V. *et al.* Design, synthesis, antibacterial activity and toxicity of novel quaternary ammonium compounds based on pyridoxine and fatty acids. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, v. 211, p. 113100, 2021.

SCHNEIDER, C. D.; DE OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: Mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10(4), p. 308–313, 2004.

SVETLOV, M. S., *et al.* Context-specific action of macrolide antibiotics on the eukaryotic ribosome. **Nature Communications**, v.12, n. 1, p. 2803, 2021.

SILVA, B. V; CASTANHO, M.A.R.B. Resazurin reduction-based assays revisited: guidelines for accurate reporting of relative differences on metabolic status. **Molecules**, v. 28, n.5, p. 2283, 2023.

SILVA, M. F. C. Desenvolvimento de Potenciais Agentes Antibacterianos através de Estratégias Sintéticas Sustentáveis. 2022. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química Medicinal, Departamento de Química, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2022.

SILVA, M. J.; OLIVEIRA, E. B.; AGUIAR, J. S.; NAZARENZO, A. Y.; BEZERRA, G.; DOBOSZEWSKI, B. Synthesis of the acetals R1OCH2OR2 and R1OCH2OR2 by double alkoxylation of dichloromethane via “mini combinatorial” approach and their anticancer activity in the HeLa cell line. **SCIREA Journal of Chemistry**, v. 8, p. 16-26, 2023.

SPARKS, I. L., *et al.* *Mycobacterium smegmatis*: the vanguard of mycobacterial research. **Journal Of Bacteriology**, v. 205, n. 1, 2023.

TIAN, D., *et al.* Prevalence of hypervirulent and carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* under divergent evolutionary patterns. **Emerging Microbes & Infections**, v. 11, n. 1, p. 1936-1949, 2022.

TOOKE, C. L., *et al.* β -lactamases and β -lactamase inhibitors in the 21st century. **Journal Of Molecular Biology**, v. 431, n. 18, p. 3472-3500, 2019.

UAY-GARCÍA, B., *et al.* Virtual combinatorial chemistry and pharmacological screening: a short guide to drug design. **International Journal Of Molecular Sciences**, v. 23, n. 3, p. 1620, 2022.

UNDHEIM, K. Scaffold modifications in erythromycin macrolide antibiotics. a chemical minireview. **Molecules**, v. 25, n.17, p. 3941, 2020.

UCHIDA, D., *et al.* Oxidative stress management in chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma. **Nutrients**, v. 12, n. 6, p. 1576, 2020.

VELLOSA, J. C. R., *et al.* estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal Of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VILLAFUERTE, F. U., *et al.* Effectiveness of a multifactorial intervention, consisting of self-management of antihypertensive medication, self-measurement of blood pressure, hypocaloric and low sodium diet, and physical exercise, in patients with uncontrolled hypertension taking 2 or more antihypertensive drugs. **Medicine**, v. 99, n. 17, p. e19769, 2020.

WU, Y. J; MEANWELL, N. A. Geminal diheteroatomic motifs: some applications of acetals, ketals, and their sulfur and nitrogen homologues in medicinal chemistry and drug design. **Journal of medicinal chemistry**, v.64, n.14, p. 9786-9874, 2021.

WUTS, P.G.M. Green's protective groups in organic synthesis. 5th Ed., Chapter 2, pp.17-471, Wiley, Hoboken, New Jersey, 2014.

YI, X., *et al.* Histone methylation and oxidative stress in cardiovascular diseases. **Oxidative Medicine And Cellular Longevity**, v. 2022, p. 1-15, 2022.

ZABORNIAK, I; MACIOR, A; CHMIELARZ, P. Stimuli-responsive rifampicin-based macromolecules. **Materials (Basel)**, v.13, n.17, p.3843, 2020.

ZHANG, B., *et al.* Role of mitochondrial reactive oxygen species in homeostasis regulation. **Redox Rep**, v. 27, n. 1, p.45-52, 2022.