



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

MARIANA BASTOS DOS SANTOS

**Síntese de aminochalconas e análogos arílicos como agentes antivirais,
antifúngicos e inibidores de mieloperoxidase**

São José do Rio Preto

2015

MARIANA BASTOS DOS SANTOS

**Síntese de aminochalconas e análogos arílicos como agentes antivirais,
antifúngicos e inibidores de mieloperoxidase**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Química junto ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Luis Octavio Regasini

Co-orientadora: Profª. Dra. Paula Rahal

São José do Rio Preto

2015

Santos, Mariana Bastos dos.

Síntese de aminochalconas e análogos arílicos como agentes antivirais, antifúngicos e inibidores de mieloperoxidase / Mariana Bastos dos Santos. -- São José do Rio Preto, 2015

140 f. : il.

Orientador: Luis Octavio Regasini

Coorientador: Paula Rahal

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Química farmacêutica. 2. Chalconas. 3. Agentes antivirais. 4. Antimicóticos. 5. Paracoccidioides brasiliensis. 6. Hepatite C. I. Regasini, Luis Octavio. II. Rahal, Paula. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 615.07

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Mariana Bastos dos Santos

Síntese aminochalconas e análogos arílicos como agentes antivirais,
antifúngicos e inibidores de mieloperoxidase

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de mestre em Química junto ao
Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto
de Biociências, Letras e Ciências Exatas, da
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita
Filho" campus de São José do Rio Preto.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Luis Octavio Regasini
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP

Profª. Dra. Rafaela Salgado Ferreira
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

Profª. Dra. Fatima Pereira de Souza
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP

São José do Rio Preto
20 de fevereiro de 2015

Dedico ao meu pai Antonio Paulo, a
minha mãe Maria Elisa e ao meu irmão
Gustavo, pelo incentivo e apoio
incondicional que sempre me deram.

Agradecimentos

A Deus pela força em todos os momentos.

A minha família, meu pai Antonio Paulo, minha mãe Maria Elisa, meu irmão Gustavo, por todo o apoio que me deram, todo incentivo, por sempre me acompanharem, pela compreensão nos momentos de minha ausência, pela paciência comigo.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Luis Octavio Regasini, por ter confiado a mim a realização deste trabalho, e me orientar mesmo quando ainda estava começando no Ibilce, por me ensinar desde o mais básico que precisei aprender, pelos conselhos, por me mostrar caminhos, por todo o aprendizado que me deu durante esses anos, pelas aventuras, obrigada Luis!

A todos os meus amigos e companheiros que estão e que passaram pelo Laboratório de Química Verde e Medicinal, por caminharem comigo, me ajudarem e me ensinarem; à Beatriz Carvalho e Gabriela Ayusso que também me ajudaram muito na síntese e purificação das substâncias.

A Profª. Dra. Lidia Maria de Almeida Plicas por ter nos fornecido "casa". A Profª. Dra. Vera de Oliveira Tiera e ao Prof. Dr. Marcio Tiera por cederem o laboratório e alguns materiais no início dos experimentos.

Ao Prof. Dr. Valdecir Farias Ximenes por ter me recebido em seu laboratório, por todas as valiosas dicas e discussões. A Dra. Maria Luiza Zeraik por ter me acompanhado mesmo à distância, e por ter me dado todo o suporte necessário para a realização dos experimentos. A Luana, por ter me recebido tão bem, e por ter me ajudado durante toda a realização dos experimentos em Bauru.

A Profª. Dra. Paula Rahal, por todo o suporte e apoio na realização dos experimentos com HCV. Aos alunos Carina Machado Pereira, Jacqueline Farinha Shimizu e Guilherme Rodrigues Fernandes Campos pela realização dos experimentos.

Ao Fabio pela realização dos espectros de RMN, e por estar sempre pronto em nos atender.

A Profª. Dra. Ana Marisa Fusco-Almeida por ter me recebido em seu laboratório e por ter dado suporte na realização dos experimentos. À Luana, Wanessa e Kaila, pelo apoio e realização dos experimentos com fungos.

Aos técnicos, Eliane, Claudinei e Daniela por todo o apoio.

A todos os meus amigos que sempre me apoiaram, e muito me ajudam, obrigada!

Resumo

Chalconas são flavonoides de cadeia aberta, apresentam diversas atividades biológicas e podem ser sintetizadas por várias metodologias, principalmente pela condensação de Claisen-Schmidt. A Hepatite C se apresenta como uma doença de grande incidência na população mundial, e dependendo de seu grau, pode levar a carcinoma hepatocelular. A paracoccidiodomicose, uma micose sistêmica causada por *Paracoccidioides brasiliensis*, tem grande incidência no Brasil, principalmente em pessoas imunodeprimidas, sua forma aguda pode levar a comprometimentos de órgãos como baço e fígado. A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima essencial na resposta imune contra a invasão de patógenos. No estresse oxidativo a atividade clorinante de MPO tem um aspecto negativo, pois está correlacionada a disfunções endoteliais. O presente trabalho teve como objetivo a síntese de três séries de aminochalconas e seus análogos arílicos, com grupos amino nas posições 2', 3' e 4' (anel A), substituintes doadores e aceptores de elétrons no anel B. A fim de avaliar seus efeitos de acordo com as posições dos grupos amino e do bioisosterismo de anel, essas substâncias foram testadas quanto à capacidade de inibição de replicação do HCV, de inibição do crescimento de *P. brasiliensis*, e da inibição da atividade clorinante de MPO. As substâncias foram sintetizadas com rendimentos altos, uma vez que para 79% das substâncias foram superiores a 75%. A substância **LQVM 22** foi capaz de inibir a replicação do HCV em 41%, a $2 \mu\text{mol L}^{-1}$. As substâncias **LQVM 16** e **LQVM 17** demonstraram potente atividade anti-*P. brasiliensis*, exibindo valores de CIM₉₀ de 0,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A substância **LQVM 20** foi um potente inibidor da atividade clorinante de MPO, apresentando CI₅₀ de 0,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Nossos estudos químicos e biológicos de aminochalconas e seus análogos arílicos conduziram a descoberta de *hits*, valiosos protótipos para o desenvolvimento de agentes terapêuticos inovadores.

Palavras-chave: chalconas, antifúngico, *Paracoccidioides brasiliensis*, HCV, mieloperoxidase.

Abstract

Chalcones are open chain flavonoids. They show a broad range of biological activities. These compounds can be synthesized by several methodologies, mainly by Claisen-Schmidt condensation. Hepatitis C is a disease of great incidence in worldwide population, and according to its severity can lead to hepatocellular carcinoma. Paracoccidioidomycosis is a systemic mycosis caused by *Paracoccidioides brasiliensis*, and has a great incidence in Brazil, in immunodeficient patients, its acute form can lead to commitment of organs such as spleen and liver. Myeloperoxidase (MPO) is an essential enzyme in immune response against pathogen invasion. However, the MPO activity has been correlated with some endothelial disfunctions. The present work aimed the synthesis of three series of aminochalcones and the aryl analogues, with amino group at positions 2', 3' and 4' (ring A), and with donors and withdraw electron substituents on B ring. In order to evaluate the effects of the different positions of amino groups and the ring bioisosterism, these substances were evaluated for the inhibition of HCV replication, *P. brasiliensis* growth and chlorinating MPO activity. The substances were synthesised with high yields, once 79% showed yield above 75%. Compound **LQVM 22** was able to inhibit HCV replication in 41%, at 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Compounds **LQVM-16** and **LQVM-17** demonstrated potent anti-*P. brasiliensis* activity, exhibiting MIC_{90} values of 0,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Compound **LQVM-20** was the potentest inhibitor of MPO chlorinate activity, showing IC_{50} of 0,34 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Our chemical and biological studies of aminochalcones, and their aryl analogues led to the discovery of hits, which are valuable prototypes to developing of innovatives therapeutical agents.

Key words: chalcones, antifungal, *Paracoccidioides brasiliensis*, HCV, myeloperoxidase.

Lista de Figuras

Figura 1. Estrutura do Núcleo Chalcônico	21
Figura 2. Reação Geral de Condensação de Claisen-Schmidt na Síntese de Chalconas	21
Figura 3. Acilação de Friedel-Crafts na Síntese de Chalconas	22
Figura 4. Acoplamento de Suzuki na síntese de chalconas pela metodologia de McCarthy	22
Figura 5. Síntese de Chalconas Empregando Trifluoroborato-homoenolato de Potássio e PdCl ₂ (d ^t bpf) com K ₂ CO ₃	23
Figura 6. Estrutura da Aminochalcona 1.....	23
Figura 7. Estrutura do Xantoumol	24
Figura 8. Aminochalconas 3 - 5 e análogo arílico 6 que apresentam atividade fungicida e bactericida.	24
Figura 9. Bioisósteros Clássicos de Anéis (BARREIRO & FRAGA; 2008).....	25
Figura 10. Mieloperoxidase. Esferas rosa, representam Ca ²⁺ , esferas amarelas, Cl ⁻ , estruturas amarelas representam carboidratos, e em verde destaca-se o grupo heme da enzima (SOUBHYE, 2014).....	28
Figura 11. Inibidores de Mieloperoxidase (MPO).....	29
Figura 12. Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt.....	30
Figura 13. Redução do MTT (VALADARES, 2007).....	33
Figura 14. Reação de oxidação do radical 2,2-difenil-1- (2,4,6-trinitrofenil)hidrazila; DPPH.....	35
Figura 15. Viabilidade celular em hepatócitos Huh 7.5, CsA corresponde a ciclosporina A	58
Figura 16. Atividade anti-HCV na presença das substâncias LQVM 8, LQVM 31, LQVM 33 a 10 μmol L ⁻¹	59
Figura 17. Atividade anti-HCV das substâncias a 2 μmol L ⁻¹ , CsA corresponde a ciclosporina A.....	59
Figura 18. Sequestro do radical DPPH	62

Lista de Tabelas

Tabela 1. Atividade contra <i>P. brasiliensis</i> de aminochalconas	60
Tabela 2. Atividade contra <i>P. brasiliensis</i> dos análogos arílicos de aminochalconas	61
Tabela 3. Atividade inibitória de MPO <i>in vitro</i> das aminochalconas	63
Tabela 4. Atividade Inibitória de MPO <i>in vitro</i> dos Análogos Arílicos de Aminochalconas	64
Tabela 5. Resultados de CI ₅₀ para inibição de MPO <i>ex-vivo</i>	65

Lista de Anexos

ANEXO 1. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	73
ANEXO 2. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	73
ANEXO 3. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	74
ANEXO 4. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	74
ANEXO 5. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 600MHz)	75
ANEXO 6. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	75
ANEXO 7. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	76
ANEXO 8. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).	76
ANEXO 9. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 3 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	77
ANEXO 10. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 3 (DMSO- d_6 ; 600MHz)	77
ANEXO 11. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 3 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	78
ANEXO 12. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 3 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	78
ANEXO 13. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 4 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	79
ANEXO 14. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 4 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	79
ANEXO 15. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 4 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	80
ANEXO 16. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 4 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	80
ANEXO 17. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 5 (DMSO- d_6 ; 600MHz)	81
ANEXO 18. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 5 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	81
ANEXO 19. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 5 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	82
ANEXO 20. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 5 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	82
ANEXO 21. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 6 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	83
ANEXO 22. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 6 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	83
ANEXO 23. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 6 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	84
ANEXO 24. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 6 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	84
ANEXO 25. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 7 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)	85
ANEXO 26. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 7 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)	85
ANEXO 27. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 7 (DMSO- d_6 ; 120 MHz)	86

ANEXO 28. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 7 (DMSO- d_6 ; 120 MHz)	86
ANEXO 29. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 8 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	87
ANEXO 30. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 8 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	87
ANEXO 31. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 8 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	88
ANEXO 32. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 8 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	88
ANEXO 33. Espectro de RMN ^1H da substância LQVM 9 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	89
ANEXO 34. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 9 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	89
ANEXO 35. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 9 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	90
ANEXO 36. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 9 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	90
ANEXO 37. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 10 (DMSO- d_6 ; 600MHz)	91
ANEXO 38. ... Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 10 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	91
ANEXO 39. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 10 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ...	92
ANEXO 40. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 10 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ...	92
ANEXO 41. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 11 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	93
ANEXO 42. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 11 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	93
ANEXO 43. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 11 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ...	94
ANEXO 44. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 11 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	94
ANEXO 45. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 12 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ...	95
ANEXO 46. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 12 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	95
ANEXO 47. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 12 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ...	96
ANEXO 48. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 12 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	96
ANEXO 49. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 13 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ...	97
ANEXO 50. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 13 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	97
ANEXO 51. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 13 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ...	98
ANEXO 52. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 13 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	98
ANEXO 53. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 14 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ...	99
ANEXO 54. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância 14 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	99
ANEXO 55. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 14 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	100
ANEXO 56. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 14 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	100

ANEXO 57. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 15 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	101
ANEXO 58... Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 15 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	101
ANEXO 59. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 15 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	102
ANEXO 60. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 15 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	102
ANEXO 61. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 16 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	103
ANEXO 62. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 16 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	103
ANEXO 63. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 16 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	104
ANEXO 64. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 16 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	104
ANEXO 65. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 17 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	105
ANEXO 66. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 17 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	105
ANEXO 67. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 17 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	106
ANEXO 68... Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 17 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	106
ANEXO 69. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 18 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	107
ANEXO 70. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 18 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	107
ANEXO 71. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 18 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	108
ANEXO 72. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 18 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	108
ANEXO 73. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 19 (DMSO- d_6 ; 600MHz) ...	109
ANEXO 74. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 19 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	109
ANEXO 75. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 19 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	110
ANEXO 76. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 19 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	110
ANEXO 77. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 20 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	111
ANEXO 78. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 20 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	111
ANEXO 79. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 20 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	112
ANEXO 80. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 20 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	112
ANEXO 81. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 21 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	113
ANEXO 82. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 21 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	113
ANEXO 83. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 21 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	114
ANEXO 84. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 21 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	114
ANEXO 85. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 22 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	115
ANEXO 86. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 22 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	115

ANEXO 87. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 22 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	116
ANEXO 88. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 22 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ..	116
ANEXO 89. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 23 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	117
ANEXO 90. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 23 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	117
ANEXO 91. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 23 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) .	118
ANEXO 92. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 23 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) ..	118
ANEXO 93. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 24 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	119
ANEXO 94. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 24 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	119
ANEXO 95. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 24 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) .	120
ANEXO 96. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 24 (DMSO- d_6 ; 150 MHz) ..	120
ANEXO 97. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 25 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	121
ANEXO 98. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 25 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	121
ANEXO 99. Ampliação da região de 7,4 a 8,1 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 25 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	122
ANEXO 100. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 25 (DMSO- d_6 ; 120 MHz).....	122
ANEXO 101. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 25 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) ..	123
ANEXO 102. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 26 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	123
ANEXO 103. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 26 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	124
ANEXO 104. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 26 (DMSO- d_6 ; 120 MHz).....	124
ANEXO 105. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 26 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) ..	125
ANEXO 106. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 27 (DMSO- d_6 ; 400 MHz).....	125
ANEXO 107. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 27 (DMSO- d_6 ; 400 MHz) ..	126
ANEXO 108. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 27 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) ..	126
ANEXO 109. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 27 (DMSO- d_6 ; 120 MHz) ..	127
ANEXO 110. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 28 (DMSO- d_6 ; 600 MHz).....	127
ANEXO 111. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 28 (DMSO- d_6 ; 600 MHz) ..	128
ANEXO 112. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 28 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	128

ANEXO 113. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 28 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	129
ANEXO 114. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 29 (DMSO- d_6 ; 400 MHz)	129
ANEXO 115. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 29 (DMSO- d_6 ; 600MHz)	130
ANEXO 116. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 30 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	131
ANEXO 117. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 30 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	131
ANEXO 118. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 30 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	132
ANEXO 119. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 30 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	132
ANEXO 120. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 31 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	133
ANEXO 121. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 31 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	133
ANEXO 122. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 31 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	134
ANEXO 123. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 31 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	134
ANEXO 124. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 32 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	135
ANEXO 125. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 32 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	135
ANEXO 126. Ampliação da região de 7,55 a 8,10 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 32 (DMSO- d_6 ; 600 MHz).....	136
ANEXO 127. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 32 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	136
ANEXO 128. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 32 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	137
ANEXO 129. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 33 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	137
ANEXO 130. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 33 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	138
ANEXO 131. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 33 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	138
ANEXO 132. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 33 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	139
ANEXO 133. Espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 34 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	139
ANEXO 134. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância LQVM 34 (DMSO- d_6 ; 600 MHz)	140
ANEXO 135. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 34 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).....	140
ANEXO 136. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 34 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)	141

Lista de abreviaturas e símbolos

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

CC-FN - Cromatografia em Coluna de Fase Normal

CC-FR - Cromatografia em Coluna de Fase Reversa

CE₅₀ - concentração efetiva capaz de causar efeito em 50% de indivíduos

CI₅₀ - concentração capaz de causar 50% de inibição em um sistema específico

CIM - Concentração Inibitória Mínima

CPG - Cromatografia de Permeação em Gel

CsA - ciclosporina A

δ - deslocamento químico

d - dubleto

dd - duplo dubleto

ddd - duplo duplo dubleto

DMSO-*d*₆ - dimetilsulfóxido hexadeuterado

DPPH - 2,2-difenil-1- (2,4,6-trinitrofenil)hidrazil

ERO's - Espécies Reativas de Oxigênio

HDL – *High Density Lipoprotein*

HCV - "Hepatitis C Virus", vírus da hepatite C

IFN- α - Interferon Alfa

J - constante de acoplamento

LDL – *Low Density Lipoprotein*

m - múltiplo

MPO - mieloperoxidase

MTT - brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]

PBS - solução tamponante de fosfato salino, contendo cloreto de potássio e fosfato de potássio

PMA - acetato miristato de forbol

PMNs - polimorfonucleados

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

RNAm - RNA mensageiro

RPMI - meio de cultura contendo bicarbonato de sódio, aminoácidos e vitaminas

Rf - fator de retardamento

s - singleto

SAR - "structure-activity relationship" - relação estrutura atividade

SGR-Luc-JFH-1 FEO - proteína fosfotransferase de fusão luciferase-neomicina

sl - singleto largo

RVS - Resposta Viroológica Sustentada

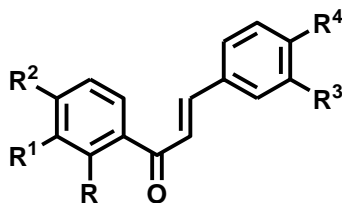
t – tripleto

TMB - 3,3',5,5' - tetrametilbenzidina

TnCl - radical taurina-cloramina

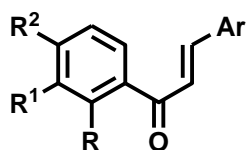
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

Aminochalconas



	Substância	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴
Série I	LQVM 1	NH ₂	H	H	H	H
	LQVM 2	NH ₂	H	H	NO ₂	H
	LQVM 3	NH ₂	H	H	H	Br
	LQVM 4	NH ₂	H	H	H	CN
	LQVM 5	NH ₂	H	H	H	Cl
	LQVM 6	NH ₂	H	H	H	F
	LQVM 7	NH ₂	H	H	H	CH ₃
	LQVM 8	NH ₂	H	H	H	OCH ₃
	LQVM 9	NH ₂	H	H	H	NO ₂
	LQVM 10	NH ₂	H	H	H	CF ₃
Série II	LQVM 11	H	NH ₂	H	H	H
	LQVM 12	H	NH ₂	H	H	Cl
Série III	LQVM 13	H	H	NH ₂	H	H
	LQVM 14	H	H	NH ₂	NO ₂	H
	LQVM 15	H	H	NH ₂	H	Br
	LQVM 16	H	H	NH ₂	H	CN
	LQVM 17	H	H	NH ₂	H	Cl
	LQVM 18	H	H	NH ₂	H	F
	LQVM 19	H	H	NH ₂	H	CH ₃
	LQVM 20	H	H	NH ₂	H	OCH ₃
	LQVM 21	H	H	NH ₂	H	NO ₂
	LQVM 22	H	H	NH ₂	H	CF ₃

Análogos Arílicos de Aminochalconas



Substância	R	R ¹	R ²	Ar	
Série I	LQVM 23	NH ₂	H	H	
	LQVM 24	NH ₂	H	H	
	LQVM 25	NH ₂	H	H	
	LQVM 26	NH ₂	H	H	
	LQVM 27	NH ₂	H	H	
Série II	LQVM 28	H	NH ₂	H	
	LQVM 29	H	NH ₂	H	
Série III	LQVM 30	H	H	NH ₂	
	LQVM 31	H	H	NH ₂	
	LQVM 32	H	H	NH ₂	
	LQVM 33	H	H	NH ₂	
	LQVM 34	H	H	NH ₂	

Sumário

1.	Introdução.....	21
1.1	Síntese e Atividade Biológica de Chalconas.....	21
1.2	Química Medicinal e Bioisosterismo de Anéis.....	24
1.3	Hepatite C e o Vírus da Hepatite C (HCV).....	25
1.4	Paracoccidiodomicose.....	26
1.5	Mieloperoxidase (MPO) e Processos Inflamatórios.....	27
2.	Objetivos.....	29
3.	Materiais e Métodos.....	30
3.1	Procedimentos de Síntese.....	30
3.2	Métodos Cromatográficos.....	30
3.2.1	Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	30
3.2.2	Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (CC-FR).....	31
3.2.3	Cromatografia em Coluna de Fase Normal (CC-FN).....	31
3.2.4	Cromatografia de Permeação em Gel (CPG).....	31
3.3	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear.....	32
3.4	Atividade Citotóxica e Anti-HCV.....	32
3.4.1	Atividade Citotóxica - Viabilidade Celular de Hepatócitos Humanos.....	32
3.4.2	Inibição da replicação de HCV - Ensaio de Luciferase.....	33
3.5	Atividade Antifúngica - Inibição do Crescimento de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> 34	
3.6	Capacidade Antioxidante.....	35
3.7	Inibição da Atividade Clorinante de Mieloperoxidase (MPO).....	36
3.7.1	Avaliação da Capacidade de Sequestro do Radical Taurina-Cloramina.....	36
3.7.2	Ensaio de Inibição <i>in vitro</i> da Atividade Clorinante de MPO.....	37
3.7.3	Ensaio de Inibição <i>ex vivo</i> da Atividade Clorinante de MPO.....	37
4.	Resultados e Discussão.....	39
4.1	Resultados das Sínteses.....	39
4.1.1	Substância LQVM 1	40
4.1.2	Substância LQVM 2	41
4.1.3	Substância LQVM 3	41
4.1.4	Substância LQVM 4	42

4.1.5	Substância LQVM 5	42
4.1.6	Substância LQVM 6	43
4.1.7	Substância LQVM 7	43
4.1.8	Substância LQVM 8	44
4.1.9	Substância LQVM 9	44
4.1.10	Substância LQVM 10	45
4.1.11	Substância LQVM 11	45
4.1.12	Substância LQVM 12	46
4.1.13	Substância LQVM 13	46
4.1.14	Substância LQVM 14	47
4.1.15	Substância LQVM 15	47
4.1.16	Substância LQVM 16	48
4.1.17	Substância LQVM 17	48
4.1.18	Substância LQVM 18	49
4.1.19	Substância LQVM 19	49
4.1.20	Substância LQVM 20	50
4.1.21	Substância LQVM 21	50
4.1.22	Substância LQVM 22	51
4.1.23	Substância LQVM 23	51
4.1.24	Substância LQVM 24	52
4.1.25	Substância LQVM 25	52
4.1.26	Substância LQVM 26	53
4.1.27	Substância LQVM 27	53
4.1.28	Substância LQVM 28	54
4.1.29	Substância LQVM 29	54
4.1.30	Substância LQVM 30	55
4.1.31	Substância LQVM 31	55
4.1.32	Substância LQVM 32	56
4.1.33	Substância LQVM 33	56
4.1.34	Substância LQVM 34	57
4.2	Avaliação da Atividade Anti-HCV	57
4.3	Avaliação da Atividade Antifúngica contra <i>Paracoccidiodes brasiliensis</i>	60
4.4	Avaliação da Capacidade Antioxidante	62

4.5	Avaliação da Inibição <i>in vitro</i> da Atividade Clorinante de MPO	62
4.6	Avaliação da Inibição <i>ex-vivo</i> da Atividade Clorinante de MPO	64
5.	Conclusões	66
6.	Referências Bibliográficas.....	67

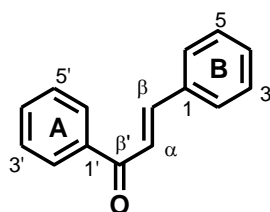
1. Introdução

1.1 Síntese e Atividade Biológica de Chalconas

Os flavonoides são substâncias biossintetizadas a partir da via mista do acetato e do chiquimato, sendo caracterizados por um esqueleto $C_6C_3C_6$. São substâncias presentes em plantas e são relacionados às funções de crescimento, desenvolvimento, proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias (ZUANAZZI; 2001).

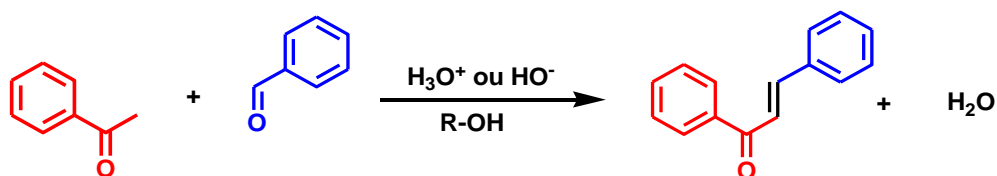
As chalconas compreendem a classe de flavonoides precursora das demais, apresentam cadeia aberta com uma cetona α,β -insaturada (Figura 1, p. 21), e demonstram um amplo espectro de atividades biológicas, tais como antimicrobiana, anti-inflamatória e antitumoral (PRASHAR; 2012).

Figura 1. Estrutura do Núcleo Chalcônico



Chalconas podem ser sintetizadas por diversas metodologias. Convencionalmente, as metodologias mais utilizadas envolvem a condensação aldólica de Claisen-Schmidt (BUCKARI, 2013). Essa reação ocorre entre um aldeído aromático e uma acetofenona, sendo que o método mais utilizado envolve catálise homogênea ácida ou básica, tendo alcoois alquílicos como solventes (Figura 2, p. 21).

Figura 2. Reação Geral de Condensação de Claisen-Schmidt na Síntese de Chalconas



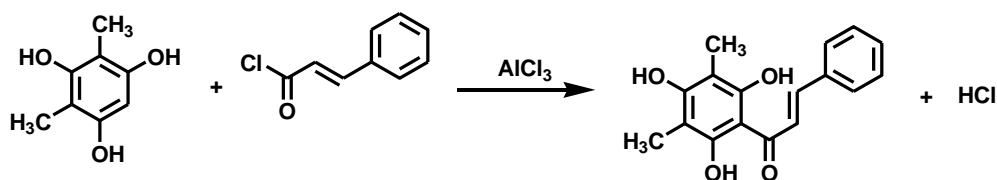
Existem variações de metodologias para síntese de chalconas que se utilizam da condensação de Claisen-Schmidt, tais como; (i) *Grinding*: reação mecanoquímica sob catálise de NaOH (ZANGADE, 2011); (ii) K_2CO_3 anidro em pastilhas com ativação por

microondas (JAYAPAL, 2010); **(iii)** Catálise heterogênea; empregando catalisadores sólidos reutilizáveis, tais como argila hidrotalcita ativada, hidroxiapatita, zeólitas, e fosfato de zircônio mesoporoso; e utilizando catalisador líquido, líquido iônico sulfuroso, reutilizado (BUCKARI, 2013).

As chalconas também podem ser sintetizadas por metodologias que não envolvam a reação de condensação de Claisen-Schmidt, a partir de cloretos de acila, envolvendo diferentes mecanismos tais como;

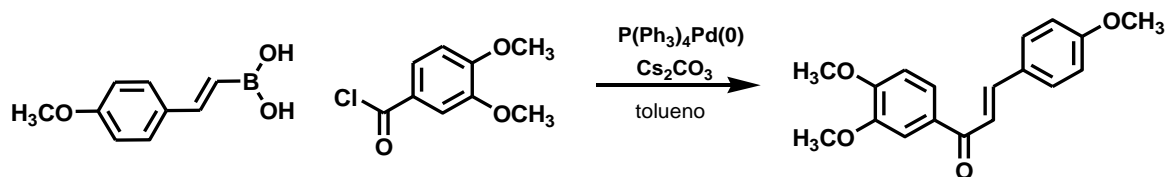
a) Acilação de Friedel-Crafts: acilação que utiliza um derivado fluoroglucínico (Figura 3, p. 22) (BUCKARI, 2013);

Figura 3. Acilação de Friedel-Crafts na Síntese de Chalconas



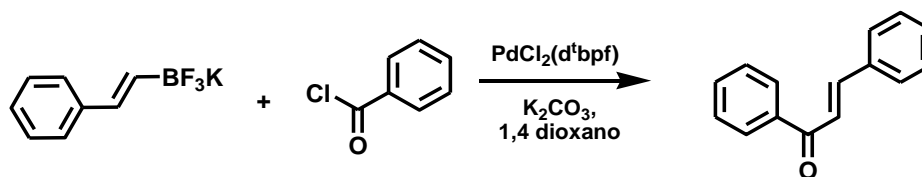
b) Acoplamento de Suzuki: foi desenvolvido primeiramente pela aplicação da metodologia de McCarthy que utiliza ácido borônico, cloreto de benzoíla, e paládio em meio básico, com cinco equivalentes de Cs_2CO_3 (Figura 4, p. 22) (EDDARIR, 2003).

Figura 4. Acoplamento de Suzuki na síntese de chalconas pela metodologia de McCarthy



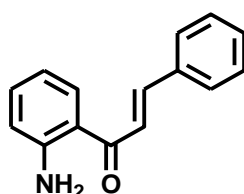
Foram desenvolvidas metodologias de acoplamento de Suzuki que envolviam catalisadores e solventes alternativos aos empregados na metodologia de McCarthy assim como permitiam a permuta do ácido borônico por trifluorboratohomoenolato de potássio (MOLANDER, 2008). Sendo assim a síntese de chalconas também se mostrou possível por essa alternativa (Figura 5, p. 23), empregando radiação de microondas, K_2CO_3 , e dioxano como solvente (AL-MASUM, 2010).

Figura 5. Síntese de Chalconas Empregando Trifluoroborato-homoenolato de Potássio e $\text{PdCl}_2(\text{d}^t\text{bpf})$ com K_2CO_3



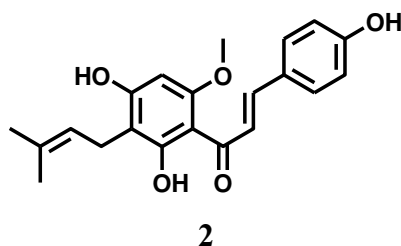
As chalconas apresentam diferentes atividades biológicas tais como antiviral, anti-inflamatória e antifúngica. As chalconas com grupos amino no anel A (aminochalconas), começaram a ser estudadas como agentes citotóxicos, primeiramente com base no fato de que as células cancerígenas têm pH citoplasmático inferior ao das células normais (DIMMOCK, 2003). Mai e colaboradores (2014) demonstraram que a aminochalcona **1** (Figura 6, p. 23) apresenta atividade citotóxica potente para diversas linhagens de células cancerígenas humanas incluindo mama, pulmão, eritromieloblastóide e coloretal. A aminochalcona **1** demonstrou maior seletividade para essas linhagens de células cancerígenas do que para as células normais de rim de humano (HEK-293). A elevada citotoxicidade desta aminochalcona está relacionada à apoptose precoce comum às células cancerígenas, devido à sua interação com receptores de TNF- α (MAI et al., 2014).

Figura 6. Estrutura da Aminochalcona **1**



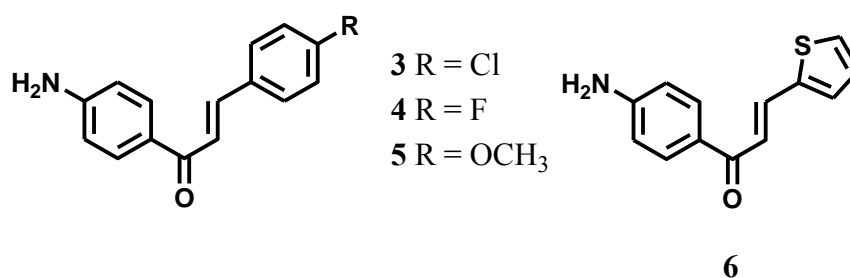
A chalcona **2** (Figura 7, p. 24), conhecida como xantoumol, isolada de *Humulus lupulus*, apresentou potente atividade contra o vírus da hepatite C (HCV). O tratamento da hepatite C pode ser realizado com uso de interferona- α (IFN- α), biofármaco empregado em associação com ribavirina e inibidores enzimáticos de HCV. O tratamento com esses fármacos apresenta eficácia limitada. Nesse estudo, o xantoumol apresentou sua potência anti-HCV similar ao IFN- α (LOU, 2013; XIA, 2000).

Figura 7. Estrutura do Xantoumol



As aminochalconas têm demonstrado atividade antimicrobiana similar ou superior aos fármacos antibacterianos e antifúngicos (PRASAD, 2009). As aminochalconas **3** - **5** (Figura 8, p. 24) demonstraram-se mais potentes do que a penicilina G contra *Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris* e *Escherichia coli*. A aminochalcona **3** apresenta-se com potência superior para *E. coli*, sendo similar à amicacina (PRASAD, 2009). A substância **6** (Figura 8, p. 24) demonstrou atividade contra o fungo *Aspergillus fumigatus*, sendo mais potente do que o fluconazol (HUSSAIN, 2011).

Figura 8. Aminochalconas **3** - **5** e análogo arílico **6** que apresentam atividade fungicida e bactericida.



1.2 Química Medicinal e Bioisosterismo de Anéis

A Química Medicinal é a parte da ciência que se dedica ao estudo das razões moleculares da ação dos fármacos, e da relação entre a estrutura química e suas atividades farmacológicas. Essa ciência também abrange a descoberta de substâncias *hits* e candidatos a se tornarem fármacos (BARREIRO & FRAGA, 2008).

O planejamento racional de fármacos permite investigar *hits*, a partir do conhecimento do alvo, pela realização de triagens reais ou virtuais de um banco de

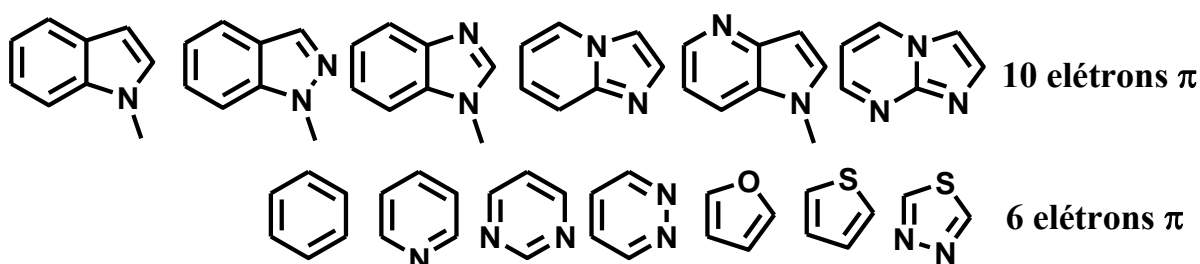
substâncias que permitam o estudo Structure Activity Relationship (SAR) (GUIDO et al., 2010).

Um composto líder pode ser desenvolvido por modificações de propriedades físico-químicas de *hits*, potencializando sua atividade biológica da substância (KELLER; 2007). Para otimizar a bioatividade de um hit pode se empregar o planejamento racional, que inclui o uso de ferramentas da Química Medicinal, tais como bioisosterismo, homologação, restrição conformacional, simplificação molecular e hibridação molecular (BARREIRO; 2001).

O bioisosterismo é uma ferramenta usada no planejamento racional de fármacos com a finalidade de modificar algumas propriedades físico-químicas de uma substância, alterando sua farmacocinética, mantendo ou potencializando sua atividade biológica (BARREIRO & FRAGA; 2008).

O bioisosterismo clássico consiste na permuta de grupos funcionais que apresentem a mesma quantidade de elétrons em sua camada de valência. No bioisosterismo clássico de anéis a permuta deve manter a quantidade de elétrons π (Figura 9; p. 25). No bioisosterismo não-clássico, os grupos que podem ser permutados não apresentam a mesma quantidade de elétrons na camada de valência. (BARREIRO; LIMA; 2005).

Figura 9. Bioisósteros Clássicos de Anéis (BARREIRO & FRAGA; 2008).



1.3 Hepatite C e o Vírus da Hepatite C (HCV)

O vírus da Hepatite C (HCV) se apresenta como uma das principais causas de doenças hepáticas, podendo causar infecções agudas ou crônicas. Atualmente estima-se que cerca de 185 milhões de pessoas estejam infectadas pelo HCV (2 a 3% da população mundial). Desses, estima-se que 80% desenvolvem o quadro crônico, e 25% podem

desenvolver cirrose hepática, e nos casos mais extremos carcinoma hepatocelular (KOHLI, 2014).

A doença tem como forma de contágio o contato com o sangue de pessoas infectadas, sendo a principal rota de transmissão o contato parental. Os grupos de maior risco compreendem os usuários de drogas injetáveis, assim como pacientes que requerem múltiplas transfusões sanguíneas (MUNIR, 2010).

O tratamento da hepatite C foi iniciado, antes do conhecimento da estrutura do HCV, em 1986, com a interferona- α (IFN- α). Essa glicoproteína não atua diretamente no ciclo viral, mas atua ligando-se a receptores gangliosídicos do hospedeiro que induz a produção de enzimas que inibem a tradução do RNAm das proteínas virais, inibindo o ciclo viral (HOOFNAGLE; 2005; RANG & DALE; 2011). Atualmente, o tratamento da hepatite C se baseia na (IFN- α) em associação com fármacos micromoleculares que aumentam sua atividade, uma vez que a Resposta Viroológica Sustentada (RVS - Níveis séricos indetectáveis de RNA do HCV durante o tratamento e nos seis meses seguintes) (LIANG; 2013) da monoterapia era de 12% dos pacientes tratados; e o uso da IFN- α peguilada (ligada a uma cadeia de polietileno glicol) associado a ribavirina, um análogo de guanosina, aumentou essa taxa para 35-40% (HOOFNAGLE; 2014).

O HCV apresenta seis tipos de genótipos que respondem diferencialmente aos tratamentos, sendo o genótipo mais comum o G1. Atualmente há indicações de terapia tripla para o tratamento da hepatite C, onde se faz uso de fármacos, como declatasvir, simeprevir, teleprevir, boceprevir e sofosbuvir que atuam diretamente na replicação do vírus, tendo como alvos as proteases não-estruturais (NS3, NS4A, NS5A e NS5B), aumentando assim as taxas de RVS (KOHLI, 2014).

A terapia dupla com IFN- α e ribavirina apresenta efeitos adversos como anemias, neutropenia e trombocitopenia; sendo que há possibilidade desenvolvimento de resistência (MUNIR, 2010). A terapia tripla apresenta efeitos adversos severos, como no caso do uso de boceprevir, é comum ocorrência de alterações no paladar; e do teleprevir podem ocorrer erupções cutâneas e desconforto intestinal (LIANG; 2013).

1.4 Paracoccidioidomicose

Paracoccidioides brasiliensis é um fungo dimórfico, presente no solo na forma micelar à temperatura ambiente, e como levedura a 37 °C. Dos casos mundiais de

paracoccidiodomicose, causados por *P. brasiliensis*, 85% ocorrem no Brasil (ANDRADE; 2005).

A infecção por *Paracoccidioides brasiliensis* ocorre pela inalação de conídeos presentes no solo, em seguida há migração do fungo para os pulmões se estabelecendo posteriormente o complexo primário. Após tais estágios, o fungo pode ficar latente durante anos, apresentando assim o quadro crônico da doença. No caso de indivíduos imunodeprimidos, a levedura pode se espalhar por todo o sistema linfático promovendo o desenvolvimento da doença em diferentes órgãos (FABRIS; 2014).

Os sintomas clínicos da paracoccidiodomicose são diferentes, de acordo com a localização do fungo. No pulmão, *P. brasiliensis* provoca tosse crônica e dor torácica. No tecido muco-cutâneo causa ulcerações na boca, faringe, laringe e lesões na pele (SILVA; 2007).

O tratamento pode ser realizado com sulfonamidas, que atuam bloqueando a formação do ácido fólico e impedindo o crescimento fúngico, conduzindo a trombocitopenia e a leucopenia. Como uma segunda opção no tratamento está o uso da anfotericina B, que impede a multiplicação do fungo alterando a permeabilidade da parede celular, apresentando taxas de cura de até 60% dos indivíduos, e apresenta severos efeitos adversos. Como alternativa, há ainda o uso de derivados azólicos (MENEZES; 2009).

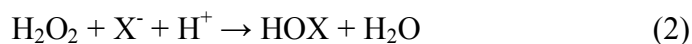
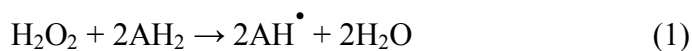
1.5 Mieloperoxidase (MPO) e Processos Inflamatórios

No processo inflamatório ocorre a migração de leucócitos fagocitários, sendo um processo-chave na resposta imune do organismo contra invasão de patógenos. As primeiras células a serem estimuladas são os leucócitos polimorfonucleados (PMNs), ou neutrófilos (DAVIES; 2010).

A mieloperoxidase (MPO) é a proteína mais abundante presente nos neutrófilos, estando presente nos grânulos intracelulares conhecidos como azurófilos. A MPO é liberada nos fagossomos contendo o organismo patogênico, onde realiza o *burst* oxidativo produzindo uma grande quantidade de espécies reativas de oxigênio (EROs) úteis na destruição dos microrganismos (NUSSBAUM; 2013).

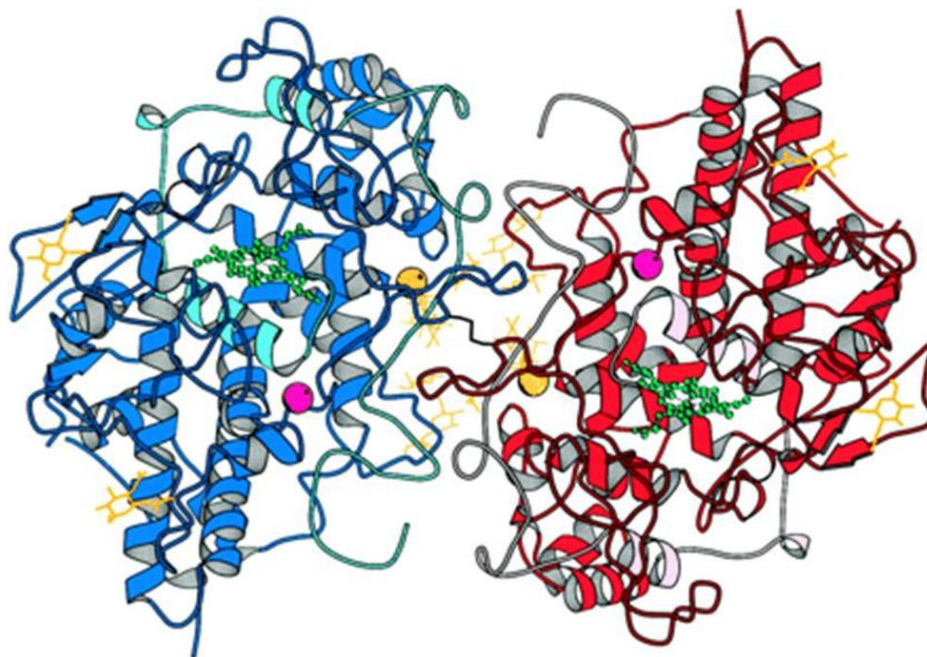
A mieloperoxidase (Figura 10, p. 28) é uma hemeperoxidase, composta por dois monômeros idênticos de aproximadamente 73 KDa (uma subunidade representada pela cor azul e outra vermelha, Figura 10, p. 28) (LAU & BALDUS; 2006; DAVIES; 2010). Ela

desempenha duas atividades catalíticas principais, a peroxidação (Equação 1) e halogenação (Equação 2).



Onde X representa os íons SCN^- , I^- , Br^- e principalmente Cl^- . O ácido hipocloroso (HOCl) é o agente oxidante formado mais potente na ação contra os microrganismos, uma vez que pode clorinar algumas biomoléculas, como proteínas, lipídios e ácidos nucleicos (RAMIREZ-DURAN; 2013).

Figura 10. Mieloperoxidase. Esferas rosa, representam Ca^{2+} , esferas amarelas, Cl^- , estruturas amarelas representam carboidratos, e em verde destaca-se o grupo heme da enzima (SOUBHYE, 2014)

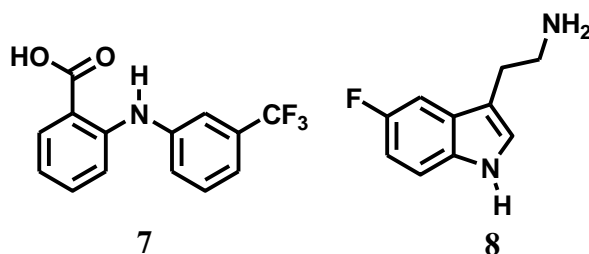


A MPO pode ser liberada no meio extracelular durante o *burst* oxidativo, gerando seus produtos capazes de causar disfunções endoteliais. Dentre essas disfunções destaca-se a ocorrência da placa artereosclerótica (ANATOLIOTAKIS; 2013). Na formação da placa artereosclerótica a MPO altera o metabolismo do óxido nítrico, diminuindo a vasodilatação. O HOCl por ela formado, provoca a oxidação de LDL e HDL, o que resulta em depósito de colesterol e formação de células espumosas na parede arterial (WENDLAND; 2009; ROMAN, 2007).

O mecanismo de ação da MPO é complexo e ocorre na cavidade heme distal (estrutura em verde, Figura 10, p. 28), sendo baseado principalmente na oxidação e redução de três componentes principais, o peróxido de hidrogênio H_2O_2 , Cl^- e a enzima nativa (MALLE; 2007; SOUBHYE, 2014).

Dois importantes inibidores reversíveis de MPO, são o ácido flufenâmico (7), que possui alta toxicidade, e a 5-fluortriptamina (8) (Figura 11, p. 29), um potente inibidor *in vitro*, mas que atua também como agonista nos receptores de serotonina (TEMBE; 1993; SOUBHYE; 2010).

Figura 11. Inibidores de Mieloperoxidase (MPO)



2. Objetivos

Objetivo Geral

O objetivo geral desta dissertação foi a síntese de chalconas contendo o grupo amino no anel A e investigação de suas atividades biológicas.

Objetivos Específicos

A) Síntese de três séries de aminochalconas e seus análogos arílicos pela condensação de Claisen-Schmidt.

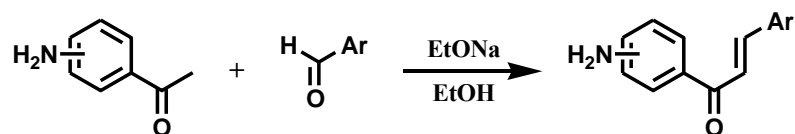
B) Avaliação das atividades biológicas das aminochalconas incluindo anti-HCV, inibição de MPO e anti-*P. brasiliensis*.

3. Materiais e Métodos

3.1 Procedimentos de Síntese

As substâncias foram sintetizadas utilizando a condensação aldólica de Claisen-Schmidt, sob catálise de etóxido de sódio e etanol como solvente (Figura 12, p. 30).

Figura 12. Condensação Aldólica de Claisen-Schmidt



Em um balão monotubulado, foram adicionados 5 mmol das respectivas aminoacetofenonas dissolvidas em 5,0 mL de solução etanólica de hidróxido de sódio a 1,0 mol L⁻¹, sob banho de gelo e agitação constante. Foram solubilizados 5 mmol dos aldeídos em 10,0 mL de etanol, e adicionados ao meio reacional. As reações foram mantidas sob agitação constante, à temperatura ambiente, até ser constatada a conversão total dos reagentes.

Os meios reacionais foram vertidos em gelo triturado, formando um precipitado, o qual foi mantido a 7 °C por 24 h. O precipitado foi submetido à filtração simples e seco à temperatura ambiente por 48 h.

Nos casos em que não houve precipitado, o meio reacional, foi submetido à extração líquido-líquido, empregando acetato de etila e água destilada como contra-fase. A fase orgânica foi seca à temperatura ambiente.

3.2 Métodos Cromatográficos

3.2.1 Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Para o acompanhamento das reações e análise de pureza dos produtos brutos foi realizada Cromatografia em Camada Delgada, em placas cromatográficas de gel de sílica sob base de alumínio.

As placas foram desenvolvidas em hexano e acetato de etila, em proporções de acordo com a polaridade dos analitos. As cromatoplasmas foram reveladas sob lâmpadas de ultravioleta, em 254 nm e 365 nm, e em solução etanólica de anisaldeído sulfúrico seguida de aquecimento. A solução de anisaldeído sulfúrico foi preparada pela adição de 2,0 mL de *p*-anisaldeído em 20,0 mL de ácido acético, seguida da adição de 10 mL de ácido sulfúrico e 170 mL de etanol.

3.2.2 Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (CC-FR)

Para as purificações por Cromatografia em Coluna de Fase Reversa (CC-FR), empregou-se fase estacionária de octadecilsilano (ODS - C18), e misturas de etanol e água como fase móvel, com gradientes de concentração variando de 80% à 10% de água, sob pressão reduzida de 30 mbar.

As substâncias **LQVM 6, LQVM 15, LQVM 17, LQVM 18, LQVM 20, LQVM 22, LQVM 30, LQVM 31 e LQVM 34** foram purificadas por CC-FR.

3.2.3 Cromatografia em Coluna de Fase Normal (CC-FN)

As purificações realizadas em coluna de fase normal foram feitas empregando gel de sílica com tamanho de partícula de 100 a 200 Mesh (Sigma-Aldrich®), e fases móveis de misturas de hexano e acetato de etila.

As aminochalconas **LQVM 1, LQVM 3, LQVM 4, LQVM 5, LQVM 8, LQVM 11, LQVM 12, LQVM 13, LQVM 19, LQVM 24 e LQVM 28** foram purificadas por CC-FN, para as substâncias **LQVM 13 e LQVM 19** foi utilizada eluição gradiente variando de 85% a 30% de hexano, para as demais foi utilizada modo isocrático de eluição de 95% hexano e 5% de acetato de etila em acordo com os fatores de retardamento (Rf) obtidos das análises de CCD.

3.2.4 Cromatografia de Permeação em Gel (CPG)

A aminochalcona **LQVM 10** foi purificada por Cromatografia de Permeação em Gel, empregando-se LH-20 (Sephadex®), 120 × 3 cm usando etanol como fase móvel.

3.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear

Para confirmação da estrutura das substâncias foram realizados experimentos de espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), de Carbono Treze (RMN de ^{13}C) e de Hidrogênio (RMN de ^1H).

Os espectros foram obtidos no Centro Multiusuário de Inovação Biomolecular (CMIB), em Espectrômetros Bruker Avance III, de 14,0 Tesla (600 MHz), e de 9,4 Tesla (400 MHz). As substâncias foram solubilizadas em dimetilsulfóxido hexadeuterado (DMSO- d_6).

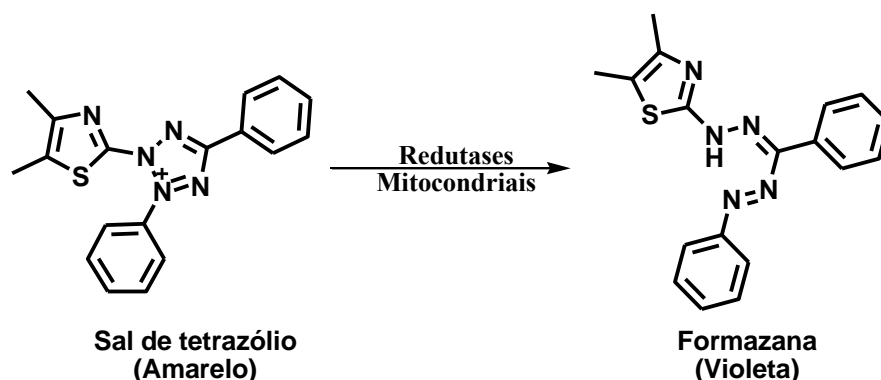
3.4 Atividade Citotóxica e Anti-HCV

Os ensaios foram realizados em colaboração com o Centro de Estudos Genômicos, Departamento de Biologia, Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, Unesp-Ibilce; pelos alunos Carina Machado Pereira, Jacqueline Farinha Shimizu e Guilherme Rodrigues Fernandes Campos sob coordenação da Profa. Dra. Paula Rahal, co-orientadora no projeto.

3.4.1 Atividade Citotóxica - Viabilidade Celular de Hepatócitos Humanos

Uma suspensão de 10^4 células Huh-7.5 foi transferida para microplacas de 96 poços e foram incubadas em estufa a 37 °C, com atmosfera a 5% de CO_2 por 4 horas. Soluções com concentrações de 50, 10 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de cada substância em meio de cultura foram adicionadas às células em triplicatas. Como controle positivo, adicionou-se às células apenas meio de cultura com 1% de DMSO na ausência de substâncias. As microplacas foram incubadas por 18 horas a 37 °C e atmosfera a 5% de CO_2 . Em seguida, o sobrenadante foi removido sendo adicionada solução de MTT (brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]; Sigma®) a 1 mg/mL de meio de cultura às células, as quais foram incubadas a 37 °C por 30 minutos. A solução de MTT foi removida, substituída pelo mesmo volume de DMSO para solubilização dos cristais de formazana (Figura 13, p. 33), e as soluções foram submetidas à leitura em 570 nm.

Figura 13. Redução do MTT (VALADARES, 2007)



A porcentagem da viabilidade celular foi determinada, pela equação 3, p. 33, utilizando a média das absorvâncias das replicatas.

$$\% \text{ Viab. Hep.} = \frac{(Abs_{(c.positivo)} - Abs_{(amostra)})}{Abs_{(c.positivo)}} \times 100 \quad (3)$$

Na qual: % Viab.Hep. refere-se à porcentagem de viabilidade celular de hepatócitos Huh-7.5; $Abs_{(c.positivo)}$ a absorvância média do controle positivo; $Abs_{(amostra)}$ a absorvância média das amostra.

3.4.2 Inibição da replicação de HCV - Ensaio de Luciferase

Células Huh-7.5 (4×10^6) foram lavadas e ressuspendidas em 400 μL de PBS tratado com dietilpirocarbonato (PBS-DEPEC) e transfectadas por eletroporação com 5 μg do replicon subgenômico do vírus da Hepatite C com expressão da proteína fosfotransferase de fusão luciferase-neomicina (SGR-Luc-JFH-1 FEO), em cubetas de 0,4 cm a 950 μF , 270 V. Posteriormente, as células eletroporadas foram transferidas para placas de 96 orifícios e então lisadas após 4 e 24 h da transfecção em tampão de lise passiva (PLB) (Promega®). A atividade de luciferase foi medida utilizando o reagente para ensaio de luciferase (LAR; Promega) em leitor de placa (FLUOstar Omega – BMG Labtech®).

As aminochalconas foram adicionadas nas concentrações de 10 ou 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$ segundo a citotoxicidade no teste de MTT. Os lisados de 4 h após transfecção foram

utilizados como controle e os de 24 h para avaliar o efeito inibitório das substâncias na replicação do HCV. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas. Em paralelo foram realizados experimentos com a ciclosporina A, como droga de referência, na concentração de $1\mu\text{mol L}^{-1}$.

3.5 Atividade Antifúngica - Inibição do Crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis*

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados em colaboração com o Laboratório de Análise Proteômica da Faculdade de Farmácia da Unesp - Araraquara, pela aluna Kaila Medina Alárcon, sob coordenação da Profa. Dra. Ana Marisa Fusco-Almeida.

Nos testes de sensibilidade por microdiluição, utilizou-se *Paracoccidioides brasiliensis* isolado clínico proveniente de pulmão humano com paracoccidioidomicose.

Os testes foram realizados de acordo com o documento M27-A2 (2002) do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) com adaptações para *Paracoccidioides* (DE PAULA E SILVA, et al.; 2013).

O meio de cultura utilizado para a realização dos testes de sensibilidade foi o RPMI-1640 com L-glutamina sem bicarbonato de sódio e acrescido de 2% de glicose, tamponado com MOPS 0,165 M, pH 7,0. O controle do crescimento (controle positivo) foi realizado com 100 μL de meio (RPMI-1640 2%) e 100 μL do inóculo, e o controle negativo do teste apenas com 200 μL do meio (RPMI-1640, 2 %).

Os ensaios foram realizados em placas de 96 poços, foram utilizados 100 μL das soluções das substâncias resultantes da diluição seriada. O inóculo foi preparado a partir da suspensão de 10^6 - 10^7 UFC mL^{-1} , sendo realizada uma diluição 1:50 em PBS estéril, ajustando para a porcentagem de células vivas presentes na câmara de Neubauer. Posteriormente foi realizada uma diluição 1:20 em RPMI-1640 (2%) do volume total, o qual foi utilizado no experimento. O inóculo e as soluções das substâncias foram misturados em proporções equivalentes, chegando-se à concentração final desejada de inóculo de 5×10^2 - $2,5\times 10^3$ UFC mL^{-1} . As placas foram incubadas a 37 °C por um período total de 96 horas (TAKAHAGI et al., 2009), com agitação a 150 rpm. Como fármaco de referência foi utilizada a anfotericina B.

A viabilidade das células fúngicas foi avaliada por *Alamar Blue*®. Após de 48 horas de incubação foi adicionado 20 μL do reagente 10X, o qual não interfere na

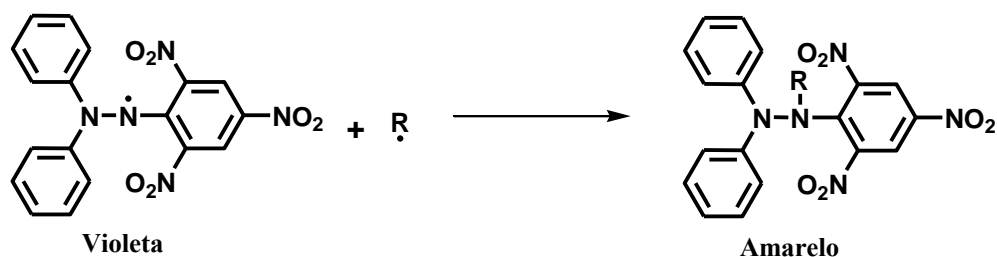
viabilidade da célula fúngica. Assim, a placa foi incubada por mais 24 ou 48 horas, completando 96 horas. As leituras das placas foram realizadas da maior para a menor concentração, determinando-se a menor concentração da substância que inibe o crescimento fúngico visualmente detectado quando não houvesse mudança de azul para rosa. Confirmando a leitura visual foram realizadas leituras por espectrofotômetro a 490 nm, a fim de determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM₉₀), que é a menor concentração capaz de promover 90% de inibição do crescimento fúngico. Os testes foram realizados em triplicata.

3.6 Capacidade Antioxidante

Esse experimento e os experimentos descritos no item 3.7, p. 36, foram realizados em colaboração com o Laboratório de Eletroanalítica, sob coordenação do Prof. Dr. Valdecir Farias Ximenes, da Faculdade de Ciências da Unesp campus de Bauru.

O estudo da capacidade antioxidante foi realizado por meio de experimentos que avaliassem o sequestro do radical DPPH, 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazila (Figura 14, p. 35). Esse radical quando reduzido apresenta mudança de sua coloração de roxo para amarelo. A droga de referência como agente antioxidante foi a quercetina (Zeraik et al.; 2012).

Figura 14. Reação de oxidação do radical 2,2-difenil-1-(2,4,6-trinitrofenil)hidrazila; DPPH.



Em placa de 96 poços, adicionou-se 35 μL das respectivas soluções com as substâncias para concentração de 1 mmol L^{-1} , com 215 μL de solução de DPPH (10 $\mu\text{mol L}^{-1}$) por 30 minutos, ao abrigo da luz, posteriormente foi realizada a leitura em espectrofotômetro de UV-visível leitor de placa (Synergy 2 Multi-Mode, BioTek, USA)

em 515 nm. Esse experimento foi realizado em triplicata. A porcentagem de sequestro de DPPH foi determinada pela equação 4, p. 36, utilizando-se de controle negativo.

$$\% DPPH \text{ seq} = \frac{(Abs_{(c.negativo)} - Abs_{(amostra)})}{Abs_{(c.negativo)}} \times 100 \quad (4)$$

Na qual: % DPPH seq refere-se à porcentagem de DPPH sequestrado; $Abs_{(c.negativo)}$ a absorvância média do controle negativo; $Abs_{(amostra)}$ a absorvância média da amostra.

3.7 Inibição da Atividade Clorinante de Mieloperoxidase (MPO)

3.7.1 Avaliação da Capacidade de Sequestro do Radical Taurina-Cloramina

O radical taurina-cloramina (TnCl) é gerado pela reação de ácido hipocloroso com taurina (ácido etanoaminosulfônico). Esse radical é capaz de oxidar o 3,3',5,5' – tetrametilbenzidina (TMB), gerando uma diimina com coloração azul (Zeraik et al.; 2012).

Esse experimento foi realizado como forma de controle para os experimentos seguintes, nos quais utilizou a produção do radical TnCl como forma de mensuração da atividade clorinante de MPO.

Para se quantificar a capacidade de sequestro do TnCl pelas substâncias, elas foram incubadas na concentração de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$, pipetando-se $10 \mu\text{L}$ das respectivas soluções, $25 \mu\text{L}$ de HOCl ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$), em $165 \mu\text{L}$ de solução de taurina (5 mmol L^{-1} em solução tamponante de PBS). A incubação foi realizada em estufa por 30 minutos à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e 3,4% de CO_2 . Após esse período, adicionou-se $50 \mu\text{L}$ de TMB (10 mmol L^{-1}). A absorvância foi mensurada em 655 nm em espectrofotômetro (Synergy 2 Multi-Mode, BioTek, USA). Esse experimento foi realizado em triplicata, fazendo-se em paralelo um controle positivo com a utilização de solução de ácido hipocloroso. A porcentagem de sequestro do TnCl foi determinada pela equação 5, p. 36.

$$\% TnCl \text{ seq} = \frac{(Abs_{(c.positivo)} - Abs_{(amostra)})}{Abs_{(c.positivo)}} \times 100 \quad (5)$$

Na qual: % TnCl seq refere-se à porcentagem do TnCl sequestrado; $Abs_{(c.positivo)}$ a absorvância média do controle positivo; $Abs_{(amostra)}$ a absorvância média da amostra.

3.7.2 Ensaio de Inibição *in vitro* da Atividade Clorinante de MPO

Em placas de 96 poços as substâncias foram incubadas nas concentrações de 1; 0,5; 0,25 e 0,125 $\mu\text{mol L}^{-1}$, pipetando-se 10 μL das respectivas soluções das substâncias, 10 μL de peróxido de hidrogênio ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) e 5 μL de MPO ($0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$, mieloperoxidase humana *Planta Natural Products*), em 170 μL de solução de taurina (14 mmol L^{-1} em solução tamponante de PBS). A incubação foi realizada durante 30 minutos à $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e 3,4% de CO_2 em estufa. Após esse período, as reações foram interrompidas pela adição de 5 μL de catalase (1 mg mL^{-1}), foi acionado 50 μL de TMB (14 mmol L^{-1}), e a absorvância foi medida em espectrofotômetro (Synergy 2 Multi-Mode, BioTek, USA) em λ de 655 nm. O experimento foi realizado em triplicata, realizando-se em paralelo, controles positivos, o qual possuía a mesma composição das soluções descritas, porém com substituição das soluções contendo substâncias por apenas solvente. A porcentagem de inibição da MPO foi determinada pela equação 6, p. 37.

$$\% \text{ Inibição} = \frac{(Abs_{(c.positivo)} - Abs_{(amostra)})}{Abs_{(c.positivo)}} \times 100 \quad (6)$$

Na qual: % Inibição refere-se à porcentagem do inibição de MPO; $Abs_{(c.positivo)}$ a absorvância do controle positivo; $Abs_{(amostra)}$ a absorvância da amostra.

Foram realizados os experimentos em diversas concentrações das substâncias para se determinar o CI_{50} (concentração capaz de inibir 50% da atividade enzimática da MPO), a partir da equação de tendência da curva de porcentagem de inibição em função da concentração de substância. Esse ensaio foi realizado para as substâncias **LQVM 1**, **LQVM 11**, **LQVM 13**, **LQVM 16**, **LQVM 20 - LQVM 22**, **LQVM 28**, **LQVM 30 - LQVM 32**, e **LQVM 34**. A 5-fluortriptamina foi empregada como inibidor de referência.

3.7.3 Ensaio de Inibição *ex vivo* da Atividade Clorinante de MPO

A inibição da atividade clorinante de MPO foi avaliada em modelo celular, utilizando neutrófilos. Essas células foram isoladas de sangue de voluntários com protocolo aprovado pelo comitê de ética (CEP/FCF-UNESP no. 29/2011). Sendo esses experimentos realizados para as substâncias **LQVM 16**, **LQVM 30**, e **LQVM 31**.

3.7.3.a) Isolamento dos neutrófilos humanos

Os neutrófilos foram isolados por gradiente de densidade. Em tubo falcon esterilizado de 15 mL adicionou-se 3 mL de HISTOPAQUE®-1117, 3 mL de HISTOPAQUE®-1109 e 6 mL de sangue total. O tubo foi levado para centrifugação a 2500 rpm por 20 minutos à 25 °C. Após a centrifugação, observou-se a separação em duas fases, sendo a camada branca de monócitos, e uma camada inferior contendo os neutrófilos. As camadas superiores aos neutrófilos foram removidas, e eles foram coletados com auxílio de uma pipeta Pasteur. Os neutrófilos foram colocados em tubo falcon de 15 mL, tendo o volume completado com PBS, e foi realizada nova centrifugação a 4000 rpm por 5 minutos, posteriormente o sobrenadante foi removido, e esse processo de lavagem com PBS foi repetido mais três vezes.

Os neutrófilos obtidos foram suspensos em 1 mL de PBS suplementado, sendo realizada a contagem de células em câmara de Neubauer. O volume de PBS foi corrigido para que se obtivesse uma suspensão de 1×10^7 células mL⁻¹.

3.7.3.b) Viabilidade Celular dos Neutrófilos: Testes de Exclusão com Azul de Trypan

Os neutrófilos isolados suspensos a 4×10^6 foram colocados em contato com as substâncias ($50 \mu\text{mol L}^{-1}$) em PBS suplementado, e incubados em estufa a 3,4% de CO₂ e 37 °C por 30, 60 e 90 minutos. Após esses períodos, as substâncias foram incubadas novamente por 5 minutos com a solução de azul de Trypan à temperatura ambiente. Um controle veículo foi realizado, onde foi adicionado apenas PBS, na ausência das substâncias.

Em microscópio foi realizada a contagem das células viáveis que se apresentavam brilhantes, e das células inviáveis que apresentavam coloração roxa devido a permeabilidade da membrana. A viabilidade celular foi obtida pela equação 7, p. 38.

$$\%Viab.N. = \frac{\text{células viáveis}}{(\text{células viáveis} + \text{células inviáveis})} \times 100 \quad (7)$$

Na qual: %Viab.N. refere-se à porcentagem de viabilidade celular de neutrófilos; células viáveis, o número de células brilhantes contadas; e células inviáveis, o número de células roxas contadas.

3.7.3.c) Determinação da Inibição da Atividade Clorinante de Mieloperoxidase Produzida por Neutrófilos Estimulados

Foi pipetado em eppendorf 120 μL da suspensão de neutrófilos (4×10^6 células mL^{-1}), com 114 μL de solução de taurina em PBS (14 mmol L^{-1}), e 6 μL das soluções das substâncias para concentrações finais de 5, 10 e 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$. As soluções resultantes foram incubadas em estufa à 3,4 % de CO_2 , 37 °C por 15 minutos. Após esse período, os neutrófilos foram estimulados com 60 μL de solução de PMA (acetato miristato de forbol), e incubados novamente nas mesmas condições sob agitação branda, por 30 minutos; as reações foram interrompidas com adição de 5 μL de catalase (1 mg mL^{-1}). Em paralelo foram realizados controles positivos, onde as soluções de substâncias foram substituídas por apenas PBS.

As soluções foram centrifugadas a 2500 rpm durante 5 minutos, e 200 μL de sobrenadante foram adicionados nas microplacas de 96 poços, às soluções foi adicionado 50 μL de TMB (14 mmol L^{-1}). A absorvância foi mensurada em espectrofotômetro Synergy 2 Multi-Mode, BioTek, USA) em 655 nm.

As porcentagens de inibição foram calculadas de acordo com a equação 6, p. 37. Foram calculados os valores de CI_{50} , a partir da linha de tendência obtida das porcentagens de inibição em função das concentrações das substâncias.

4. Resultados e Discussão

4.1 Resultados das Sínteses

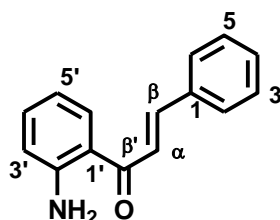
As substâncias foram obtidas com rendimentos variando de 46 a 96%, e podem ser considerados altos, pois em 79% delas o rendimento foi superior a 75%. Entre as 34 substâncias sintetizadas, a aminochalcona **LQVM 22**, e os análogos arílicos **LQVM 25**, **LQVM 26**, **LQVM 29** e **LQVM 33** são substâncias inéditas.

A interpretação dos espectros de RMN de ^1H permitiu constatar a obtenção dos produtos planejados. Os espectros de RMN confirmaram a presença de dubletos com constantes de acoplamento características de ligação dupla carbono-carbono ($J \approx 15 \text{ Hz}$). O espectro de RMN de ^{13}C apresentou sinais característicos de cetonas α,β - insaturadas ($\delta \approx$

189 ppm). A análise simultânea dos espectros de RMN de ^1H e RMN de ^{13}C conduziram à confirmação de uma cetona α,β - insaturada.

A seguir estão os rendimentos, as atribuições dos deslocamentos químicos δ , em ppm, dos sinais obtidos nos espectros, sendo especificado entre parênteses, a multiplicidade do sinal (s - singlete; d - dubleto; dd - duplo dubleto; ddd - duplo duplo dubleto).

4.1.1 Substância LQVM 1

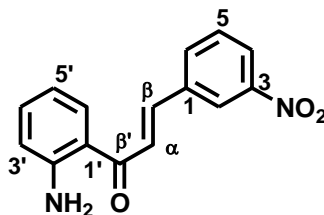


LQVM 1

(2*E*)-1-(2'-aminofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona

Rendimento: 82%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd; $J = 1,2; 8,0; 8,0$ H-5'), 6,80 (dd, $J = 1,2$ e $8,0$; H-3'), 7,29 (ddd, $J = 1,2; 8,0$ e $8,0$; H-4'), 7,41 (sl, 2'-NH₂), 7,44 (m, H-3 – H-5), 7,63 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,86 (dd, $J = 1,2$ e $7,5$; H-2 e H-6), 7,95 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,09 (dd, $J = 1,2$ e $8,0$; H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 114,9 (C-3'), ^a117,3 (C-5'), ^a117,9 (C- α), 123,8 (C-4), 129,1 (C-2 e C-6), 129,3 (C-3 e C-5), ^b130,6 (C-1'), ^b131,9 (C-6'), ^c134,8 (C-1), ^c135,5 (C-4'), 142,4 (C- β), 152,2 (C-2'), 191,1 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis. (Anexos 1 a 4; p. 73 e 74).

4.1.2 Substância LQVM 2

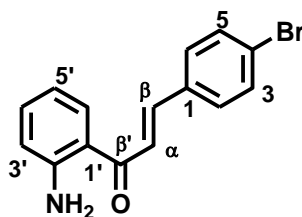


LQVM 2

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 80%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,61 (ddd; $J = 1,2$; 7,8 e 7,8; H-5'), 6,82 (dd, $J = 1,2$ e 7,8; H-3'), 7,31 (ddd, $J = 1,2$; 7,8 e 7,8; H-4'), 7,48 (sl, 2'-NH₂), 7,73 (d, $J = 7,2$; H-6), 7,73 (d, $J = 15,6$; H- α), 8,17 (d, $J = 7,2$; H-5), 8,19 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,25 (dd, $J = 1,2$ e 7,8, H-6'), 8,31 (d, $J = 7,2$, H-4), 8,74 (s, H-2). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (multip.; J em Hz): RMN de ^{13}C (150,4 MHz) δ (mult.; J em Hz): 114,9 (C-5'), ^a117,3 (C-3'), ^a117,6 (C-4), ^b123,3 (C-2), ^b124,7 (C- α), 126,7 (C-1'), 130,8 (C-5), 132,2 (C-6'), ^c135,1 (C-6), ^c135,3 (C-4'), 137,4 (C-1), 139,9 (C- β), 148,9 (C-2), 152,7 (C-2'), 190,6 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis (Anexos 5 a 8; p. 75 e 76).

4.1.3 Substância LQVM 3

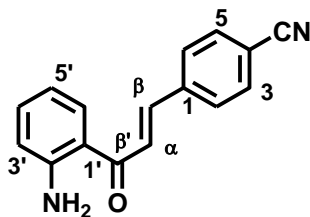


LQVM 3

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-bromofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 80%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd; $J = 1,2$; 7,9 e 7,9; H-5'), 6,79 (dd, $J = 1,2$ e 7,9; H-3'), 7,29 (ddd, $J = 1,2$; 7,9 e 7,9; H-4'), 7,41 (sl, 2'-NH₂), 7,59 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,64 (d, $J = 8,1$; H-2 e H-6), 7,82 (d, $J = 8,1$; H-3 e H-5), 7,99 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,08 (dd, $J = 1,2$ e 7,9, H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,0 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,8 (C- α), ^b123,8 (C-4), ^b124,6 (C-1), ^c131,0 (C-2 e C-6), 131,9 (C-6'), ^c132,3 (C-3 e C-5), ^d134,8 (C-1), ^d134,9 (C-4'), 141,0 (C- β), 152,6 (C-2'), 190,8 (C- β'). ^{a,b,c,d} Valores intercambiáveis (Anexos 9 a 12; p. 77 e 78).

4.1.4 Substância LQVM 4

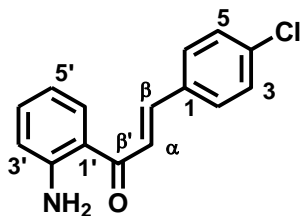


LQVM 4

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-cianofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 46%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,60 (ddd; $J = 1,2; 8,0$ e $8,0$; H-5'), 6,81 (dd, $J = 1,2$ e $8,0$; H-3'), 7,30 (ddd, $J = 1,2; 8,0$ e $8,0$; H-4'), 7,46 (sl, 2'-NH₂), 7,64 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,90 (d, $J = 8,1$; H-2 e H-6), 8,05 (d, $J = 8,1$; H-3 e H-5), 8,10 (dd, $J = 1,2$ e $8,0$ H-6'), 8,11 (d- $J = 15,6$; H- β). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 112,3 (C-4), 115,0 (4-CN), ^a117,39 (C-3'), ^a117,6 (C-5'), 119,2 (C- α), 127,2 (C-1), 129,7 (C-2 e C-6), ^b132,0 (C-6'), ^b133,2 (C-3 e C-5), 135,2 (C-4'), ^c140,1 (C-1), ^c140,2 (C- β), 152,7 (C-2'), 190,6 (C- β'). ^{a,b,c}Valores intercambiáveis (Anexos 13 a 16; p. 79 e 80).

4.1.5 Substância LQVM 5

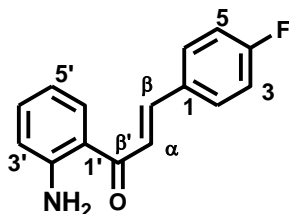


LQVM 5

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-clorofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 88%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd; $J = 1,2; 7,6$ e $7,6$; H-5'), 6,79 (dd, $J = 1,2$ e $7,6$; H-3'), 7,29 (ddd, $J = 1,2; 7,6$ e $7,6$; H-4'), 7,41 (sl, 2'-NH₂), 7,50 (d, $J = 9,0$; H-3 e H-5), 7,60 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,89 (d, $J = 8,4$; H-2 e H-6), 7,97 (d- $J = 15,6$; H- β), 8,07 (dd, $J = 1,2$ e $7,6$ H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,0 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,8 (C- α), 124,5 (C-1'), 129,4 (C-2 e C-6), 130,8 (C-3 e C-5), 131,9 (C-6'), ^b134,4 (C-4'), ^b134,9 (C-1), ^b135,0 (C-4), 140,9 (C- β), 152,6 (C-2'), 190,8 (C- β'). ^{a,b}Valores intercambiáveis (Anexos 17 a 20; p. 81 e 82).

4.1.6 Substância LQVM 6

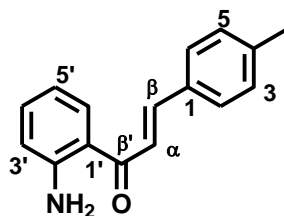


LQVM 6

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-fluorfenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 92%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd; $J = 1,2$; 8,0 e 8,0; H-5'), 6,79 (dd, $J = 1,2$ e 8,0; H-3'), 7,27 (m; H-4'), 7,28 (dd, $J = 8,4$ e 8,4; H-3 e H-5), 7,39 (sl, 2'-NH₂), 7,62 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,91 (d, $J = 15,6$; H- β); 7,94 (dd, $J = 5,4$ e 8,4, H-2 e H-6), 8,08 (dd, $J = 1,2$ e 8,0, H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 114,8 (C-3'), 116,3 (d, $J_{\text{C,F}} = 21,1$; C-3 e C-5), $^{\text{a}}117,3$ (C-5'), $^{\text{a}}117,8$ (C- α), 123,7 (C-2 e C-6), $^{\text{b}}131,4$ (C-1), $^{\text{b}}131,8$ (C-1'), $^{\text{b}}132,1$ (C-6'), 134,8 (C-4'), 141,2 (C- β), 152,5 (C-2'), 163,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 248,2$; C-4), 190,9 (C- β'). $^{\text{a,b}}$ Valores intercambiáveis (Anexos 21 a 24; p. 83 e 84).

4.1.7 Substância LQVM 7

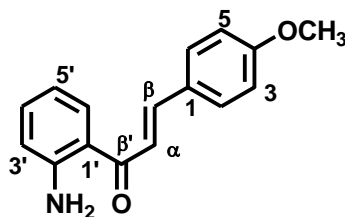


LQVM 7

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-metilfenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 85%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,60 (ddd, $J = 1,2$; 7,6 e 7,6; H-5'), 6,81 (dd, $J = 1,2$ e 7,6; H-3'), 7,26 (d, $J = 7,8$; H-3 e H-5), 7,28 (ddd, $J = 1,2$; 7,6 e 7,6; H-4'), 7,37 (sl, 2'-NH₂), 7,61 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,73 (d, $J = 7,8$; H-2 e H-6), 7,89 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,07 (dd, $J = 1,2$ e 7,6; H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 21,5 (4-CH₃), 115,0 (C-3'), $^{\text{a}}117,4$ (C-5'), $^{\text{a}}118,0$ (C- α), 122,7 (C-1'), 129,1 (C-3 e C-5), 130,0 (C-2 e C-6), $^{\text{b}}131,8$ (C-6'), $^{\text{b}}132,7$ (C-1), 134,7 (C-4'), 140,6 (C-4), 142,5 (C- β), 152,4 (C-2'), 191,1 (C- β'). $^{\text{a,b}}$ Valores intercambiáveis (Anexos 25 à 28, p. 85 e 86).

4.1.8 Substância LQVM 8



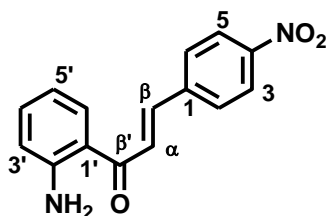
LQVM 8

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 93%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd, $J = 1,2$; 8,0 e 8,0; H-5'), 6,78 (dd, $J = 1,2$ e 8,0; H-3'), 7,00 (d, $J = 8,4$; H-3 e H-5) 7,27 (ddd, $J = 1,2$; 7,5 e 8,0 H-4'), 7,35 (sl, 2'-NH₂), 7,60 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,80 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,81 (d, $J = 8,4$, H-2 e H-6), 8,06 (d, $J = 8,0$; H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 55,8 (4-OCH₃), 114,8 (C-3 e C-5), 115,0 (C-3'), 117,3 (C-5'), 118,1 (C α), 121,2 (C-1'), 128,1 (C-1), 130,9 (C-2 e C-6), 131,7 (C-6'), 134,6 (C-4'), 142,4 (C- β), 152,4 (C-2'), 161,4 (C-4), 191,0 (C- β').

(Anexos 29 a 32; p. 87 e 88).

4.1.9 Substância LQVM 9

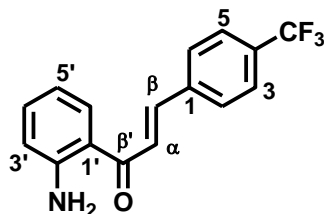


LQVM 9

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-nitrofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 78%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,61 (dd, $J = 7,9$ e 7,9; H-5'), 6,82 (d, $J = 7,9$; H-3'), 7,31 (dd, $J = 7,9$ e 7,9 H-4'), 7,49 (sl, 2'-NH₂), 7,70 (d, $J = 15,6$; H- α), 8,12 (d, $J = 9,0$; H-3 e H-5), 8,14 (d, $J = 7,9$; H-6'), 8,16 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,27 (d, $J = 9,0$, H-2 e H-6). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,0 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,6 (C- α), 124,4 (C-3 e C-5), 128,0 (C-1'), 130,1 (C-2 e C-6), 132,1 (C-6'), 135,2 (C-4'), 139,6 (C-1), 142,1 (C- β), 148,2 (C-4), 152,4 (C-2'), 191,0 (C- β'). ^a Valores intercambiáveis (Anexos 33 a 36; p. 89 e 90).

4.1.10 Substância LQVM 10

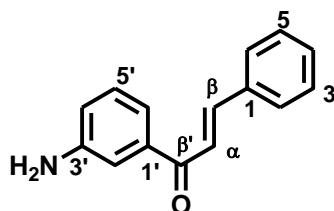


LQVM 10

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-(trifluorometil)-fenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 90%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,60 (ddd, $J = 1,2; 8,4$ e $8,4$; H-5'), 6,81 (dd, $J = 1,2; 8,4$; H-3'), 7,30 (ddd, $J = 1,2; 8,4$ e $8,4$; H-4'), 7,44 (sl, 2'-NH₂), 7,67 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,74 (d, $J = 8,1$; H-3 e H-5), 8,16 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,08 (d, $J = 8,1$; H-2 e H-6). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,0 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,7 (C- α), 124,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 270,7$; 4-CF₃), 126,1 (C-3 e C-5), 126,6 (C-1'), 129,6 (C-2 e C-6), 130,1 (d, $J_{\text{C,F}} = 31,6$; C-4), 132,0 (C-6'), 135,1 (C-4'), ^b139,6 (C-1), ^b140,4 (C- β), 152,7 (C-2'), 190,7 (C- β'). ^{a,b}Valores intercambiáveis (Anexos 37 a 40; p. 91 e 92).

4.1.11 Substância LQVM 11

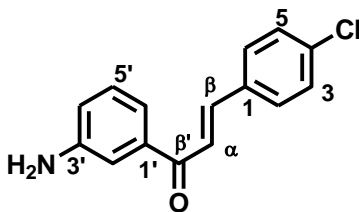


LQVM 11

(2E)-1-(3'-aminofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona

Rendimento: 55 %. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 5,35 (s, 3'-NH₂), 6,85 (ddd, $J = 0,6; 1,8$ e $8,0$; H-4'), 7,21 (dd, $J = 7,8$ e $7,8$; H-5'), 7,26 (dd, $J = 1,8$ e $1,8$; H-2'), 7,33 (d, $J = 7,8$; H-3), 7,46 (m, H-3 – H-5), 7,69 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,77 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,84 (m, H-2 e H-6). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,5 (C-2'), 116,9 (C-6'), 119,2 (C- α), 122,8 (C-4'), ^a129,2 (C-3 e C-5), ^a129,3 (C-2 e C-6), 129,7 (C-4), 131,6 (C-5'), 135,2 (C-1), 138,8 (C-1'), 143,8 (C- β), 149,5 (C-3'). ^aValores intercambiáveis (Anexos 41 a 44; p. 93 e 94).

4.1.12 Substância LQVM 12



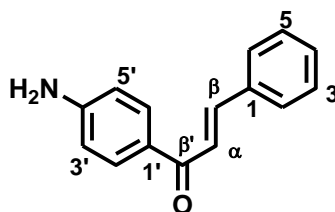
LQVM 12

(2E)-1-(3'-aminofenil)-3-(4-clorofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 52%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 5,35 (s, 3'-NH₂), 6,85 (ddd, $J = 1,2; 1,5$ e 7,8; H-4'), 7,21 (dd, $J = 7,8$ e 7,8; H-5'), 7,26 (dd, $J = 1,8$ e 1,8; H-2'), 7,35 (ddd, $J = 1,2; 1,8$ e 7,8; H-6'), 7,52 (d, $J = 8,4$; H-2 e H-6), 7,66 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,79 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,88 (d, H-3 e H-5). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,4 (C-2'), 116,9 (C-6'), 119,3 (C- α), 123,6 (C-4'), ^a129,4 (C-2 e C-6), 129,7 (C-5'), ^a130,9 (C-3 e C-5), 134,1 (C-1), 135,4 (C-4), 138,7 (C-1'), 142,3 (C- β), 149,6 (C-3'). ^a Valores intercambiáveis

(Anexos 45 a 48; p. 95 e 96).

4.1.13 Substância LQVM 13



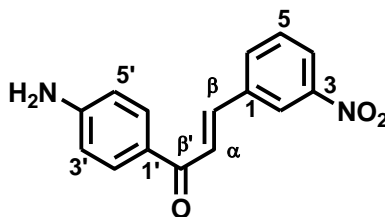
LQVM 13

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-fenil-2-propen-1-ona

Rendimento: 60%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,181 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 7,44 (m; H-3 – H-5), 7,61 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,84 (dd, $J = 1,8$ e 8,4; H-2 e H-6), 7,87 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,93 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 122,8 (C- α), 125,7 (C-4), ^a129,0 (C-2 e C-6), ^a129,3 (C-3 e C-5), 130,5 (C-1'), 131,6 (C-2' e C-6'), 135,6 (C-1), 141,9 (C- β), 154,4 (C-4'), 186,3 (C- β'). ^{a,b} Valores intercambiáveis

(Anexos 49 a 52; p. 97 e 98).

4.1.14 Substância LQVM 14



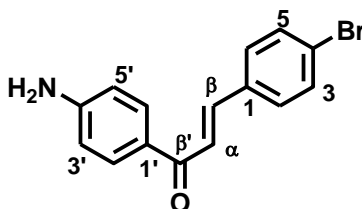
LQVM 14

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(3-nitrofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 91%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,23 (s, 4'-NH₂), 6,64 (d, $J = 8,7$; H-3' e H-5'), 7,72 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,73 (dd, $J = 8,3$ e $8,3$; H-5), 7,98 (d, $J = 8,7$; H-2' e H-6'), 8,09 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,23 (d, $J = 8,3$; H-6), 8,29 (d, $J = 8,3$; H-4), 8,72 (s, H-2). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), ^a123,1 (C-4), ^{a,b}124,6 (C-2), ^b125,5 (C- α), ^b125,7 (C-1), 130,8 (C-5), 131,9 (C-2' e C-6'), 135,3 (C-6), 137,6 (C-1), 139,4 (C- β), 148,9 (C-3), 154,6 (C-4'), 186,0 (C- β'). ^{a,b} Valores intercambiáveis

(Anexos 53 a 56; p. 99 e 100).

4.1.15 Substância LQVM 15



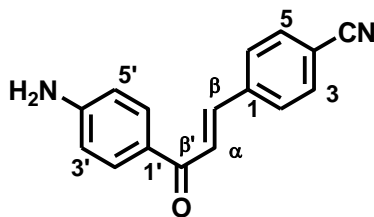
LQVM 15

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-bromofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 75%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,20 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, $J = 9,0$; H-3' e H-5'), 7,58 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,64 (d, $J = 8,4$; H-2 e H-6), 7,81 (d, $J = 8,4$; H-3 e H-5), 7,91 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,93 (d, $J = 9,0$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 123,7 (C- α), 123,7 (C-4), 125,6 (C-1'), ^a130,9 (C-2 e C-6), ^a131,7 (C-3 e C-5), ^a132,3 (C-2' e C-6'), 134,9 (C-1), 140,5 (C- β), 154,5 (C-4'), 186,2 (C- β'). ^a Valores intercambiáveis

(Anexos 57 a 60; p. 101 e 102).

4.1.16 Substância LQVM 16

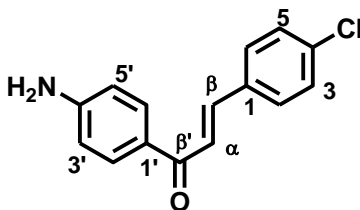


LQVM 16

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-cianofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 95%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,23 (s, 4'-NH₂), 6,63 (d, J = 8,4; H-3' e H-5'), 7,64 (d, J = 15,6; H- α), 7,90 (d, J = 8,4; H-3 e H-5), 7,95 (d, J = 8,4; H-2 e H-6), 8,02 (d, J = 15,6; H- β), 8,04 (d, J = 8,4; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 112,2 (C-4), 113,2 (C-3' e C-5'), 119,2 (4-CN), ^a125,4 (C- α), ^a126,3 (C-1'), 129,6 (C-2 e C-6), ^b131,9 (C-3 e C-5), ^b133,1 (C-2' - C-6'), ^c139,7 (C-1), ^c140,3 (C- β), 154,7 (C-4'), 186,0 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis (Anexos 61 a 64; p. 103 e 104).

4.1.17 Substância LQVM 17

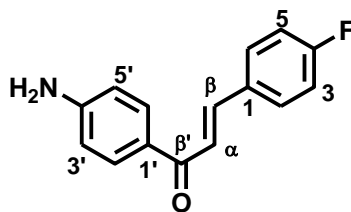


LQVM 17

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-clorofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 79%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,20 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, J = 8,4; H-3' e H-5'), 7,50 (d, J = 8,4; H-3 e H-5), 7,60 (d, J = 15,6; H- α), 7,88 (d, J = 8,4; H-2 e H-6), 7,90 (d, J = 15,6; H- β), 7,93 (d, J = 8,4; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 123,6 (C- α), 125,6 (C-1'), ^a129,3 (C-2 e C-6), ^{a,b}130,7 (C-3 e C-5), ^b131,7 (C-2' e C-6'), ^c134,6 (C-1), ^c134,9 (C-4), 140,4 (C- β), 154,5 (C-4'), 186,2 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis (Anexos 65 a 68; p. 105 e 106).

4.1.18 Substância LQVM 18



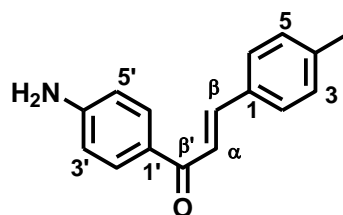
LQVM 18

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-fluorfenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 92%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (multip.; J em Hz): 6,18 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 7,28 (dd, $J = 8,4$ e $8,4$; H-3 e H-5), 7,61 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,84 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,91 (d, $J = 8,4$; H-2 e H-6), 7,93 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (multip.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 116,3 (d, $J_{\text{C,F}} = 22,6$; C-3 e C-5), 122,7 (C- α), 125,6 (C-1'), 131,2 (d, $J_{\text{C,F}} = 3,6$; C-2 e C-6), 131,6 (C-2' e C-6'), 132,3 (d, $J = 1,5$; C-1), 140,7 (C- β), 154,4 (C-4'), 163,5 (d, $J_{\text{C,F}} = 248,2$; C-4), 186,2 (C- β').

(Anexos 69 a 72; p. 107 e 108).

4.1.19 Substância LQVM 19



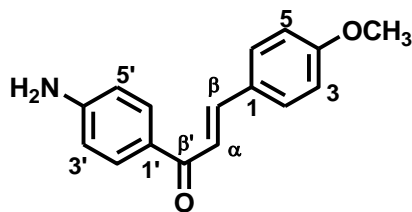
LQVM 19

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-metilfenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 73%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 2,35 (s, 4-CH₃), 6,16 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 7,26 (d, $J = 7,8$; H-3 e H-5), 7,59 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,73 (d, $J = 7,8$; H-2 e H-6), 7,81 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,92 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 21,5 (4-CH₃), 113,2 (C-3' e C-5'), 121,7 (C- α), 125,8 (C-1'), ^a129,0 (C-3 e C-5), ^a130,0 (C-2 e C-6), ^a131,6 (C-2' e C-6'), 132,8 (C-1), ^b140,4 (C-4), ^b142,0 (C- β), 154,3 (C-4'), 186,4 (C- β'). ^{a,b} Valores intercambiáveis

(Anexos 73 a 76; p. 109 e 110).

4.1.20 Substância LQVM 20

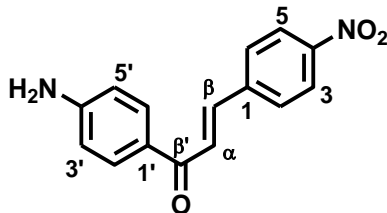


LQVM 20

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-metoxifenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 66% e 57%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 3,81 (s, 4-OCH₃), 6,13 (s, 4'-NH₂), 6,62 (d, $J = 8,7$; H-3' e H-5'), 7,00 (d, $J = 8,7$; H-3 e H-5), 7,58 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,73 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,79 (d, $J = 8,7$; H-2 e H-6), 7,91 (d, $J = 8,7$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150,4 MHz) δ (mult.; J em Hz): 55,8 (4-OCH₃), ^a113,2 (C-3 e C-5), ^a114,8 (C-3' e C-5'), 120,3 (C- α), 125,9 (C-1), 128,2 (C-1'), ^b130,8 (C-2 e C-6), ^b131,5 (C-2' e C-6'), 141,9 (C- β), 154,3 (C-4'), 161,3 (C-4), 186,4 (C- β'). ^{a,b} Valores intercambiáveis (Anexos 77 a 80, p. 111 e 112).

4.1.21 Substância LQVM 21

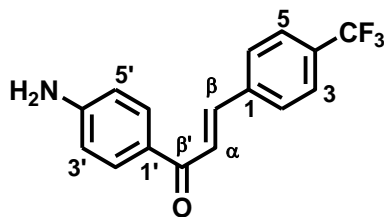


LQVM 21

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-nitrofenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 77%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,25 (s, 4'-NH₂), 6,64 (d, $J = 8,7$; H-3' e H-5'), 7,69 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,96 (d, $J = 8,7$; H-2' e H-6'), 8,07 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,12 (d, $J = 8,7$; H-2 e H-6), 8,26 (d, $J = 8,7$; H-3 e H-5). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 124,4 (C-3 e C-5), 125,4 (C-1), 127,1 (C-1'), ^a130,0 (C-2 e C-6), ^a131,9 (C-2' e C-6'), 139,1 (C- α), 142,3 (C- β), 148,2 (C-4), 154,7 (C-4'), 185,9 (C- β'). ^a Valores intercambiáveis (Anexos 81 a 84; p. 113 e 114).

4.1.22 Substância LQVM 22



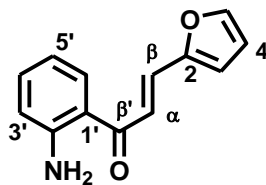
LQVM 22

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(4-trifluorometil-1-fenil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 96%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,24 (s, 4'-NH₂), 6,63 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 7,66 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,79 (d, $J = 8,1$; H-2 e H-6), 7,95 (d, $J = 8,1$; H-3 e H-5), 8,01 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,06 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 124,6 (d, $J_{\text{C,F}} = 266,2$; 4-CF₃), 125,6 (C- α), 126,1 (C-3 e C-5), 127,9 (C-1'), 129,5 (C-2 e C-6), 129,9 (d, $J_{\text{C,F}} = 31,6$; C-4), 131,8 (C-2' e C-6'), 139,7 (C-1), 140,0 (C- β), 154,6 (C-4'), 186,1 (C- β').

(Anexos 85 a 88; p. 115 e 116).

4.1.23 Substância LQVM 23



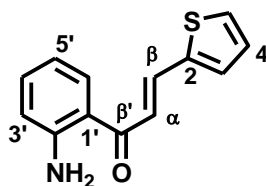
LQVM 23

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(furan-2-il)-2-propen-1-ona

Rendimento: 90%. RMN de ^1H (400 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd, $J = 1,2$; 7,8 e 7,8; H-5'), 6,67 (dd, $J = 1,6$ e 3,6; H-4), 6,80 (dd, $J = 1,2$ e 7,8; H-3'), 7,04 (d, $J = 3,6$; H-3), 7,28 (ddd, $J = 1,2$; 7,8 e 7,8; H-4'), 7,36 (sl, 2'-NH₂), 7,47 (d- $J = 15,6$; H- α), 7,59 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,88 (dd, $J = 1,2$ e 8,4; H-5), 7,90 (dd, $J = 1,2$ e 7,8; H-6'). RMN de ^{13}C (120 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,4 (C-3), 115,1 (C-4), ^a116,2 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,8 (C- α), 120,6 (C-1'), 129,2 (C-6'), 131,3 (C- β), 134,7 (C-4'), 146,1 (C-5), 151,9 (C-2'), 152,4 (C-2), 190,2 (C- β'). ^a Valores intercambiáveis

(Anexos 89 a 92; p. 117 e 118).

4.1.24 Substância LQVM 24

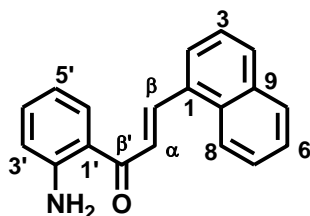


LQVM 24

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(tiofen-2-il)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 78%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,59 (ddd, $J = 1,2$; 7,4 e 7,4; H-5'), 6,79 (dd, $J = 1,2$ e 7,4; H-3'), 7,17 (dd, $J = 3,6$ e 4,8; H-4), 7,28 (ddd, $J = 1,2$; 7,4 e 7,4; H-4'), 7,36 (sl, 2'-NH₂), 7,59 (d- $J = 15,6$; H- α), 7,63 (d, $J = 3,0$; H-5), 7,73 (d, $J = 4,8$; H-3), 7,80 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,95 (dd, $J = 1,2$ e 7,4; H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,1 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,8 (C-3), 122,1 (C- α), ^b129,1 (C-4), ^{b,c}130,1 (C-1'), ^{c,d}131,5 (C-5), ^d132,4 (C-6'), ^e134,8 (C- β), ^e135,2 (C-4'), 140,5 (C-1), 152,4 (C-2'), 190,3 (C- β'). ^{a,b,c,d,e} Valores intercambiáveis (Anexos 93 a 96; p. 119 e 120).

4.1.25 Substância LQVM 25

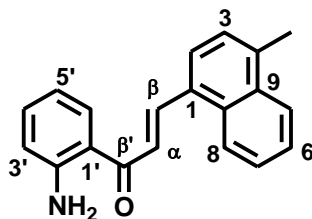


LQVM 25

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(1-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 93%. RMN de ^1H (400 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,62 (ddd, $J = 1,2$; 7,9 e 7,9; H-5'), 6,84 (dd, $J = 1,2$ e 7,9; H-2'), 7,31 (ddd, $J = 1,2$; 7,9 e 7,9; H-4'), 7,46 (s, 4'-NH₂), 7,62 (m, H-3, H-6 e H-7), 8,01 (d, $J = 15,2$; H- α), 8,03 (dd, $J = 1,2$ e 9,0; H-5 e H-8), 8,11 (dd, $J = 1,2$ e 7,9; H-6'), 8,19 (d, $J = 7,8$; H-4), 8,27 (d- $J = 8,4$; H-2), 8,47 (d, $J = 15,0$; H- β). RMN de ^{13}C (120 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,1 (C-3'), ^a117,4 (C-5'), ^a117,8 (C- α), 123,5 (C-2), ^b125,9 (C-8), ^b126,2 (C-3), ^b126,4 (C-6), ^b126,7 (C-7), ^b127,6 (C-4), 129,2 (C-5), ^c130,8 (C-1'), ^c131,6 (C-6'), ^c131,9 (C-10), ^c132,2 (C-9), ^d133,8 (C-4'), ^d134,9 (C-1), 138,4 (C- β), 152,6 (C-2'), 186,3 (C- β'). ^{a,b,c,d} Valores intercambiáveis (Anexos 97 a 101, p. 121 - 123).

4.1.26 Substância LQVM 26

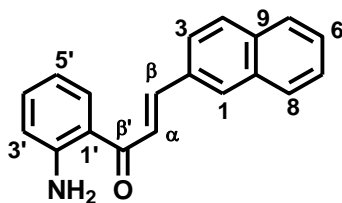


LQVM 26

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(4-metil-1-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 93%. RMN de ^1H (400 MHz) δ (mult.; J em Hz): 2,70 (s, 4- CH_3), 6,61 (ddd, $J = 1,2; 7,9$ e $7,9$; H-5'), 6,83 (dd, $J = 1,2$ e $7,9$; H-3'), 7,30 (ddd, $J = 1,6; 7,9$ e $7,9$; H-4'), 7,45 (s, 2'- NH_2), 7,47 (d, $J = 7,8$; H-3), 7,65 (m, H-6 e H-7), 7,98 (d, $J = 15,0$; H- α), 8,10 (d, $J = 7,2$, H-5 e H-8), 8,11 (d, $J = 7,8$; H-2), 8,28 (dd, $J = 1,2$ e $7,9$; H-6'), 8,47 (d, $J = 15,0$; H- β). RMN de ^{13}C (120 MHz) δ (mult.; J em Hz): 19,9 (4- CH_3), 115,1 (C-3'), a 117,4 (C-5'), a 117,9 (C- α), 123,9 (C-3), b 125,40 (C-2), b 125,42 (C-8), b 125,6 (C-5), $^b,^c$ 126,7 (C-6), c 127,1 (C-7), c 127,3 (C-1'), 130,4 (C-6'), d 131,7 (C-10), d 131,9 (C-9), d 132,8 (C-1), 134,8 (C-4), e 137,5 (C-4'), e 138,6 (C- β), 186,3 (C- β'). $^a,^b,^c,^d,^e$ Valores intercambiáveis (Anexos 102 a 105, p. 123 - 125).

4.1.27 Substância LQVM 27



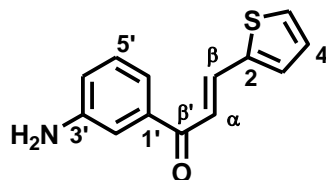
LQVM 27

(2E)-1-(2'-aminofenil)-3-(2-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 82%. RMN de ^1H (400 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,63 (ddd, $J = 1,2; 7,8$ e $7,8$; H-5'), 6,828 (dd, $J = 1,2$ e $7,8$; H-3'), 7,31 (ddd, $J = 1,2; 7,8$ e $7,8$; H-4'), 7,44 (s, 4'- NH_2), 7,56 (dd, $J = 3,5$ e $3,5$; H-7), 7,57 (dd, $J = 3,5$ e $3,5$; H-6), 7,81 (d, $J = 15,6$; H- α), 7,96 (m, H-5 e H-8), 7,98 (d, $J = 8,8$; H-4), 8,10 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,11 (dd, $J = 1,6$ e $7,6$; H-3), 8,15 (dd, $J = 1,2$ e $7,8$; H-6'), 8,30 (s, H-1). RMN de ^{13}C (120 MHz) δ (mult.; J em Hz): 115,0 (C-3'), a 117,4 (C-5'), a 118,0 (C- α), b 124,1 (C-3), b 125,0 (C-1), c 127,2 (C-7), c 127,7 (C-6), c 128,2 (C-5), 128,9 (C-4), 128,9 (C-5), d 130,5 (C-1'), $^d,^e$ 131,9 (C-6'), e 133,2

(C-9), ^ε133,5 (C-2), ^ε134,2 (C-10), ^ε134,8 (C-4), 142,4 (C-β), 152,6 (C-2'), 190,9 (C-β').
^{a,b,c,d,e} Valores intercambiáveis. (Anexos 106 a 109; p. 125 - 127).

4.1.28 Substância LQVM 28



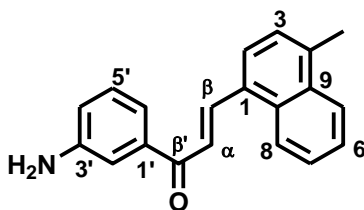
LQVM 28

(2E)-1-(3'-aminofenil)-3-(tiofen-2-il)-2-propen-1-ona

Rendimento: 53 %. RMN de ¹H (600 MHz) δ (mult.; *J* em Hz): 5,36 (s, 3'-NH₂), 6,84 (ddd, *J* = 1,8; 1,8 e 7,5; H-4'), 7,21 (m; H-2', H-5', H-6' e H-3), 7,33 (dd, *J* = 1,9 e 1,9; H-2'), 7,37 (d, *J* = 7,2; H-3), 7,42 (d, *J* = 15,6; H- α), 7,65 (d, *J* = 3,6; H-4); 7,75 (d, *J* = 5,4; H-5), 7,86 (d, *J* = 15,6; H- β). RMN de ¹³C (150 MHz) δ (mult.; *J* em Hz): 113,3 (C-2'), ^a116,5 (C-6'), 119,0 (C-4'), 121,0 (C-3), ^a129,2 (C-4), ^{a,b}129,7 (C-5'), ^b130,6 (C- α), 133,2 (C-5), 136,7 (C- β), 138,8 (C-2), 140,2 (C-1'), 149,6 (C-3'), 189,6 (C- β). ^{a,b} Valores intercambiáveis

(Anexos 110 a 113; p. 127 a 129).

4.1.29 Substância LQVM 29



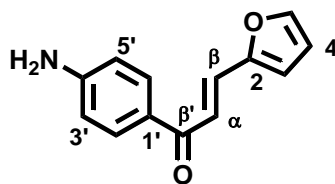
LQVM 29

(2E)-1-(3'-aminofenil)-3-(4-metil-1-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimento: 91%. RMN de ¹H (400 MHz) δ (mult.; *J* em Hz): 2,70 (s, 4-CH₃), 5,41 (s, 3'-NH₂), 6,87 (dd, *J* = 1,9 e 8,0; H-4'), 7,23 (dd, *J* = 8,0 e 8,0; H-5'), 7,33 (dd, *J* = 1,9 e 1,9; H-2'), 7,37 (d, *J* = 7,2; H-3), 7,47 (d, *J* = 7,8; H-2), 7,65 (m, H-6 e H-7), 7,82 (d, *J* = 15,6; H- α), 8,09 (m, H-5 e H-8), 8,28 (dd, *J* = 1,9 e 8,0; H-6'), 8,51 (d, *J* = 15,6; H- β).

(Anexos 114 e 115; p. 129 e 130).

4.1.30 Substância LQVM 30

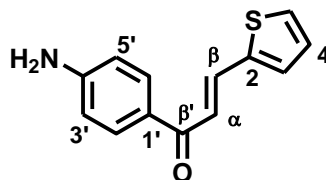


LQVM 30

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(furan-2-il)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 87%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,19 (sl-NH₂), 6,61 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 6,66 (dd, $J = 1,2$ e $3,0$; H-4), 7,01 (d, $J = 3,0$; H-3), 7,44 (d- $J = 15,6$; H- α), 7,51 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,84 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'), 7,86 (s, H-5). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,3 (C-2'), 116,5 (C-6'), 119,0 (C-4'), 121,0 (C-3), ^a129,2 (C-4), ^a129,7 (C-5'), 130,6 (C- α), 133,2 (C-5), 136,7 (C- β), 138,7 (C-2), 140,2 (C-1'), 149,6 (C-3'), 189,6 (C- β'). ^aValores intercambiáveis (Anexos 116 a 119; p. 130 - 132).

4.1.31 Substância LQVM 31

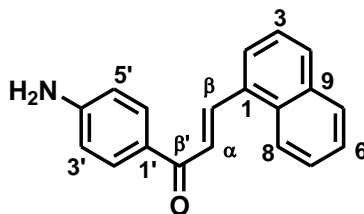


LQVM 31

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(tiofen-2-il)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 80%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,18 (sl-NH₂), 6,61 (d, $J = 8,4$; H-3' e H-5'), 7,17 (dd, $J = 3,6$ e $4,8$; H-4), 7,50 (d- $J = 15,6$; H- α), 7,01 (d, $J = 3,0$; H-3), 7,51 (d, $J = 15,6$; H- β), 7,60 (d, $J = 3,0$; H-5), 7,85 (d, $J = 8,4$; H-2' e H-6'). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 121,2 (C-3), 125,5 (C- α), ^a129,0 (C-1'), ^a129,8 (C-4), 131,4 (C-2' e C-6'), 132,2 (C-5), 134,7 (C- β), 140,6 (C-2), 154,4 (C-4') , 185,7 (C- β'). ^aValores intercambiáveis (Anexos 120 a 123; p. 132 - 134).

4.1.32 Substância LQVM 32



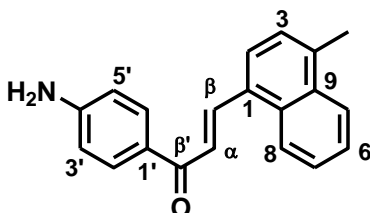
LQVM 32

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(1-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 91%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,22 (s, 4'-NH₂), 6,65 (d, $J = 8,7$; H-3' e H-5'), 7,60 (m, H-6 e H-7), 7,65 (dd, $J = 7,6$ e $7,6$; H-3), 7,94 (d, $J = 15,0$; H- α), 7,98 (d, $J = 8,7$; H-2' e H-6'), 8,02 (dd, $J = 14,7$ e $8,1$, H-5 e H-8), 8,19 (d, $J = 7,2$; H-4), 8,26 (d, $J = 8,4$; H-2), 8,46 (d, $J = 15,0$; H- β). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,3 (C-3' e C-5'), 123,5 (C- α), ^a125,4 (C-2), ^a125,6 (C-8), ^a125,7 (C-3), ^{a,b}126,2 (C-6), ^{a,b}126,7 (C-7), ^b127,6 (C-1'), 129,2 (C-4), ^c130,7 (C-5), ^c131,6 (C-10), 131,7 (C-2' e C-6'), 132,3 (C-9), 133,8 (C-1), 137,9 (C- β), 154,5 (C-4'), 186,3 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis

(Anexos 124 a 128; p. 134 - 136).

4.1.33 Substância LQVM 33



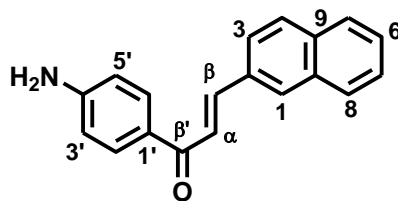
LQVM 33

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(1-naftil-4-metil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 91%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 2,71 (s, 4-CH₃), 6,20 (s, 4'-NH₂), 6,65 (d, $J = 9,0$; H-3' e H-5'), 7,47 (d, $J = 7,8$; H-3), 7,65 (m, H-6 e H-7), 7,90 (d, $J = 15,0$; H- α), 7,97 (d, $J = 9,0$; H-2' e H-6'), 8,10 (d, $J = 7,2$, H-5 e H-8), 8,28 (d, $J = 7,8$; H-2), 8,45 (d, $J = 15,0$; H- β). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 19,9 (4-CH₃), 113,3 (C-3' e C-5'), ^a123,9 (C- α), ^a124,4 (C-3), 125,4 (C-6 e C-7), ^b125,7 (C-2), ^b126,7 (C-8), ^b127,1 (C-5), ^b127,3 (C-10), 130,5 (C-9), 131,7 (C-2' e C-6'), 132,8 (C-1) 137,3 (C-4), 138,1 (C- β), 154,4 (C-4'), 186,3 (C- β'). ^{a,b} Valores intercambiáveis

(Anexos 129 a 132; p. 137 e 138).

4.1.34 Substância LQVM 34



LQVM 34

(2E)-1-(4'-aminofenil)-3-(2-naftil)-2-propen-1-ona

Rendimentos: 77%. RMN de ^1H (600 MHz) δ (mult.; J em Hz): 6,20 (s, 4'-NH₂), 6,64 (d, $J = 9,0$; H-3' e H-5'), 7,60 (ddd, $J = 3,6$; 3,6 e 9,6; H-6 e H-7), 7,78 (d, $J = 15,0$; H- α), 7,96 (m, H-4, H-5 e H-8), 7,97 (d, $J = 9,0$; H-2' e H-6'), 8,01 (d, $J = 15,6$; H- β), 8,09 (dd, $J = 1,2$ e 8,4; H-3), 8,28 (s, H-1). RMN de ^{13}C (150 MHz) δ (mult.; J em Hz): 113,2 (C-3' e C-5'), 123,1 (C- α), ^a124,9 (C-3), ^a125,8 (C-1), ^b127,2 (C-7), ^b127,6 (C-6), ^b128,2 (C-5), 128,9 (C-1' e C-8), 130,4 (C-4), 131,7 (C-2' e C-6'), ^c133,3 (C-10), ^c133,5 (C-2), ^c134,1 (C-9), 141,9 (C- β), 154,4 (C-4'), 186,3 (C- β'). ^{a,b,c} Valores intercambiáveis (Anexos 133 a 136; p. 139 e 140).

4.2 Avaliação da Atividade Anti-HCV

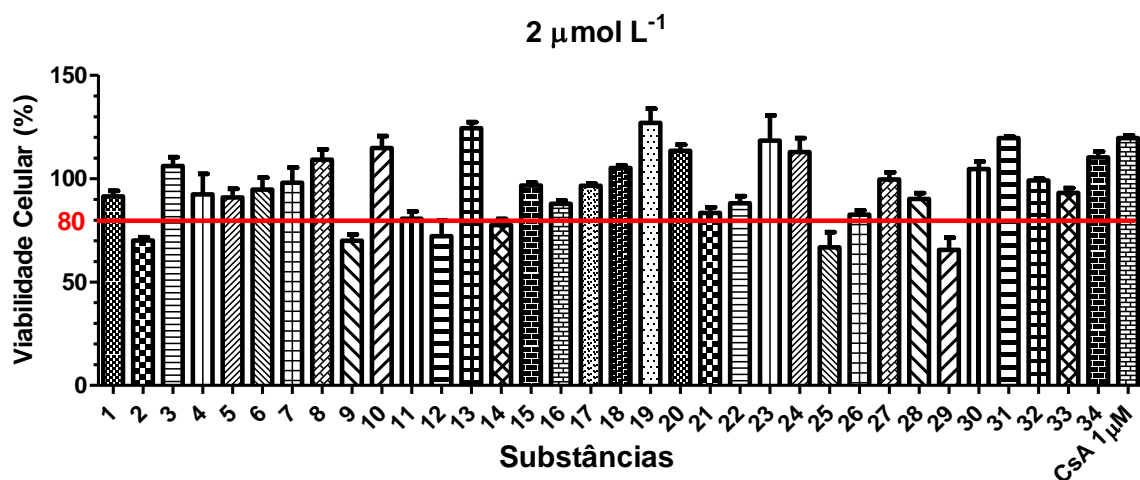
a) Viabilidade Celular de Hepatócitos Huh 7.5

Para a análise de viabilidade dos hepatócitos Huh 7.5, as substâncias foram ensaiadas em concentrações de 50, 10 e 2,0 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

O resultado dos testes de viabilidade dos hepatócitos Huh 7.5 demonstrou que as substâncias a 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ apresentaram efeito citotóxico, exibindo valores de viabilidade celular inferiores a 35%. Quando os testes foram realizados com as substâncias na concentração de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$, a viabilidade celular das substâncias **LQVM 8**, **LQVM 23**, **LQVM 30**, **LQVM 31** e **LQVM 33** foram superiores a 80%, sendo assim esta concentração foi selecionada para os ensaios de replicação do HCV.

Na concentração de 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$, os resultados foram apresentados na Figura 15, p. 58.

Figura 15. Viabilidade celular em hepatócitos Huh 7.5, CsA corresponde a ciclosporina A



Na Figura 15, 29 substâncias apresentaram viabilidade celular superior a 80%, quando testadas a $2 \mu\text{mol L}^{-1}$. Considerando esta viabilidade celular, a concentração de $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ foi determinada para a realização dos ensaios de inibição da replicação do HCV.

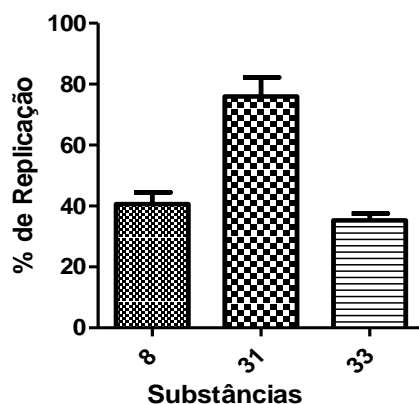
Devido à alta citotoxicidade apresentada pelas substâncias **LQVM 2**, **LQVM 9**, **LQVM 12**, **LQVM 14**, **LQVM 25** e **LQVM 29**, em $2 \mu\text{mol L}^{-1}$, o teste para avaliação de inibição de replicação do HCV por estas substâncias não foi realizado.

Aminochalconas que possuem substituintes nitro em sua estrutura, **LQVM 2**, **LQVM 9**, **LQVM 14**, **LQVM 21** demonstraram uma citotoxicidade elevada, uma vez que a viabilidade celular dessas substâncias foi menor ou próxima a 80%. Corroborando o fato de nitrocompostos serem caracterizados por sua alta toxicidade (PAULA; 2009)

b) Inibição da Replicação do HCV - Ensaio de Luciferase

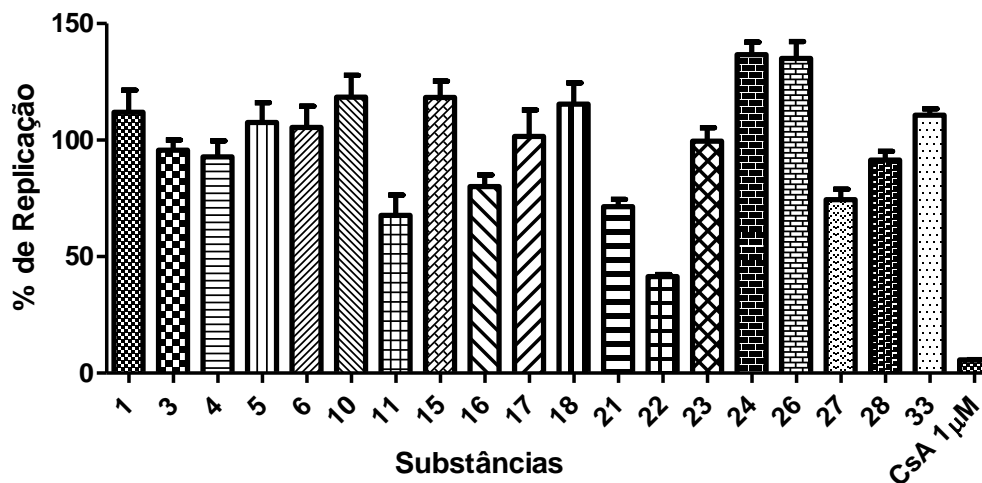
Dentre as substâncias testadas na concentração de $10 \mu\text{mol L}^{-1}$, as substâncias **LQVM 23** e **LQVM 30** não demonstraram inibição significativa, pois o vírus replicou-se em taxa de aproximadamente 100%. A Figura 16, p. 59 demonstrou as taxas de replicação na presença das substâncias **LQVM 8**, **LQVM 31** e **LQVM 33**.

Figura 16. Atividade anti-HCV na presença das substâncias **LQVM 8**, **LQVM 31**, **LQVM 33** a $10 \mu\text{mol L}^{-1}$



Na concentração de $2 \mu\text{mol L}^{-1}$, as substâncias **LQVM 7**, **LQVM 8**, **LQVM 27** e **LQVM 31** conferiram porcentagens de replicação superiores a 100%, para as demais substâncias os resultados foram demonstrados na Figura 17, p. 59.

Figura 17. Atividade anti-HCV das substâncias a $2 \mu\text{mol L}^{-1}$, CsA corresponde a ciclosporina A



A substância **LQVM 22** apresentou potente inibição da replicação do HCV na concentração de $2 \mu\text{mol L}^{-1}$ conferindo uma porcentagem de replicação de 41%; esse resultado é comparável aos resultados obtidos por LOU (2013), onde a chalcona natural, xantumol (Figura 7, p.24) confere replicação de 20% do vírus na concentração de $3,53 \mu\text{mol L}^{-1}$. Destaca-se também, a $2 \mu\text{mol L}^{-1}$, a aminochalcona **LQVM 11** conferindo replicação de 32 %; as demais substâncias demonstraram inibição inferior a 30 %, logo não se demonstraram potentes inibidores da replicação de HCV.

As substâncias **LQVM 8** e **LQVM 33** demonstram uma inibição considerável na replicação do HCV, demonstrando taxas de replicação de 41 e 35% respectivamente, porém apenas em uma concentração mais elevada, de 10 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

4.3 Avaliação da Atividade Antifúngica contra *Paracoccidioides brasiliensis*

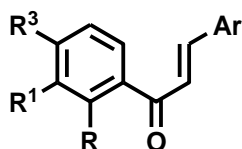
A Concentração Inibitória Mínima (CIM) capaz de promover 90% de inibição do crescimento do fungo foi determinada para as substâncias **LQVM 2 - LQVM 10, LQVM 12 - LQVM 33**, os valores de CIM₉₀ das aminochalconas estão sumarizados na Tabela 1, p. 60.

Tabela 1. Atividade contra *P. brasiliensis* de aminochalconas

Substância	R	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	CIM ₉₀ ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
LQVM 2	NH ₂	H	H	NO ₂	H	31,3
LQVM 3	NH ₂	H	H	H	Br	3,90
LQVM 4	NH ₂	H	H	H	CN	0,97
LQVM 5	NH ₂	H	H	H	Cl	1,90
LQVM 6	NH ₂	H	H	H	F	0,97
LQVM 7	NH ₂	H	H	H	CH ₃	7,80
LQVM 8	NH ₂	H	H	H	OCH ₃	15,6
LQVM 9	NH ₂	H	H	H	NO ₂	1,95
LQVM 10	NH ₂	H	H	H	CF ₃	1,95
LQVM 12	H	NH ₂	H	H	Cl	0,97
LQVM 13	H	H	NH ₂	H	H	7,80
LQVM 14	H	H	NH ₂	NO ₂	H	31,3
LQVM 15	H	H	NH ₂	H	Br	31,3
LQVM 16	H	H	NH ₂	H	CN	0,49
LQVM 17	H	H	NH ₂	H	Cl	0,49
LQVM 18	H	H	NH ₂	H	F	3,90
LQVM 19	H	H	NH ₂	H	CH ₃	7,80
LQVM 20	H	H	NH ₂	H	OCH ₃	15,6
LQVM 21	H	H	NH ₂	H	NO ₂	62,5
LQVM 22	H	H	NH ₂	H	CF ₃	>125
anfotericina B						0,12

Os valores de CIM₉₀ para os análogos arílicos de aminochalconas foram sumarizados na Tabela 2, p 61.

Tabela 2. Atividade contra *P. brasiliensis* dos análogos arílicos de aminochalconas



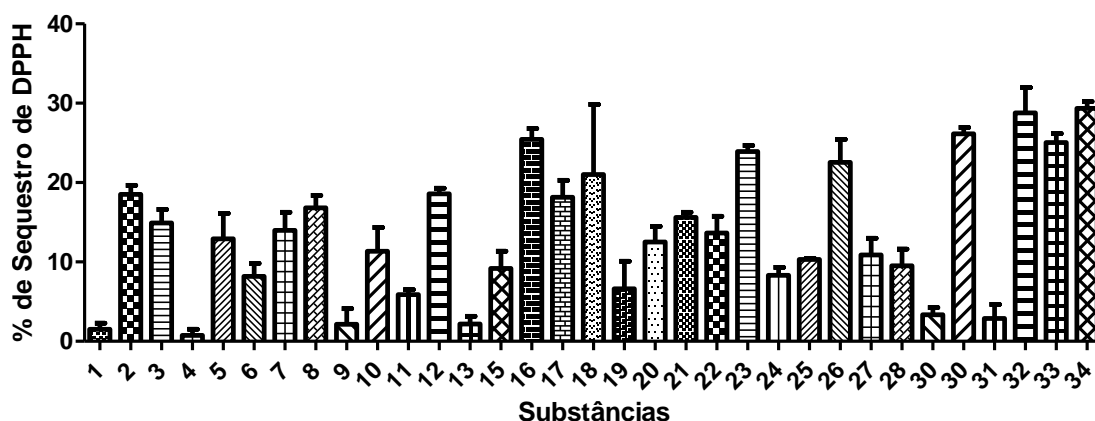
Substância	R	R ¹	R ²	Ar	CIM ₉₀ (µg mL ⁻¹)
LQVM 23	NH ₂	H	H		7,80
LQVM 24	NH ₂	H	H		15,6
LQVM 25	NH ₂	H	H		>125
LQVM 26	NH ₂	H	H		>125
LQVM 27	NH ₂	H	H		15,6
LQVM 28	H	NH ₂	H		7,80
LQVM 29	H	NH ₂	H		1,95
LQVM 30	H	H	NH ₂		62,5
LQVM 31	H	H	NH ₂		62,5
LQVM 32	H	H	NH ₂		31,3
LQVM 33	H	H	NH ₂		>125
anfotericina B					0,12

As chalconas mais potentes para inibição do crescimento de *Paracoccidioides brasiliensis* foram **LQVM 16** e **LQVM 17**, 4'-aminochalconas, com grupos retiradores de elétrons no anel B, incluindo nitrila e cloro respectivamente. Observou-se uma tendência de análogos arílicos serem menos ativos do que as aminochalconas.

4.4 Avaliação da Capacidade Antioxidante

A capacidade antioxidante das substâncias foi avaliada pelo sequestro do radical DPPH. A Figura 18, p. 62, demonstrou a porcentagem de sequestro de DPPH, para as aminochalconas e seus análogos arílicos.

Figura 18. Sequestro do radical DPPH



As substâncias não apresentam capacidade antioxidante, uma vez que a maior taxa de sequestro do radical DPPH foi inferior a 30 % quando testadas a 1 mmol L⁻¹. Neste ensaio, a quercetina, uma substância antioxidante, apresentou um CE₅₀ de 5,37 μmol L⁻¹.

4.5 Avaliação da Inibição *in vitro* da Atividade Clorinante de MPO

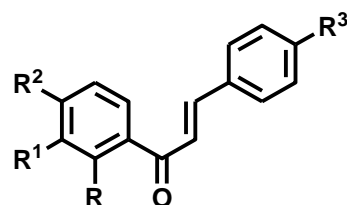
Dando continuidade aos estudos de ZERAIK e colaboradores (2012) objetivando a descoberta de chalconas inibidoras de MPO, a inibição da atividade clorinante *in vitro* da MPO foi determinada por meio de plotagem de gráficos que correlacionaram a porcentagem de inibição de MPO (eixo y) em função da concentração da substância (eixo x). Foram utilizadas quatro concentrações em μmol L⁻¹, sendo os valores de concentração

capaz de inibir em 50% a atividade catalítica da MPO (CI_{50}) determinadas pelas equações de tendência desses gráficos, todas apresentaram coeficiente de correlação linear de aproximadamente 0,90.

A avaliação do sequestro do radical taurina-cloramina (TnCl), foi realizada como controle, na concentração de $25 \mu\text{mol L}^{-1}$. Todas as substâncias apresentaram capacidade de sequestro inferior a 10%. Esses dados obtidos somados àqueles de sequestro de DPPH indicam baixa reatividade das substâncias frente à espécies radicalares.

Os valores de CI_{50} determinados para as aminochalconas foram sumarizados na Tabela 3, p. 63.

Tabela 3. Atividade inibitória de MPO *in vitro* das aminochalconas



Substância	R	R ¹	R ²	R ³	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
LQVM 1	NH ₂	H	H	H	$1,05 \pm 0,08$
LQVM 11	H	NH ₂	H	H	$0,97 \pm 0,11$
LQVM 13	H	H	NH ₂	H	$0,56 \pm 0,05$
LQVM 16	H	H	NH ₂	CN	$0,52 \pm 0,04$
LQVM 20	H	H	NH ₂	OCH ₃	$0,34 \pm 0,06$
LQVM 21	H	H	NH ₂	NO ₂	$0,63 \pm 0,01$
LQVM 22	H	H	NH ₂	CF ₃	$0,63 \pm 0,07$
5- fluortriptamina					$0,16 \pm 0,07$

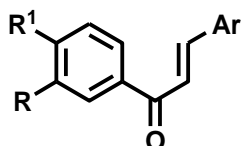
Nos estudos de ZERAIK e colaboradores (2012), as chalconas contendo o grupo amino no anel A mostraram-se potentes inibidores de MPO, quando comparadas a hidroxichalconas. Os resultados demonstrados na Tabela 3, p. 63 permitem a comparação dos valores de CI_{50} entre as aminochalconas LQVM 1, LQVM 11 e LQVM 13 indicando que a presença do grupo amino na posição 4' confere maior potência.



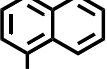
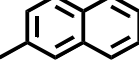
As 4'-aminochalconas que contém substituintes retiradores de elétrons no anel B LQVM 16, LQVM 21 e LQVM 22 se mostraram menos potentes do que a 4'-aminochalcona LQVM 20 que possui o grupo metoxila, um grupo doador de elétrons. A 4'-aminochalcona LQVM 20 apresentou a maior inibição de MPO, exibindo um valor de

CI₅₀ de 0,34 μmol L⁻¹, sendo duas vezes menos potente que a 5-fluortriptamina (CI₅₀ = 0,16 μmol L⁻¹), a qual foi utilizada como inibidor de referência.

Os resultados dos valores de CI₅₀ para os análogos arílicos de aminochalconas foram sumarizados na Tabela 4, p. 64.

Tabela 4. Atividade Inibitória de MPO *in vitro* dos Análogos Arílicos de Aminochalconas



Substância	R	R ¹	Ar	CI ₅₀ (μmol L ⁻¹)
LQVM 30	H	NH ₂		0,54 ± 0,04
LQVM 31	H	NH ₂		0,53 ± 0,08
LQVM 32	H	NH ₂		>10
LQVM 34	H	NH ₂		>10
5- fluortriptamina				0,16 ± 0,07

As substâncias **LQVM 30** e **LQVM 31** demonstraram atividade inibitória em MPO similar a **LQVM 13** (Tabela 3; p. 63) sugerindo uma relação bioisostérica clássica entre **LQVM 13**, **LQVM 30** e **LQVM 31**, as quais possuem anéis com o mesmo número de elétrons π. As substâncias **LQVM 32** e **LQVM 34**, que apresentam dez elétrons π, não apresentaram inibição da MPO, devido a um provável devido ao fator estérico, uma vez que seus anéis são mais volumosos.

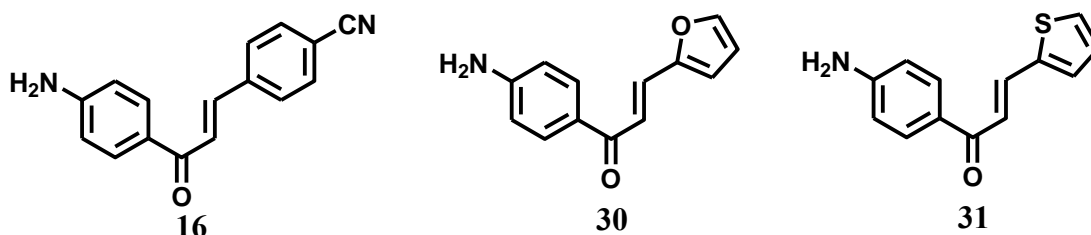
4.6 Avaliação da Inibição *ex vivo* da Atividade Clorinante de MPO

Para as substâncias **LQVM 16**, **LQVM 30** e **LQVM 31** o teste de viabilidade celular com azul de Trypan demonstrou que essas substâncias não foram citotóxicas aos neutrófilos, uma vez que a viabilidade celular foi acima de 90% após 90 minutos de

incubação. Esses resultados demonstram que nos experimentos não houve influência da citotoxicidade sobre a inibição da MPO.

Os resultados de CI_{50} foram demonstrados na Tabela 5, p.65.

Tabela 5. Resultados de CI_{50} para inibição de MPO *ex-vivo*



Substância	CI_{50} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
LQVM 16	>50
LQVM 30	$21,2 \pm 1,1$
LQVM 31	$19,2 \pm 0,5$
5- fluortriptamina	$10,1 \pm 0,4$

A inibição da MPO *ex vivo*, produzida por neutrófilos, pelos análogos arílicos LQVM 30 e LQVM 31 foi potente, sendo aproximadamente duas vezes menos potente do que a 5-fluortriptamina. A substância LQVM 16 não promoveu inibição em meio celular, demonstrando uma CI_{50} superior a $50 \mu\text{mol L}^{-1}$.

5. Conclusões

As aminochalconas e análogos arílicos foram sintetizados pela condensação de Claisen-Schimidt demonstrando rendimentos altos, uma vez que para 79% das substâncias, foram superiores a 75%. Entre as 34 substâncias sintetizadas foram obtidas 5 substâncias inéditas.

Nos testes de inibição da replicação do HCV, a substância **LQVM 22** mostrou-se potente, e pode ser considerada uma substância protótipo para modificações estruturais e potencialização da atividade biológica. Entre as 34 substâncias testadas, 28 não apresentaram citotoxicidade aos hepatócitos até a concentração de 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

Para inibição do crescimento fúngico as aminochalconas **LQVM 16** e **LQVM 17** mostraram-se como potentes agentes anti-*Paracoccidioides brasiliensis* apresentando um valor de CIM de 0,49 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

O estudo da inibição da atividade clorinante de MPO pelas aminochalconas e análogos arílicos, demonstrou que a substância **LQVM 20** é a mais potente entre as testadas *in vitro*. Nos testes *ex-vivo* os análogos arílicos **LQVM 30** e **LQVM 31** mostraram potente inibição, sendo aproximadamente duas vezes menor do que em relação à 5-fluortriptamina.

Nossos estudos químicos e biológicos de aminochalconas e seus análogos arílicos conduziram a descoberta de *hits*, os quais são valiosos protótipos para o desenvolvimento de agentes terapêuticos inovadores.

6. Referências Bibliográficas

AL-MASUM, M.; NG, E.; WAI, M. C. Palladium catalyzed direct cross-coupling of potassium styryltrifluoroborates and benzoyl chlorides - a one step method for chalcone synthesis. **Tetrahedron Letters**, v. 52, p. 1008-1010, 2011.

ANATOLIOTAKIS, N.; et al. Myeloperoxidase: Expressing Inflammation and Oxidative Stress in Cardiovascular Disease. **Current Topics in Medicinal Chemistry**, v. 13, p. 115-138, 2013.

ANDRADE, R. V.; et al. Overview and Perspectives on the Transcriptome of *Paracoccidioides brasiliensis*. **Revista Iberoamericana de Micologia**, v. 22, p. 203-212, 2005.

BARREIRO, E.; FRAGA C. A. M. **Química Medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**, 2.ed, Porto Alegre: ArtMed, 2008.

BARREIRO, E. J.; FRAGA C. A.; RODRIGUES C. R.; MIRANDA A. L. P; Estratégias em Química Medicinal para o Planejamento de Fármacos. **Revista Brasileira em Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 3, p. 269-292, 2001.

BARREIRO, E. J.; LIMA, L. M. Bioisosterism: A Useful Strategy for Molecular Modification and Drug Design. **Current Medicinal Chemistry**, v. 12, n. 1, p. 23-49, 2005.

BUCKARI, S. N. A.; JASAMAI, M.; JANTAM I.; AHMAD W. Review of methods and various catalysts used for chalcone synthesis. **Mini-Reviews in Organic Chemistry**, v. 10, p. 73-83, 2013.

DE PAULA E SILVA, A. C. A; et al. Microplate Alamar Blue Assay for *Paracoccidioides* Susceptibility Testing. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1250-1252, 2013.

DAVIES, M. J. Myeloperoxidase -derived oxidation: Mechanisms of Biological Damage and its Prevention. **J. Clin. Biochem. Nutr.** v. 48, n. 1, p. 8-19, 2011.

DIMMOCK, J. R., et al. Cytotoxic 4'-aminochalcones and related compounds. **Pharmazie**, v.58, p. 227-232, 2003.

EDDARIR, S.; COTELLE N.; BAKKOUR Y.; ROLANDO C. An efficient synthesis of chalcones based on the Suzuki reaction. **Tetrahedron Letters**, v. 44, p. 5359-5363, 2003.

FABRIS, L. R.; et al. Decrease Prevalence of the Acute/Subacute Clinical Form of Paracoccidioidomycosis in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Rev. Ind. Med. Trop. São Paulo**. v. 56, n. 2, p. 121-125, 2014.

GUIDO R. V. C., ANDRICOPULO A. D., OLIVA G. Planejamento de Fármacos, Biotecnologia e Química Medicinal: aplicações em doenças infecciosas. **Estudos Avançados**, v.24, n. 70, p. 81-98, 2010.

HOOFNAGLE, J. H.; FELD, J. J. Mechanism of Action of Interferon and Ribavarin in Treatment of Hepatitis C. **Nature**, v. 436, p. 967-972, 2005.

HUSSAIN, M. M. M.; BHAT, I. K.; REVANASIDDAPPA, B. C.; SIDDIQ, A.; BHARATHI, D. R. Antimicrobial and cytotoxic evaluation of (*E*)-thienyl chalcones derived from thiophene-2-carboxaldehyde. **Pharmacologyonline**, v. 3, p. 880-888, 2011.

JAYAPAL, M.R.; SREEDAR N. Y. Anhydrous K₂CO₃ as Catalyst for the synthesis of chalcones under microwave irradiation. **Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 10, p. 644-647, 2010.

KALSOOM, S.; et al. In vitro and in silico exploration of IL-2 inhibition by small drug-like molecules. **Medicinal Chemical Research**, New York, v. 22, p.5739 - 5751, 2013.

KARAMAN, I.; GEZEGEN, H.; GÜRDERE, M. B.; DINGIL, A.; CEYLAN, M.; Screening of Biological Activities of a Series of Chalcone Derivatives against Human Pathogenic Microorganisms. **Chemistry and Biodiversity**, Zürich, v.7, p. 400-408, 2010.

KELLER, T. H.; PICHOTA, A.; YIN, Z. A Practical View of 'Druggability'. **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 10, p. 357-361, 2007.

KOHLI, A.; SHAFFER, A.; SHERMAN, A.; KOTILIL, S. Treatment of Hepatitis C: A Systematic Review. **Clinical Review & Education**, v. 312, n. 6, p. 631-640, 2014.

LAU, D.; BALDUS, S. Myeloperoxidase and its contributory role in inflammatory vascular disease. **Pharmacology & Therapeutics**, v.111, p. 16-26, 2006.

LIANG, T. J.; GHANY, M. G. Current and Future Therapies for Hepatitis C Virus Infection. **The New England Journal of Medicine**, v. 368, n.20, p.1907-1917, 2013.

LIU, G.; GE, Z.; MENG DAN, Z.; ZHOU Y. Design, Synthesis and Cytotoxic Activities of Novel Aliphatic Amino-Substituted Flavonoids. **Molecules**, v.18, p. 14070-14084, 2013.

LOU, S.; et al. Inhibition of Hepatitis C Virus Replication In Vitro by Xanthohumol, a Natural Product Present in Hops. **Planta Med**, New York, v. 80, p. 171-176, 2013.

MAI, C. W.; et al. Chalcones with electron-withdrawing and electron-donating substituents: Anticancer activity against TRAIL resistant cancer cells, structure-activity relationship analysis and regulation of apoptotic proteins. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 77, p. 378-387, 2014.

MALLE, E.; et al. Myeloperoxidase: a target for new drug development? **British Journal of Pharmacology**, v. 152, p. 838-854, 2007.

MOLANDER, G. A.; PETRILLO, D. E. Suzuki Miyura cross-coupling of potassium trifluoroborate-homoenolates. **Organic Letters**, v.10, n. 9, p.1795-1798, 2008.

MONTANARI, C. A.; BOLZANI, V. S. Planejamento Racional de Fármacos Baseado em Produtos Naturais. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p.105-111, 2001.

MENEZES, V. M.; SOARES, B.; FONTES, C. J. B. Drugs for Treating Paracoccidiodomycosis. **The Cochrane Colaboration**, 2009.

MUNIR, S; et al. Hepatitis C Treatment: Current and Future Perspectives. **Virology Journal**, v 296, n.6, p.1-6, 2010.

NUSSBAUM, C.; et al. Myeloperoxidase: A Leucocyte-Derived Protagonist of Inflammation and Cardiovascular Disease. **Antioxidant and Redox Signaling**, v. 18, n. 6, 2013.

PAULA, F. R.; SERRANO, S. H. P.; TAVARES, L. C. Aspectos Mecanísticos da Bioatividade e Toxicidade de Nitrocompostos. **Química Nova**, v. 32, n.4, p. 1013-1020, 2009.

PRASAD, Y. R.; RAO, A. S.; RAMBABU R. Synthesis of some 4'-Amino Chalcones and their Antiinflammatory and Antimicrobial Activity. **Asian Journal of Chemistry**, Visakhapatnam, v. 21, n.2, p.907-914, 2009.

PRASHAR, H.; CHAWLA, A.; KUMAR, S.; KHARB, R. Chalcone as a versatile moiety for diverse pharmacological activities. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Jalandhar, v. 3, n. 7, p.1913-1927, 2012.

RAMIREZ-DURÁN, L. A.; et al. Mapping Myeloperoxidase to Identify its Promiscuity Properties Using Docking and Molecular Dynamics Simulations. **Current Pharmaceutical Design**, v. 19, p. 2204-2215, 2013.

RANG, H. P.; et al. **Rang & Dale: Farmacologia**. 7ª ed. [tradução de Tatiana Ferreira Robaiana, et al.] – Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

ROMAN, R. M.; WENDLAND, A. E.; POLANCZYK, C. A. Mieloperoxidase e Doença Arterial Coronariana: da Pesquisa à Prática Clínica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 91, n. 1, p. e-12 – e-19, 2007.

SILVA, W. S.; **Paracoccidioidomicose: estudo clínico-demográfico a partir de pacientes portadores de lesões bucais**. 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2007.

SOUBHYE, J. H.; **Design Synthesis and Study of Myeloperoxidase Inhibitors in the Series of 3-alkylindole**. 2014. 181 f. Tese (Doutorado em Ciências Biomédicas e Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Livre de Bruxelas, Bruxelas, 2014.

SOUBHYE, J. H.; et al. Structure-Based Design, Synthesis, and Pharmacological Evaluation of 3-(Aminoalkyl)-5-fluoroindoles as Myeloperoxidase Inhibitors **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 23, p. 8747-8759, 2010.

TEMBE, E. A.; et al. Pharmacological profile of the 5-hydroxytryptamine receptor of *Fasciola hepatica* body wall muscle. **Parasitology**, v. 106, n.1, p. 67–73, 1993.

VALADARES, M. C.; CASTRO, N. C.; CUNHA, L. C. *Synadenium umbellatum*: citotoxicidade e danos ao DNA de células da medula óssea de camundongos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 631-638, 2007.

WENDLAND, A. E. **Efeito de Variáveis Pré-analíticas nos Níveis de Mieloperoxidase**. 2009. 99 f. Dissertação (Mestrado em Cardiologia e Ciências Vasculares) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

WU, J.; et al. Evaluation and Discovery of Novel Synthetic Chalcone Derivatives as Anti-Inflammatory Agents. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.54, p. 8110-8123, 2011.

XIA, Y.; et al. Antitumor Agents. Part 202: Novel 20-Amino Chalcones: Design, Synthesis and Biological Evaluation. **Biorganic & Medicinal Chemistry**, v.10, p. 699-701, 2000.

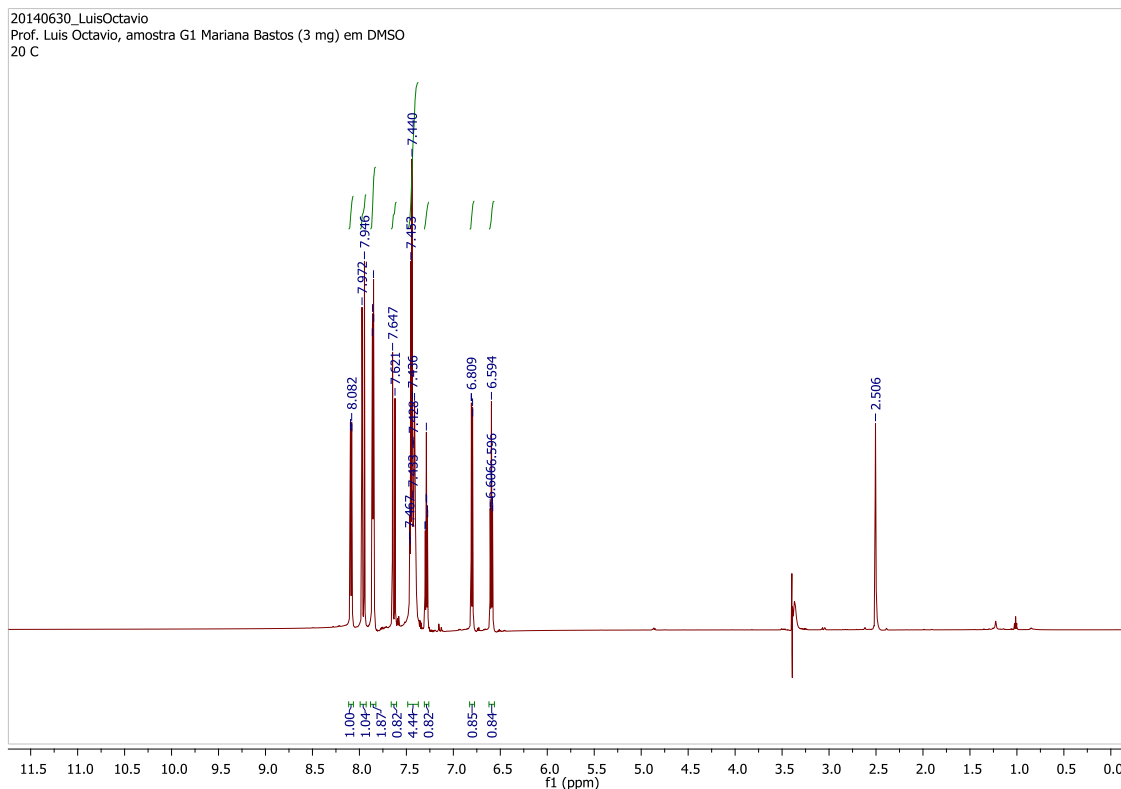
YOSHIDA, T.; KONDOH, M.; YAGI, K. Promising Targets for Anti-Hepatitis C Virus Agents. **Current Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 1239-1244, 2011.

ZANGADE, S.; MOKLE S.; VIBHUTE A.; VIBHUTE Y. An efficient and operationally simple synthesis of some new chalcones by using grinding technique. **Chemical Sciences Journal**, p.1-6, 2011.

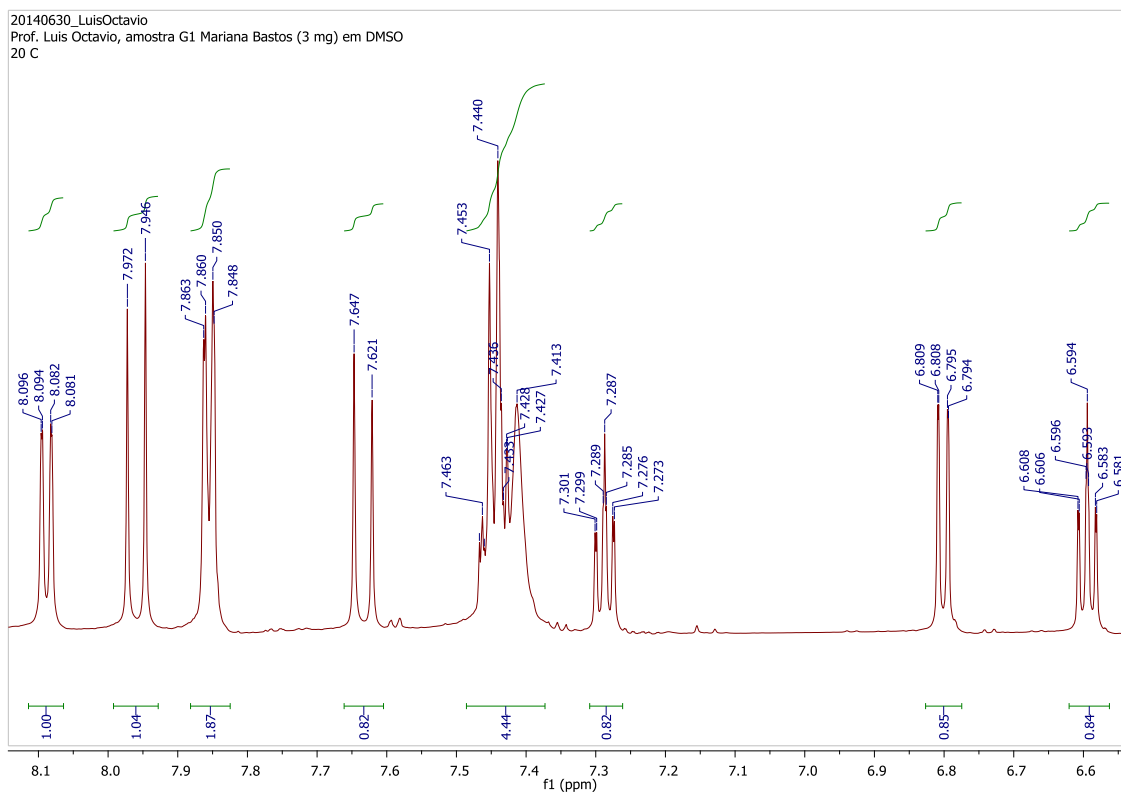
ZERAIK, M. L.; et al. 4'-Aminochalcones as Novel Inhibitors of the Chlorinating Activity of Myeloperoxidase. **Current Medicinal Chemistry**, v. 19, p. 5405-5413, 2012.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O., et al (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**: Ed. UFSC, 2001, p.499-526.

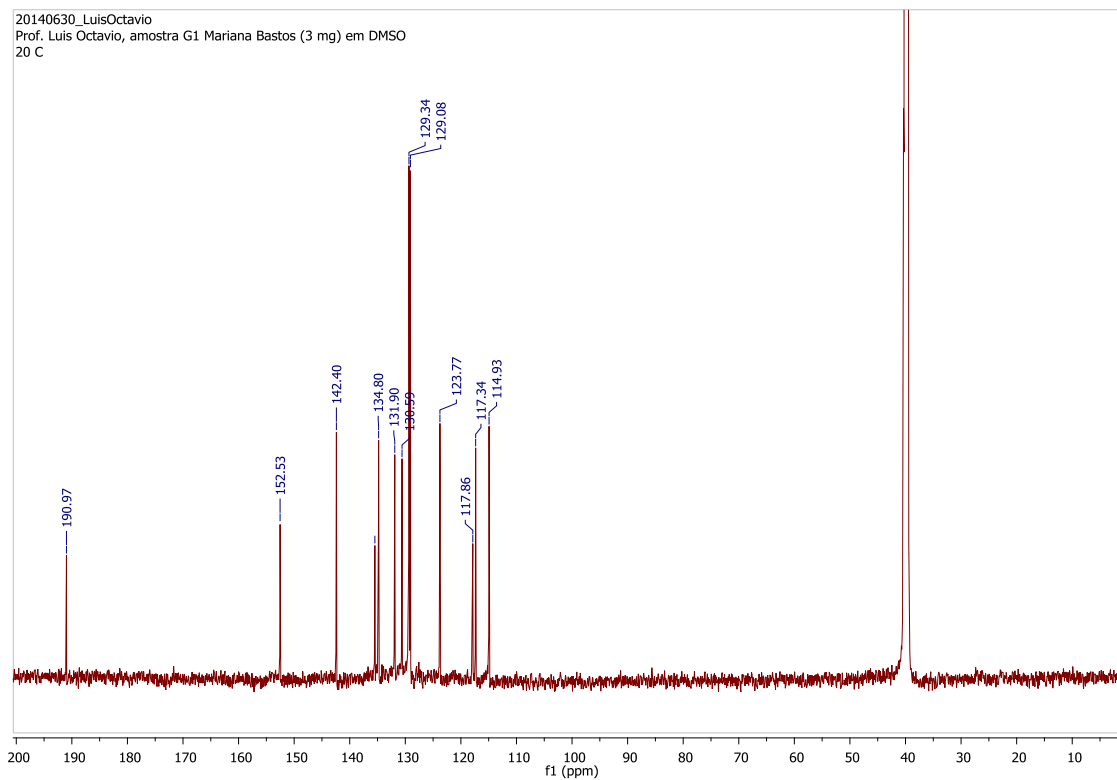
ANEXO 1. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 1** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



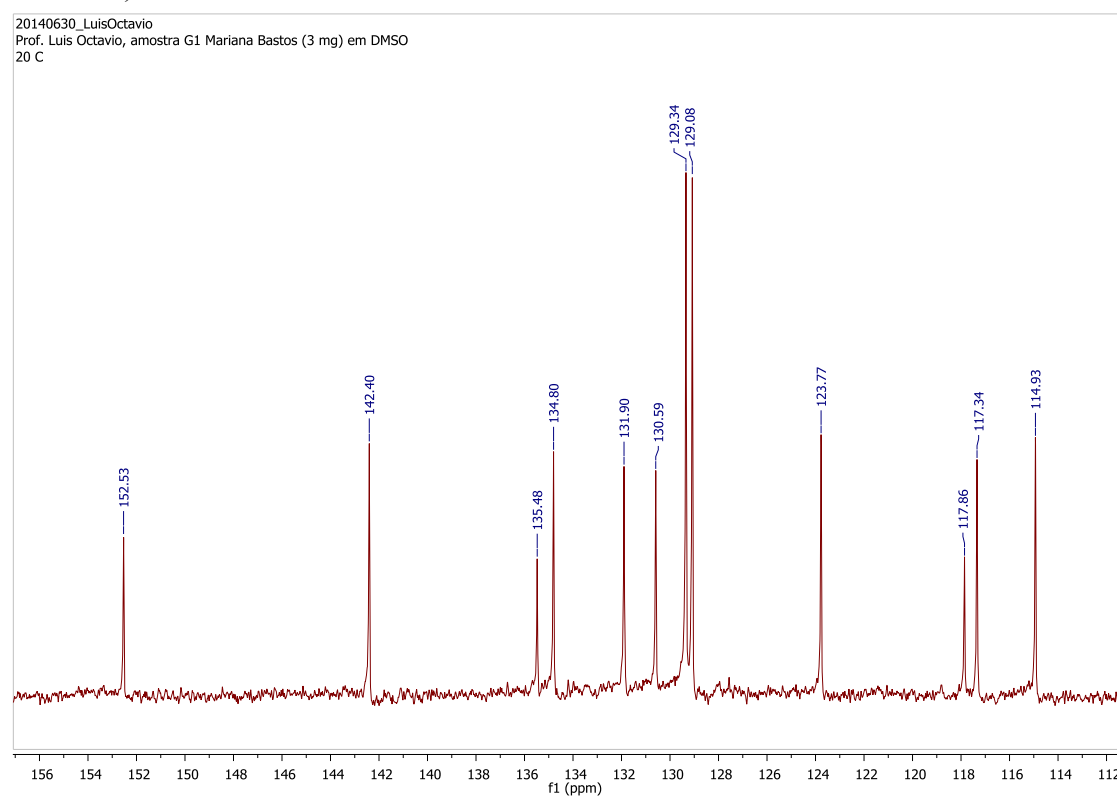
ANEXO 2. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 1** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



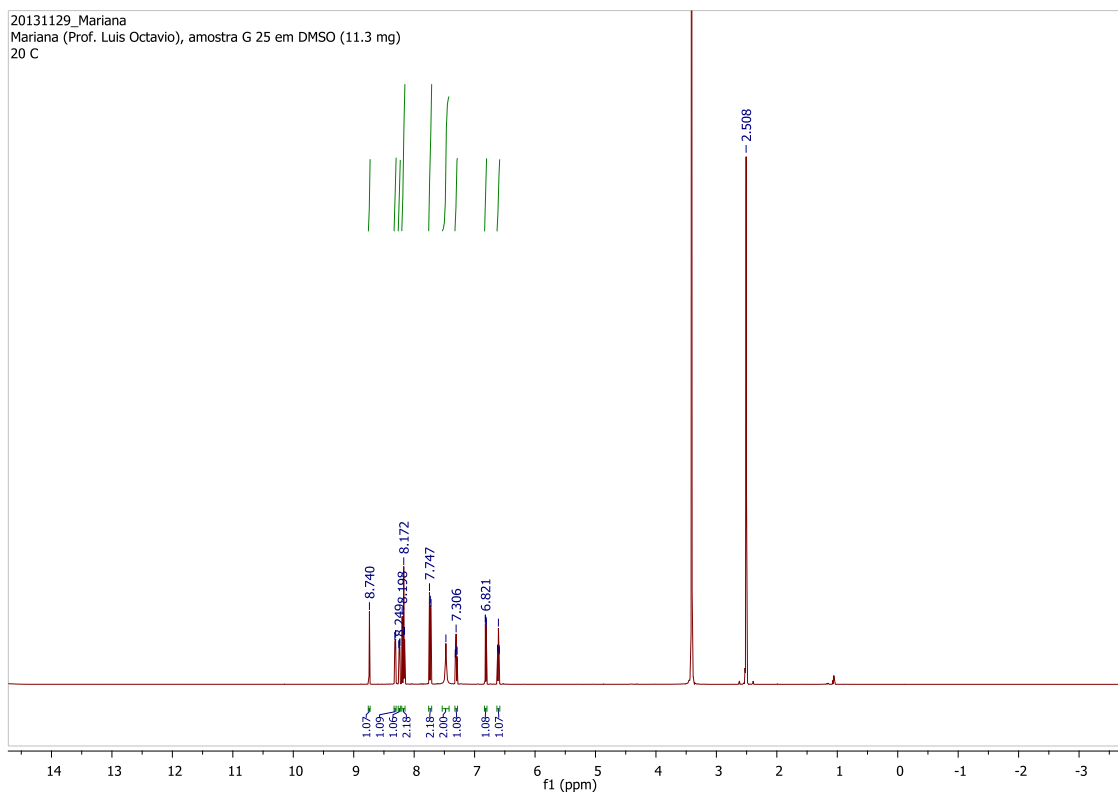
ANEXO 3. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



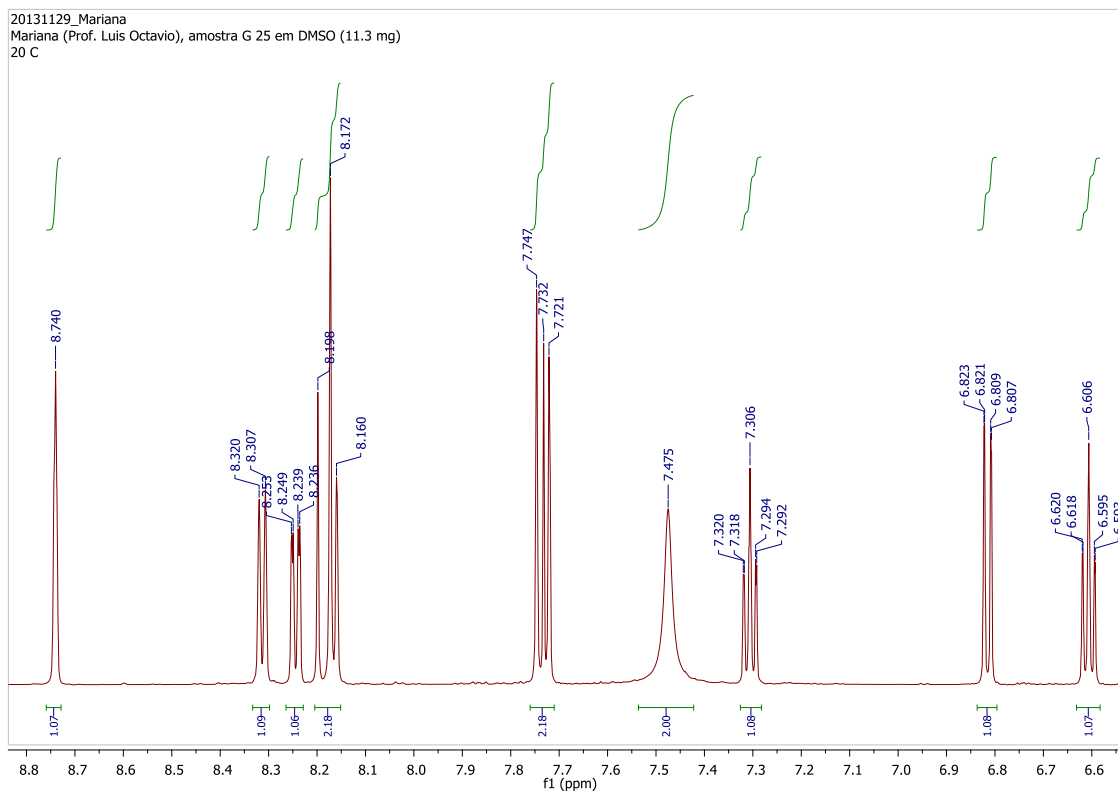
ANEXO 4. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 1 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



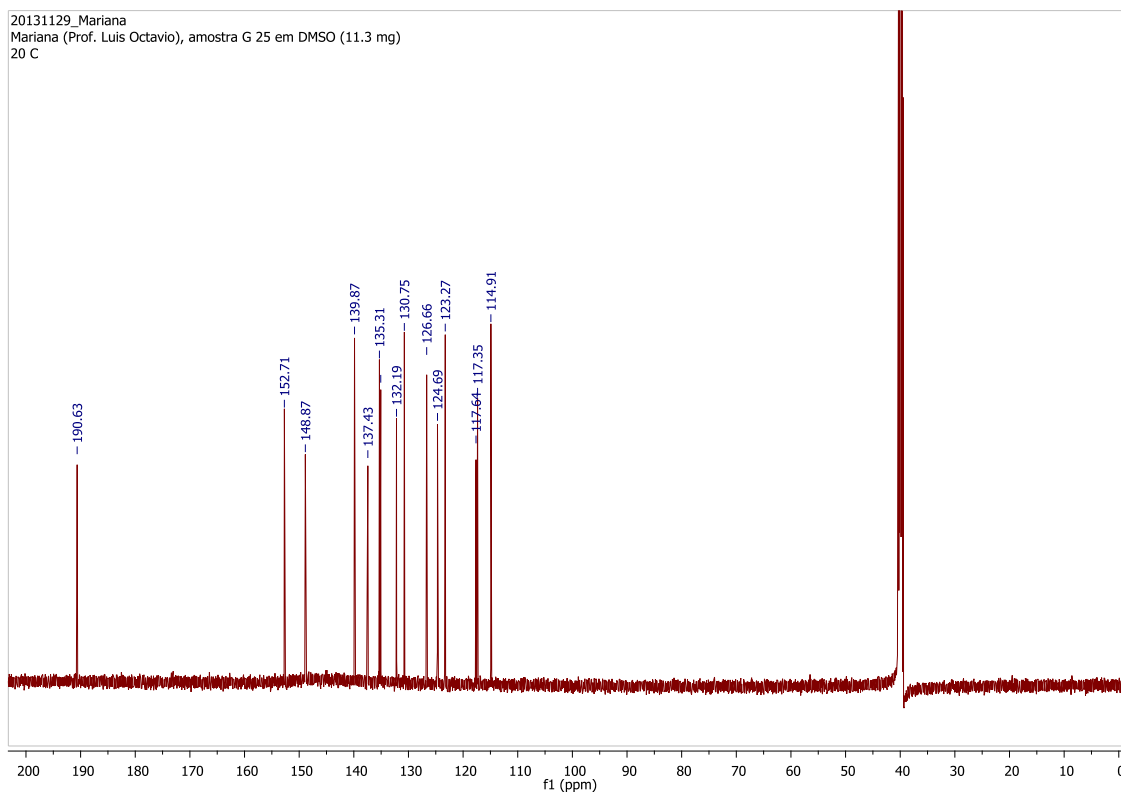
ANEXO 5. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 2** (DMSO- d_6 ; 600MHz)



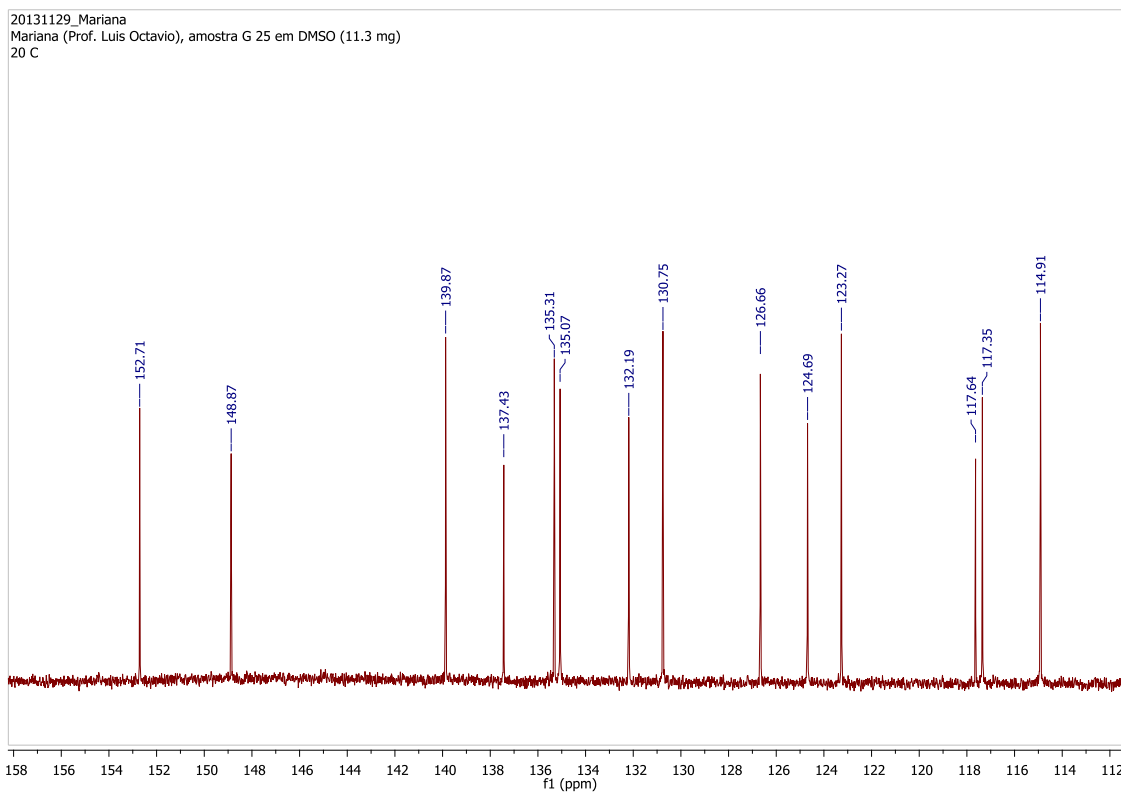
ANEXO 6. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 2** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



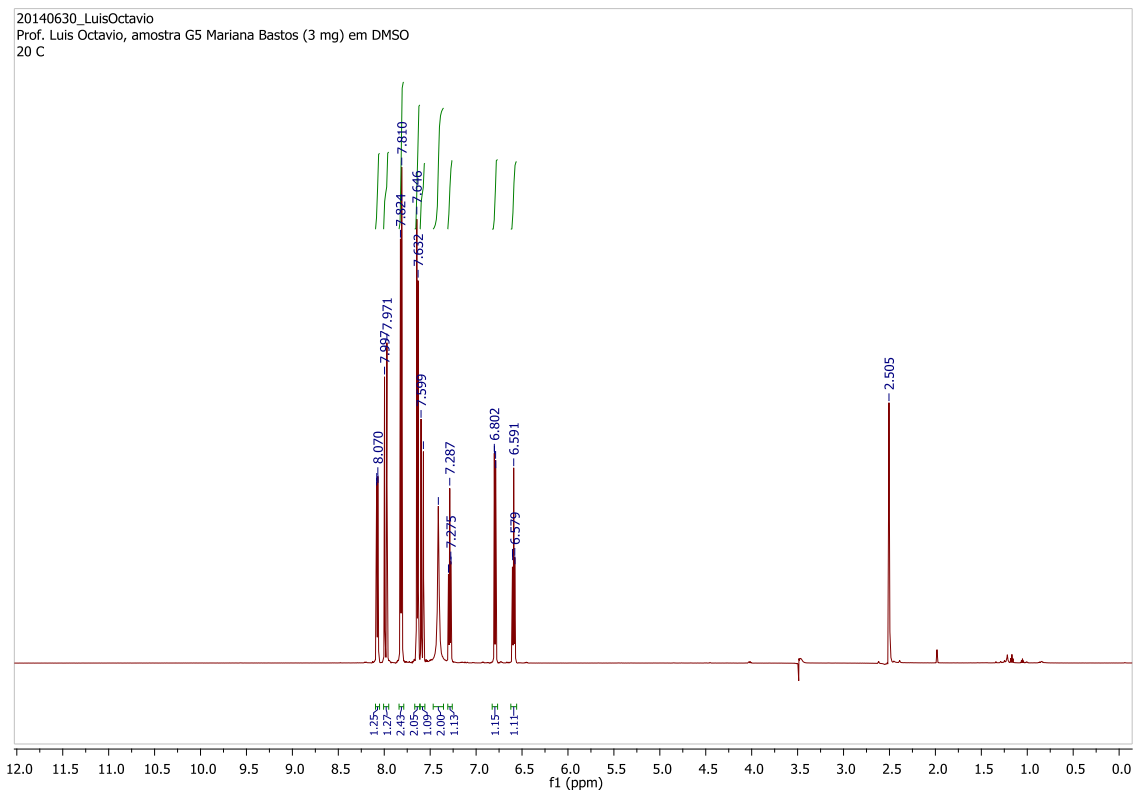
ANEXO 7. Espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



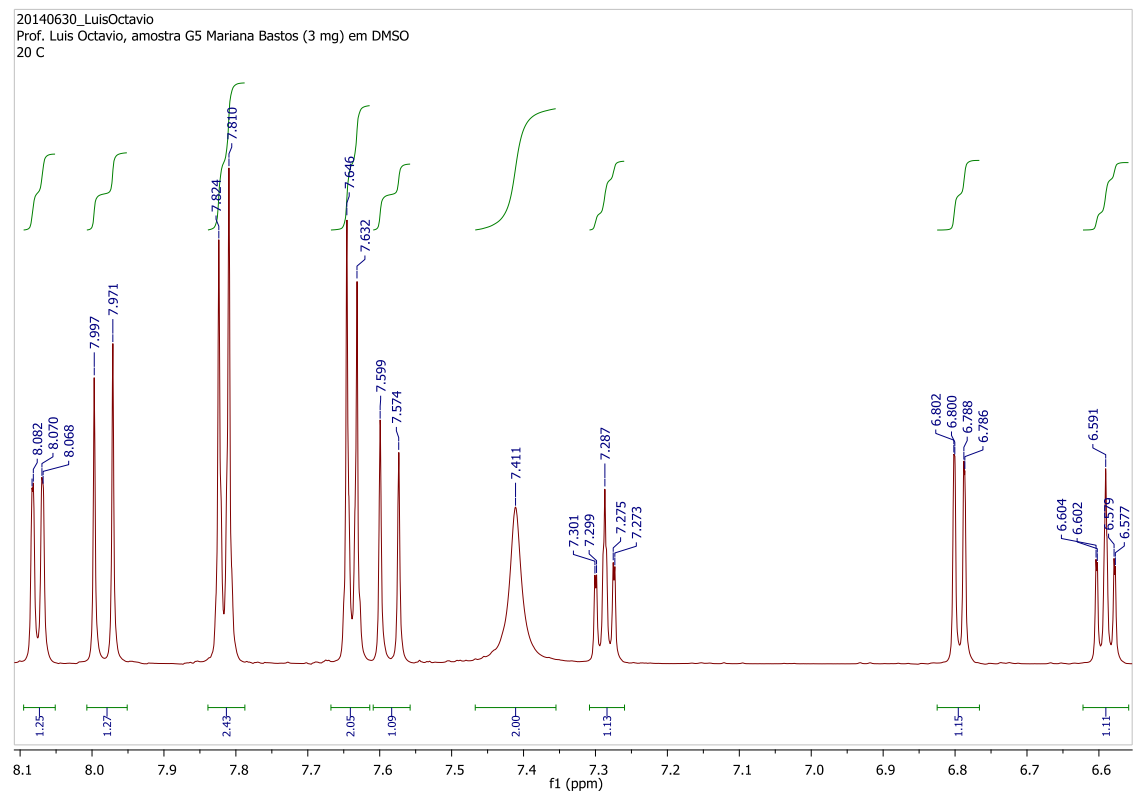
ANEXO 8. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância LQVM 2 (DMSO- d_6 ; 150 MHz).



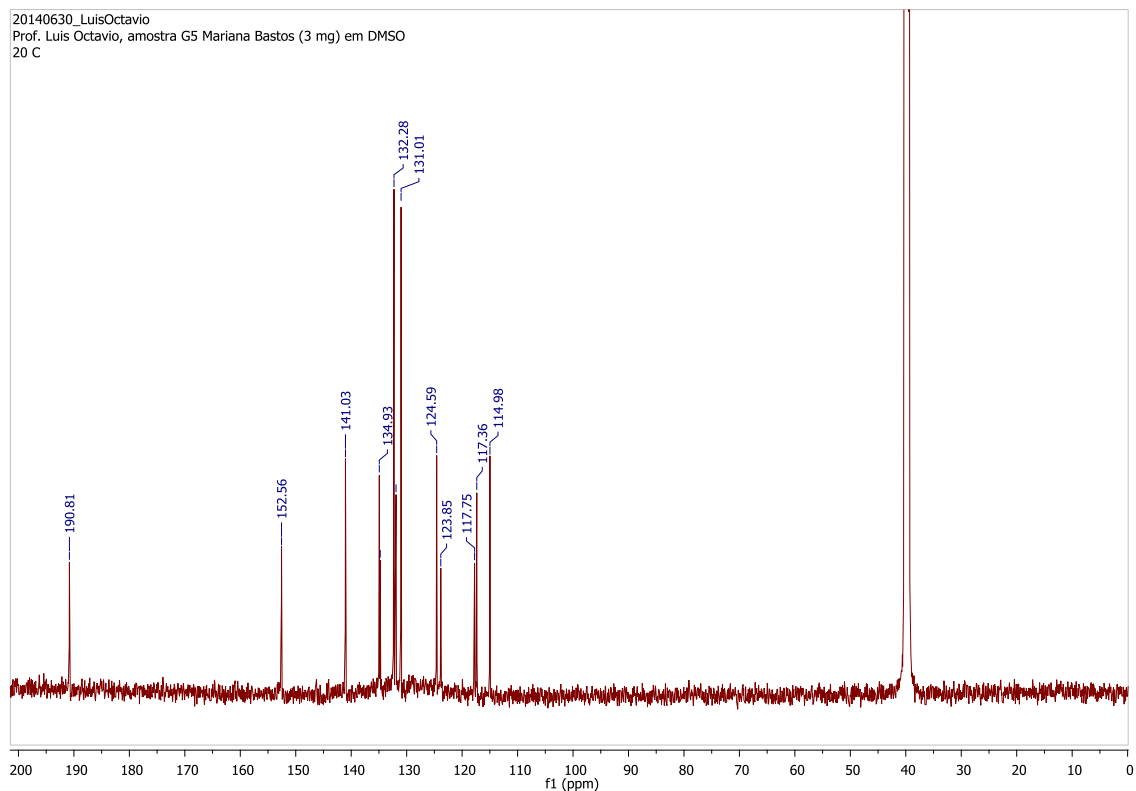
ANEXO 9. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 3** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



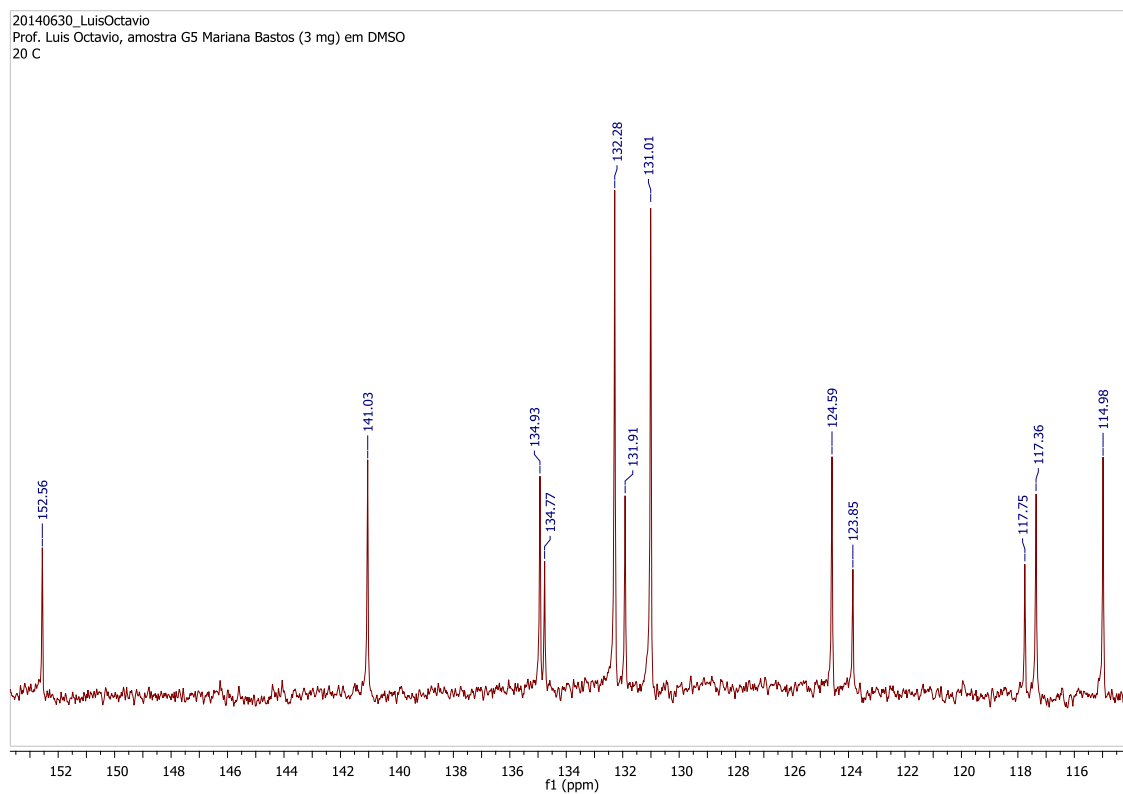
ANEXO 10. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 3** (DMSO- d_6 ; 600MHz)



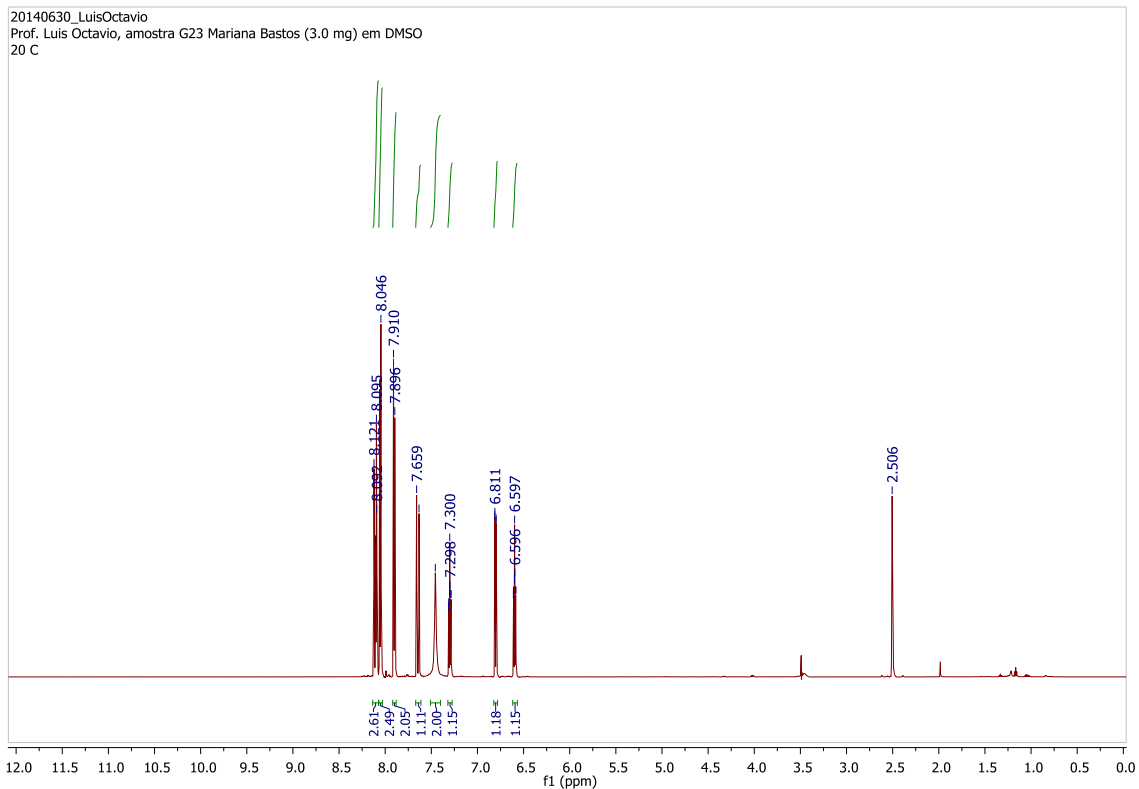
ANEXO 11. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 3** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



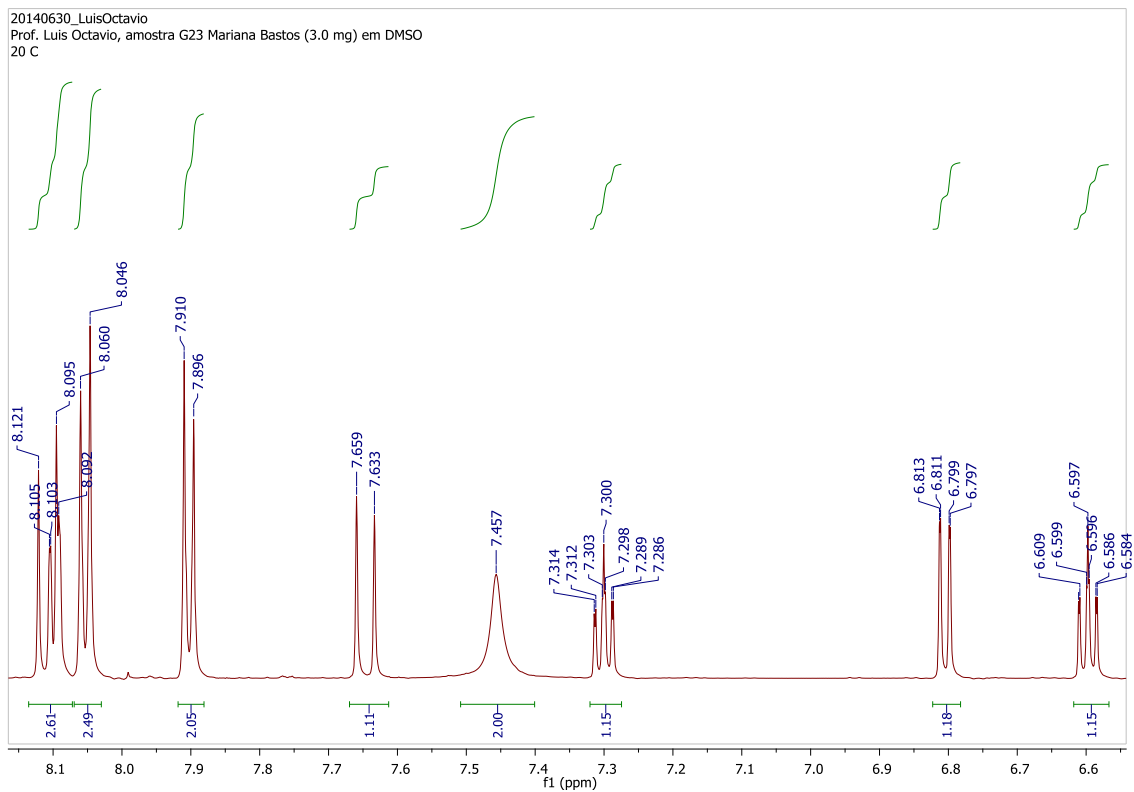
ANEXO 12. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 3** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



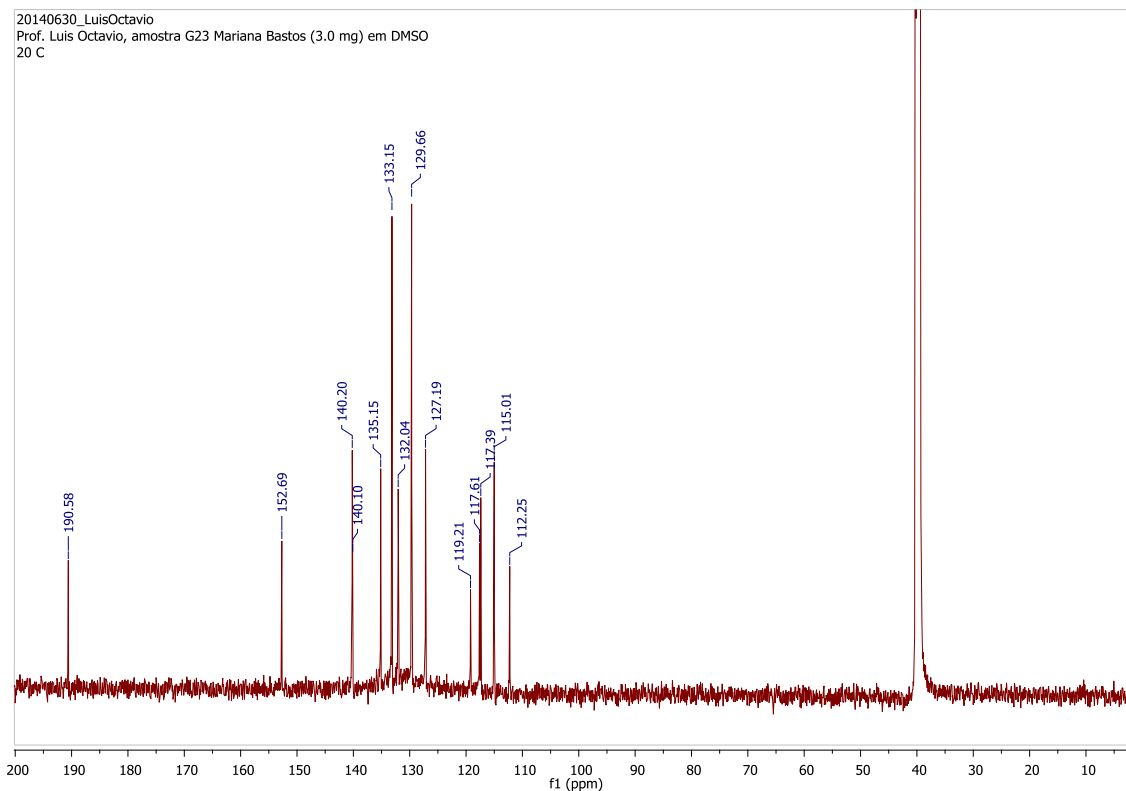
ANEXO 13. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 4** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



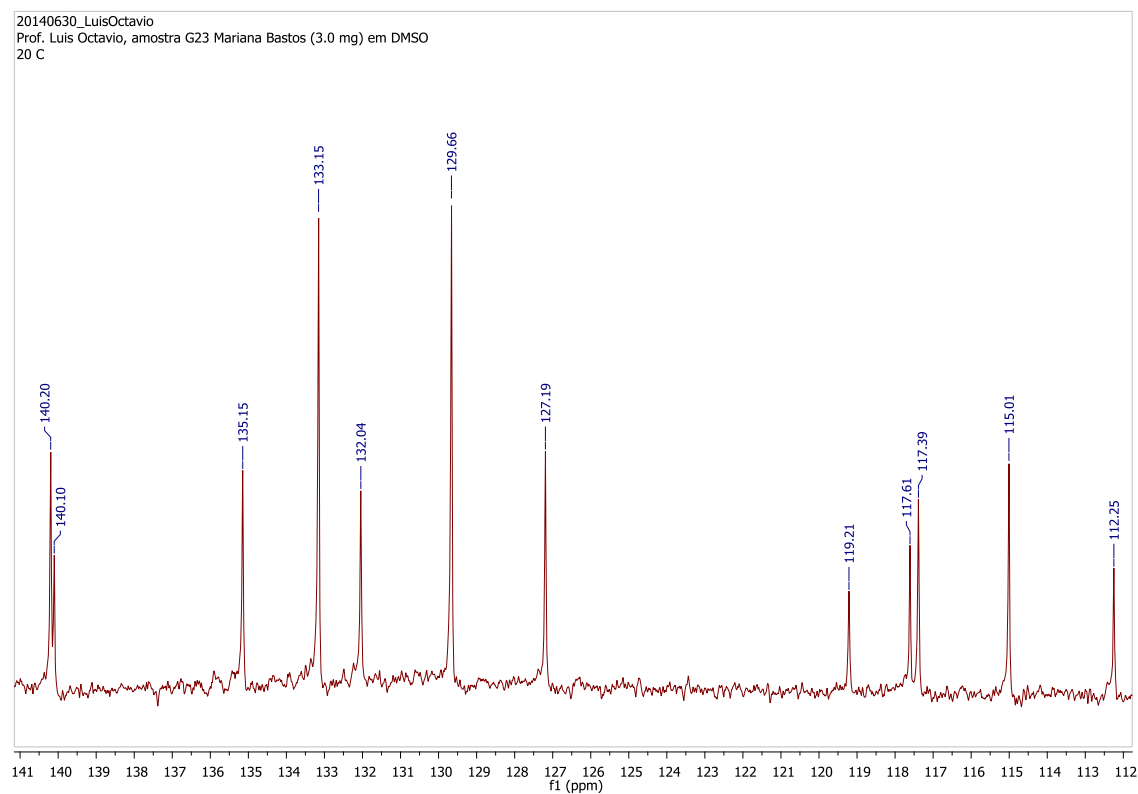
ANEXO 14. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 4** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



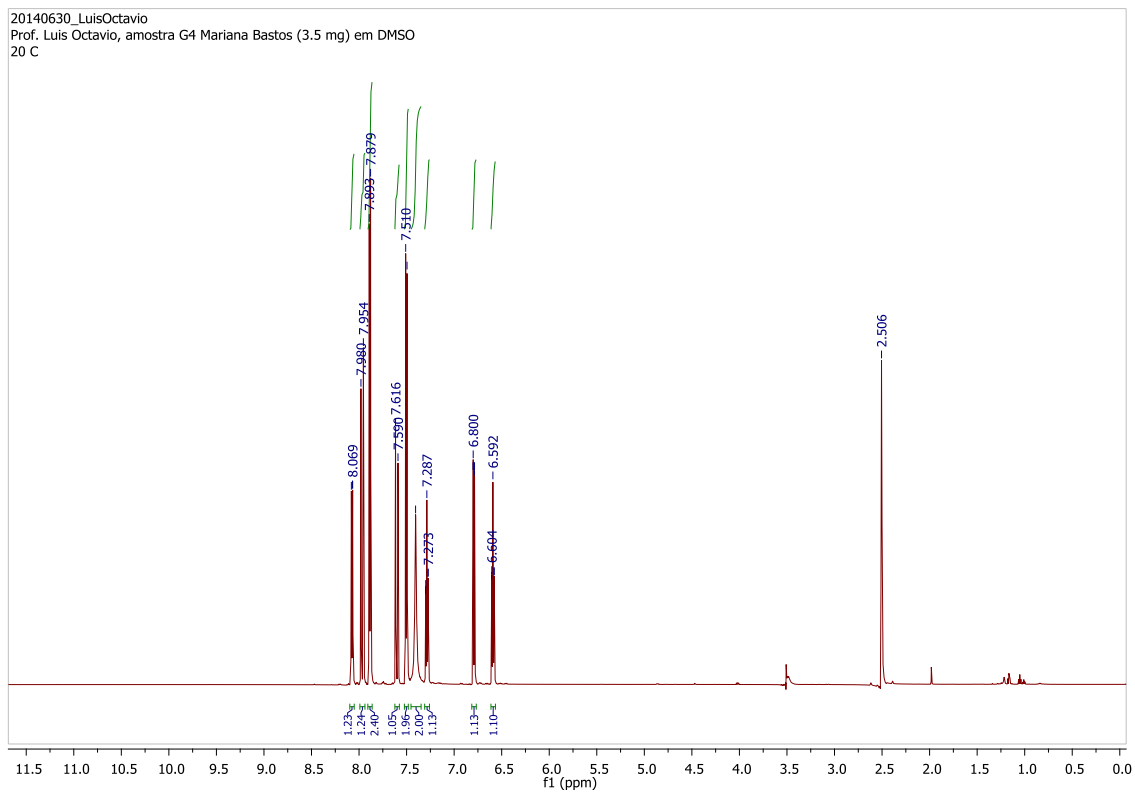
ANEXO 15. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 4** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



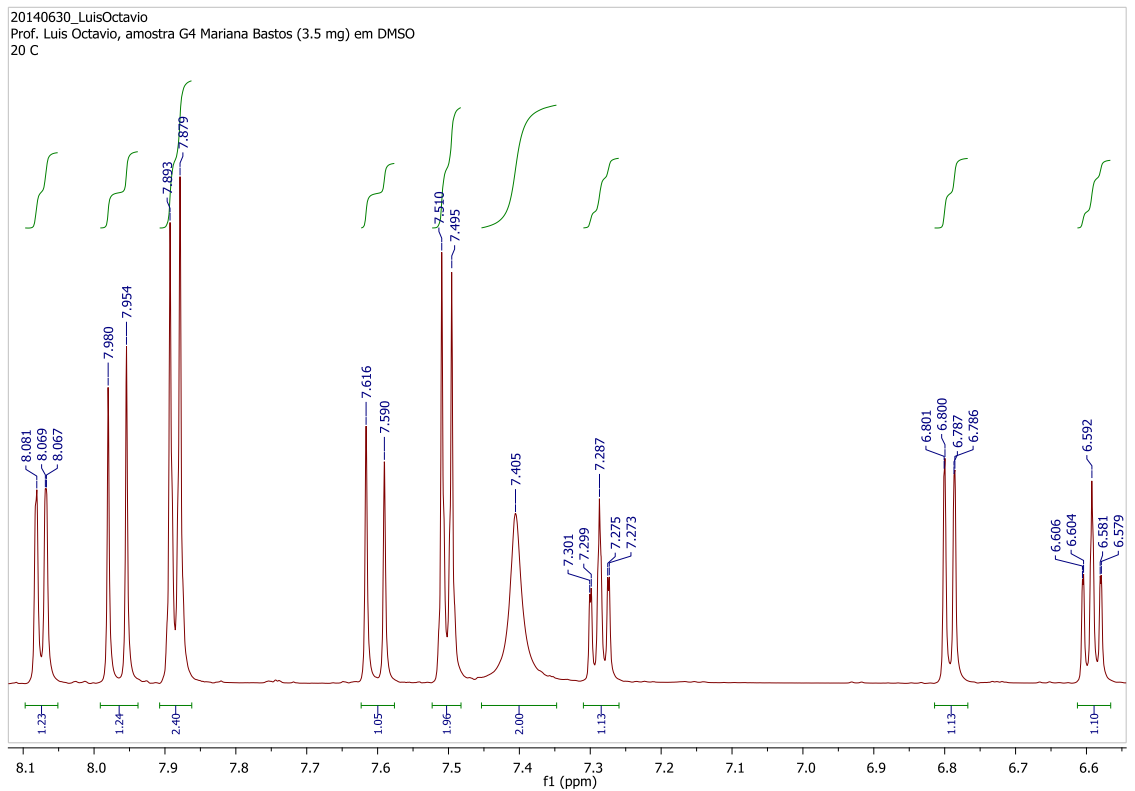
ANEXO 16. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 4** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



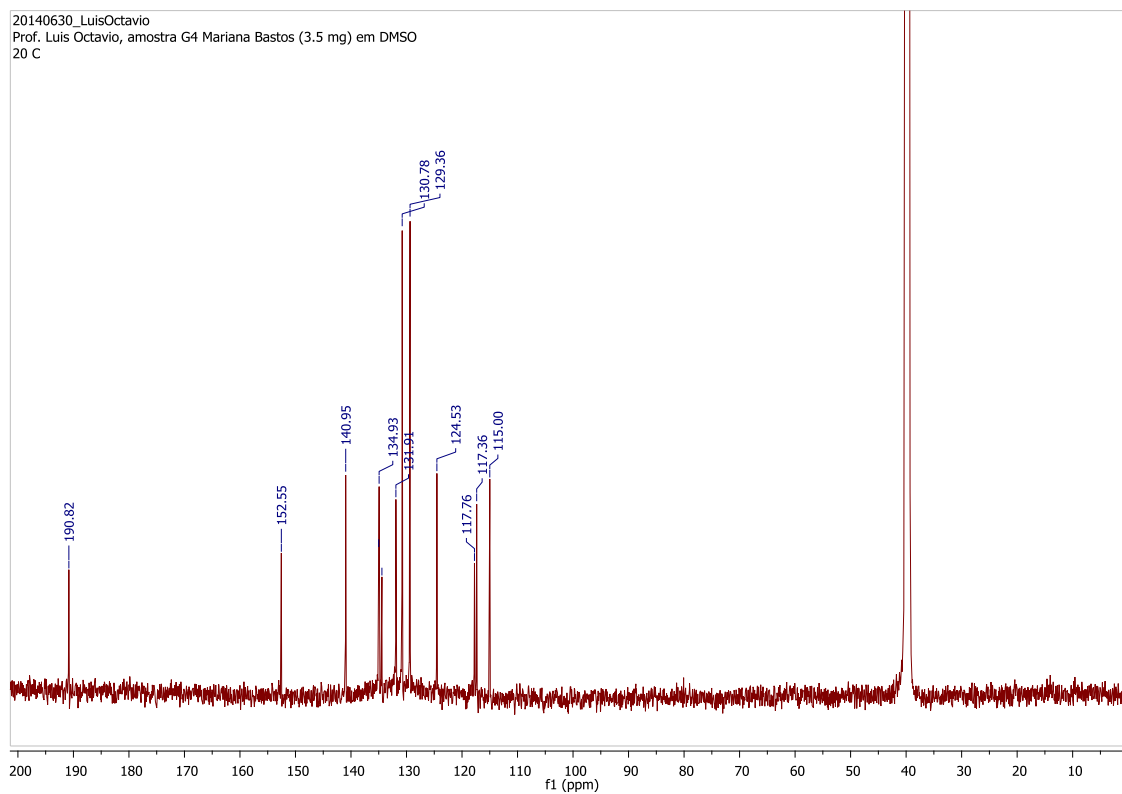
ANEXO 17. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 5** ($\text{DMSO-}d_6$; 600MHz)



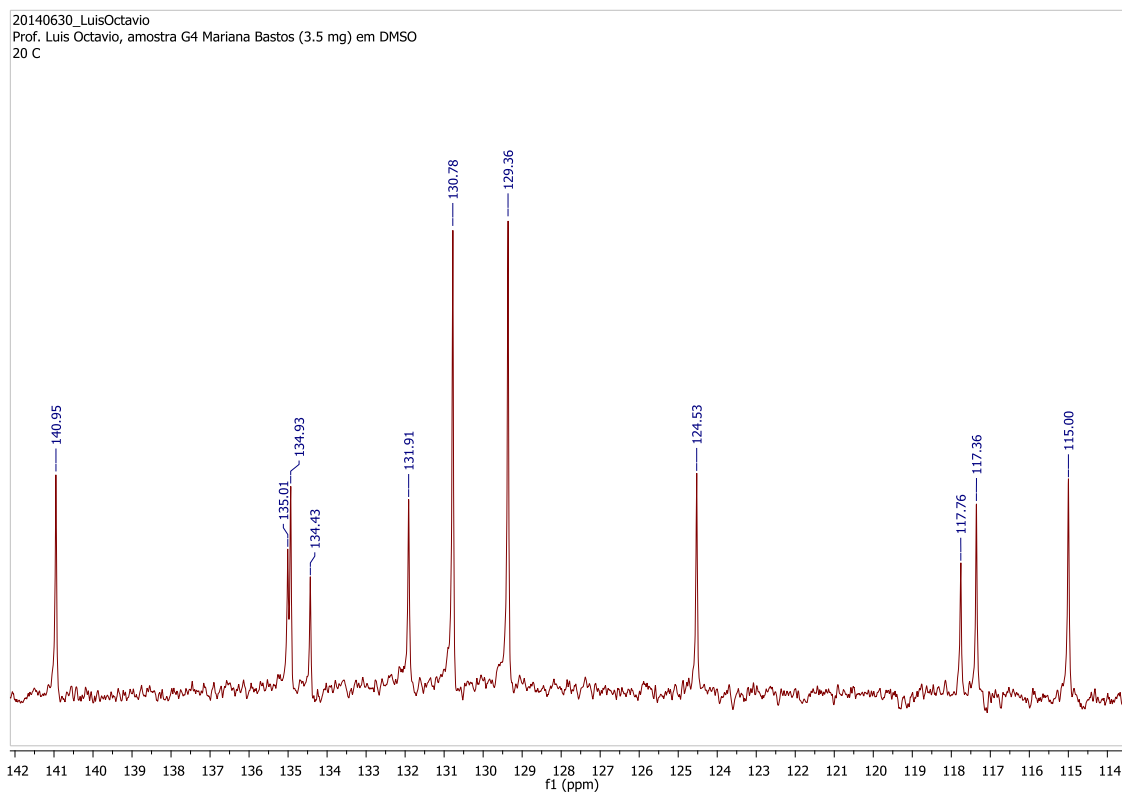
ANEXO 18. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 5** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



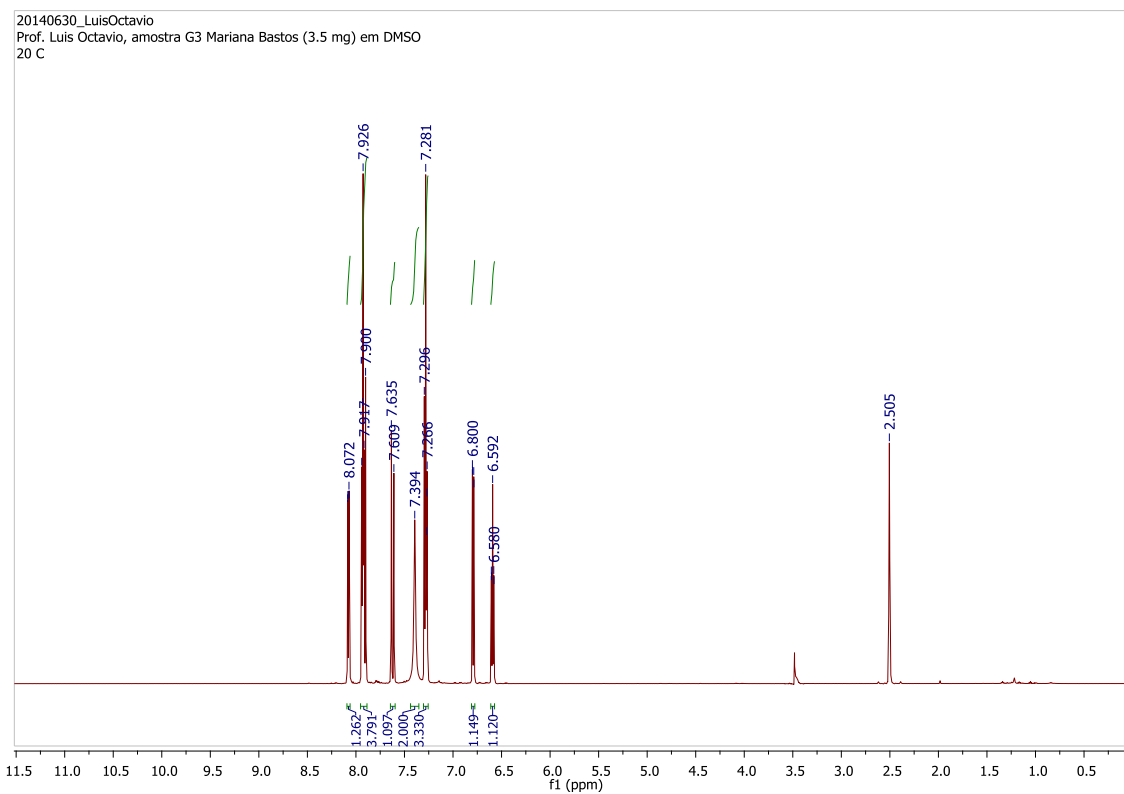
ANEXO 19. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 5** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



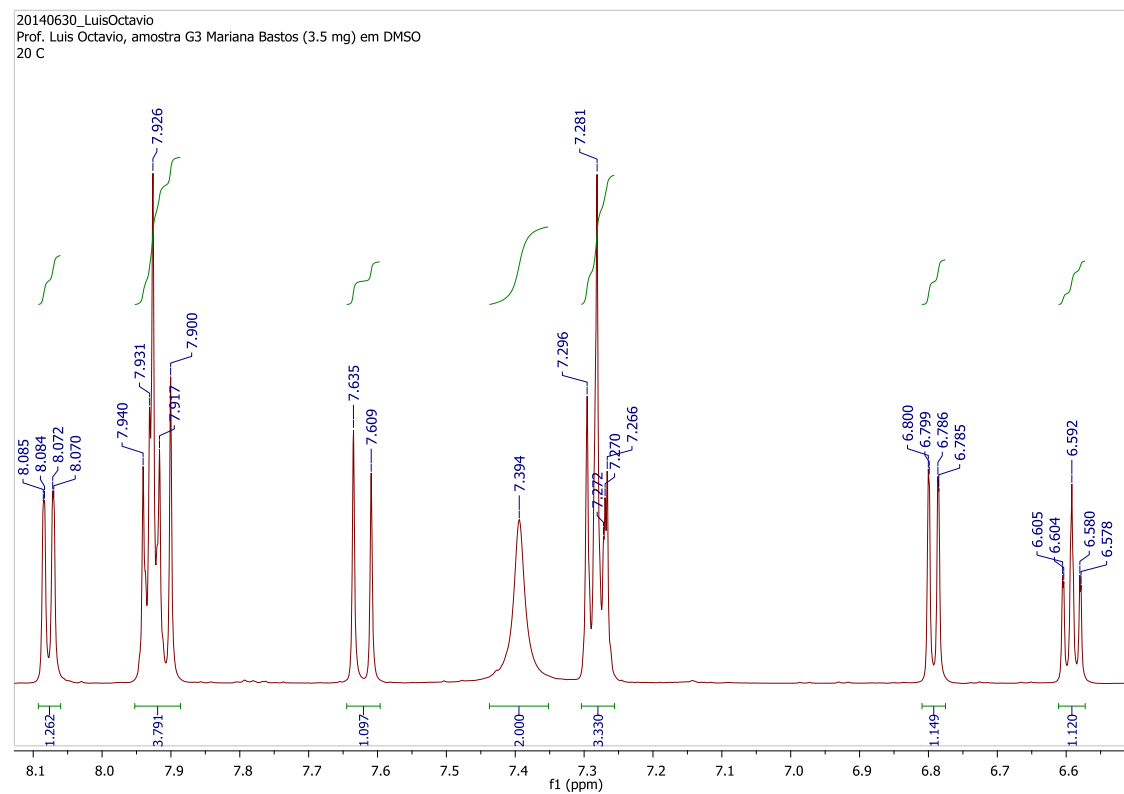
ANEXO 20. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 5** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



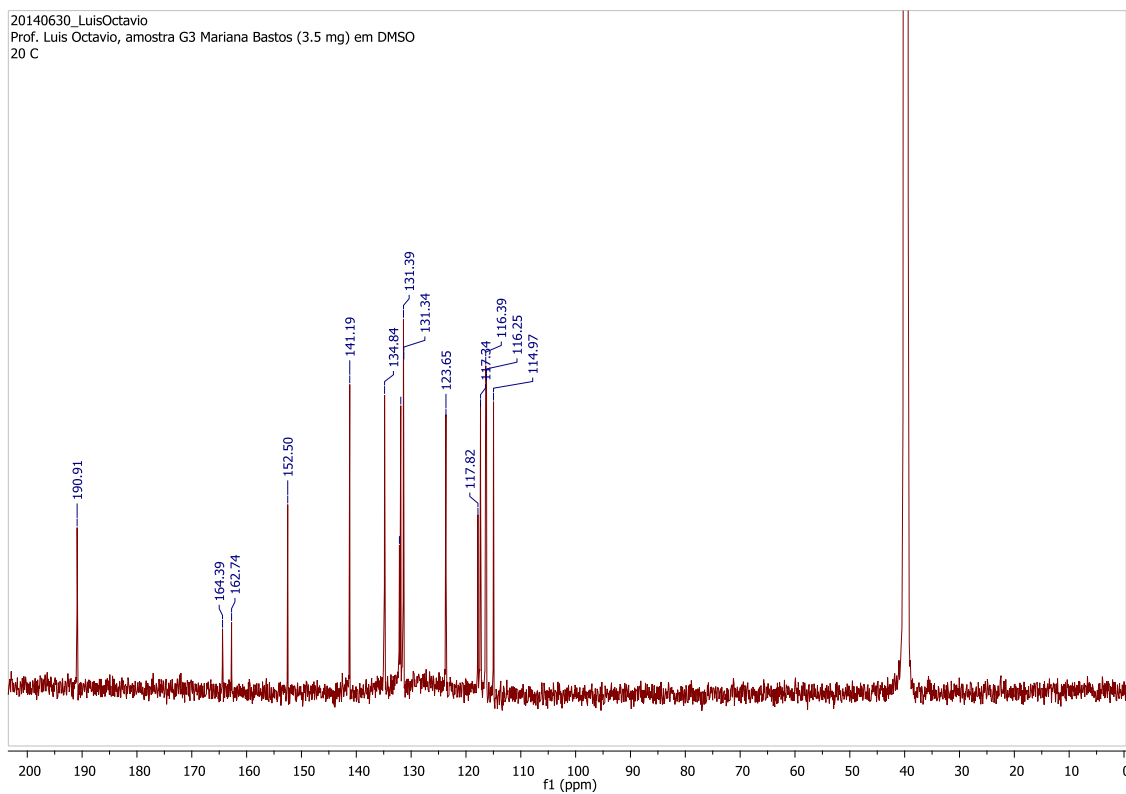
ANEXO 21. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 6** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



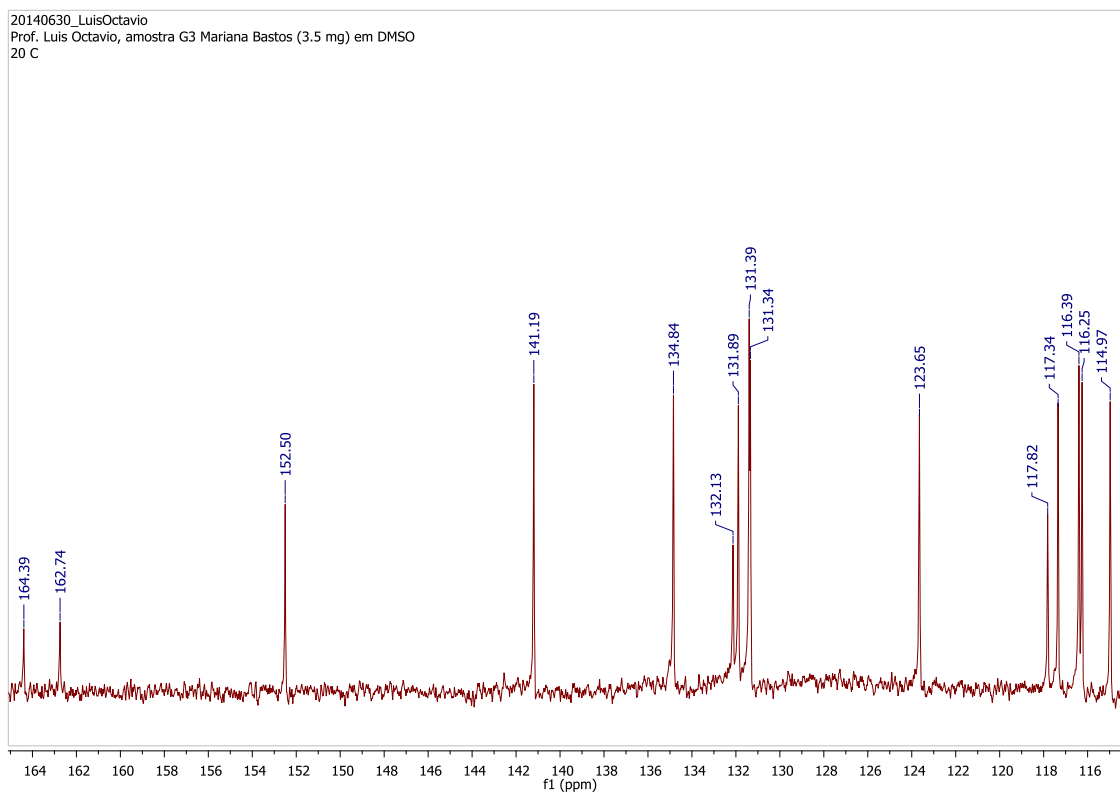
ANEXO 22. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 6** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



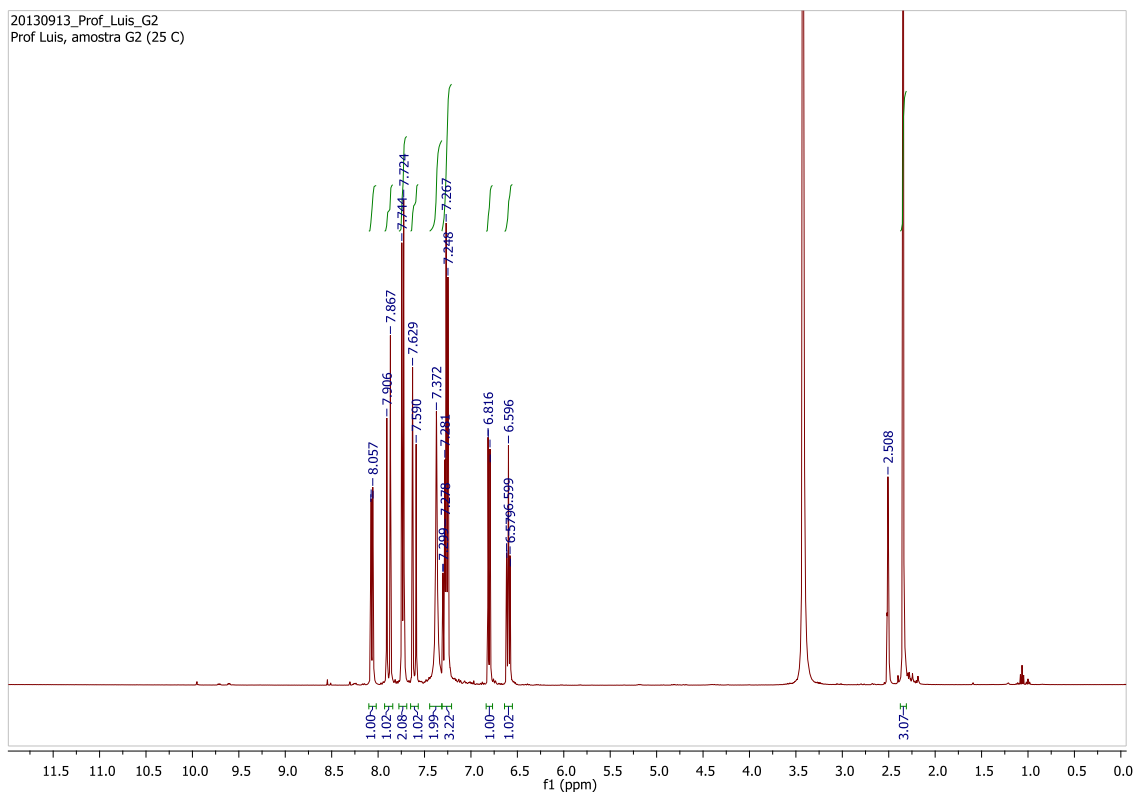
ANEXO 23. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 6** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



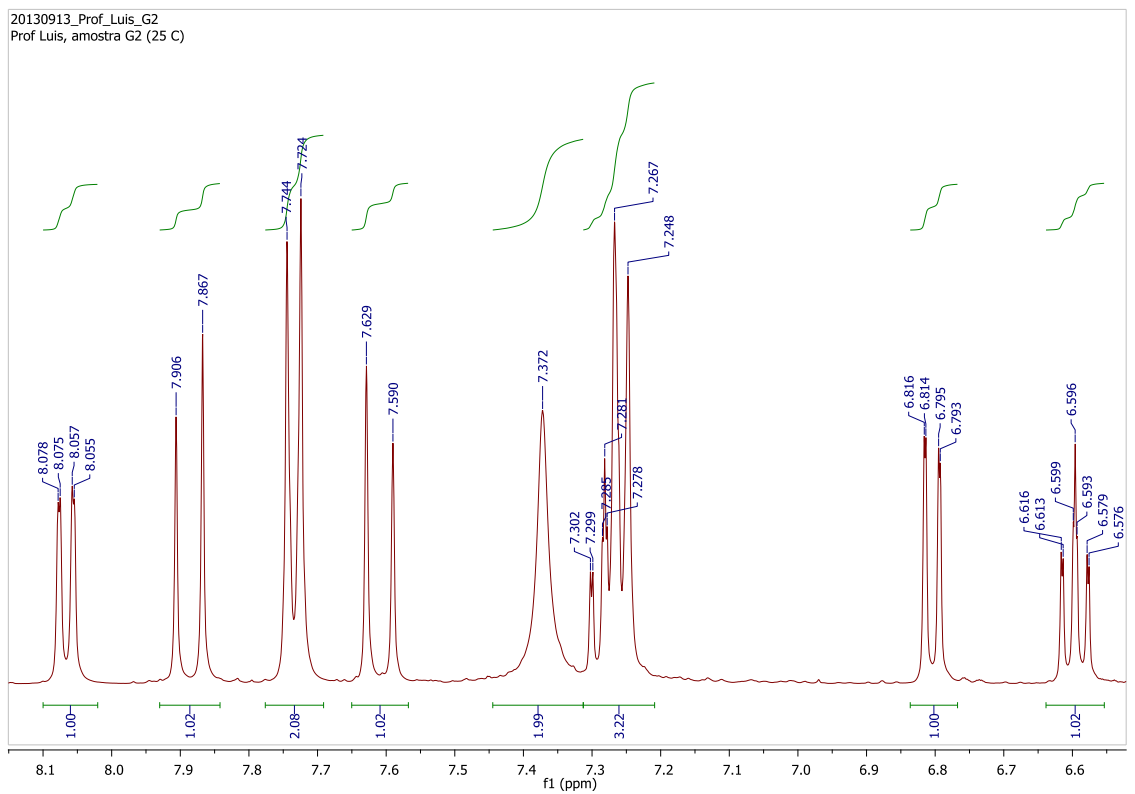
ANEXO 24. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 6** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



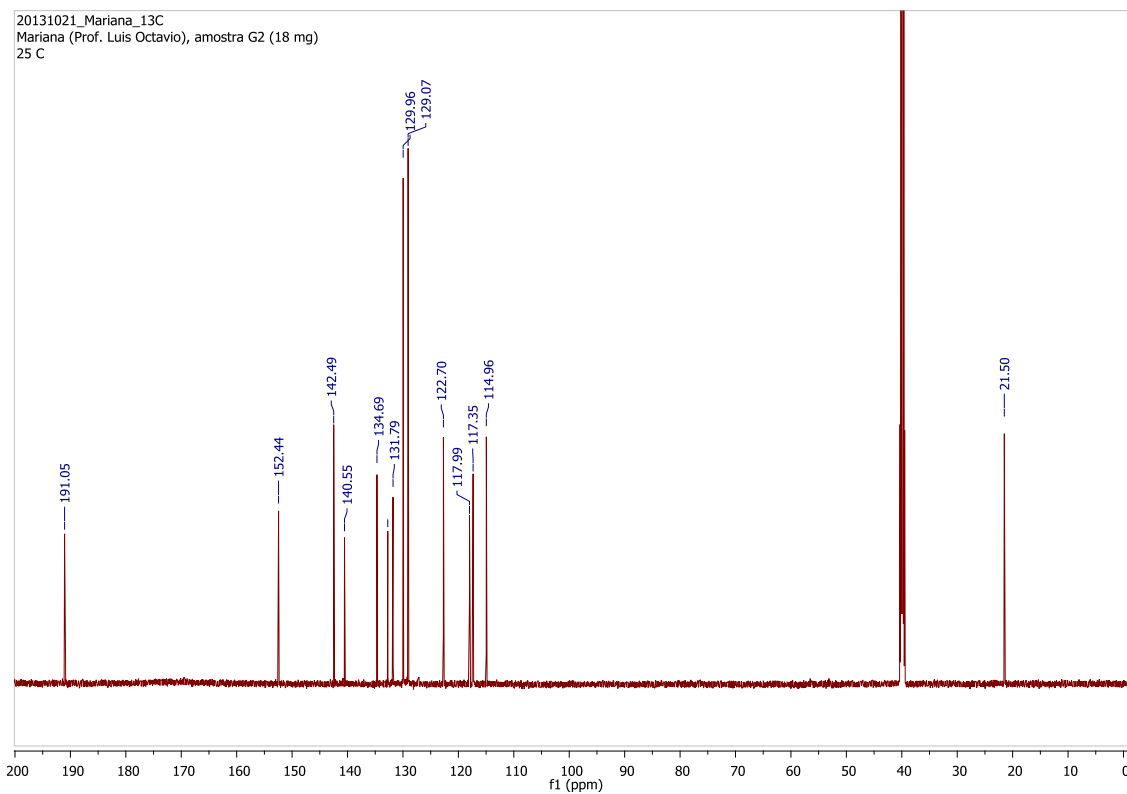
ANEXO 25. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 7** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)



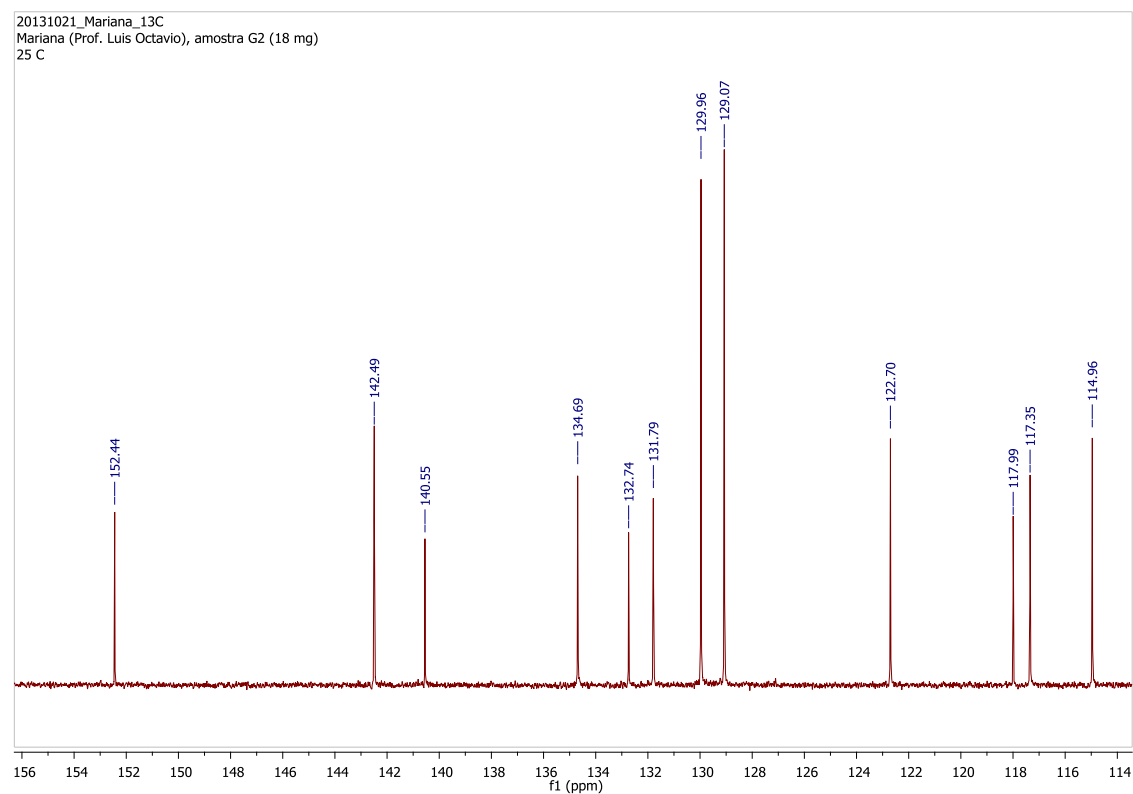
ANEXO 26. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 7** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)



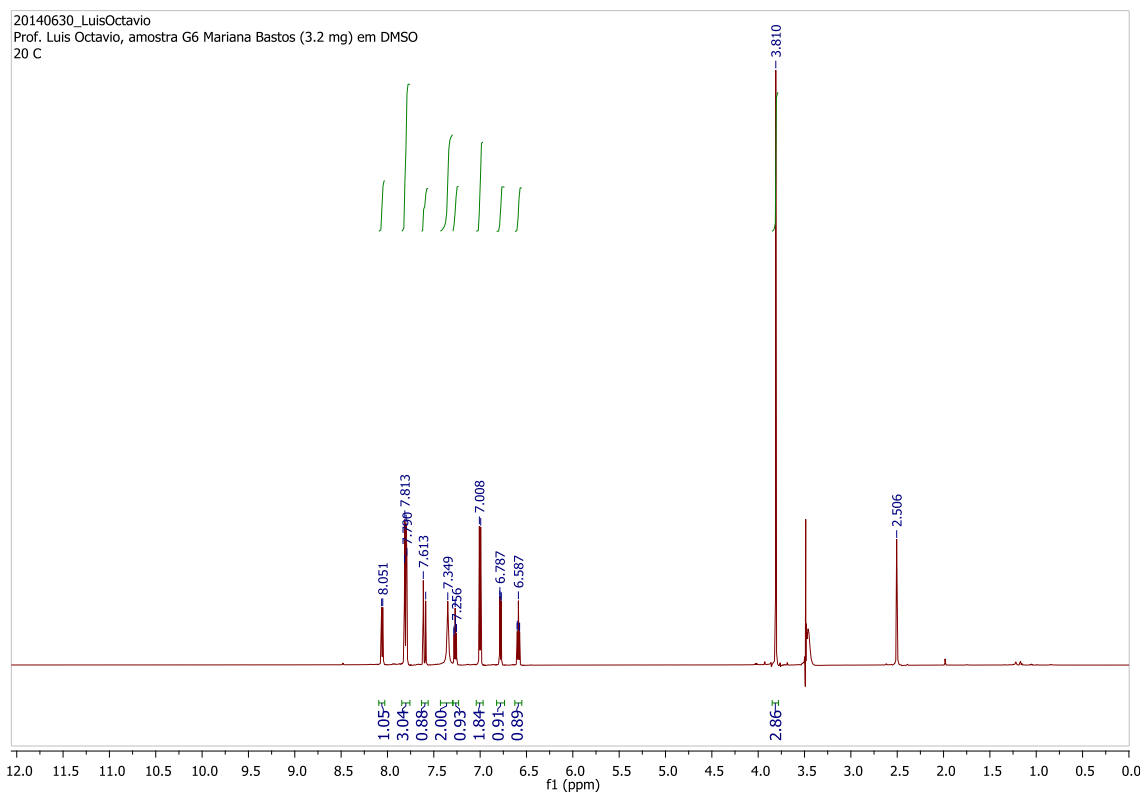
ANEXO 27. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 7** ($\text{DMSO-}d_6$; 120 MHz)



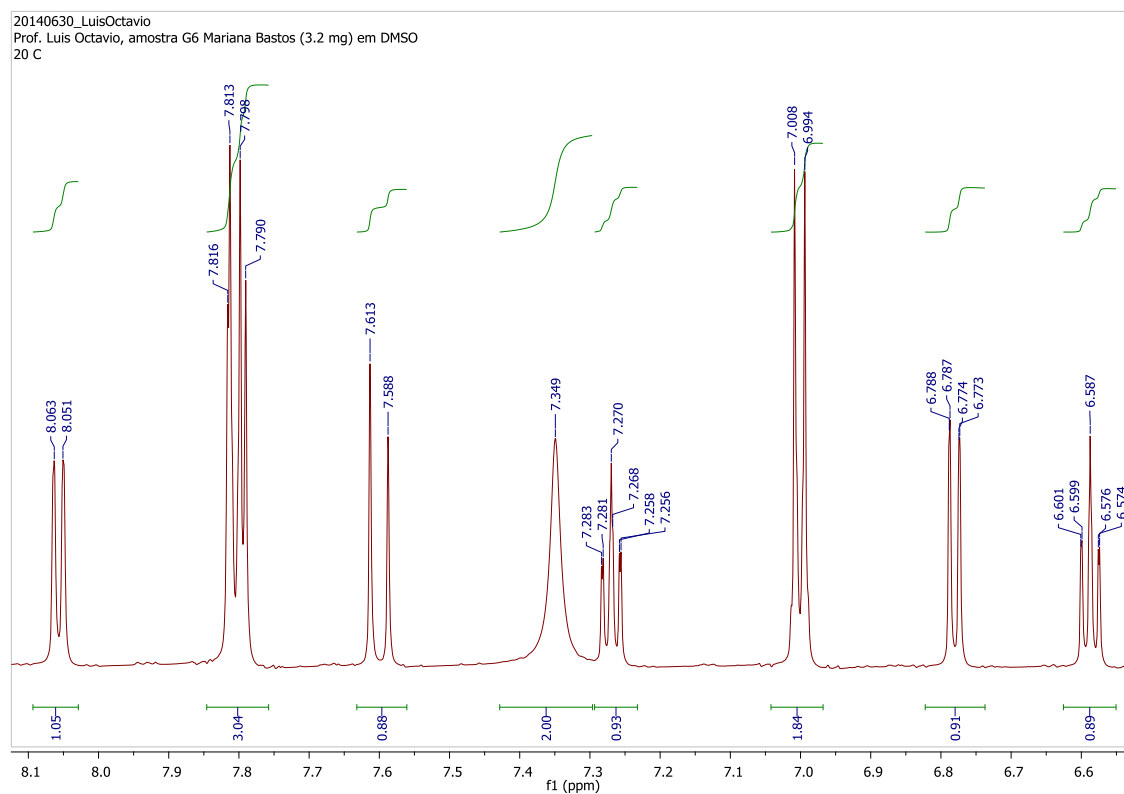
ANEXO 28. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 7** ($\text{DMSO-}d_6$; 120 MHz)



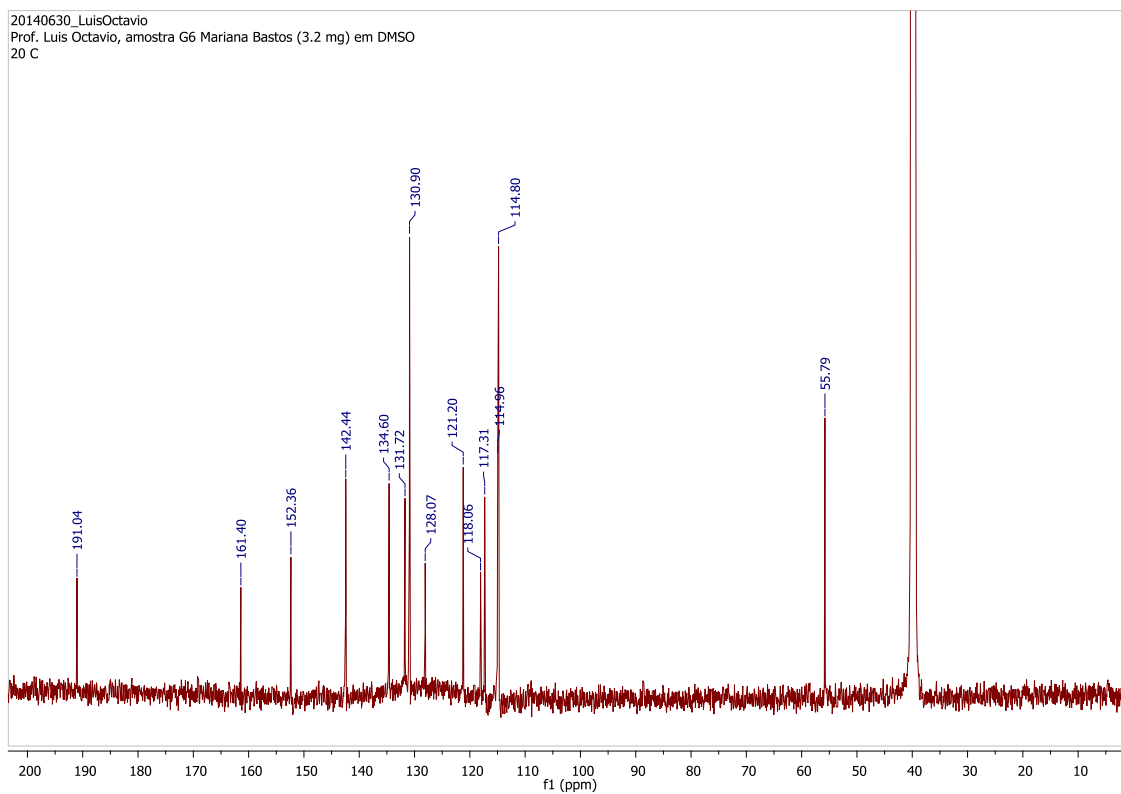
ANEXO 29. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 8** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



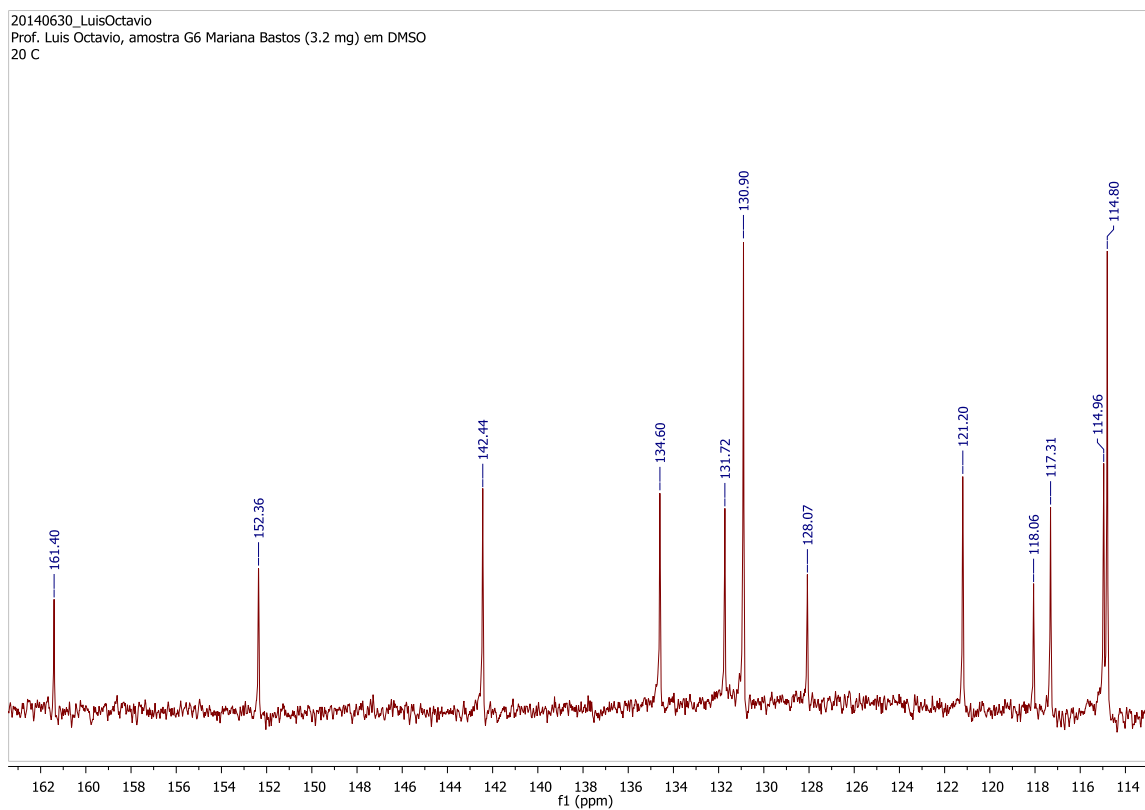
ANEXO 30. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 8** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



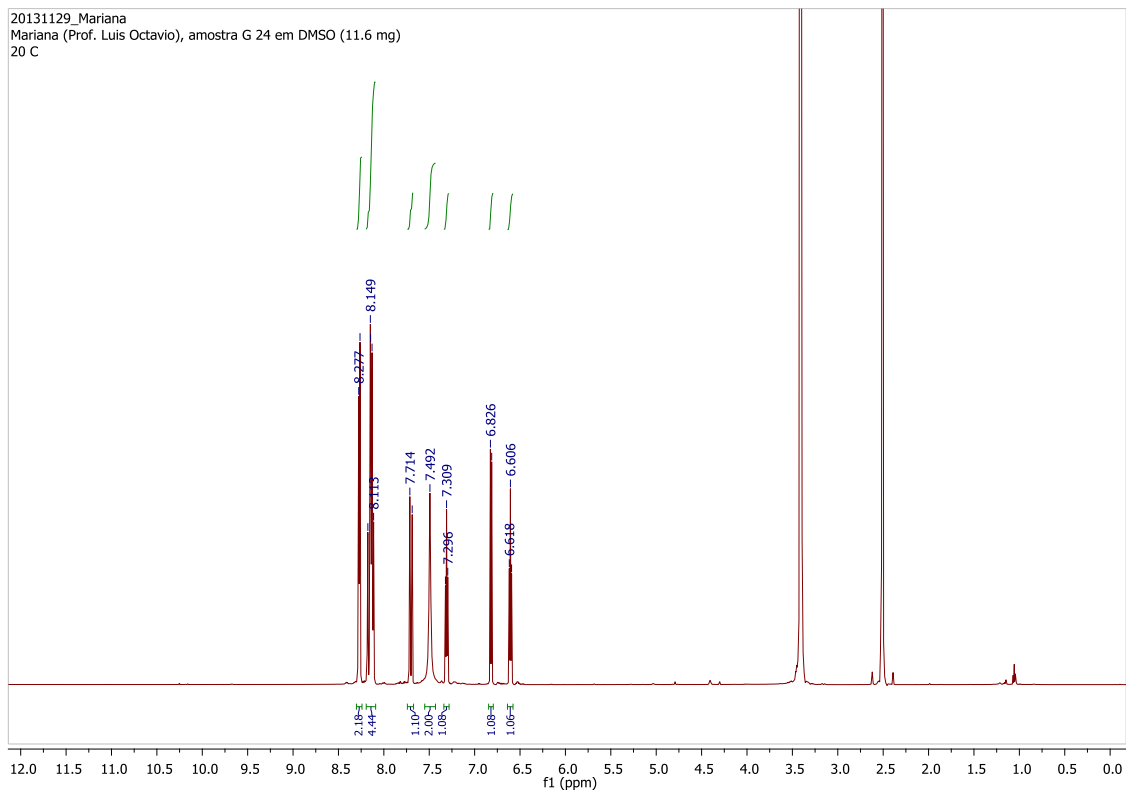
ANEXO 31. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 8** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



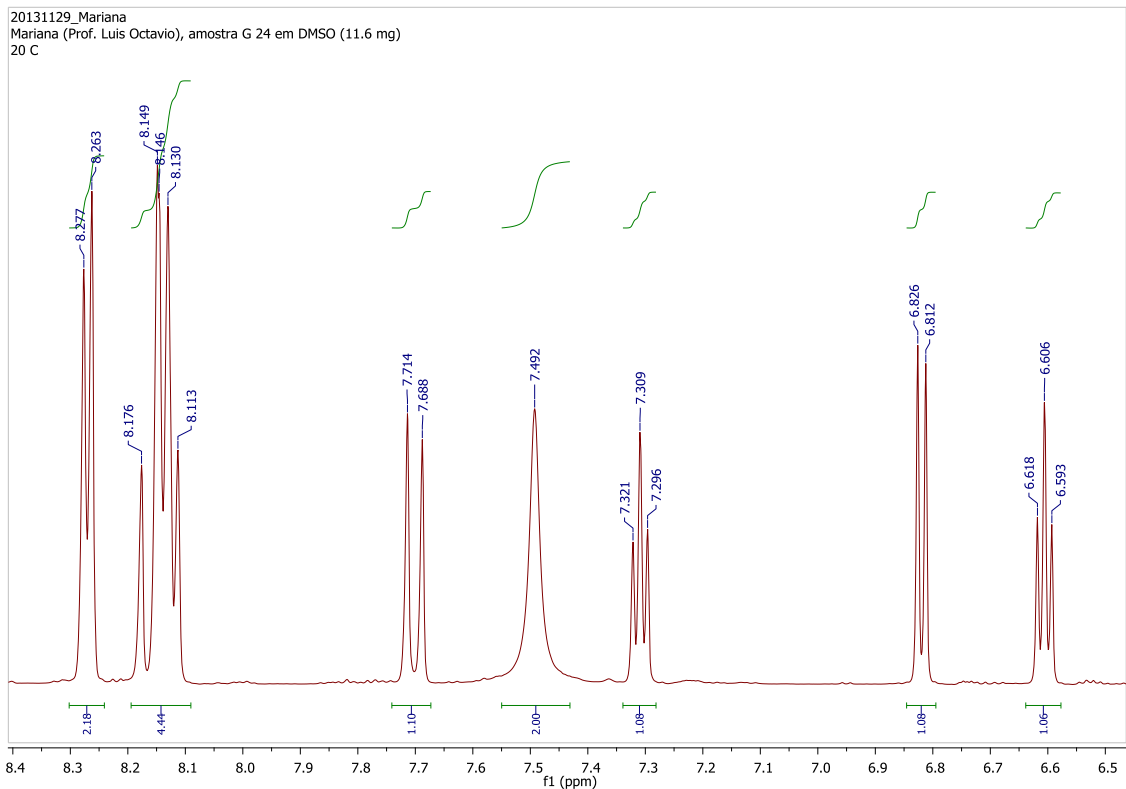
ANEXO 32. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 8** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



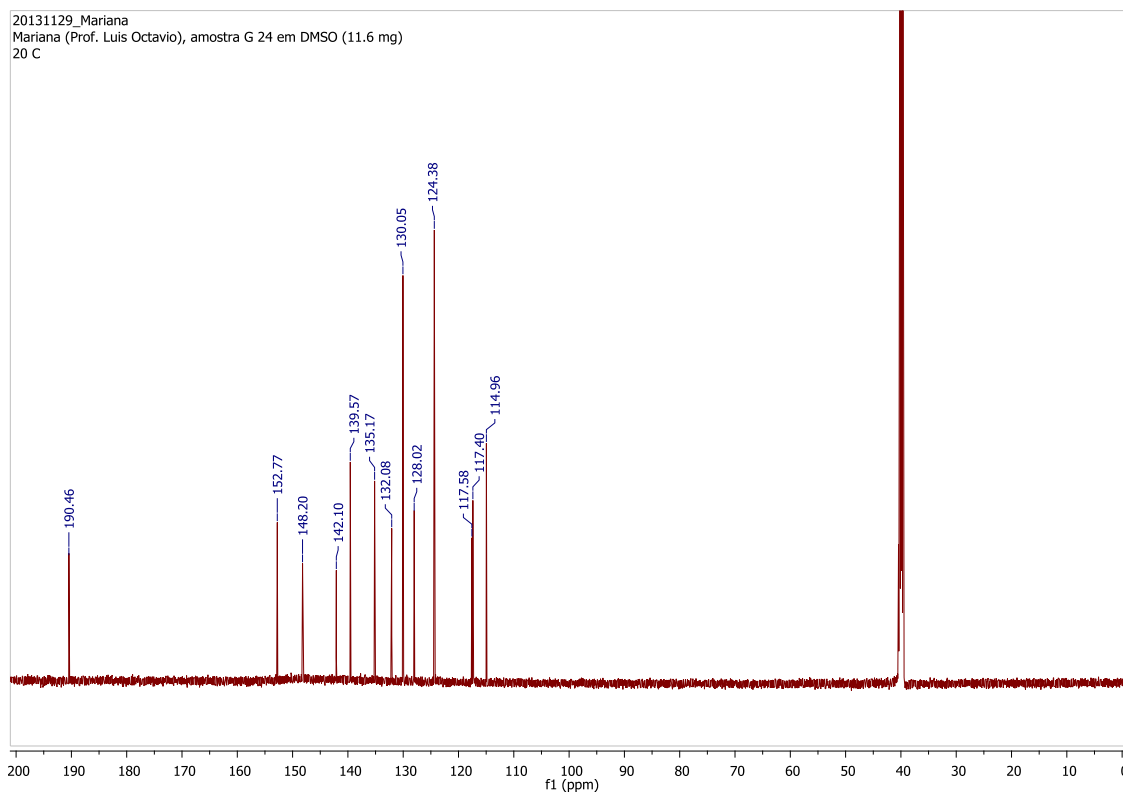
ANEXO 33. Espectro de RMN ^1H da substância **LQVM 9** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



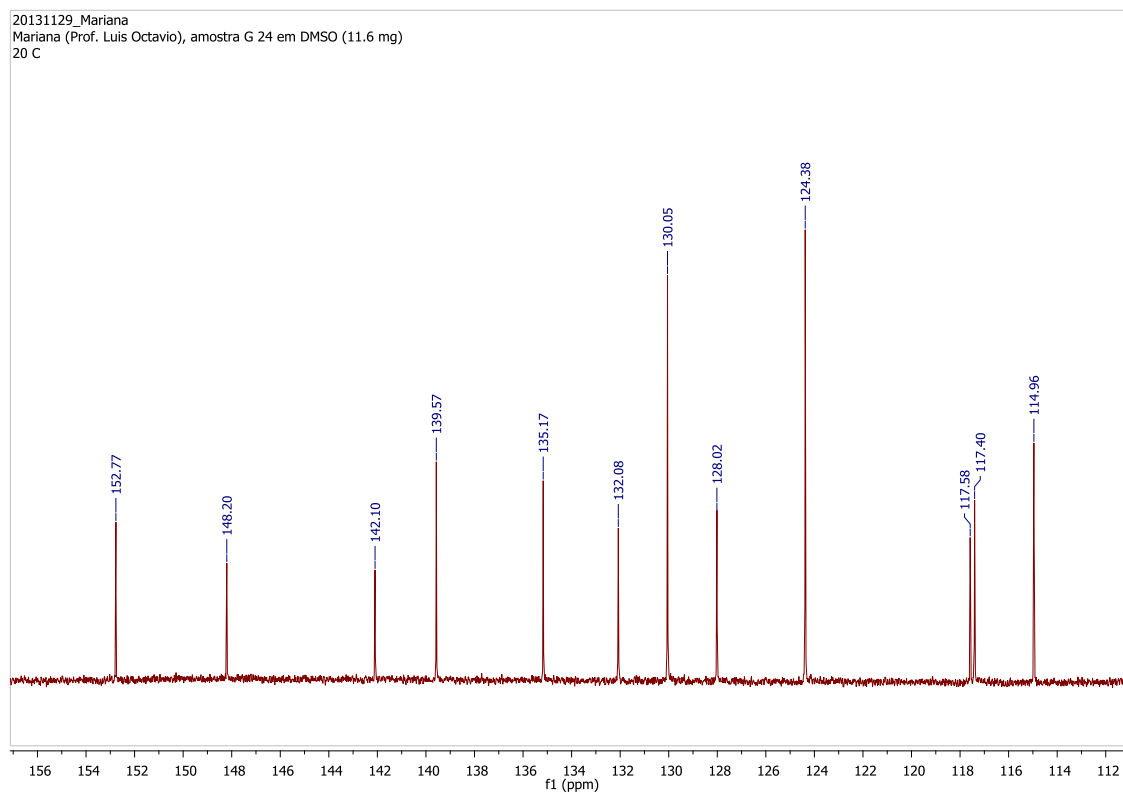
ANEXO 34. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 9** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



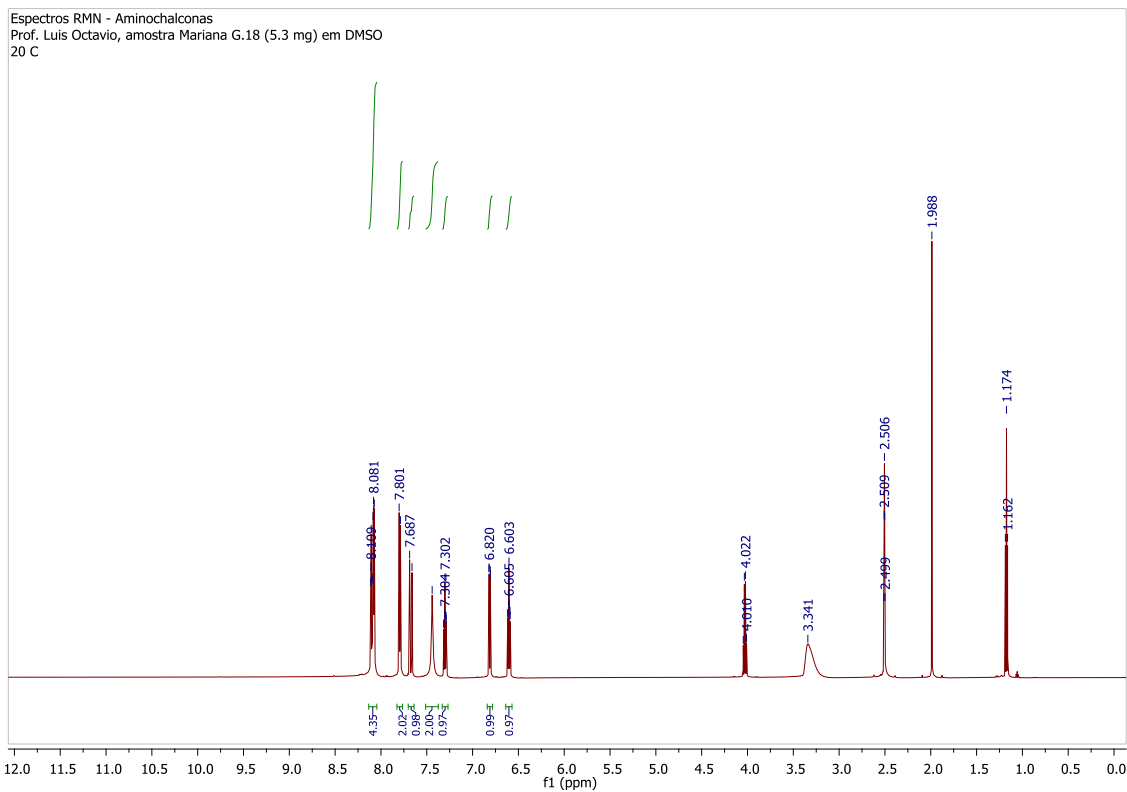
ANEXO 35. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 9** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



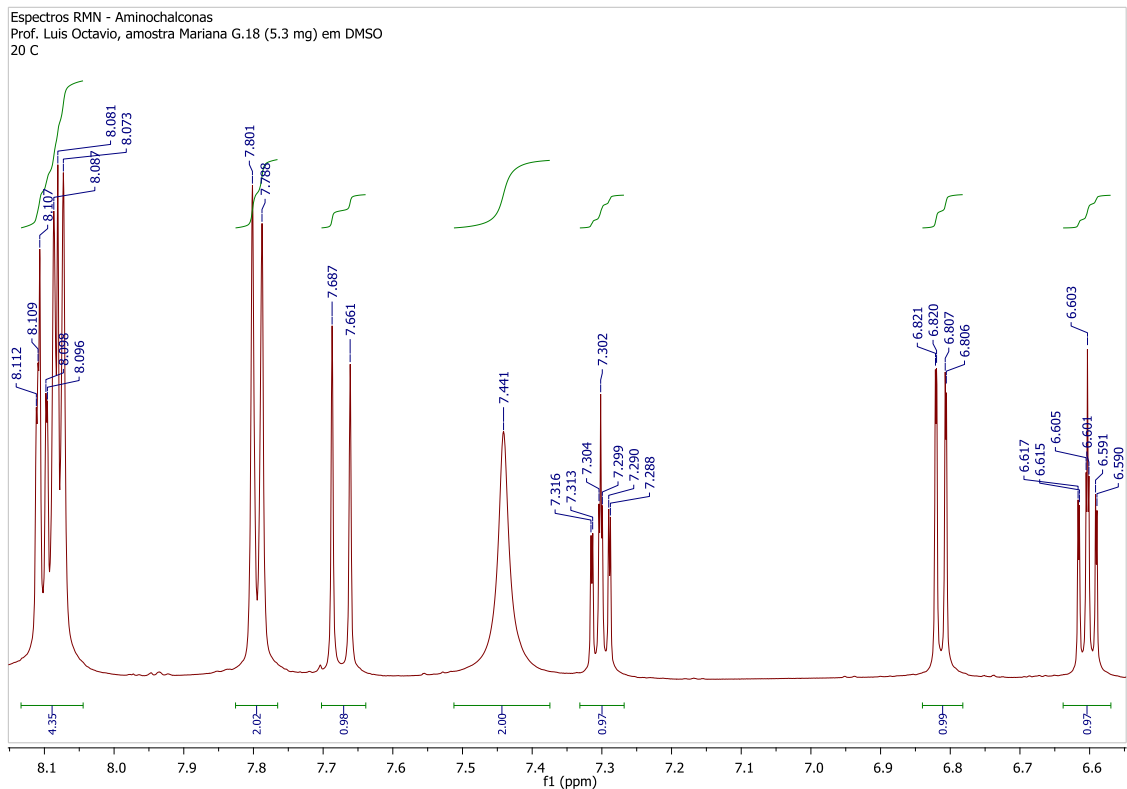
ANEXO 36. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 9** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



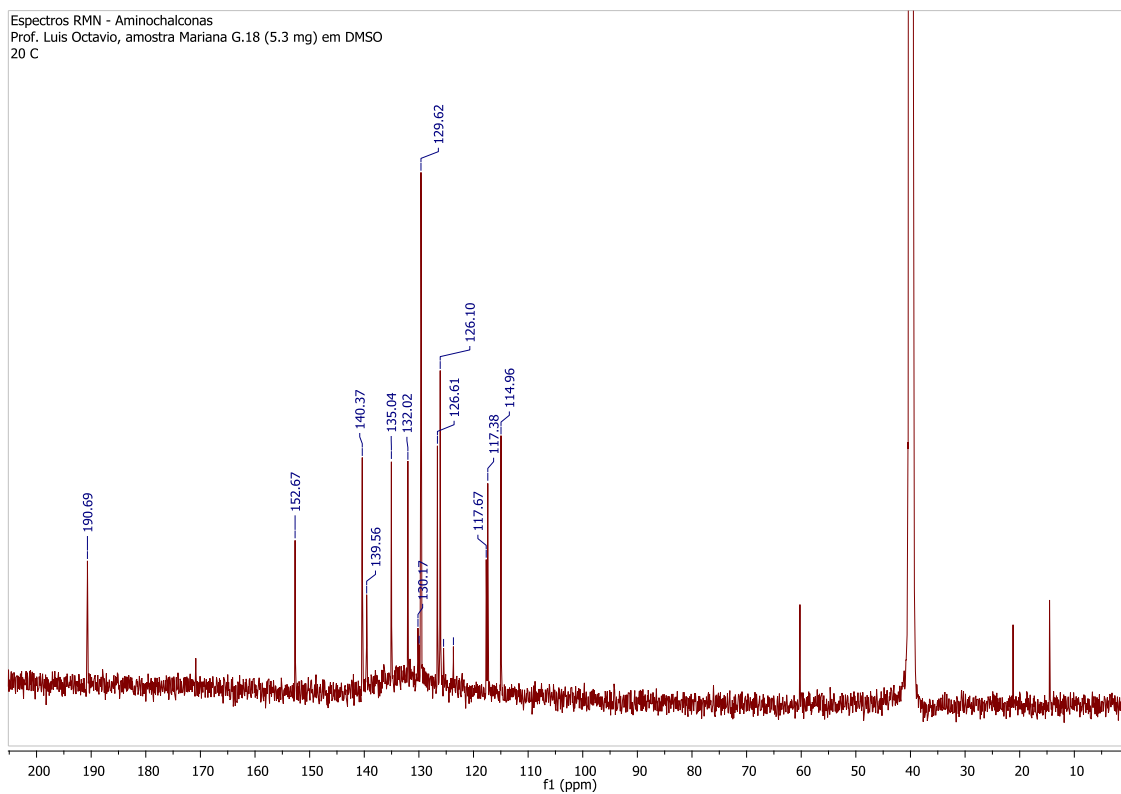
ANEXO 37. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 10** (DMSO- d_6 ; 600MHz)



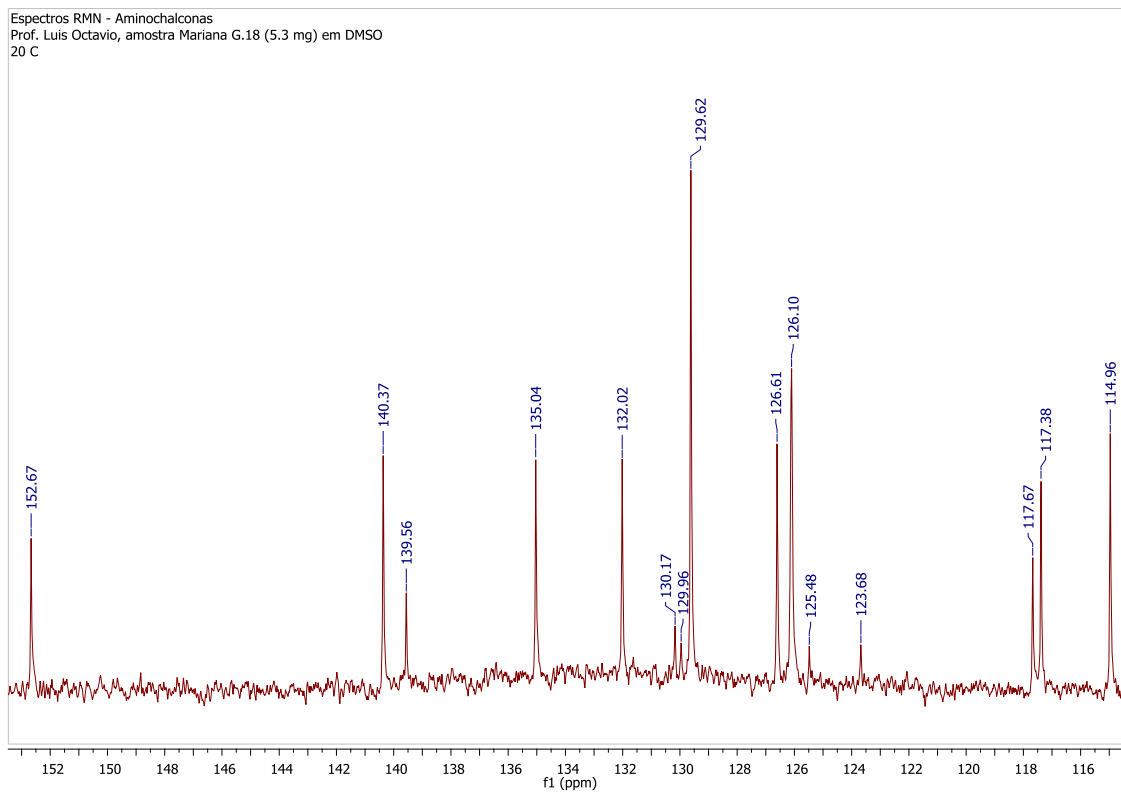
ANEXO 38. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 10** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



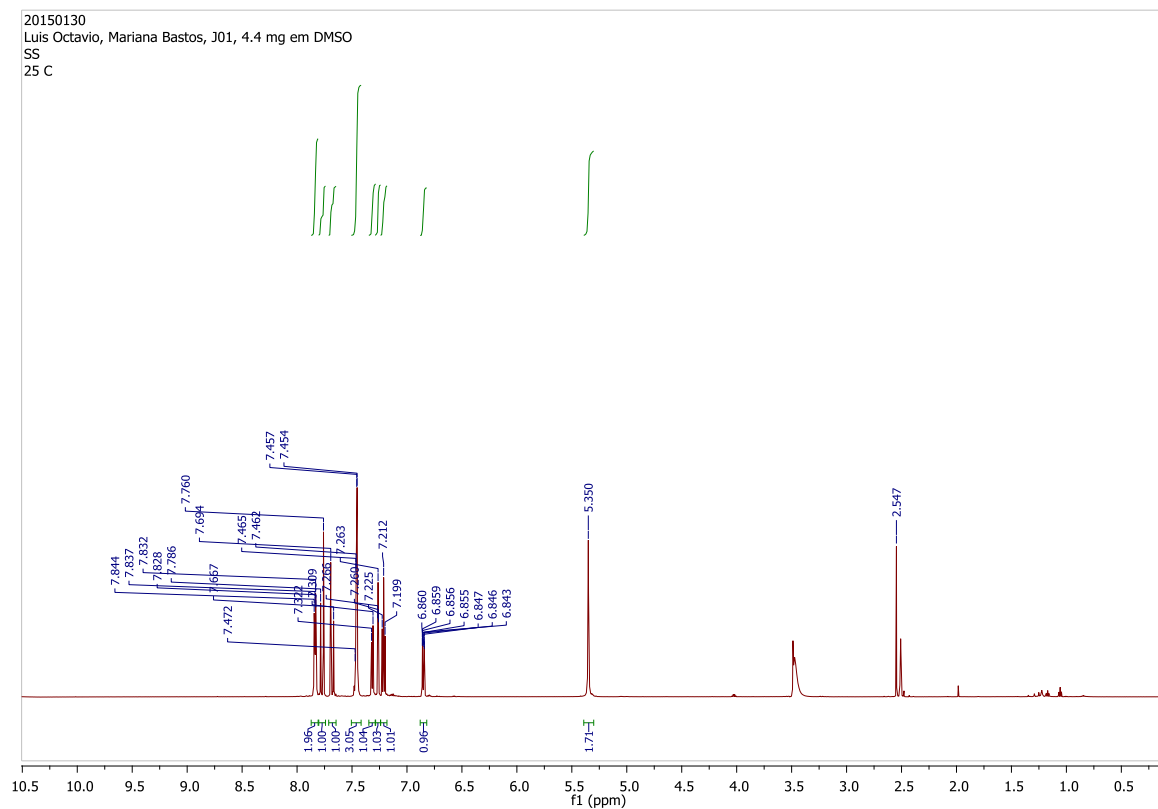
ANEXO 39. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 10** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



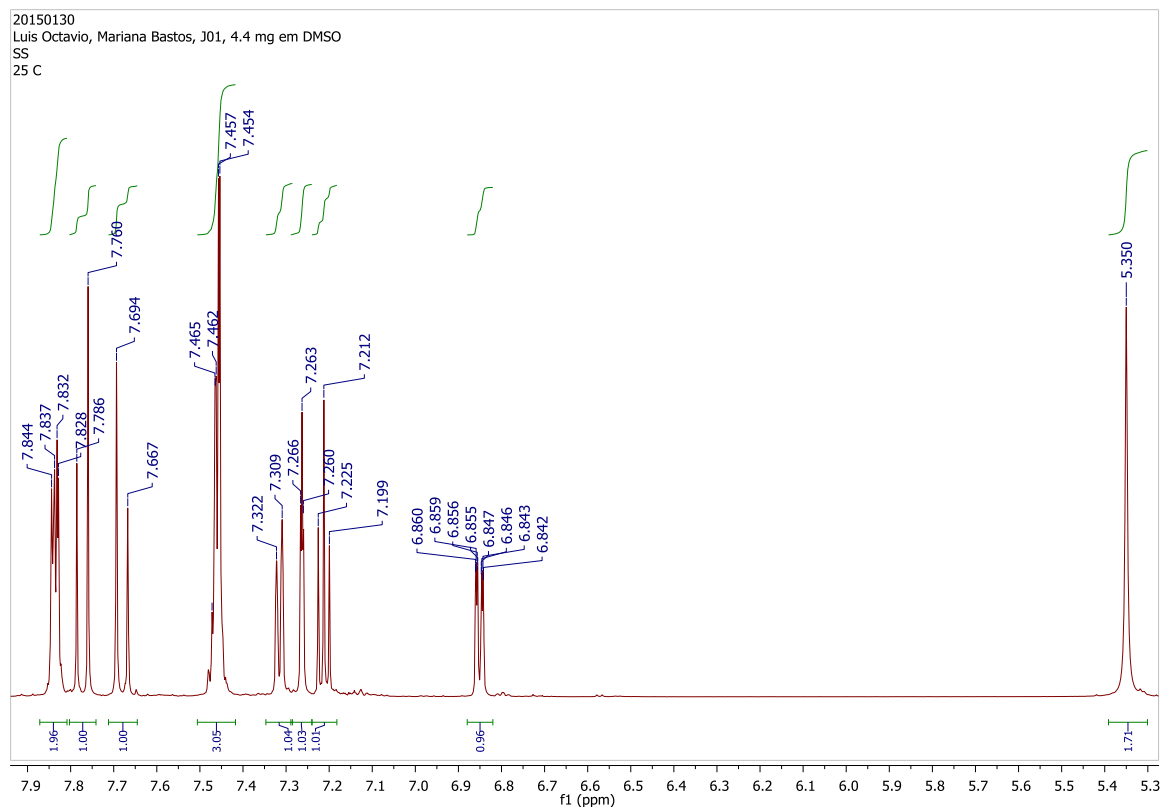
ANEXO 40. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 10** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



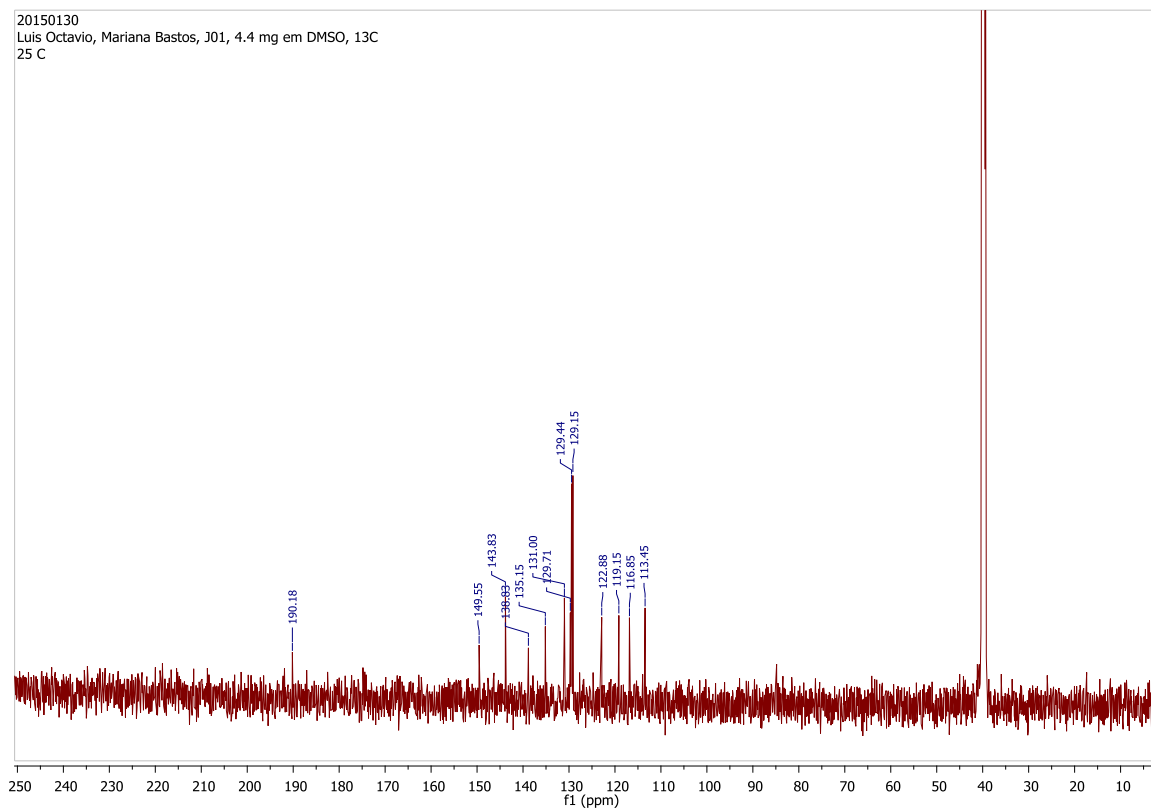
ANEXO 41. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 11** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



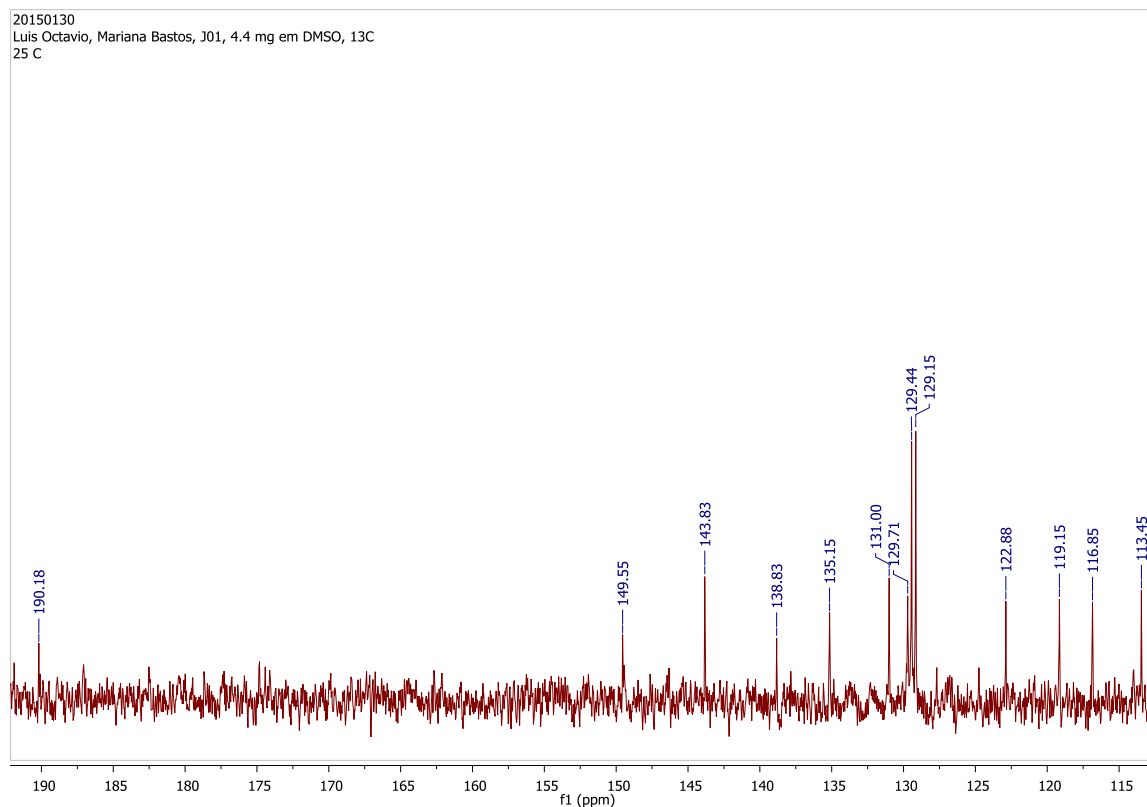
ANEXO 42. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 11** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



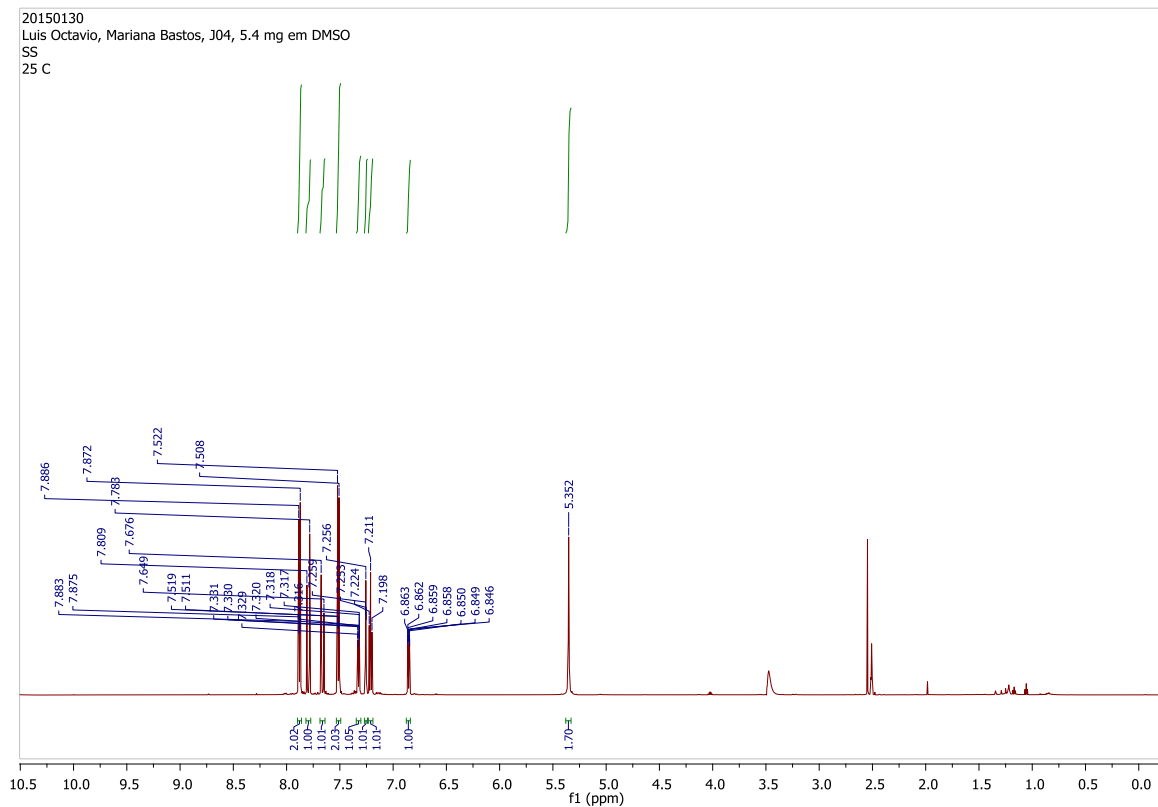
ANEXO 43. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 11** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



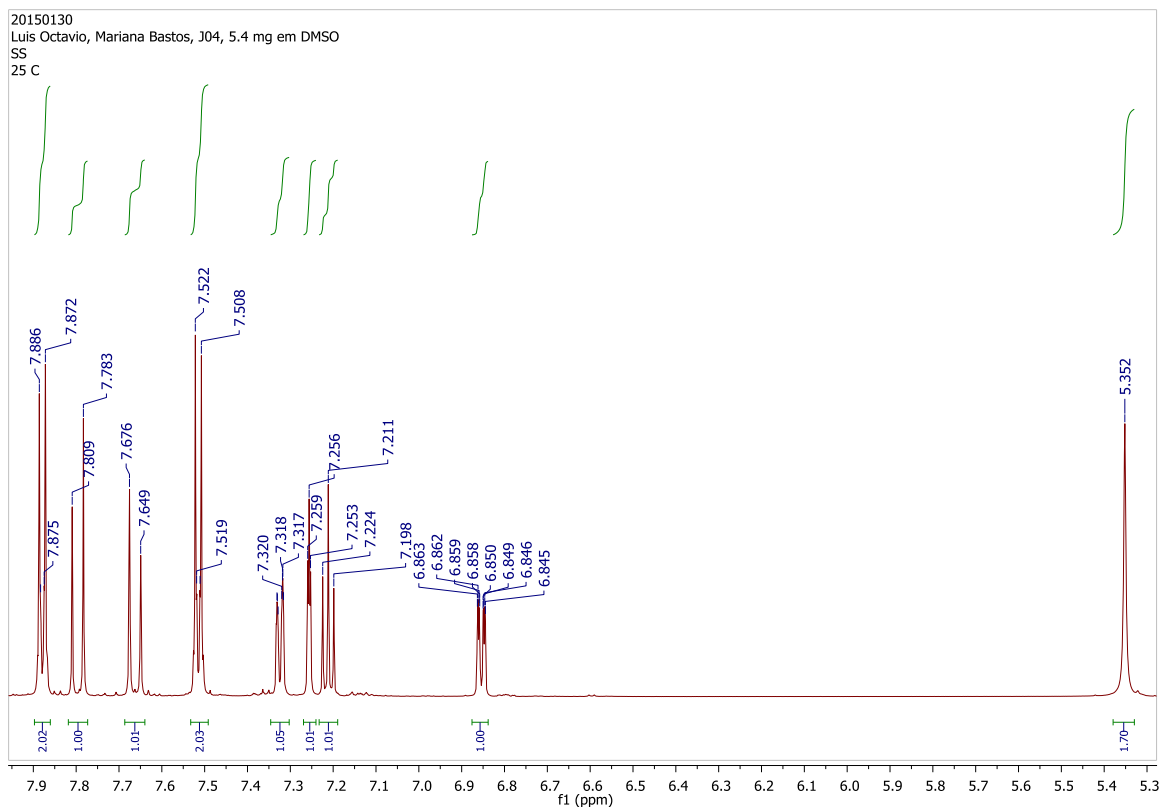
ANEXO 44. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 11** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



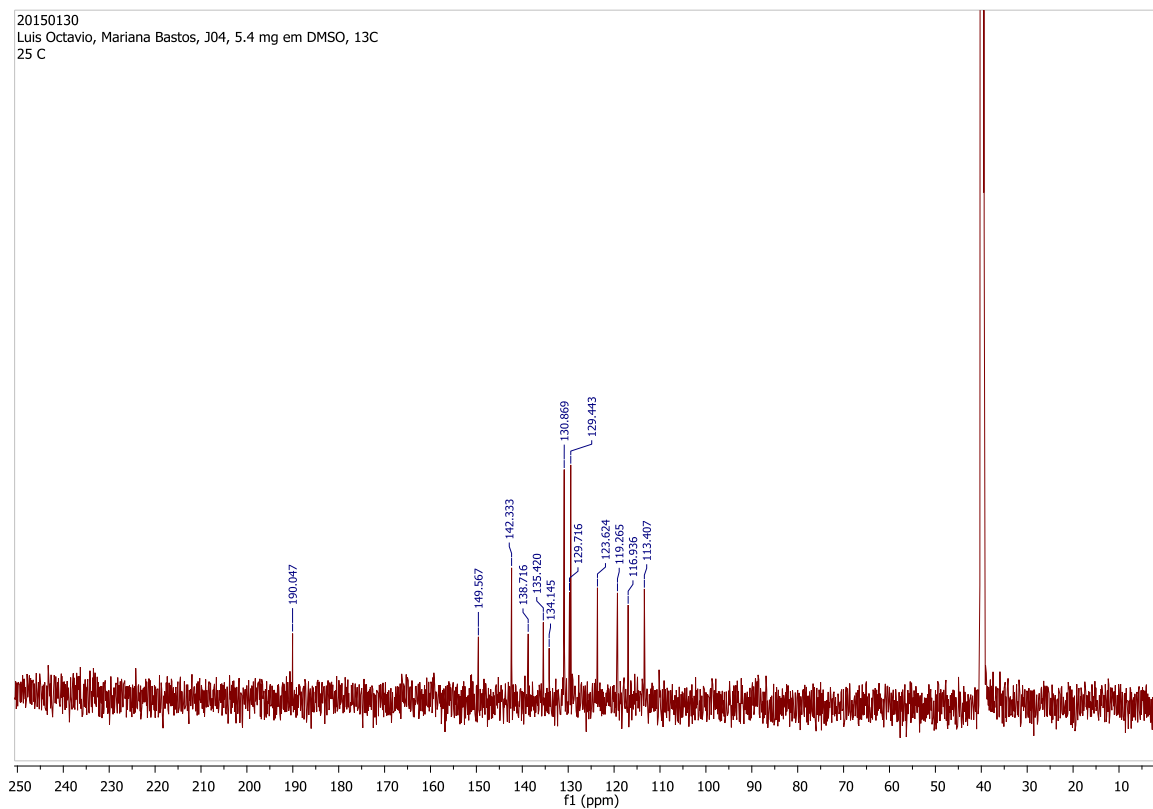
ANEXO 45. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 12** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



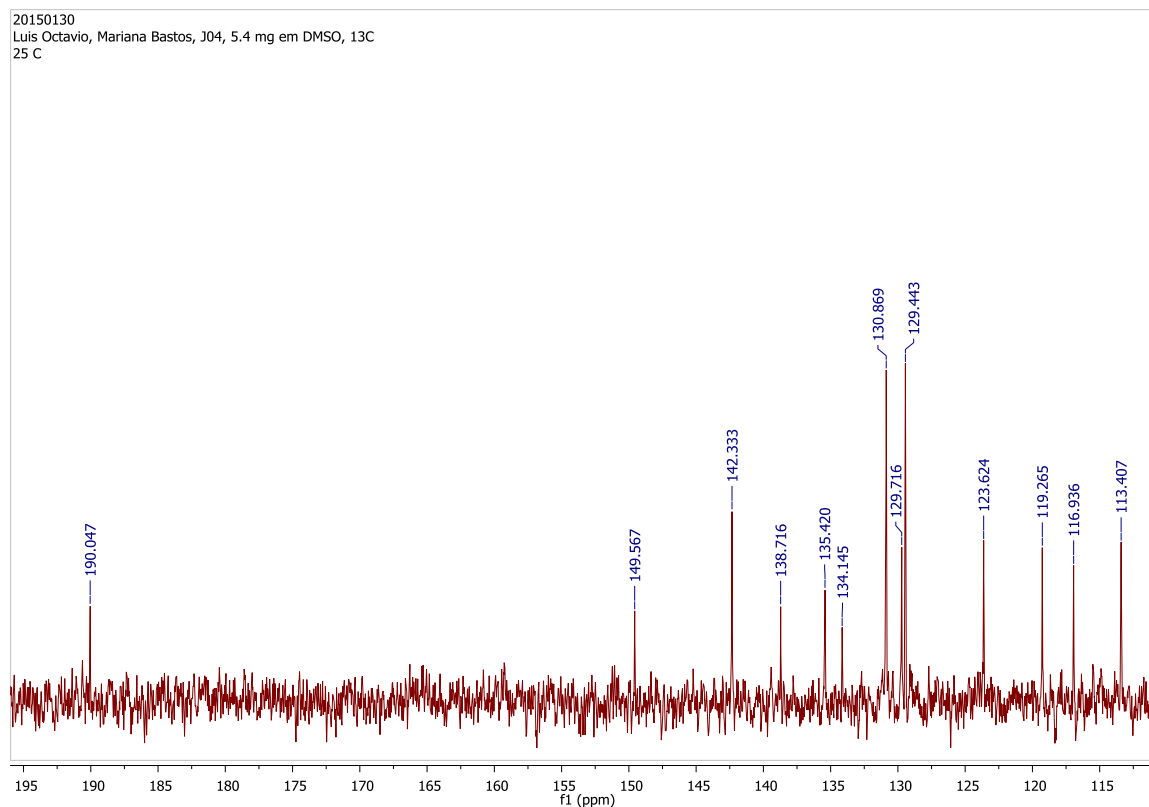
ANEXO 46. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 12** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



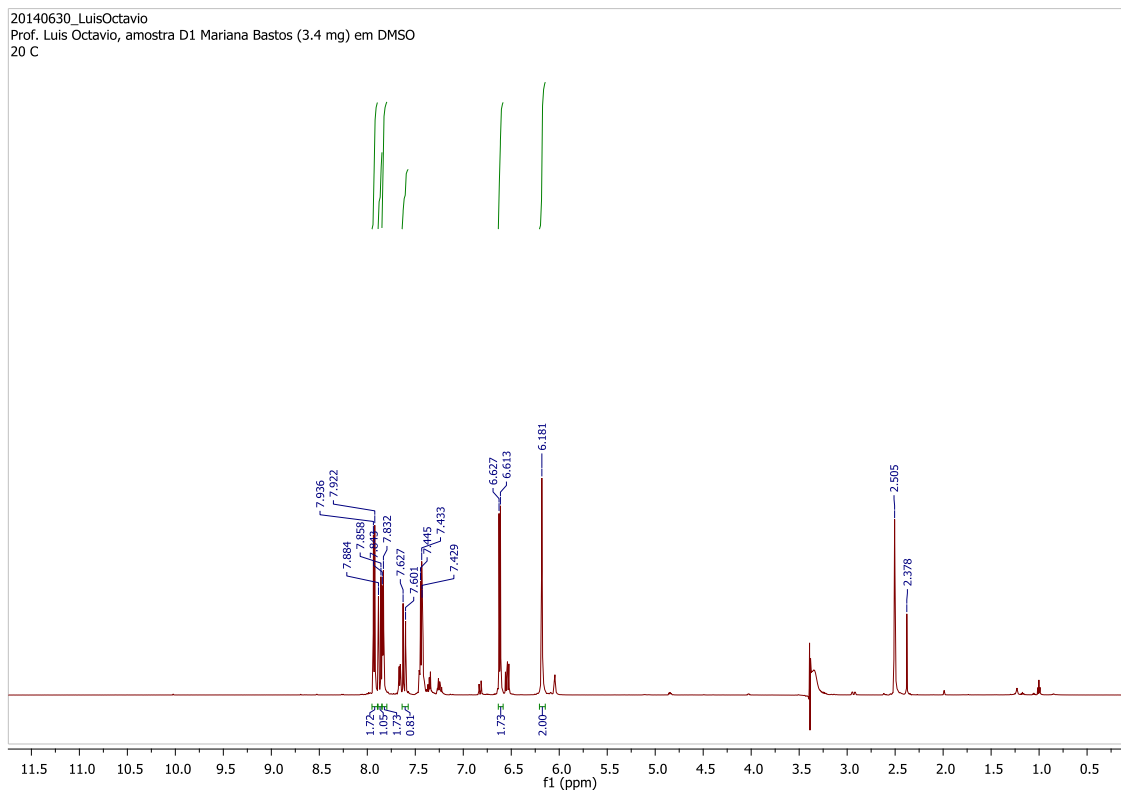
ANEXO 47. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 12** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



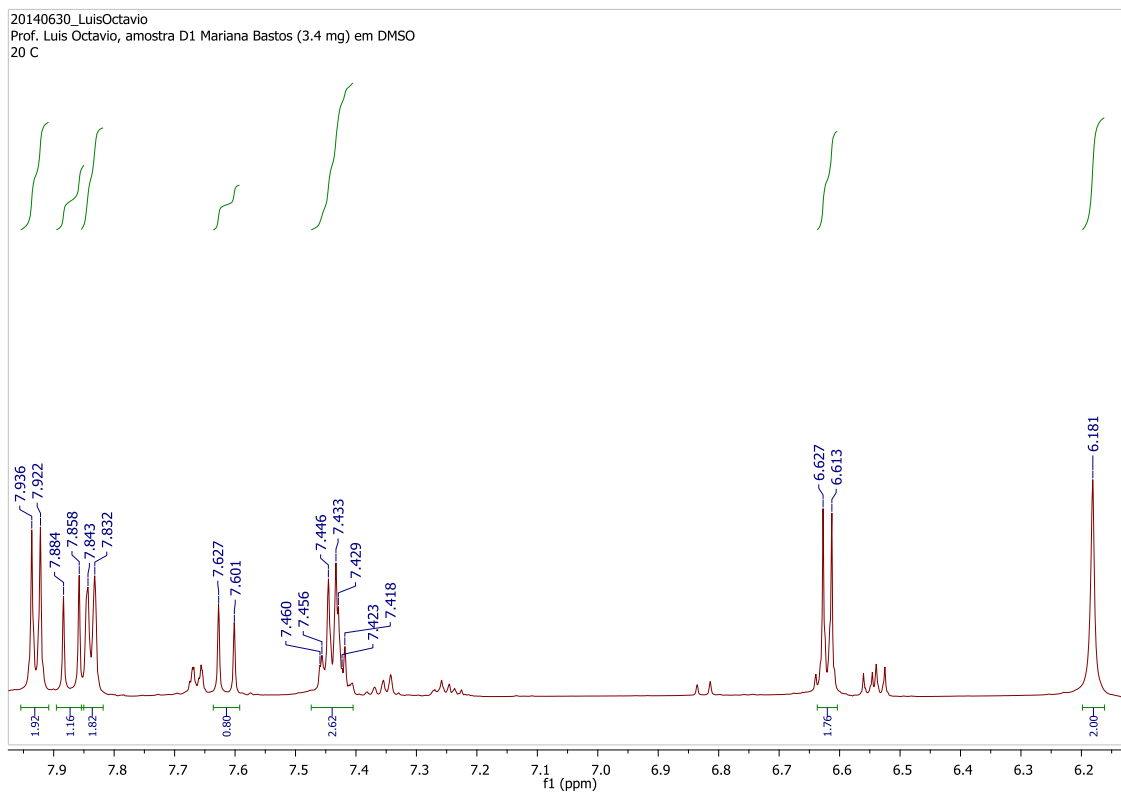
ANEXO 48. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 12** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



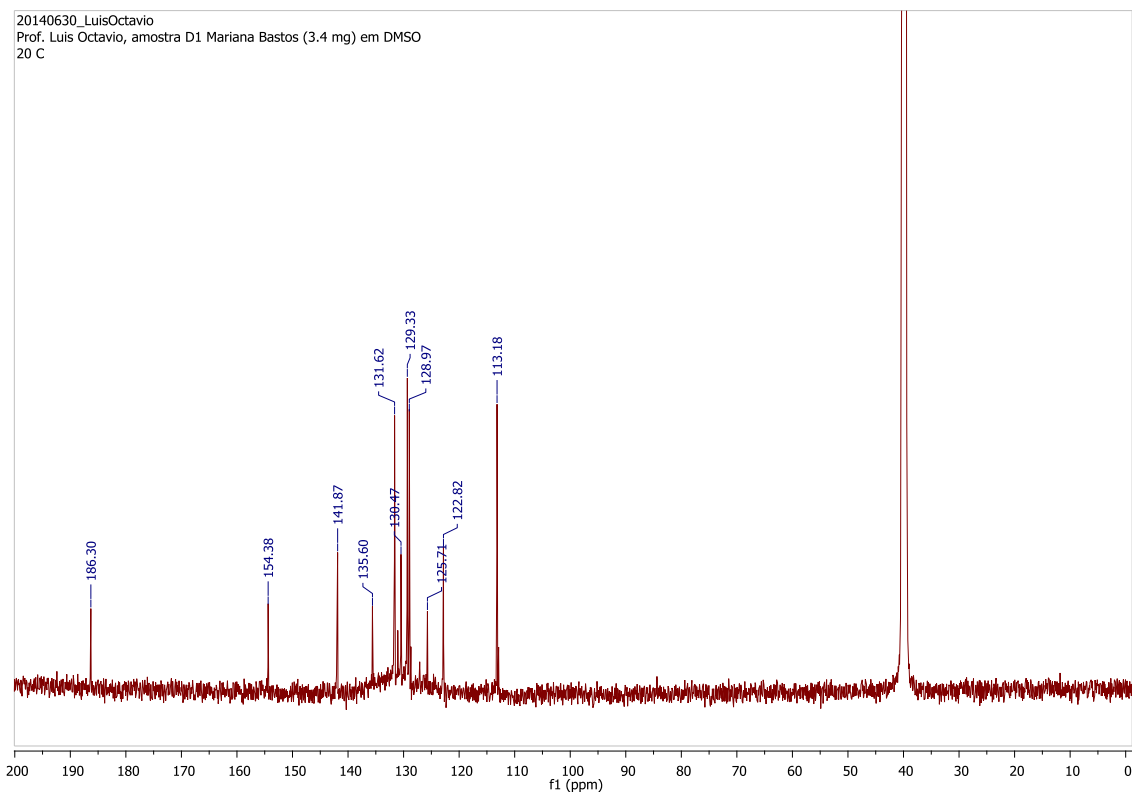
ANEXO 49. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 13** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



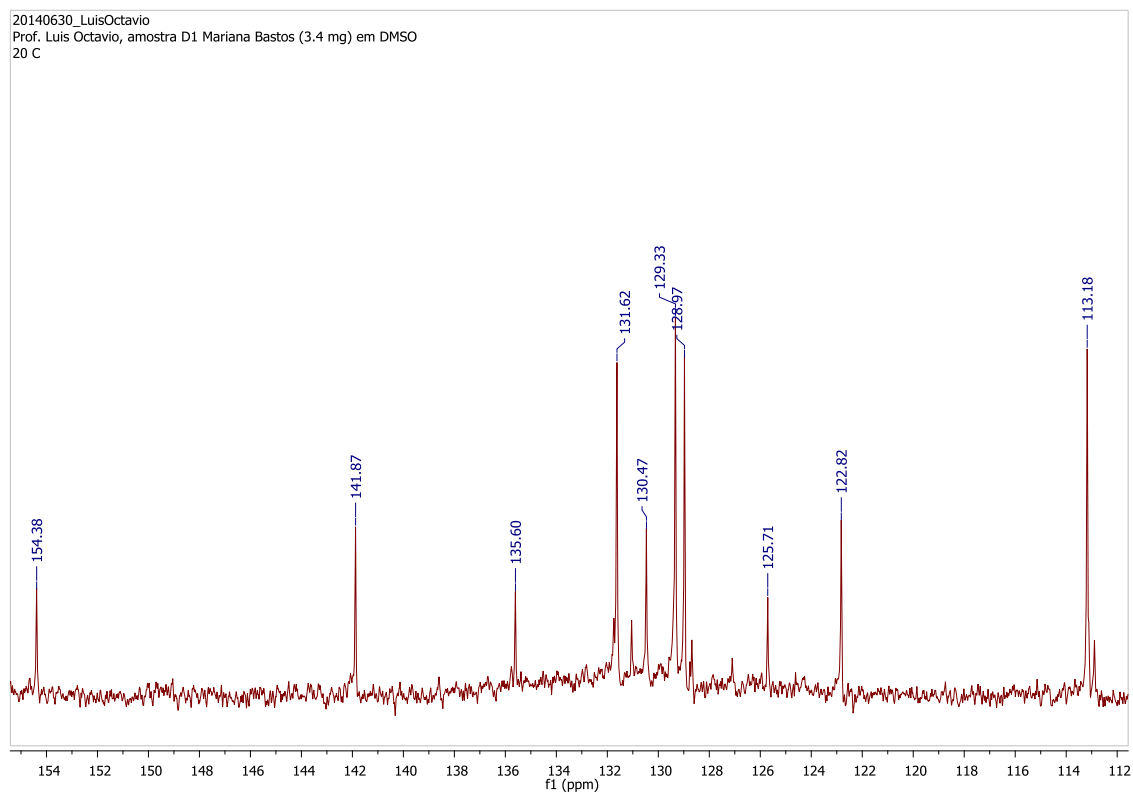
ANEXO 50. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 13** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



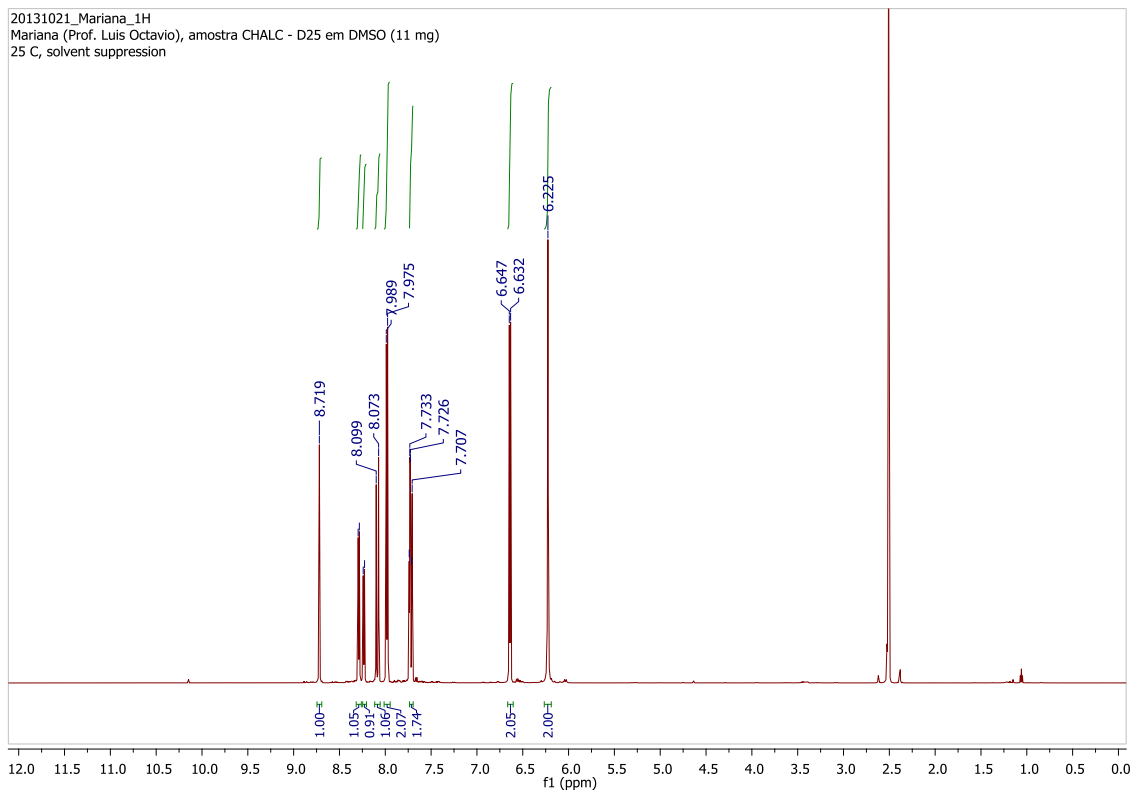
ANEXO 51. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 13** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



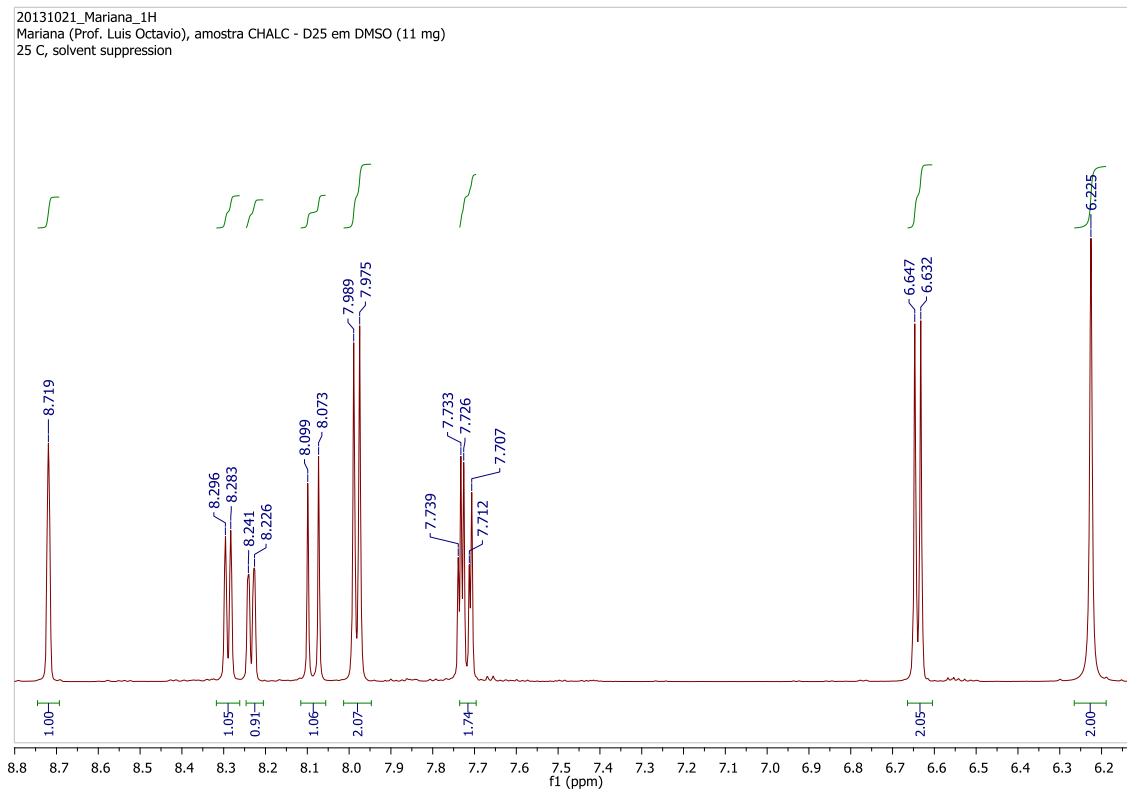
ANEXO 52. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 13** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



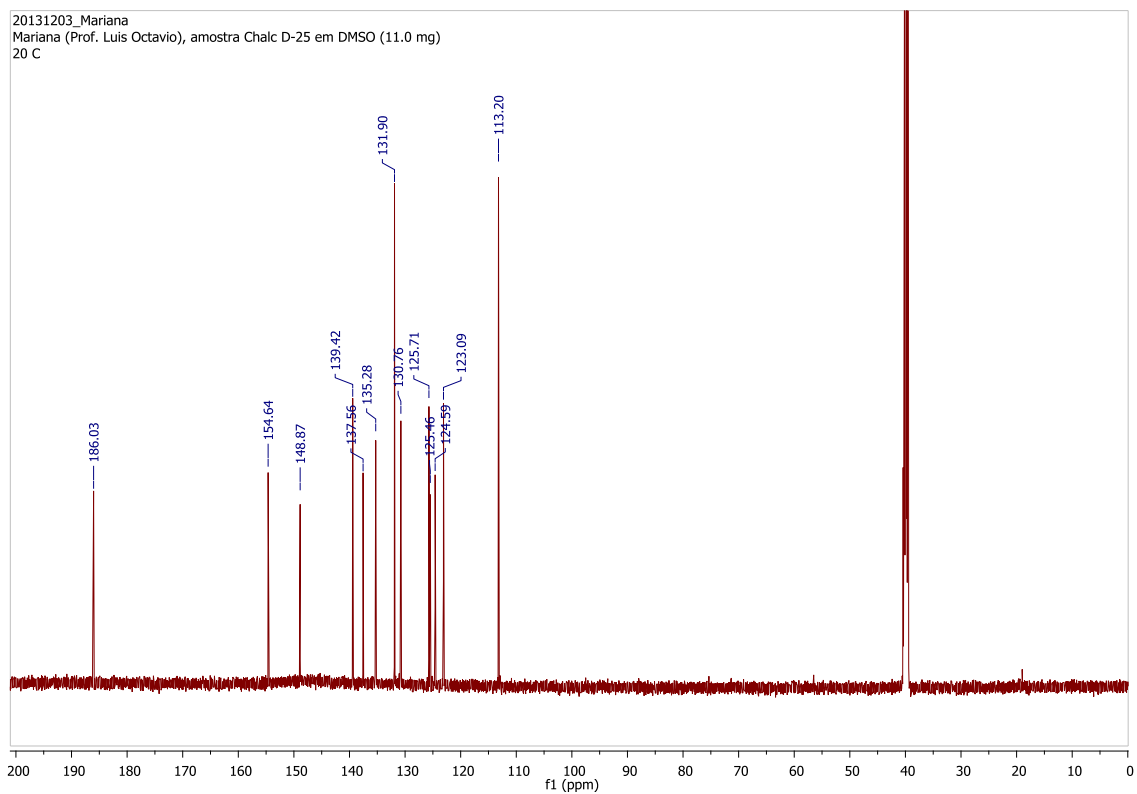
ANEXO 53. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 14** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



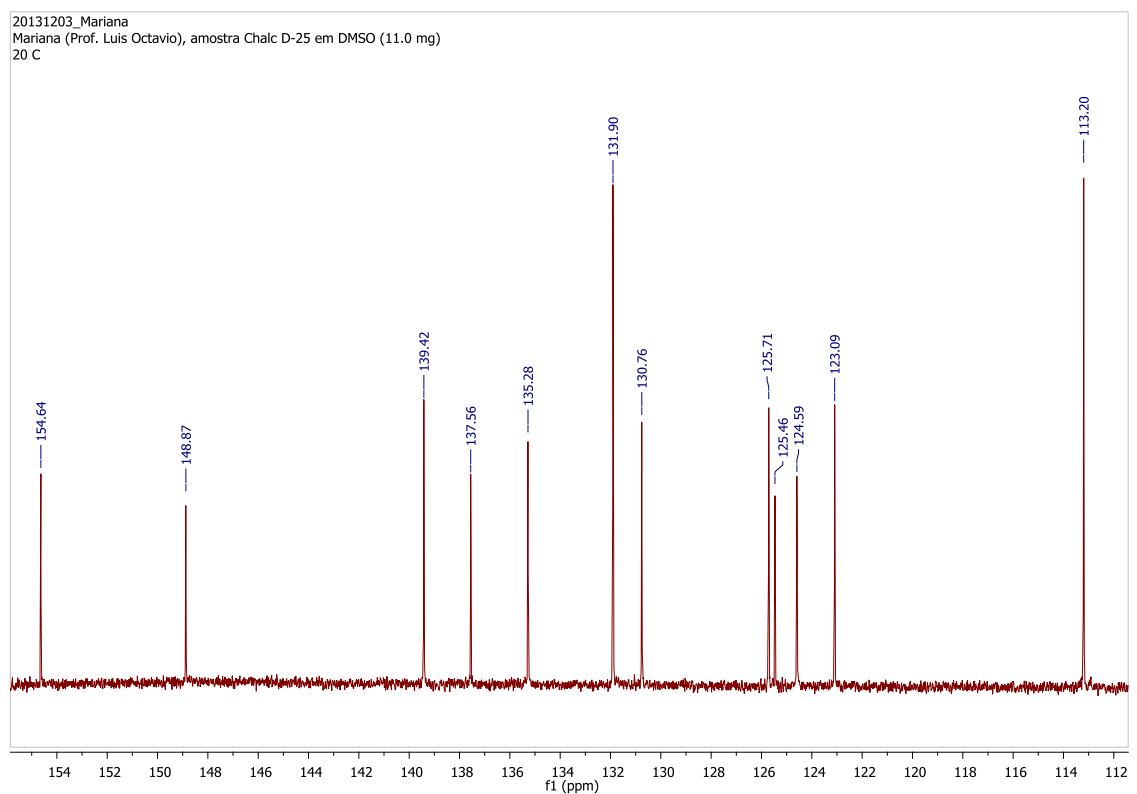
ANEXO 54. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **14** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



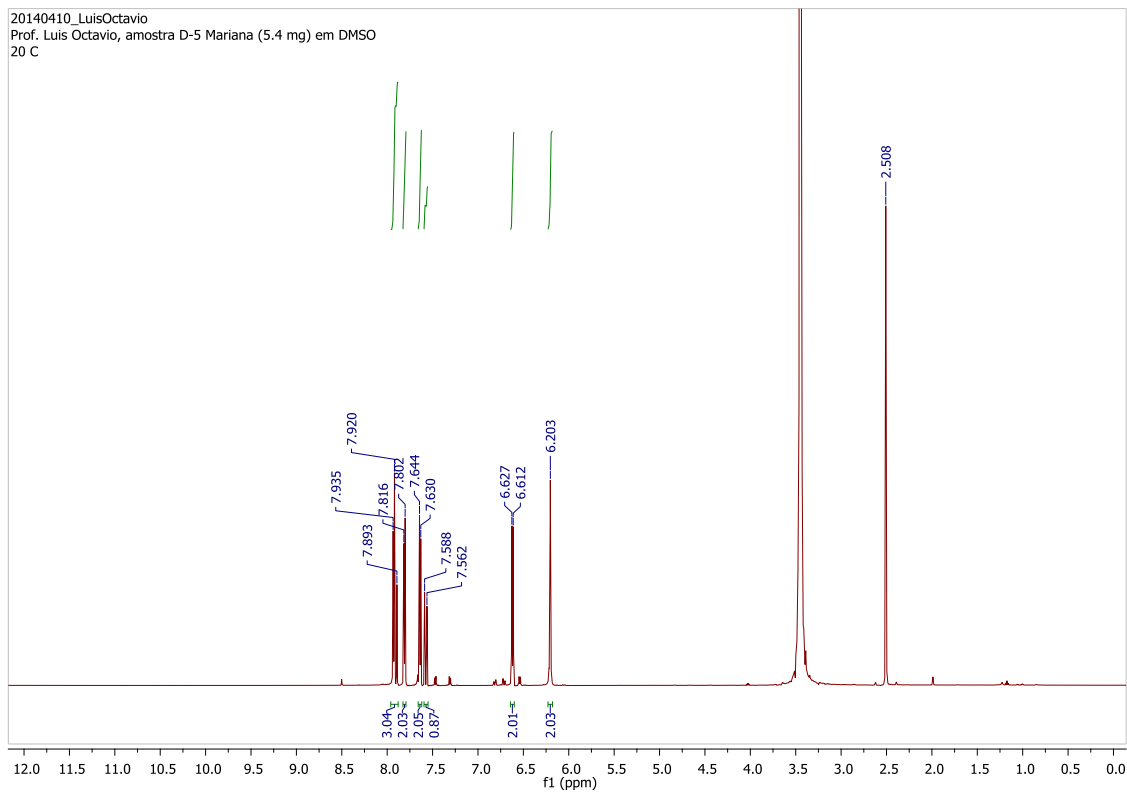
ANEXO 55. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 14** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



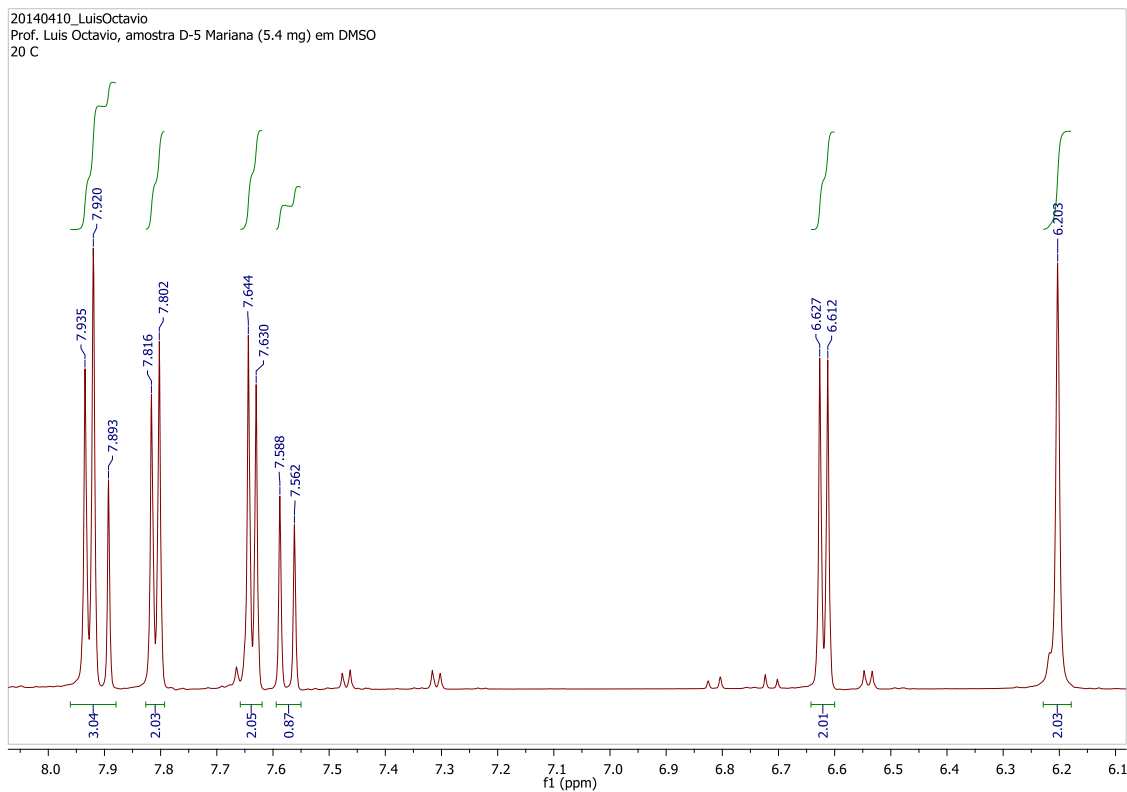
ANEXO 56. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 14** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



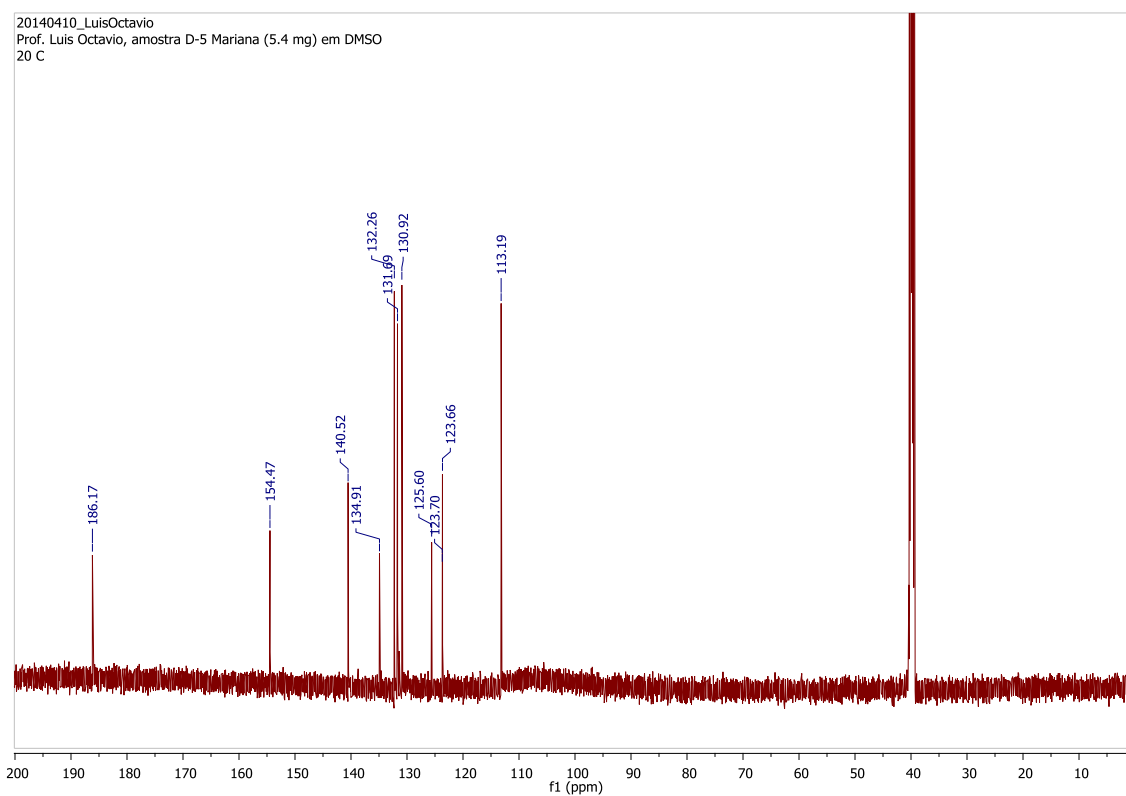
ANEXO 57. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 15** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



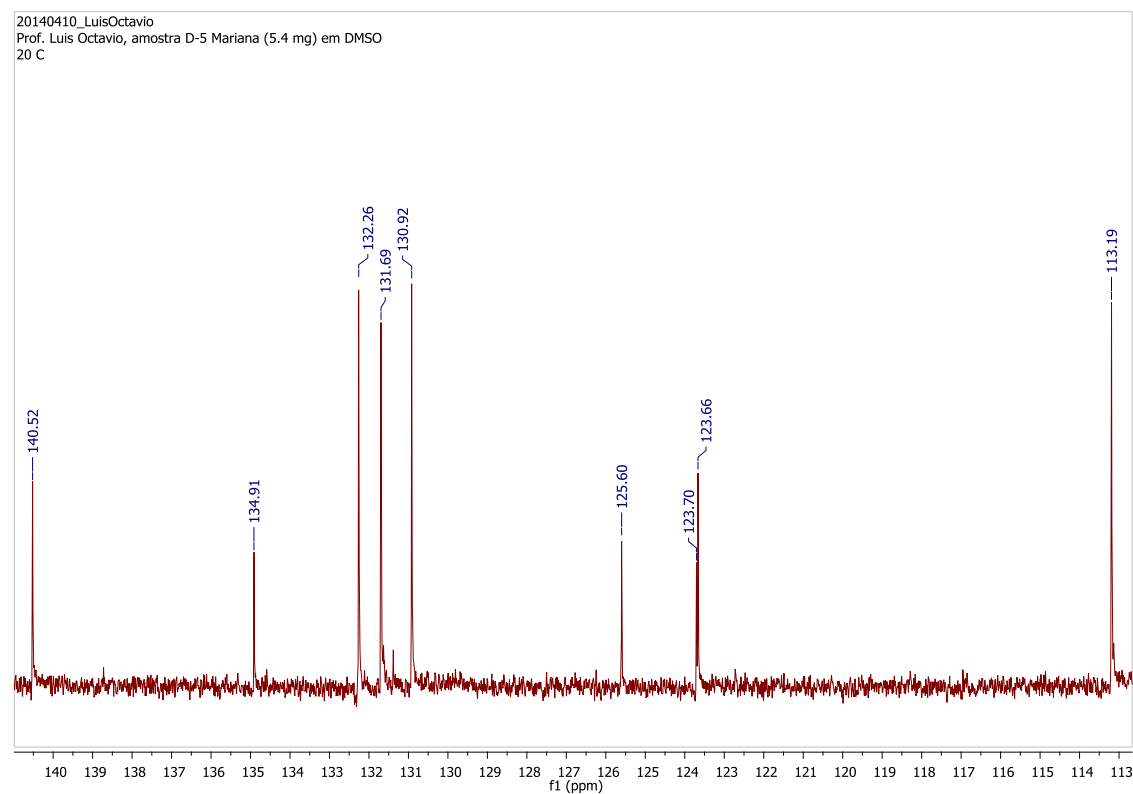
ANEXO 58. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 15** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



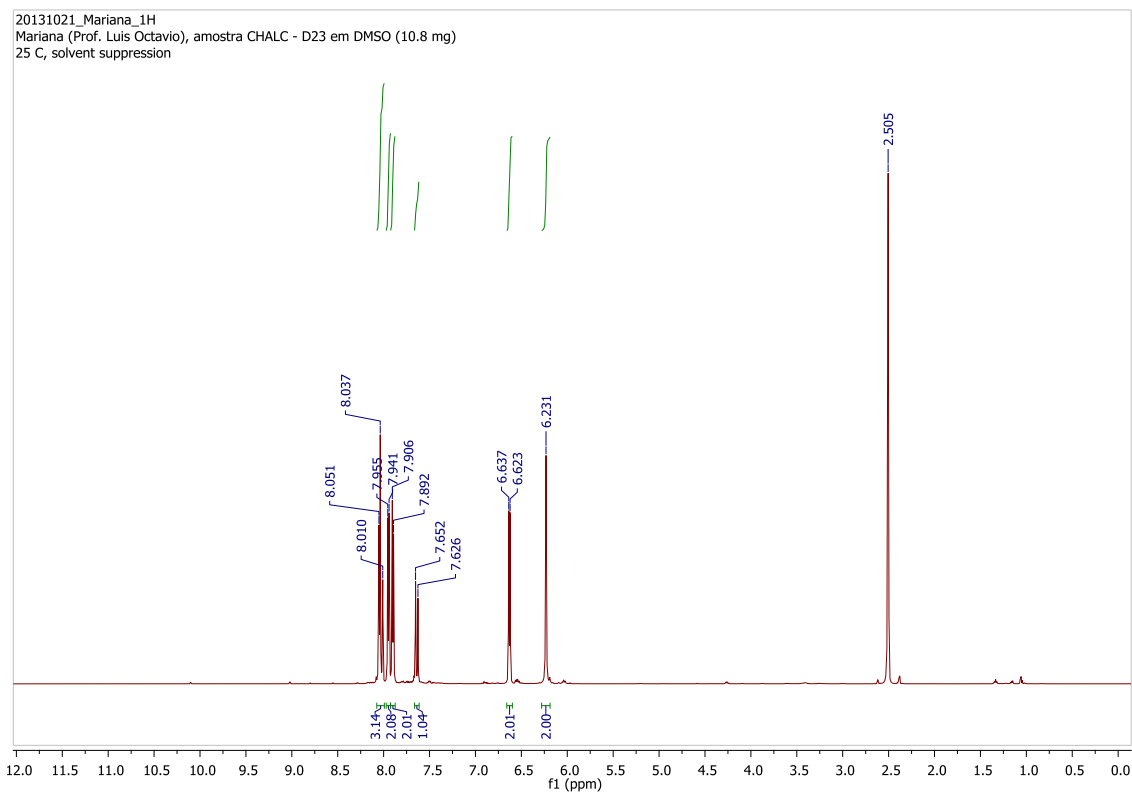
ANEXO 59. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 15** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



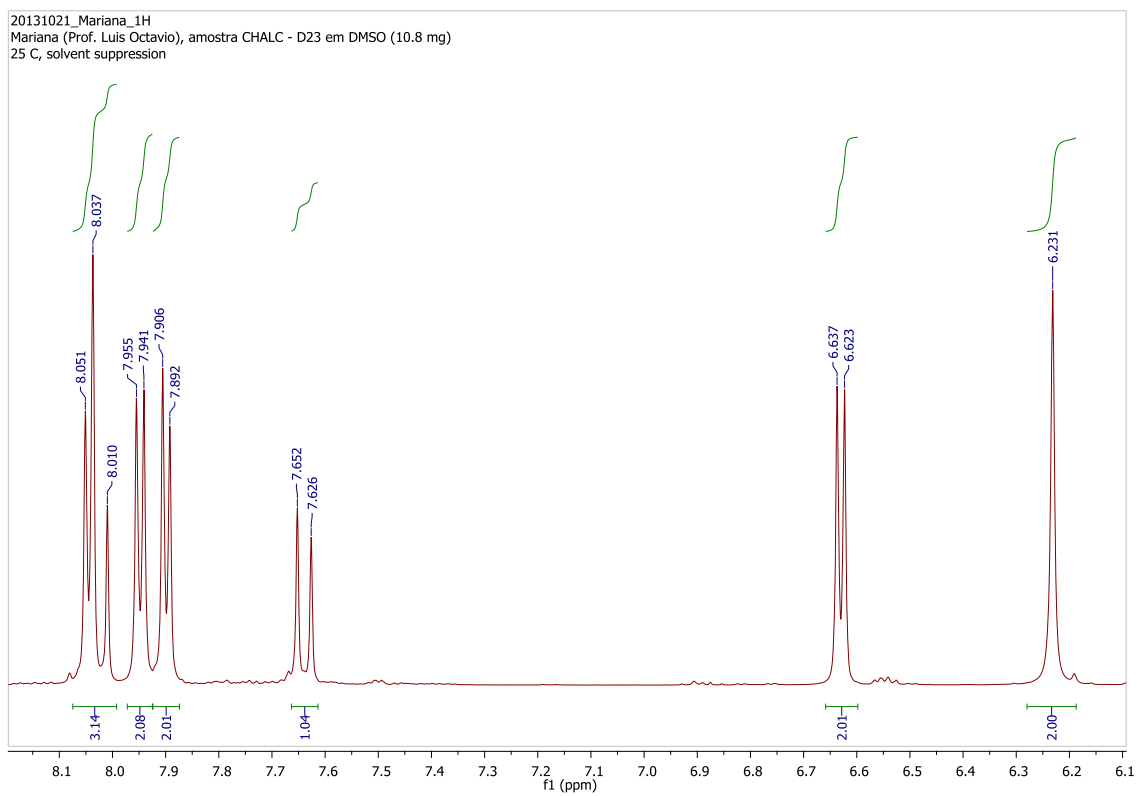
ANEXO 60. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 15** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



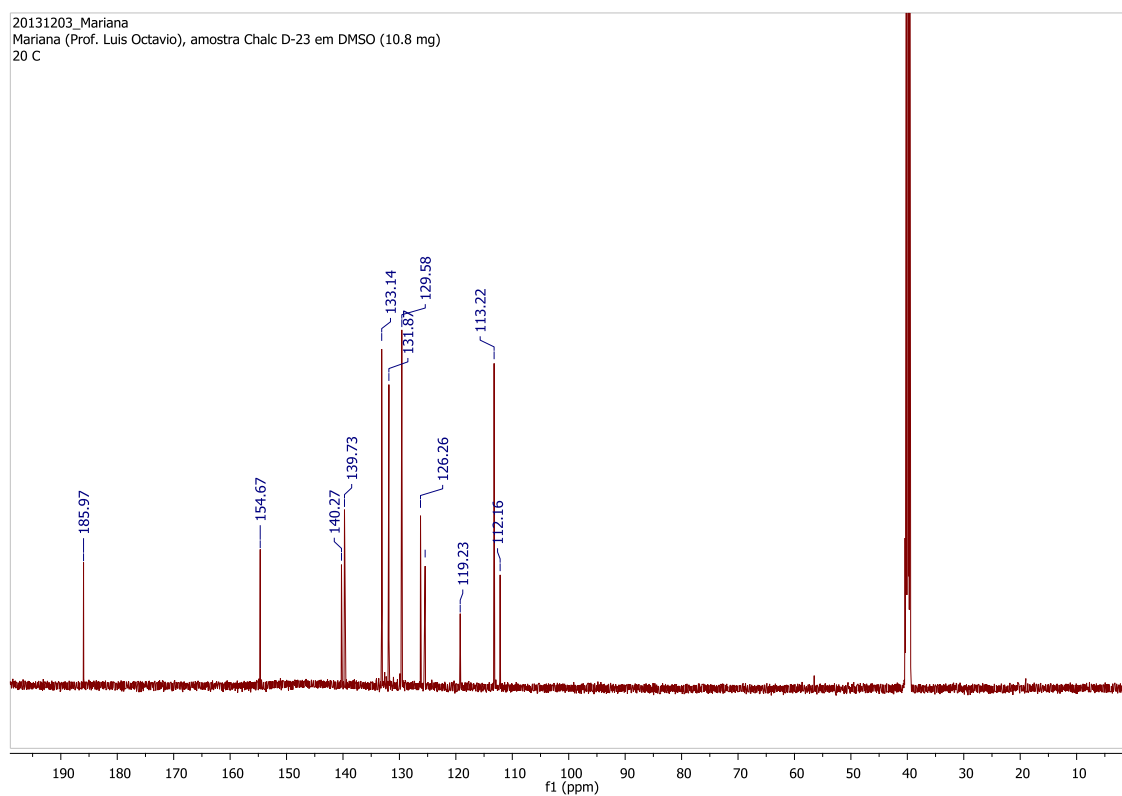
ANEXO 61. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 16** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



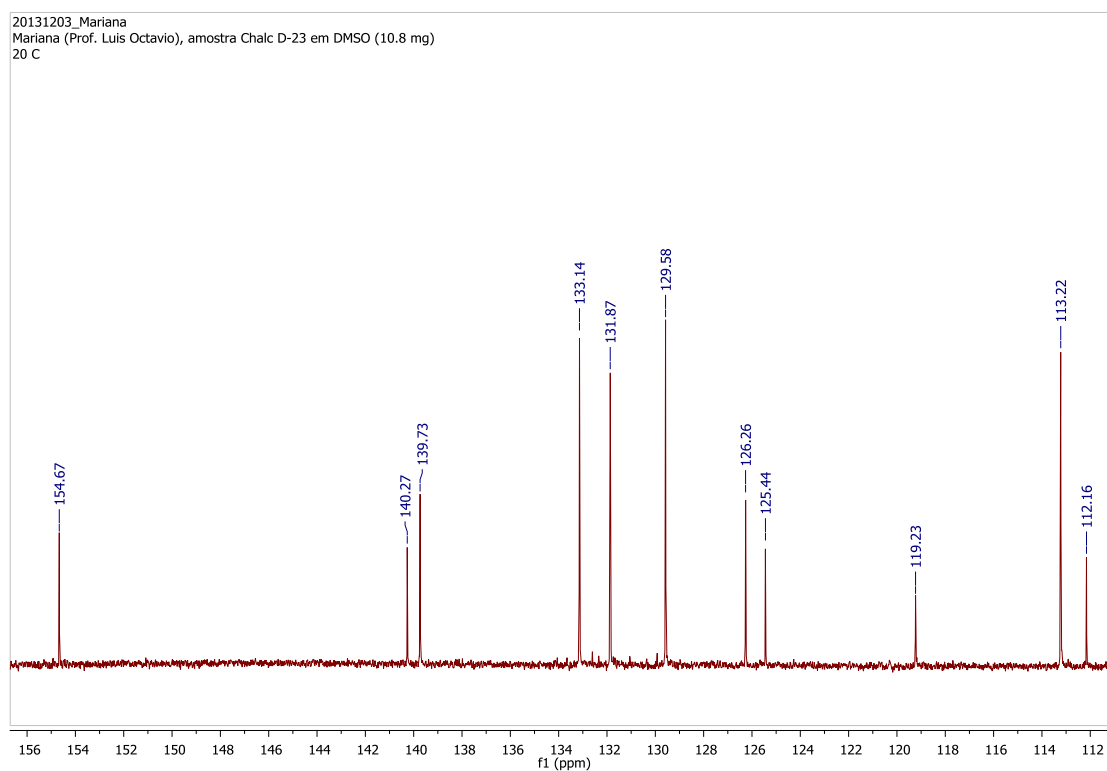
ANEXO 62. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 16** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



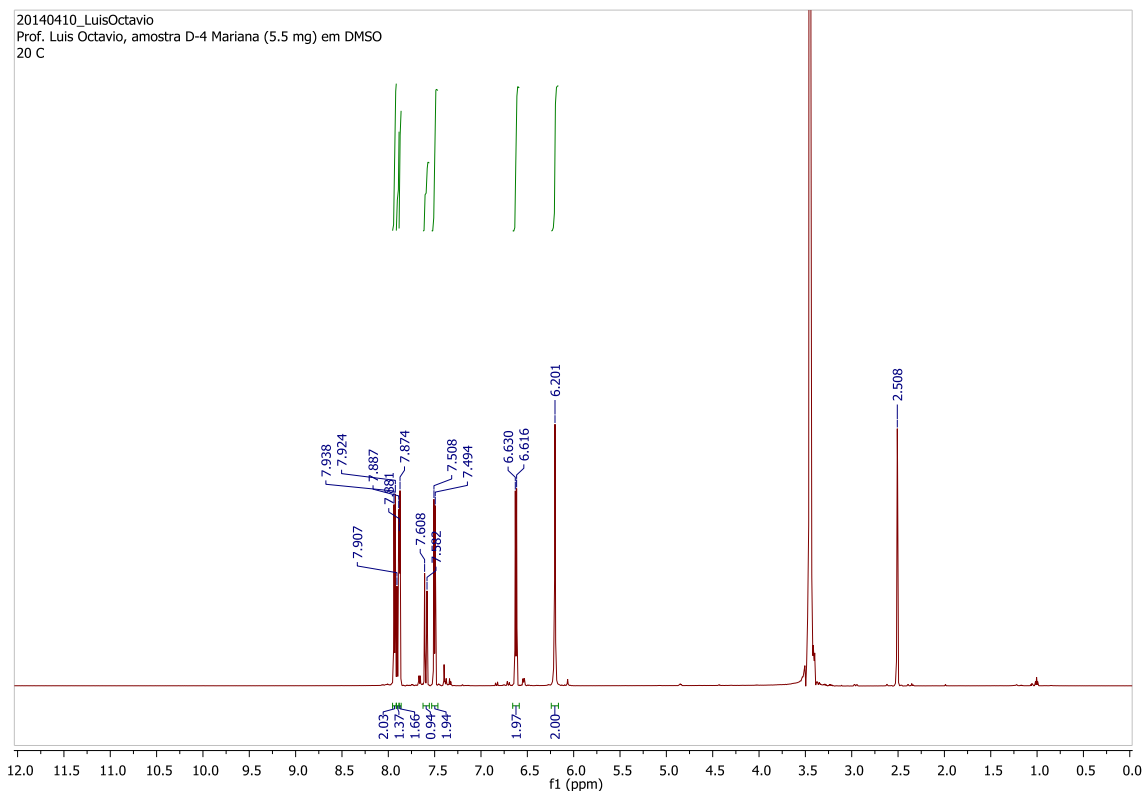
ANEXO 63. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 16** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



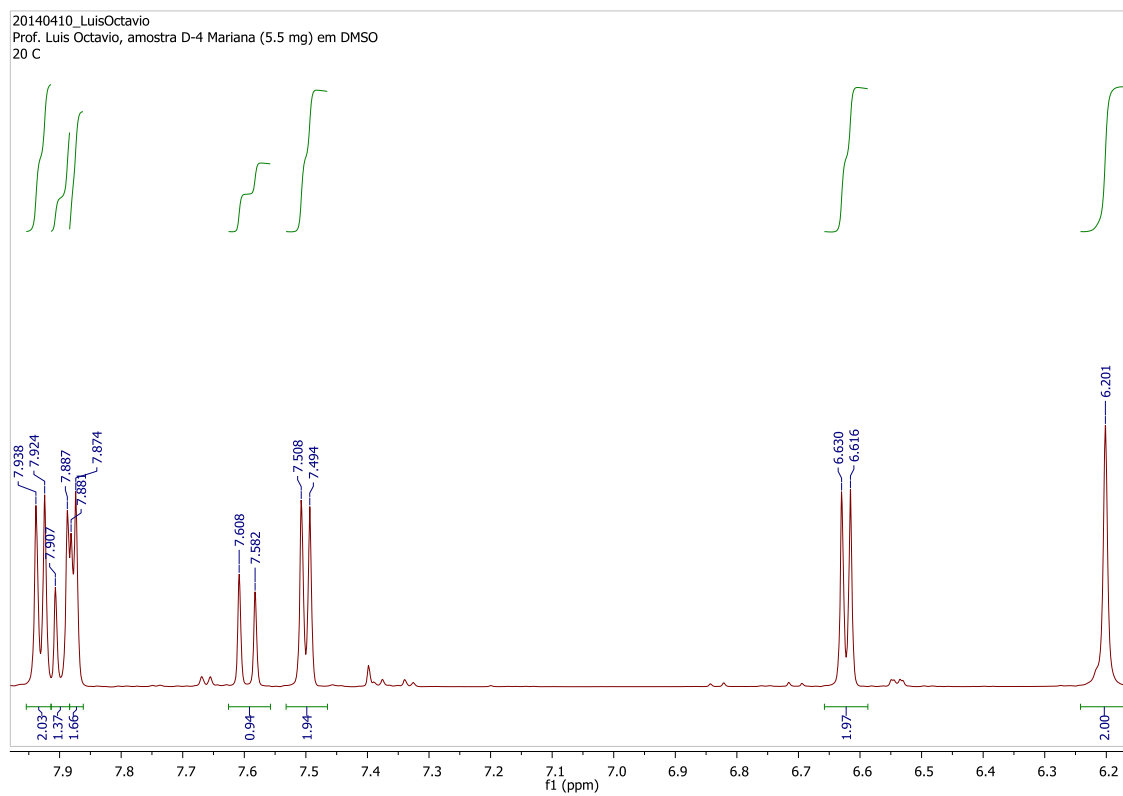
ANEXO 64. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 16** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



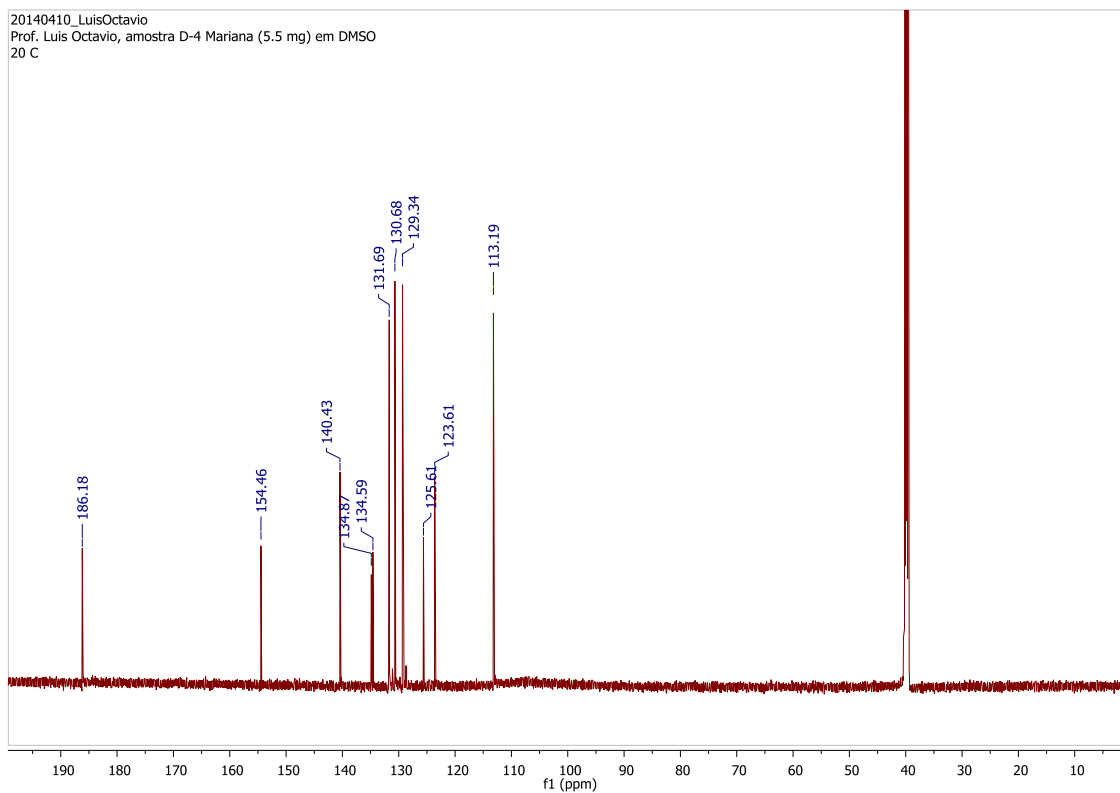
ANEXO 65. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 17** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



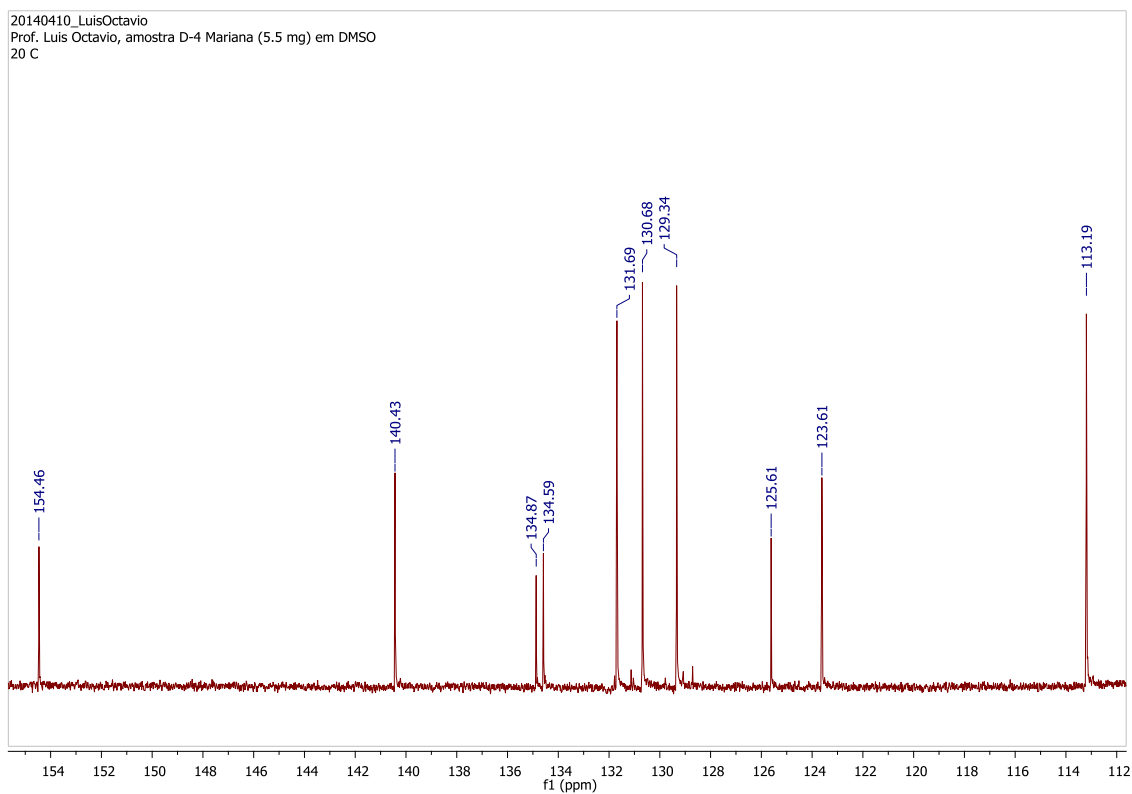
ANEXO 66. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 17** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



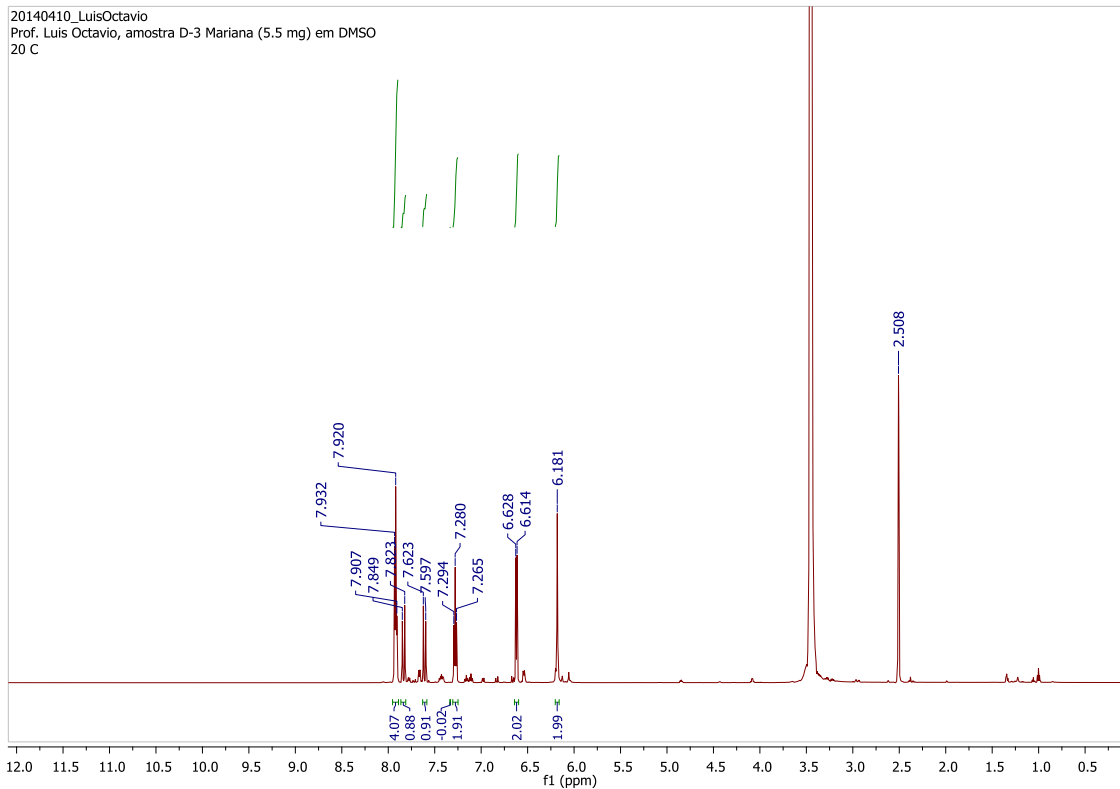
ANEXO 67. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 17** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



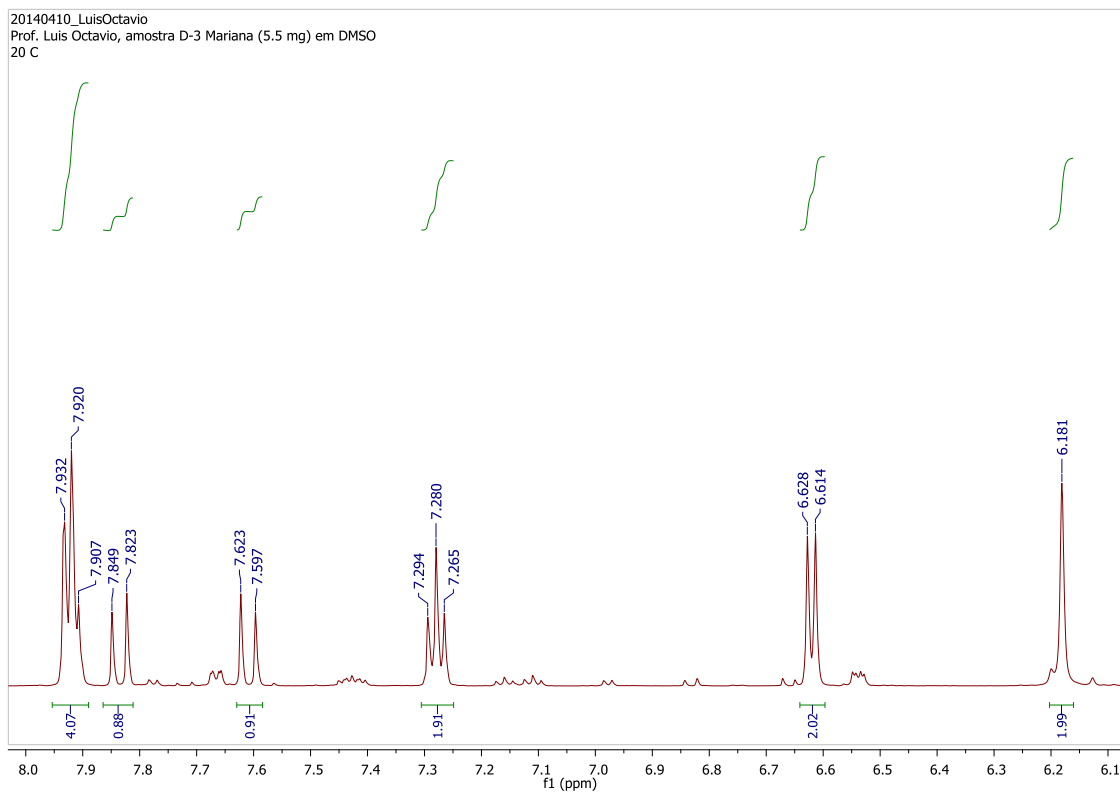
ANEXO 68. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 17** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



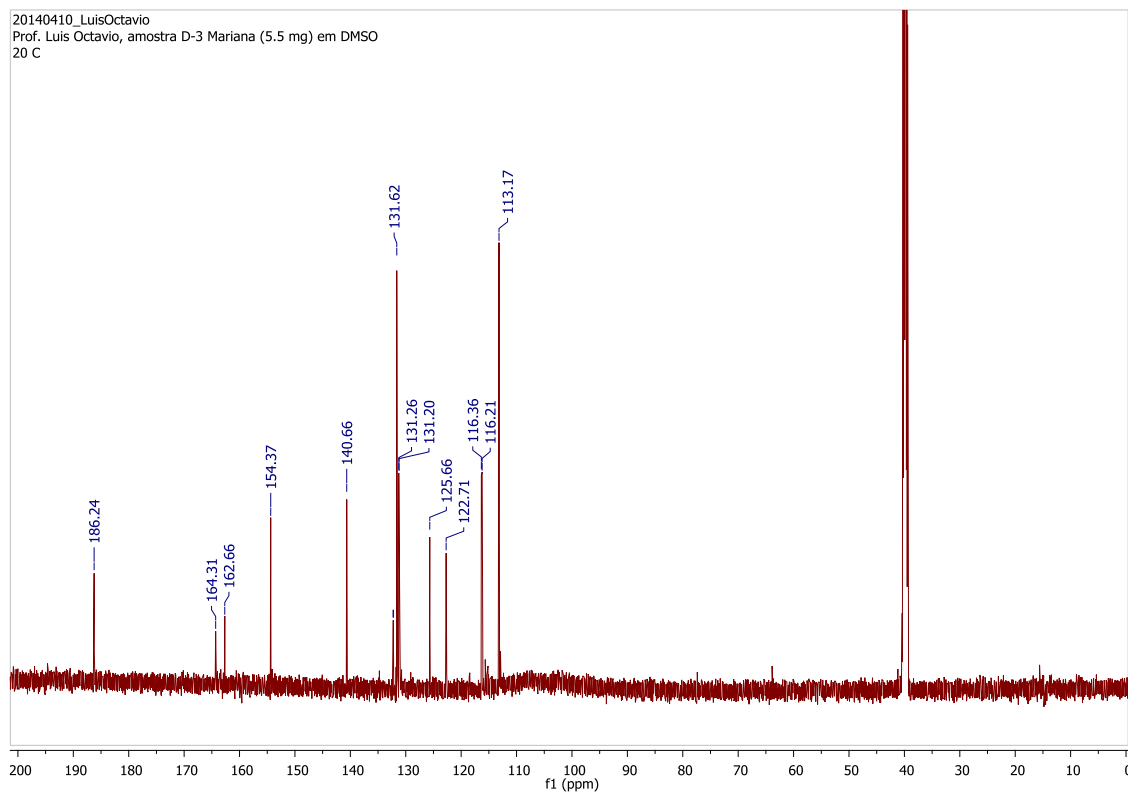
ANEXO 69. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 18** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



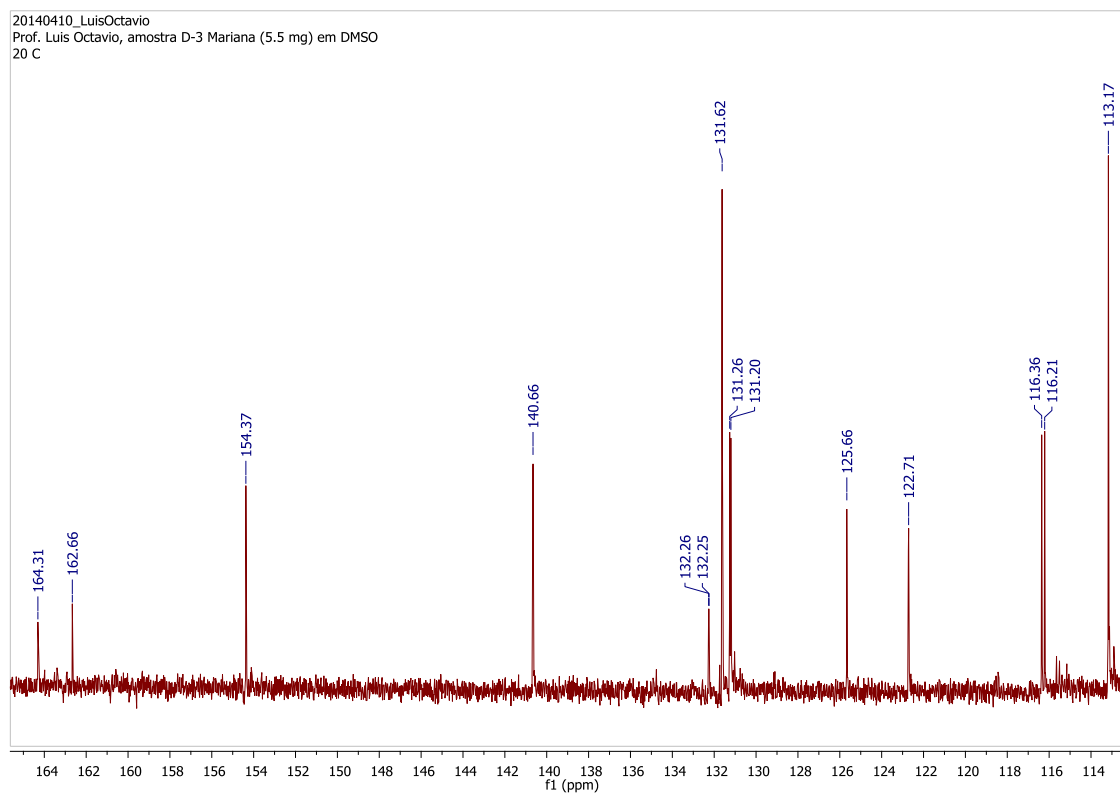
ANEXO 70. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 18** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



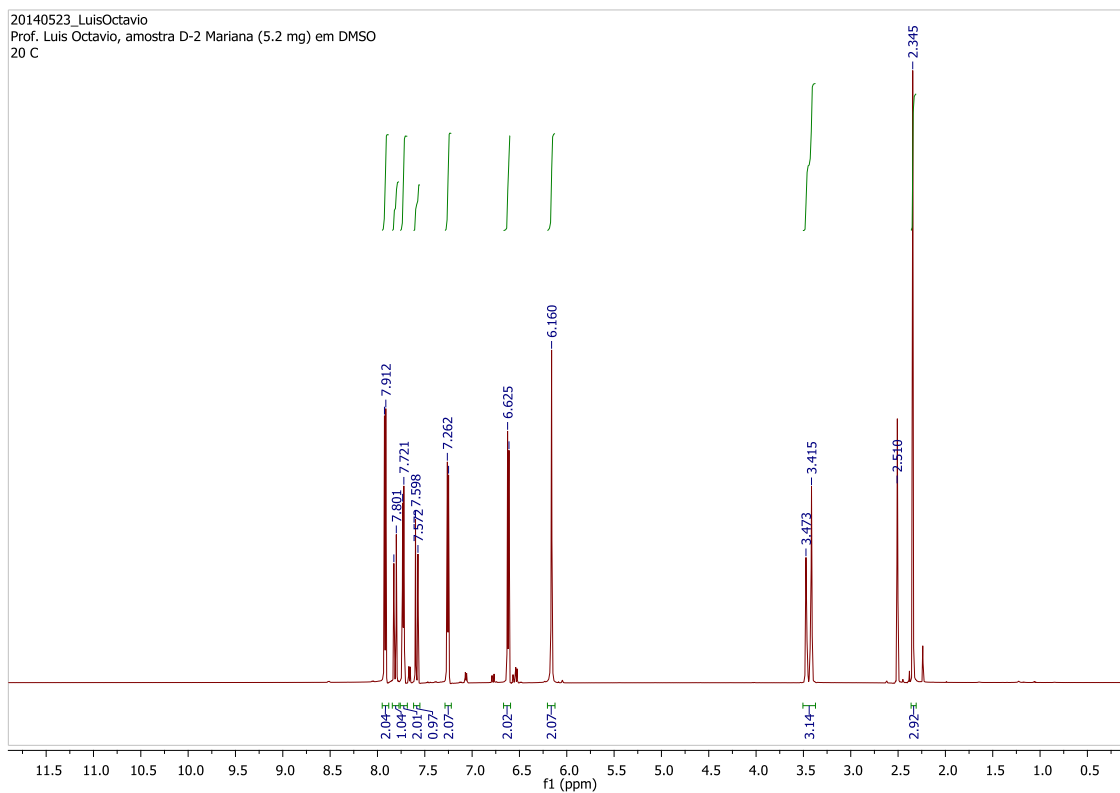
ANEXO 71. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 18** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



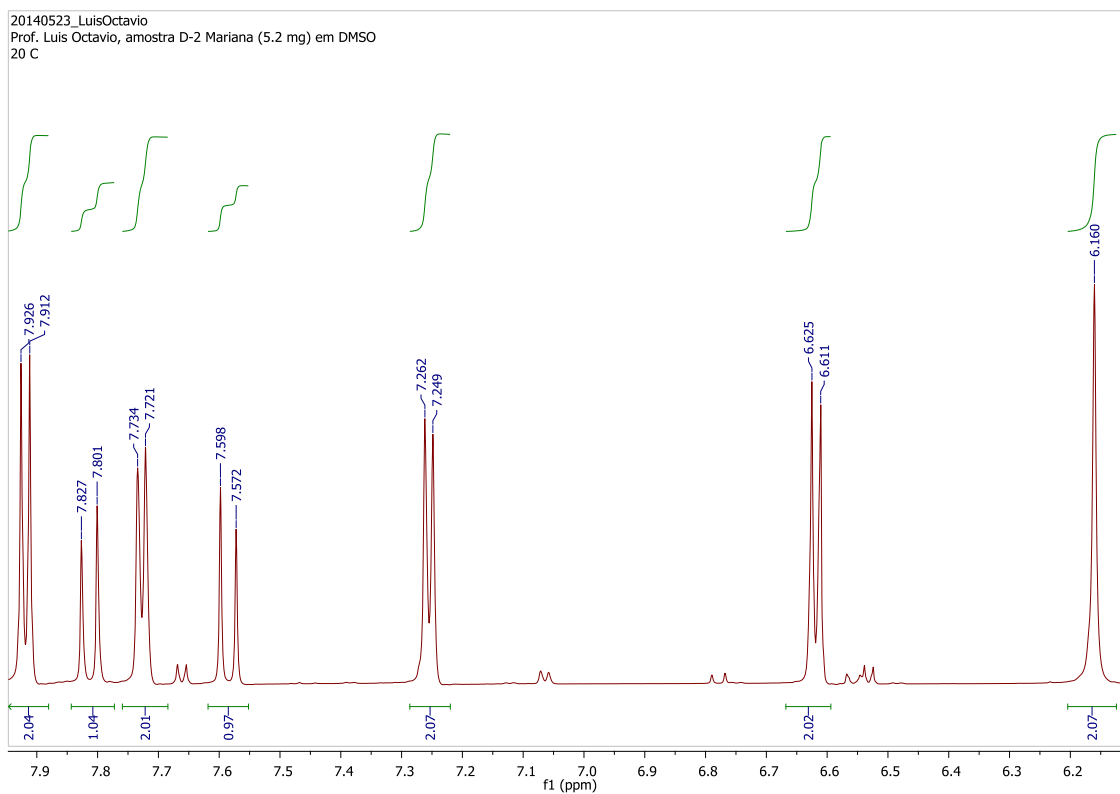
ANEXO 72. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 18** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



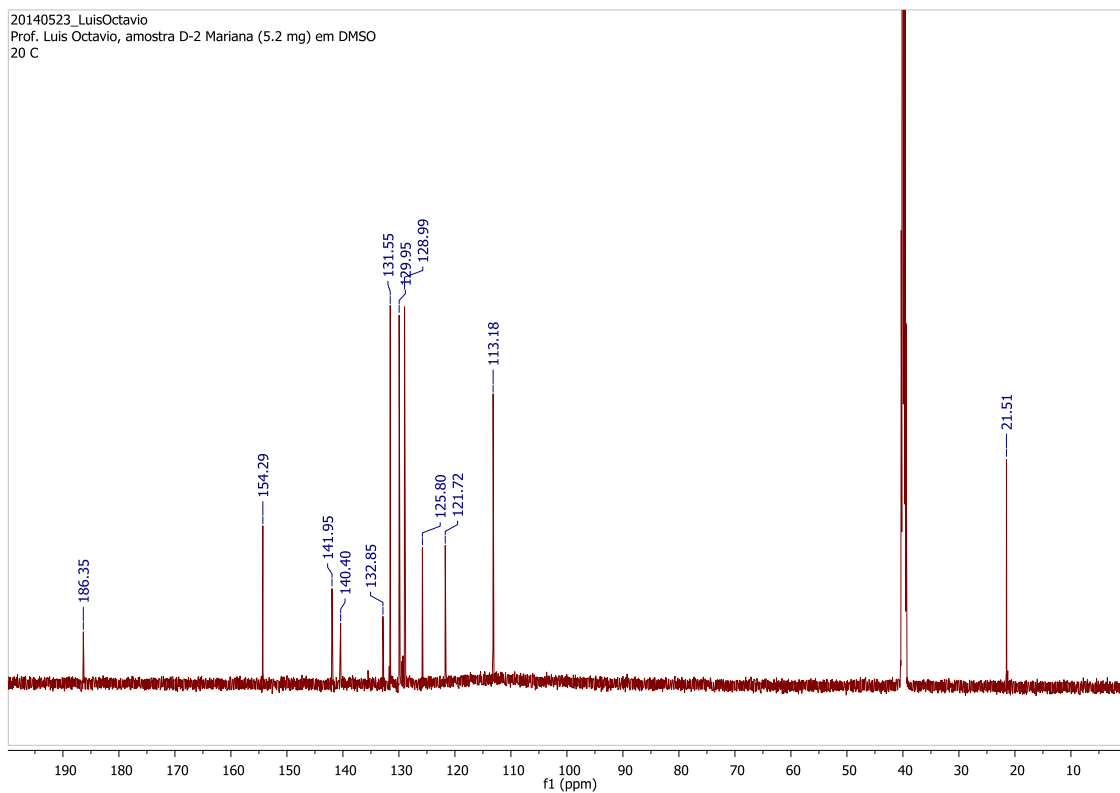
ANEXO 73. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 19** (DMSO- d_6 ; 600MHz)



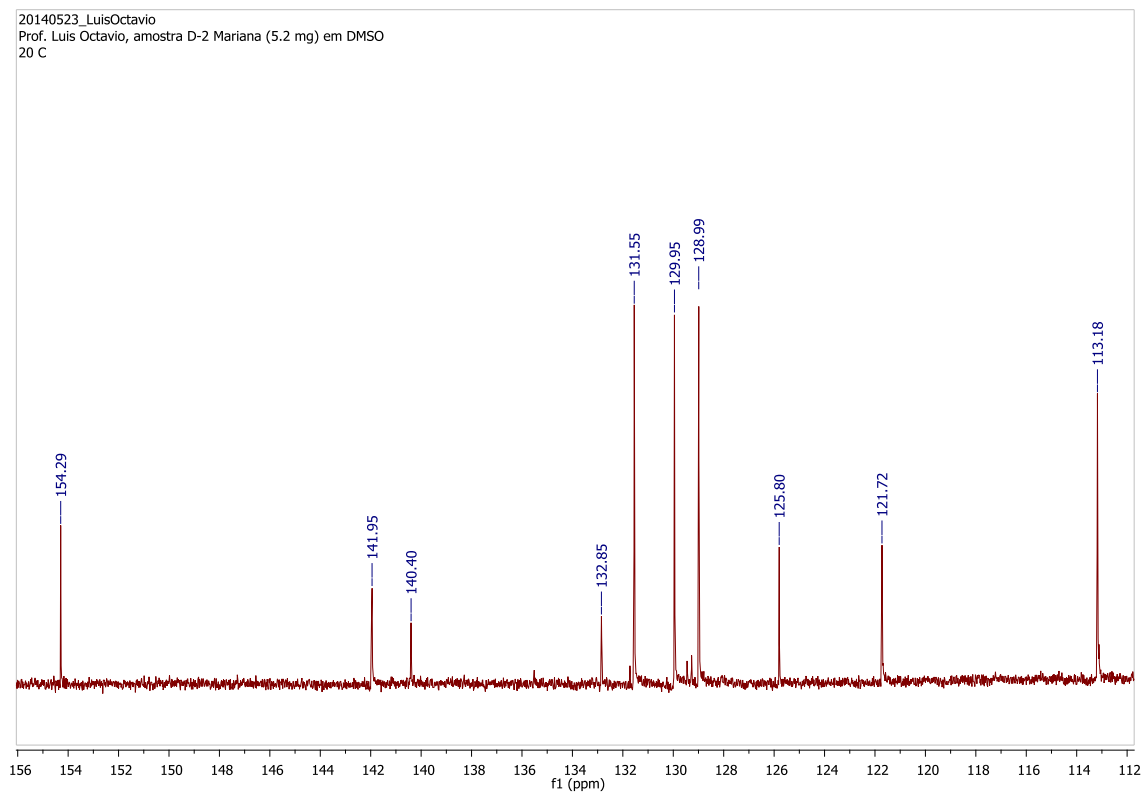
ANEXO 74. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 19** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



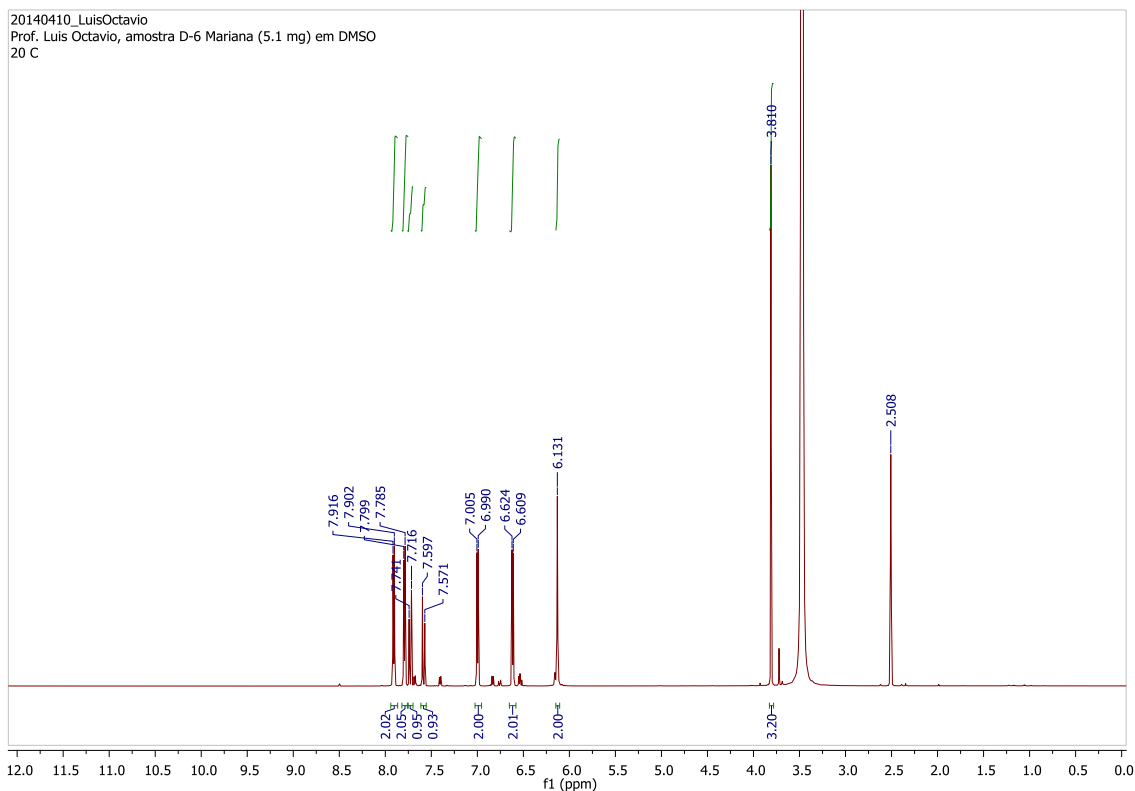
ANEXO 75. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 19** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



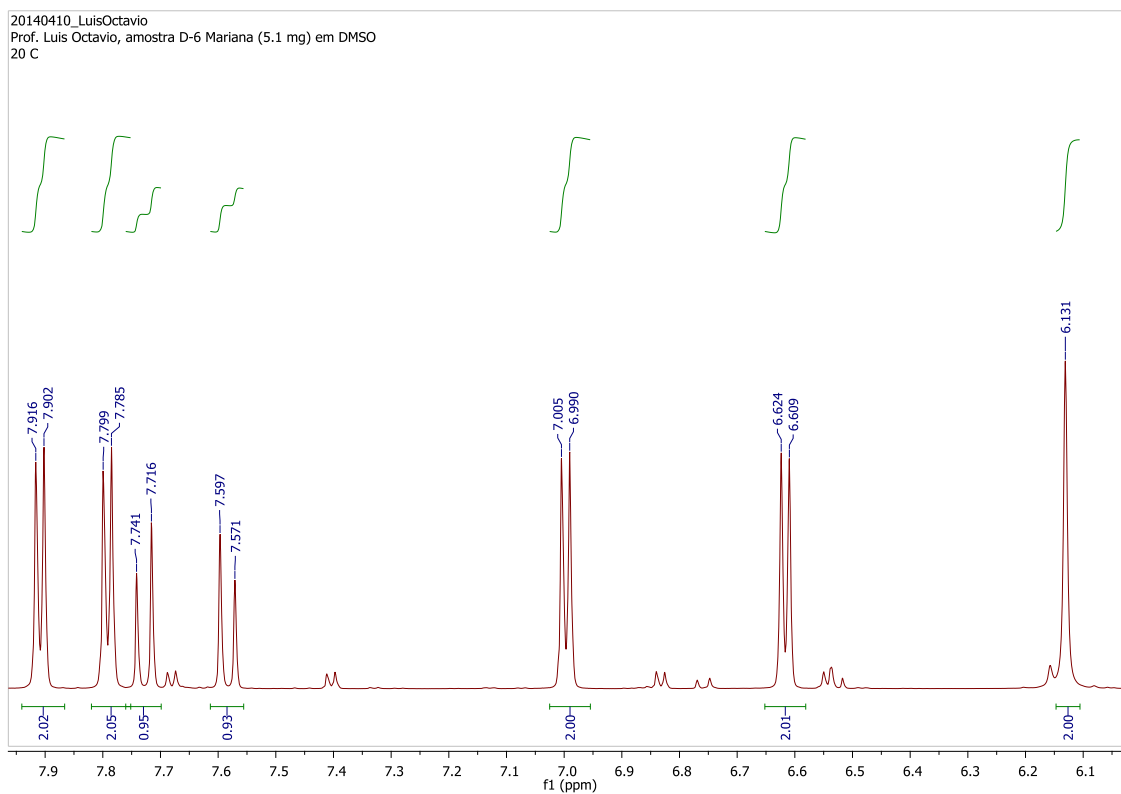
ANEXO 76. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 19** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



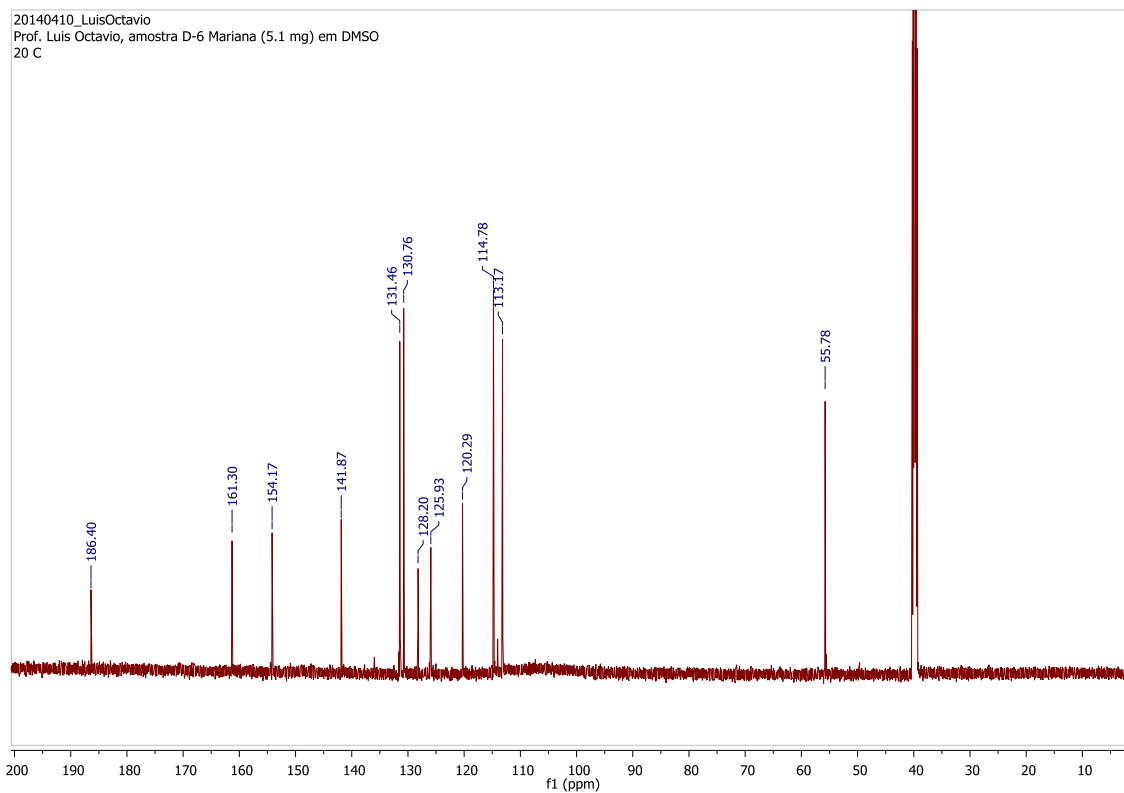
ANEXO 77. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 20** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



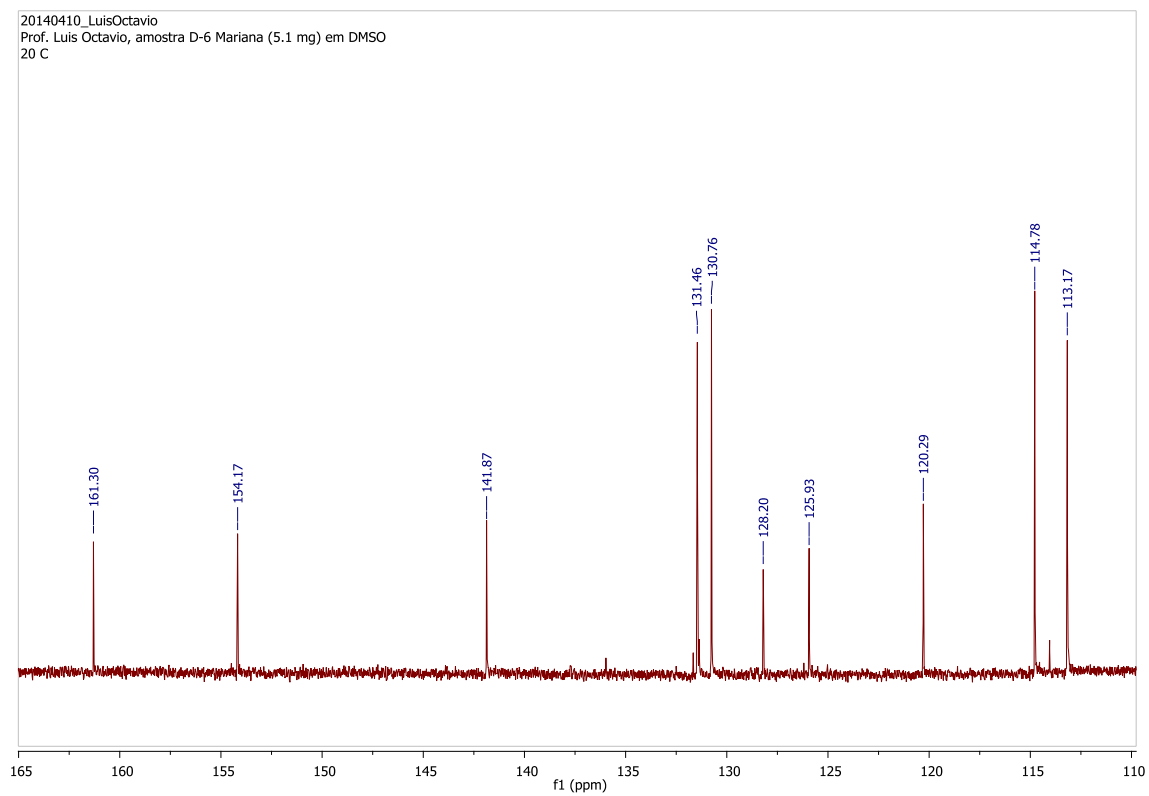
ANEXO 78. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 20** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



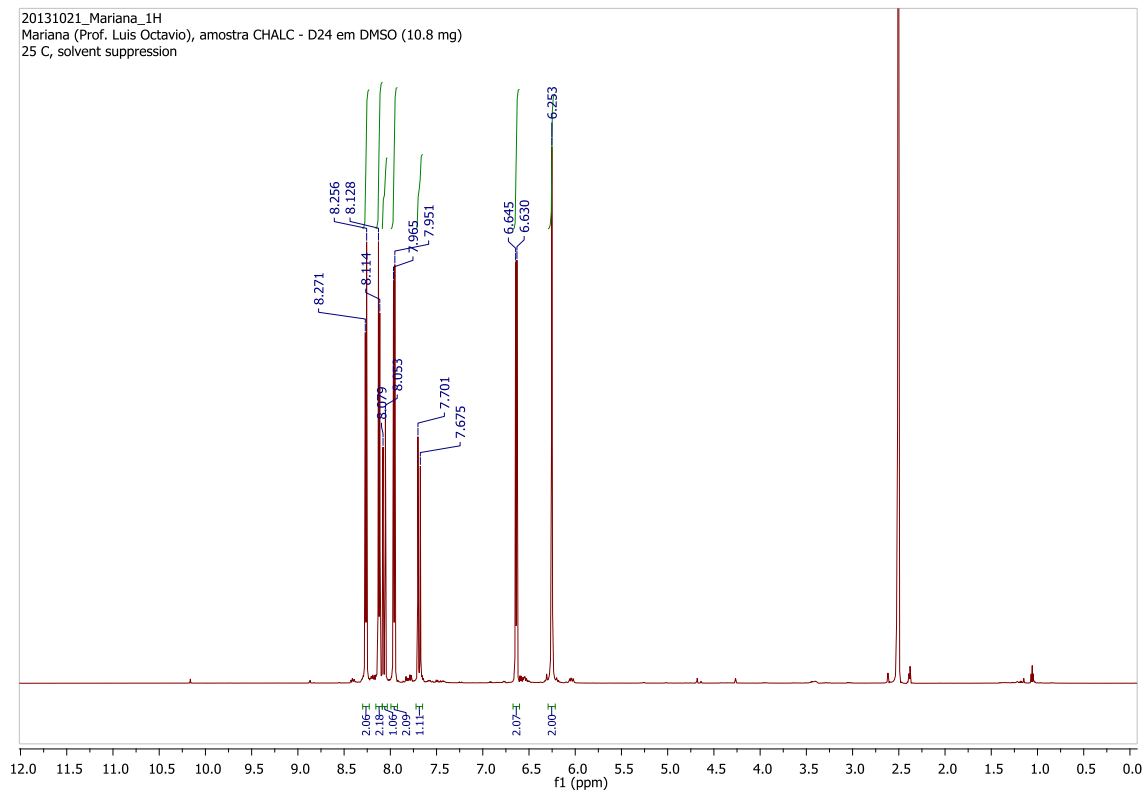
ANEXO 79. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 20** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



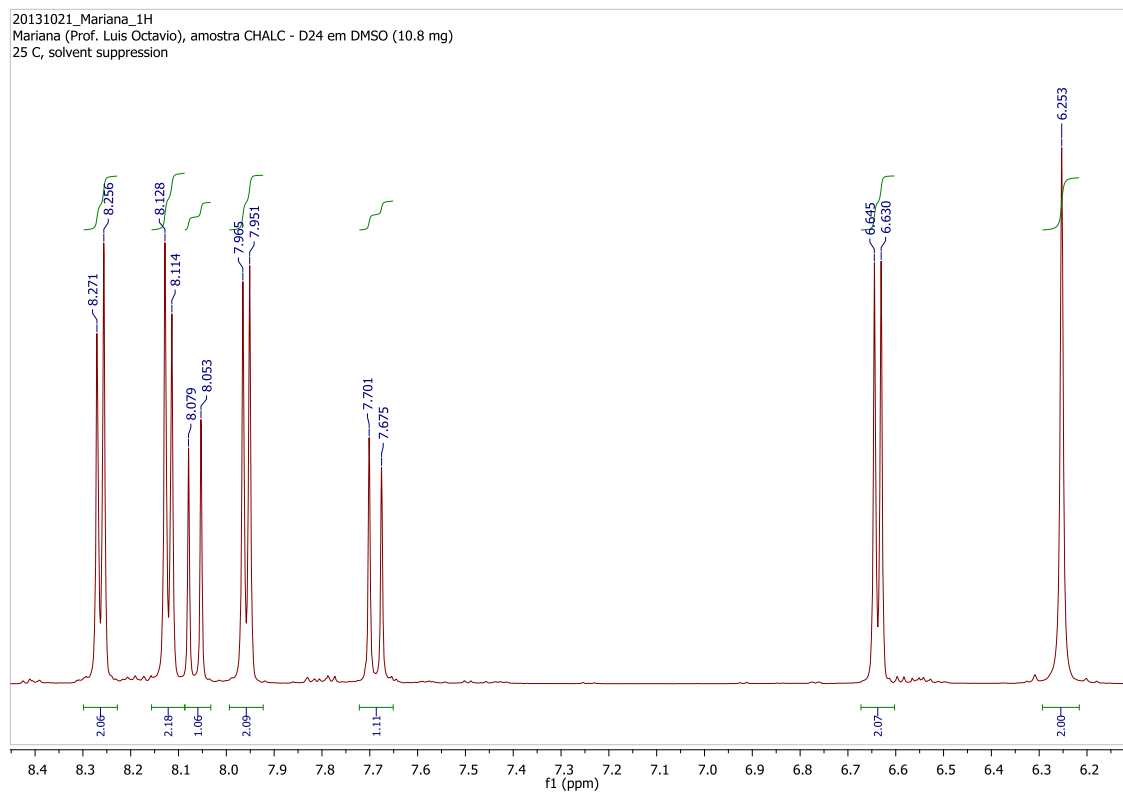
ANEXO 80. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 20** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



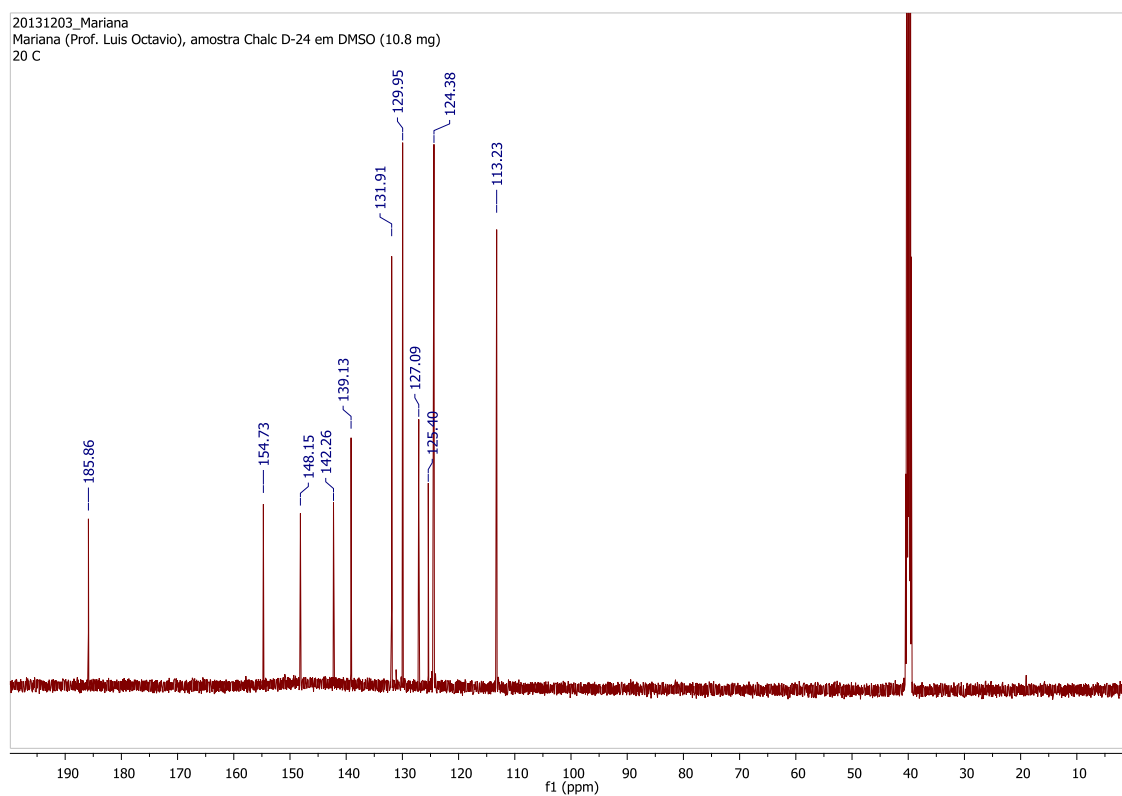
ANEXO 81. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 21** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



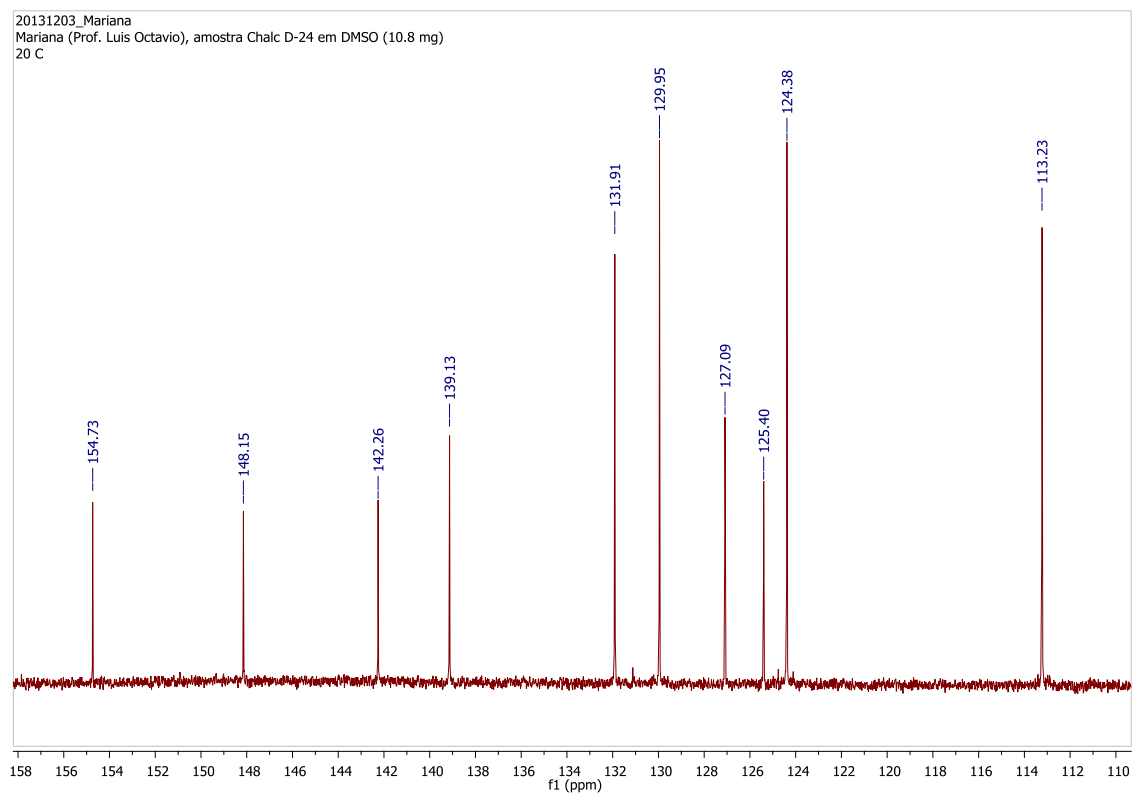
ANEXO 82. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 21** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



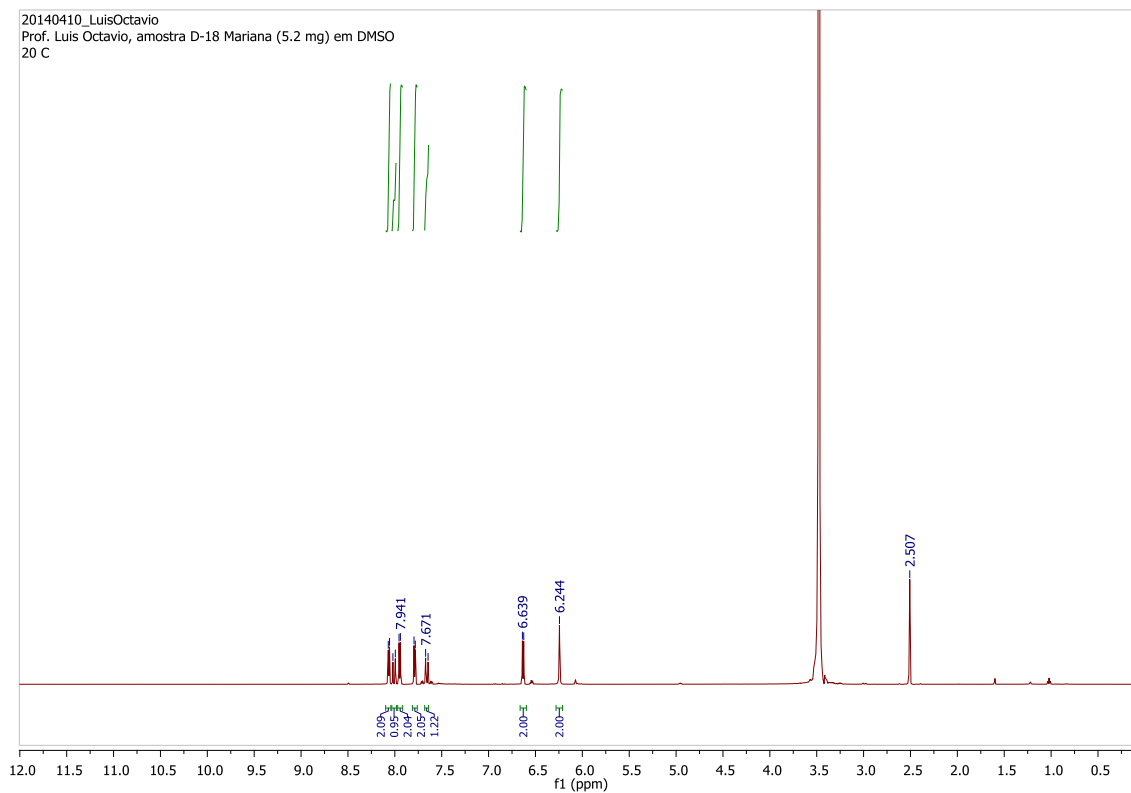
ANEXO 83. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 21** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



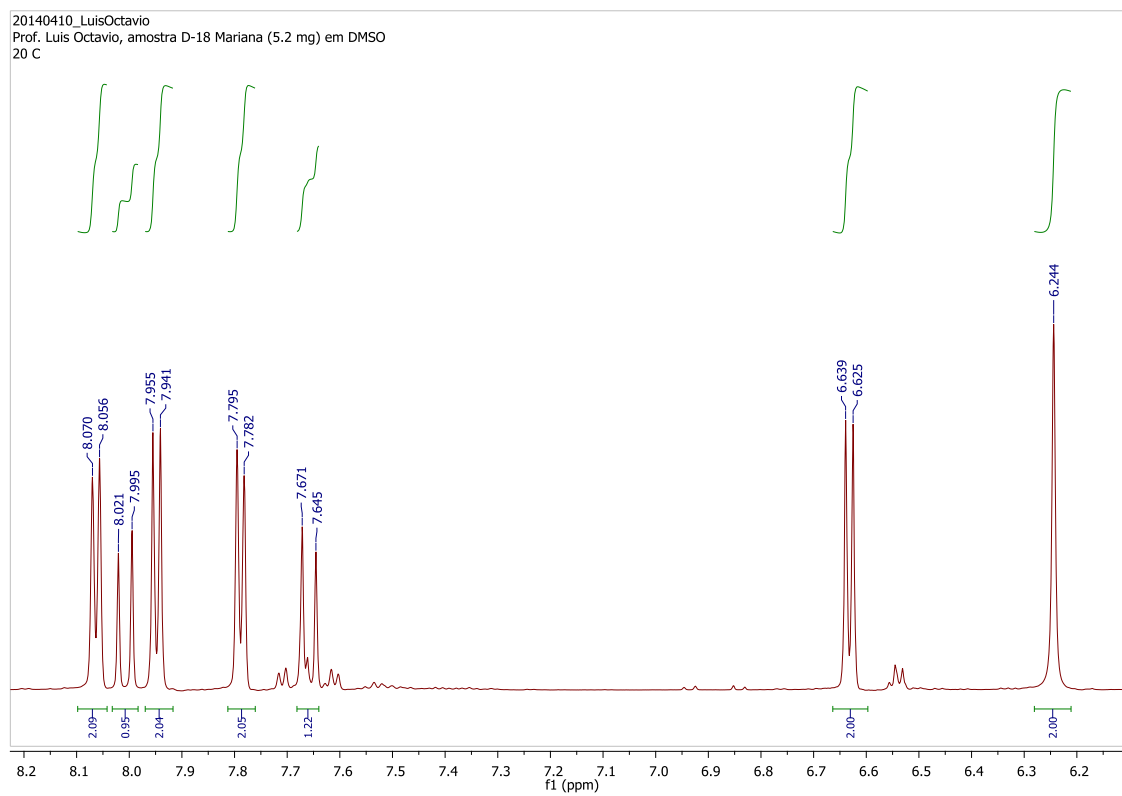
ANEXO 84. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 21** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



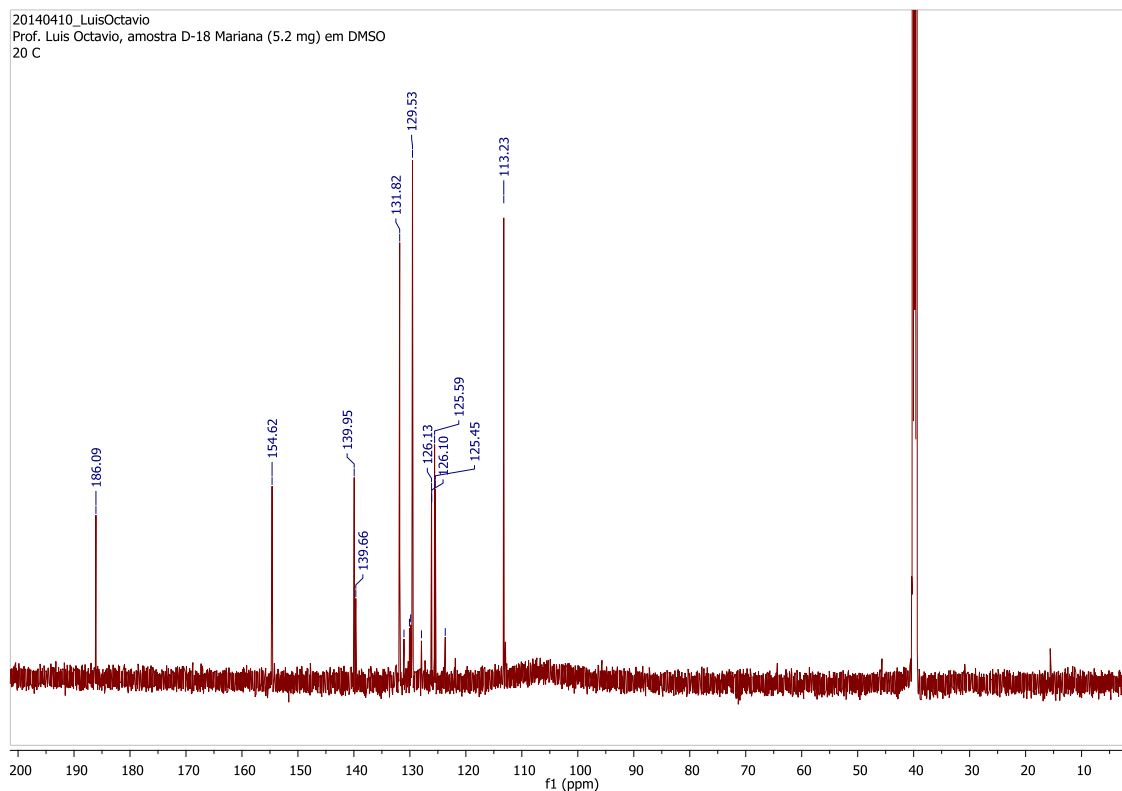
ANEXO 85. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 22** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



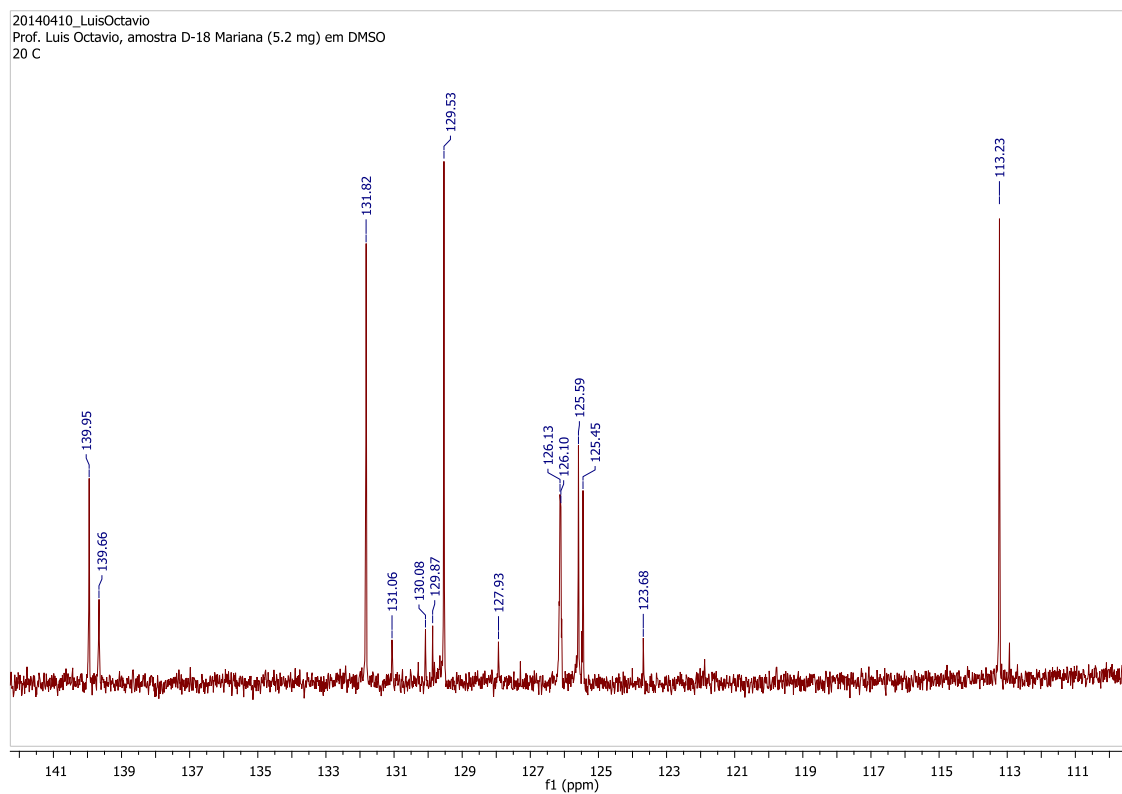
ANEXO 86. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 22** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



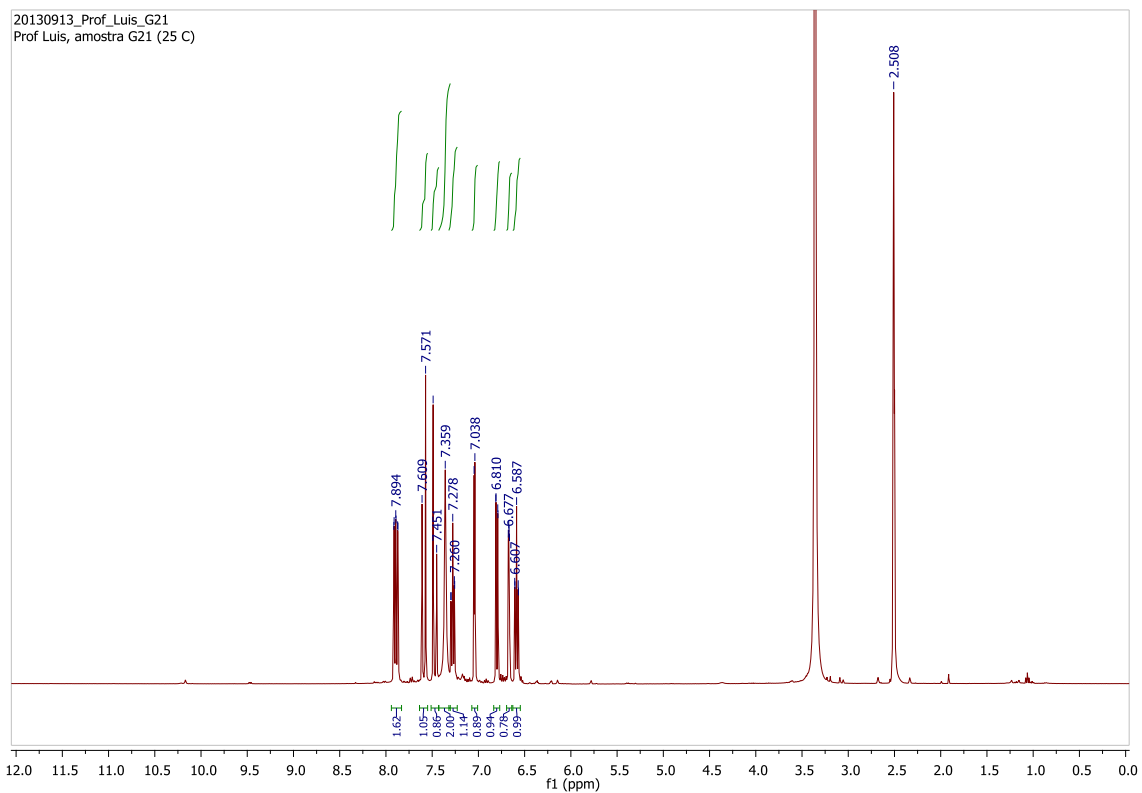
ANEXO 87. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 22** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



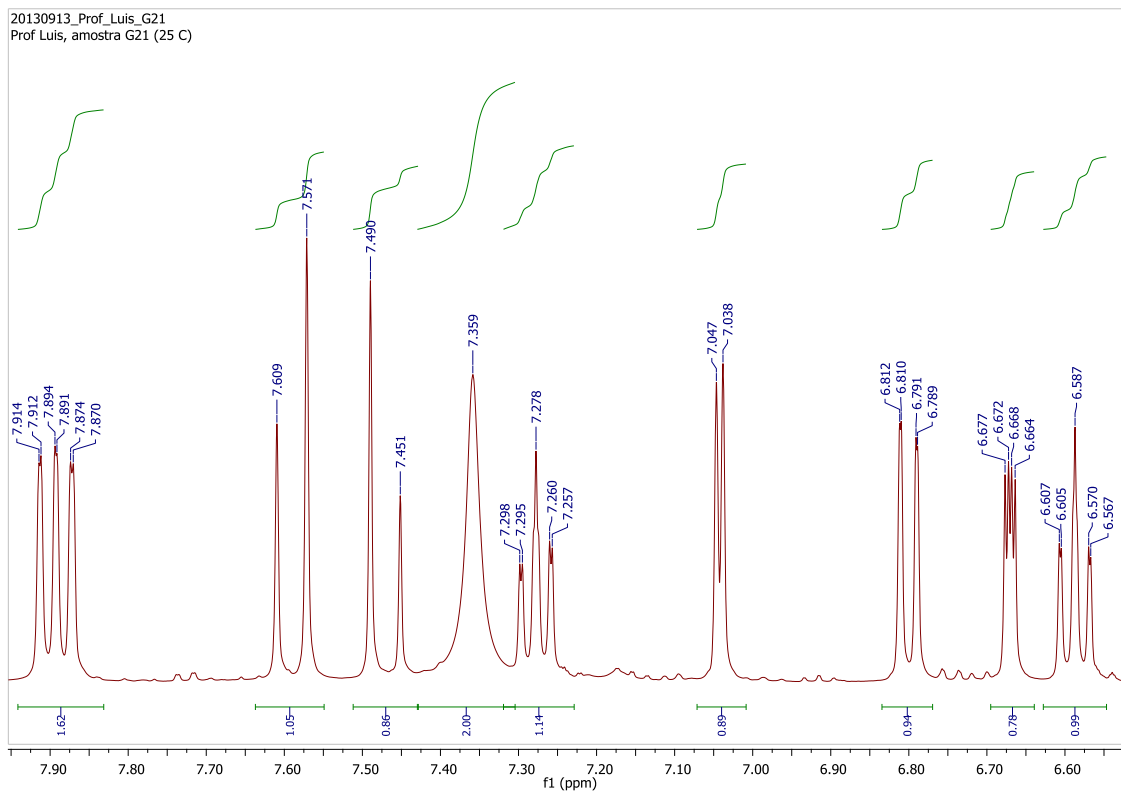
ANEXO 88. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 22** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



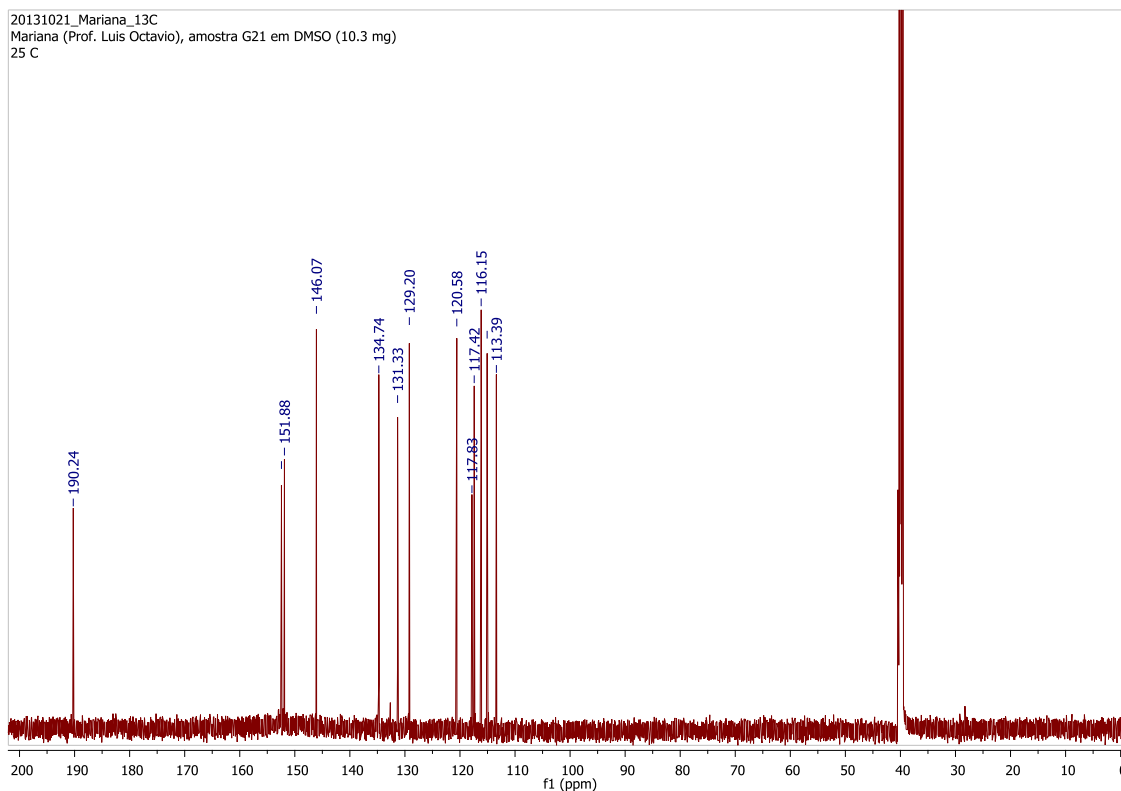
ANEXO 89. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 23** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



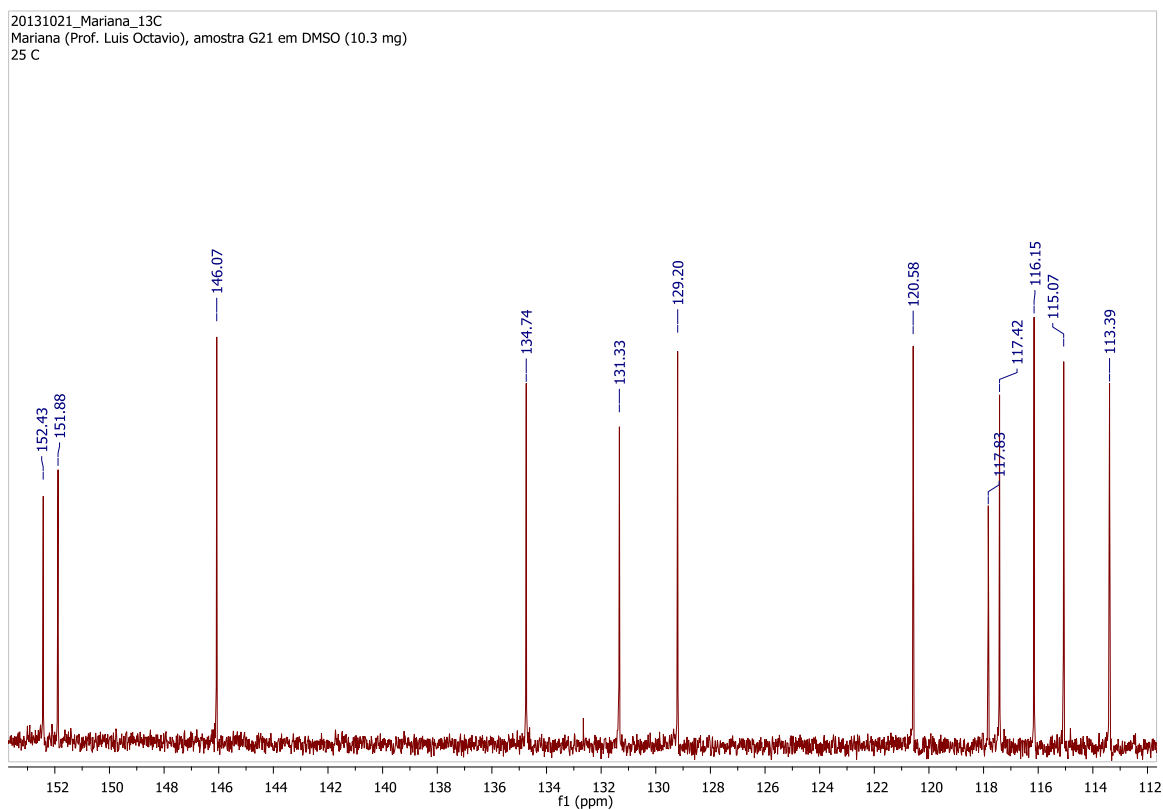
ANEXO 90. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 23** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



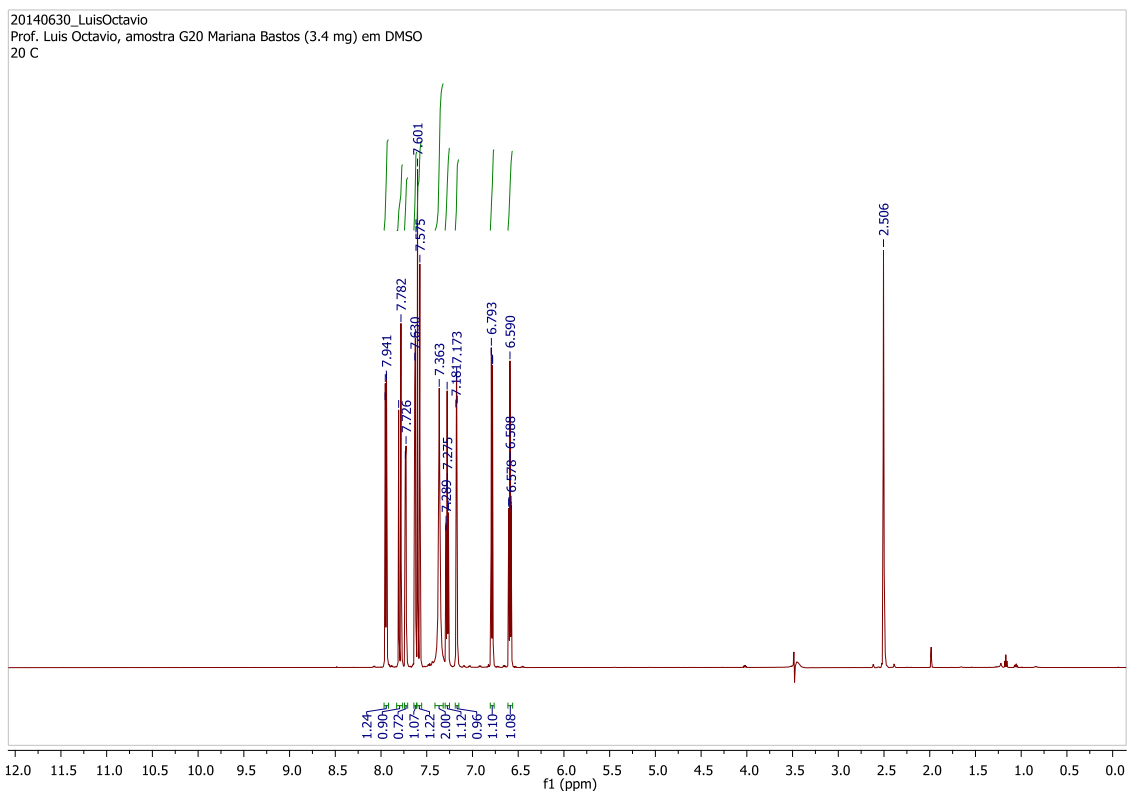
ANEXO 91. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 23** (DMSO- d_6 ; 120 MHz)



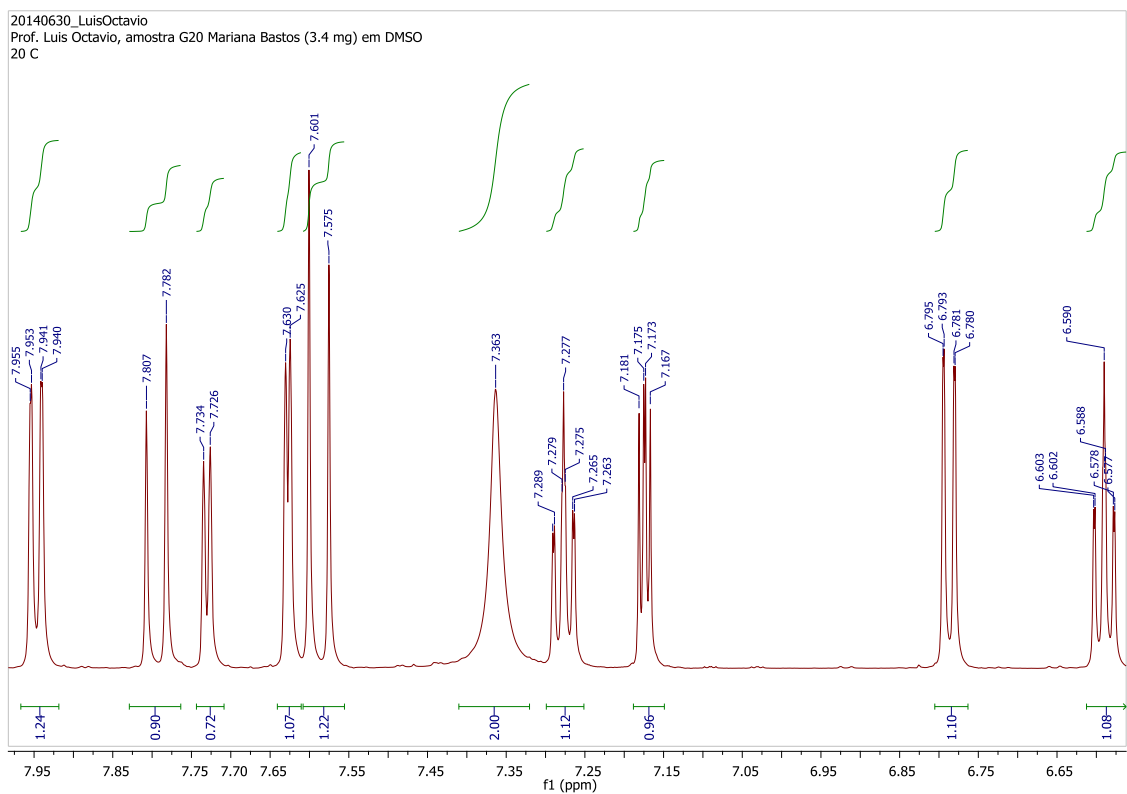
ANEXO 92. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 23** (DMSO- d_6 ; 120 MHz)



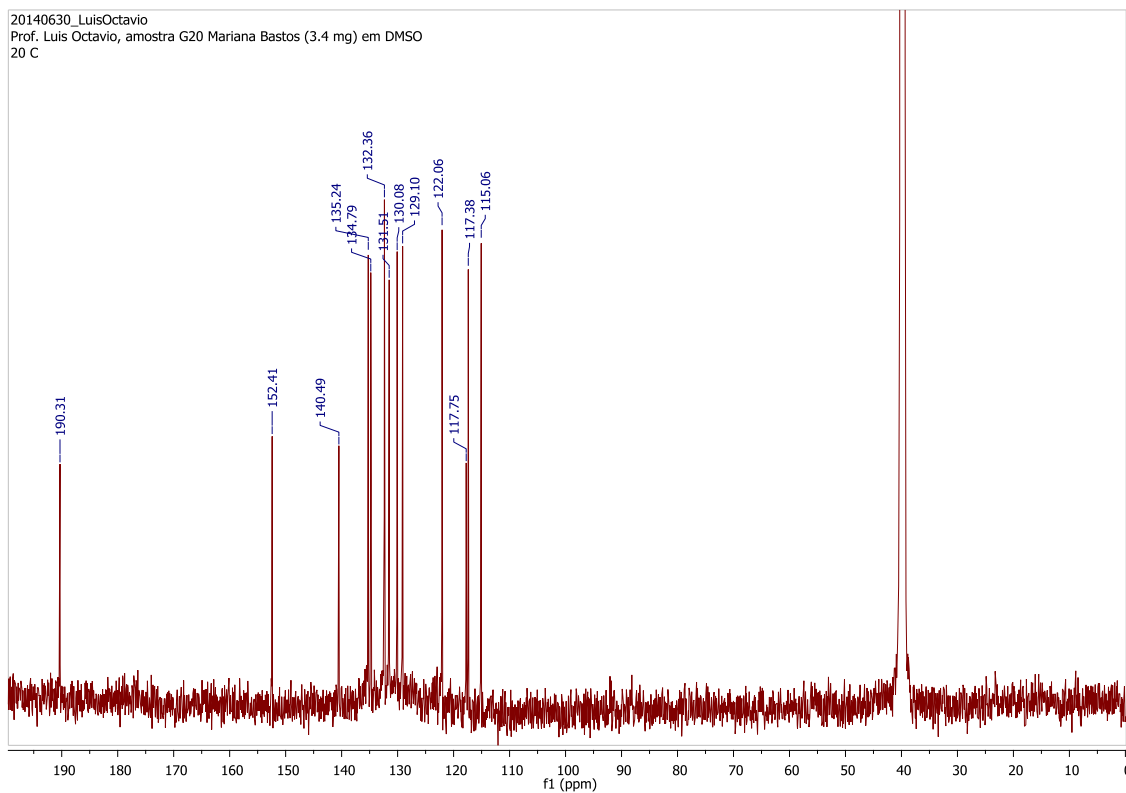
ANEXO 93. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 24** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



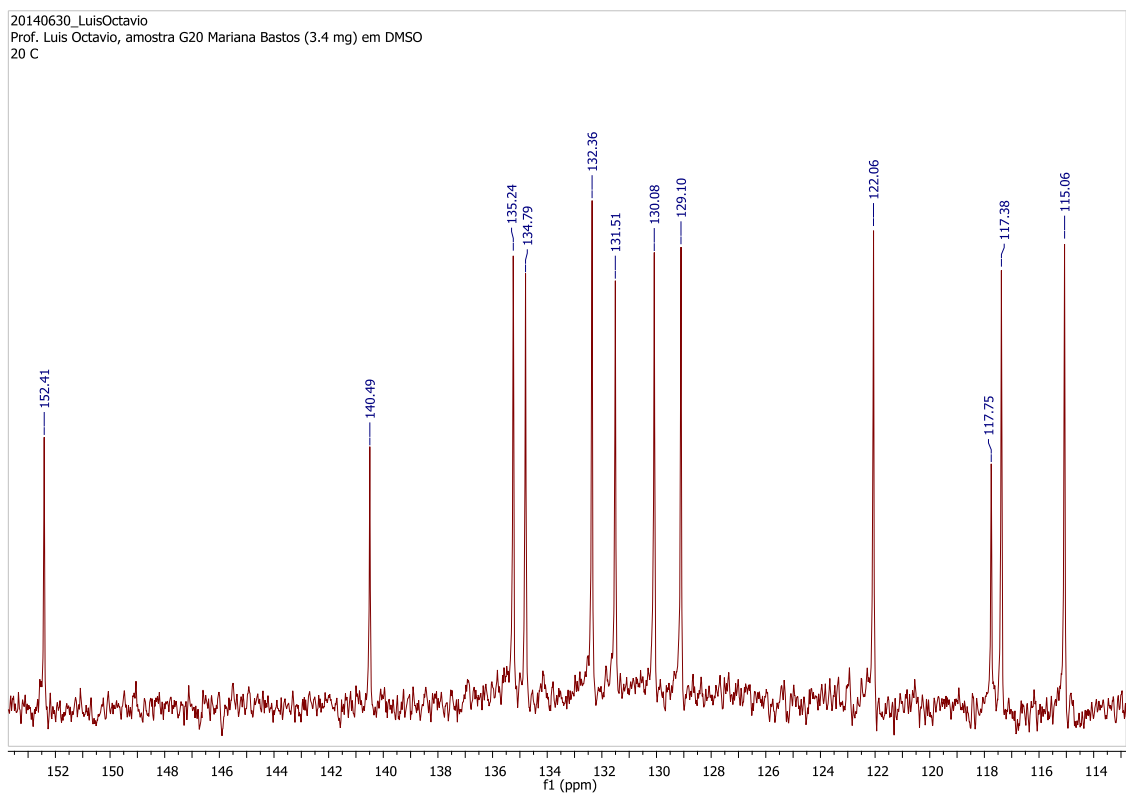
ANEXO 94. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 24** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



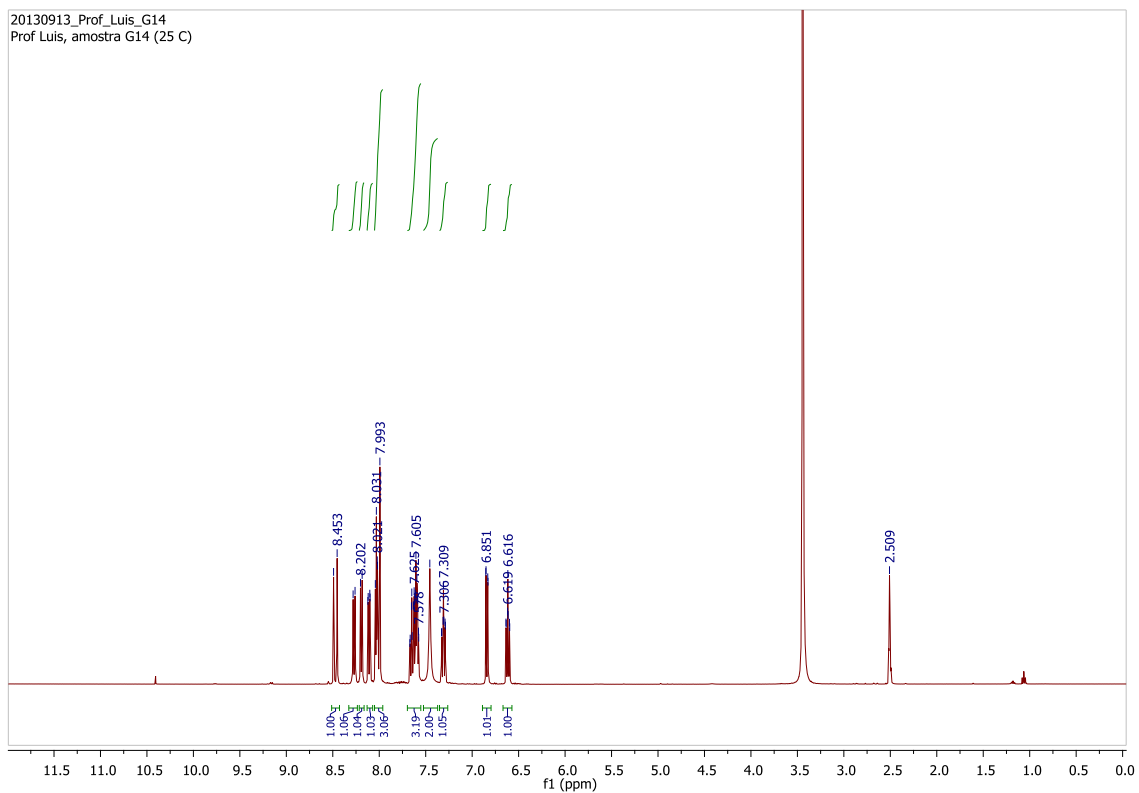
ANEXO 95. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 24** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



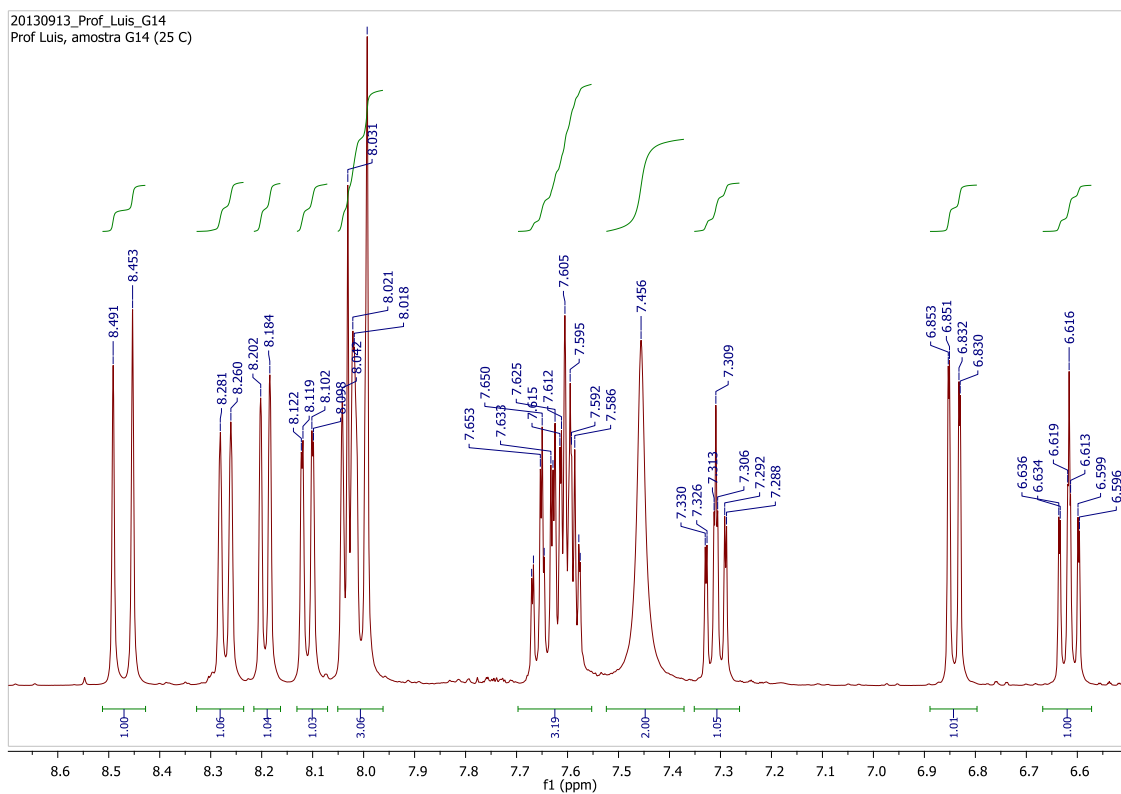
ANEXO 96. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 24** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



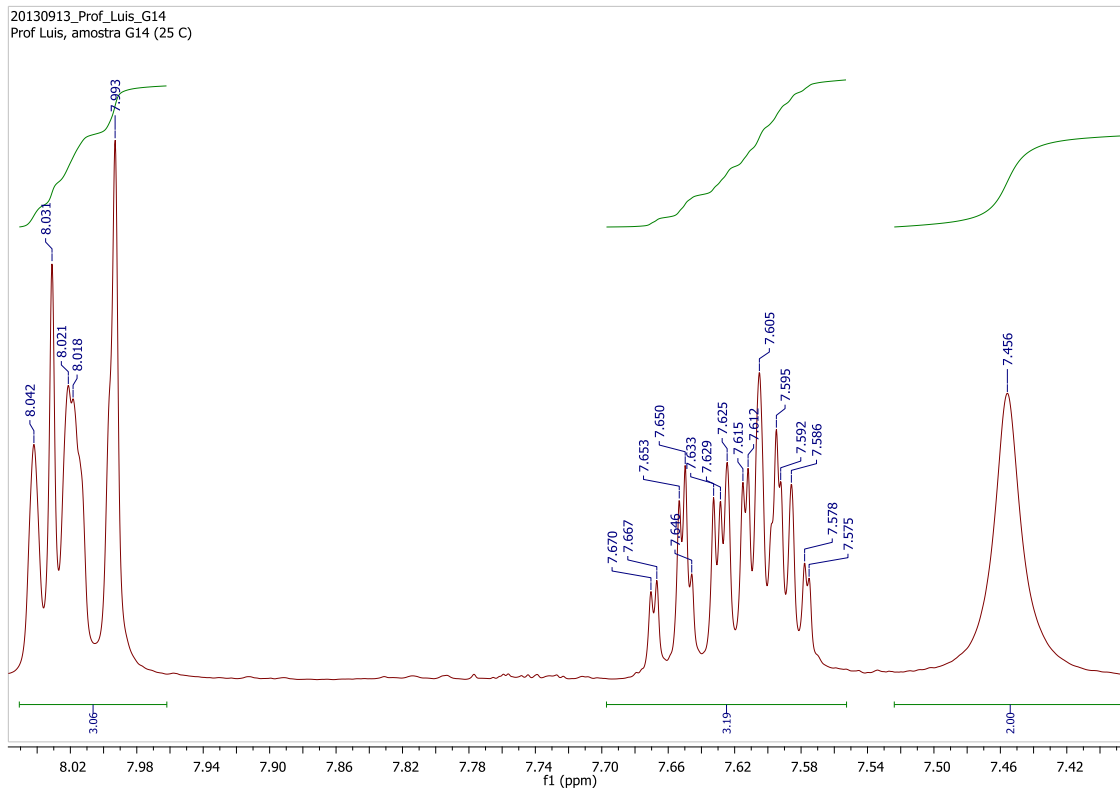
ANEXO 97. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 25** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



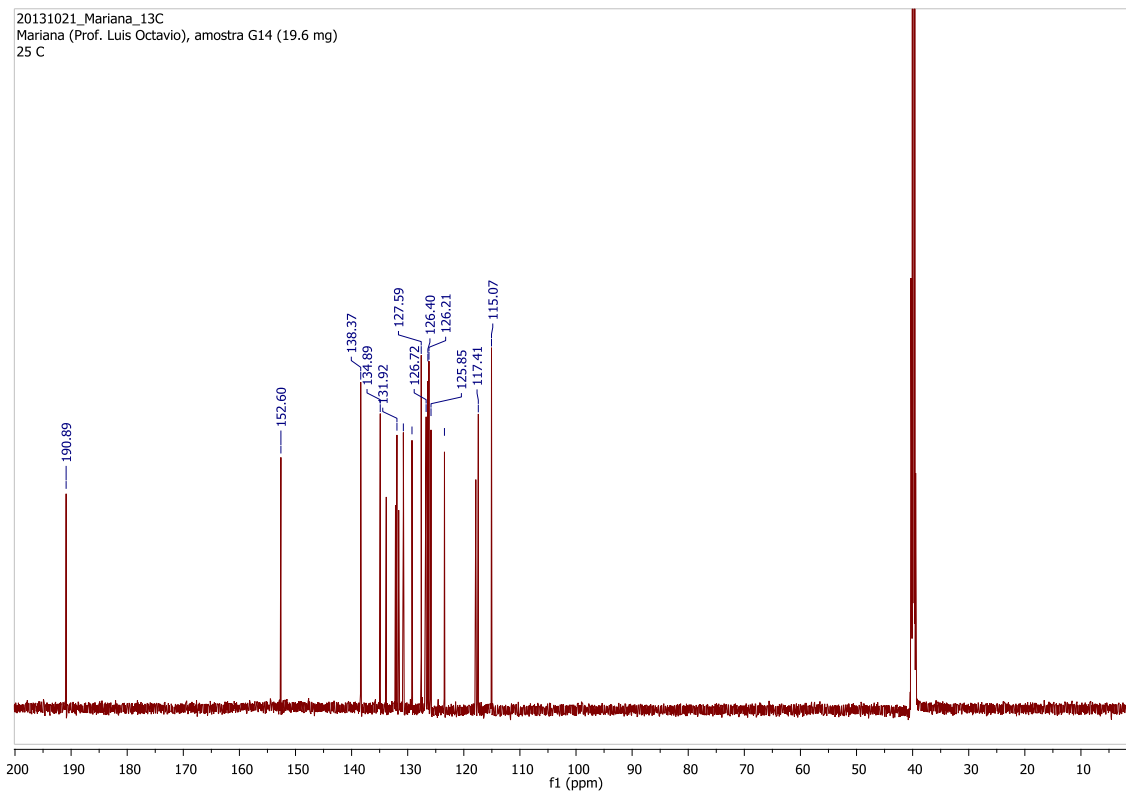
ANEXO 98. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 25** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



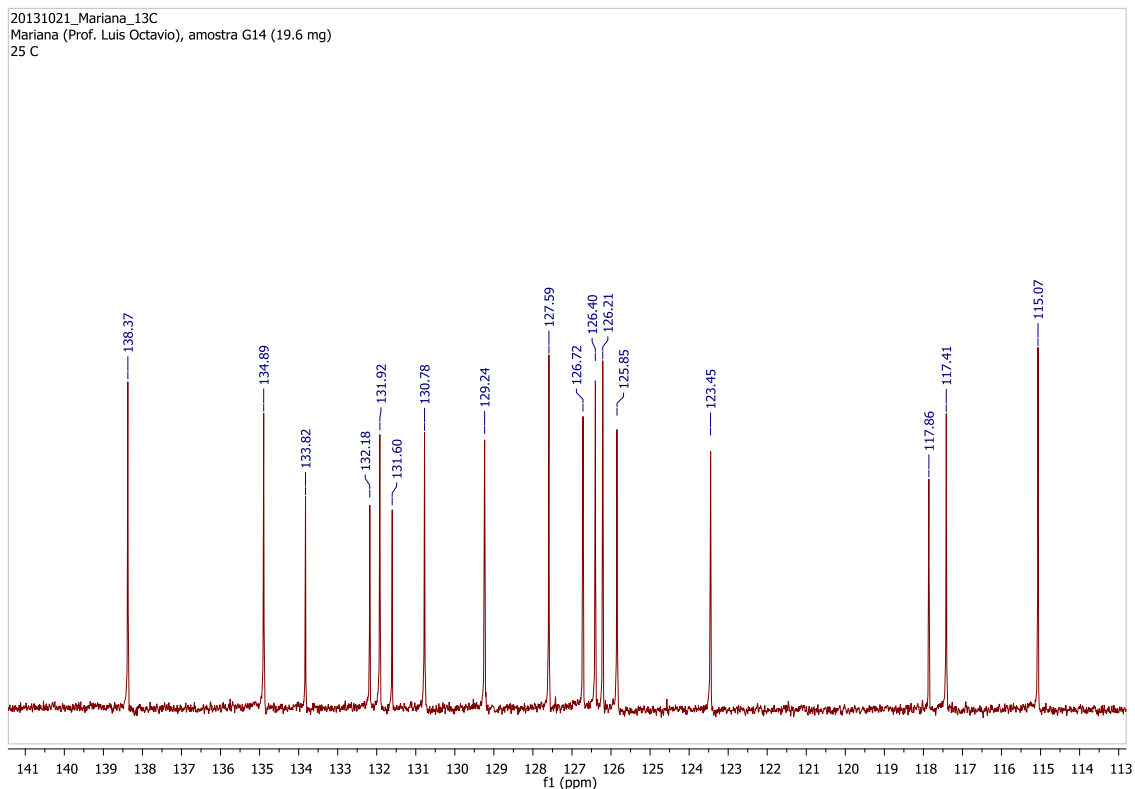
ANEXO 99. Ampliação da região de 7,4 a 8,1 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 25** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



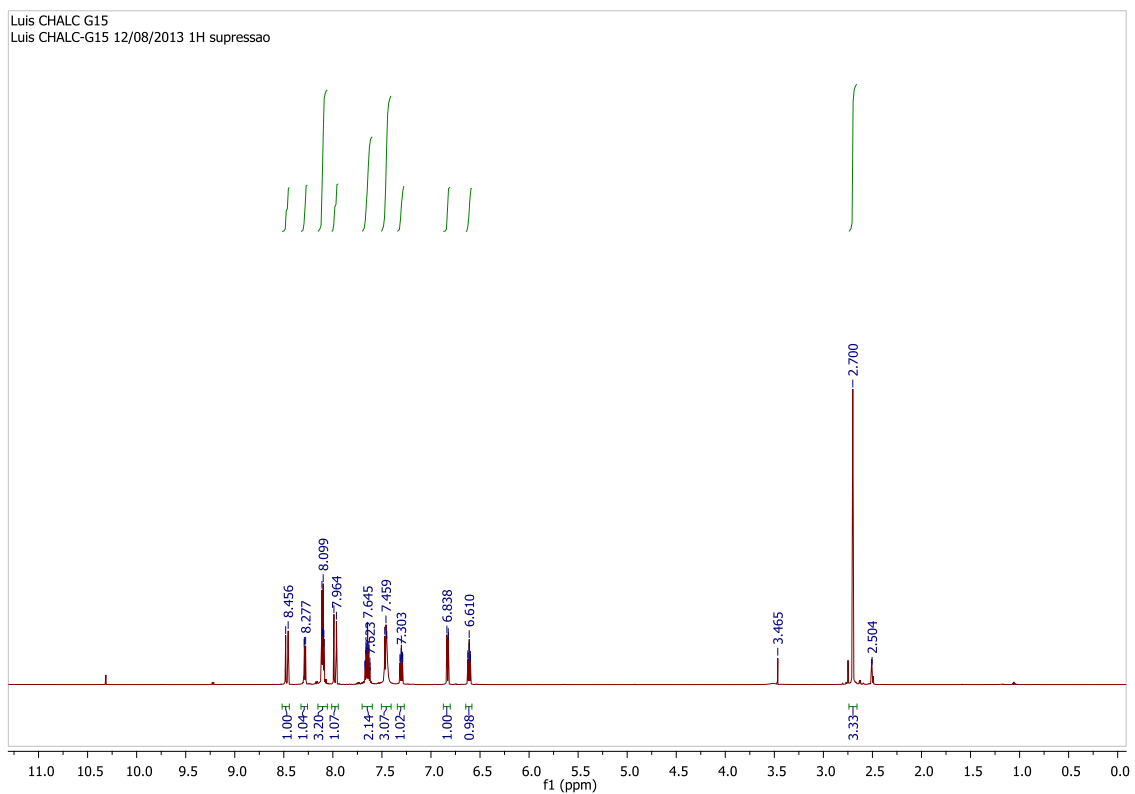
ANEXO 100. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 25** (DMSO- d_6 ; 120 MHz)



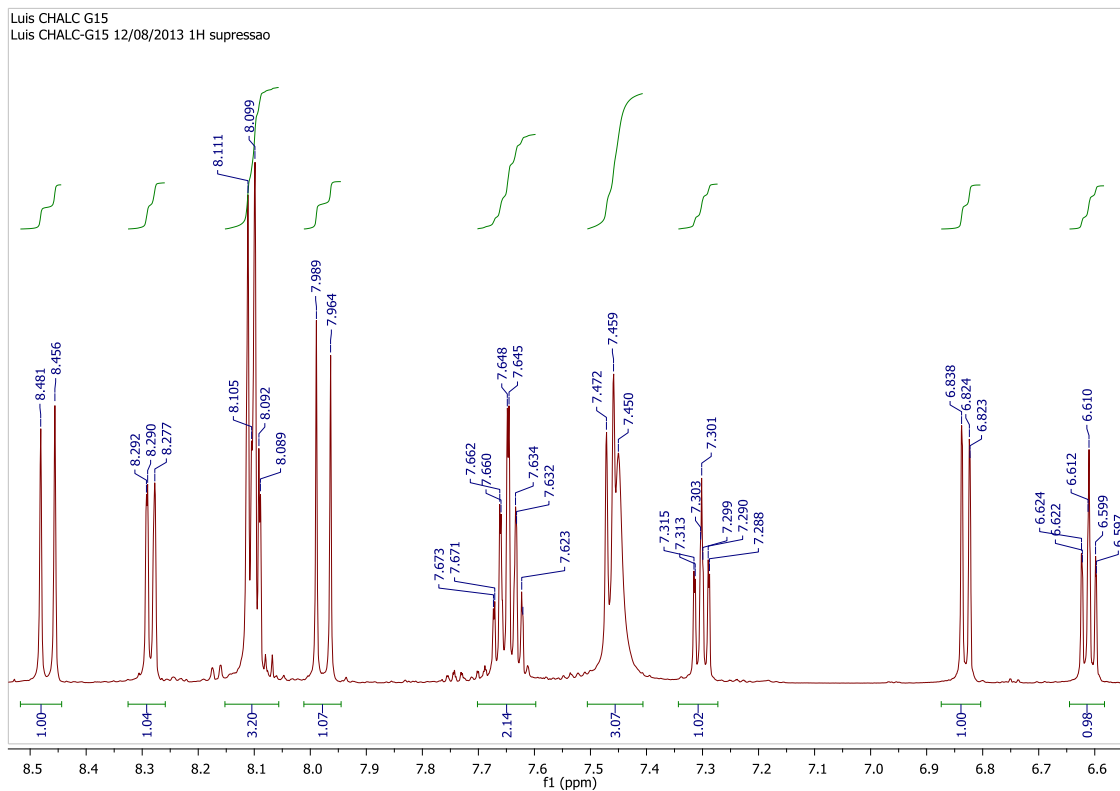
ANEXO 101. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 25** (DMSO- d_6 ; 120 MHz)



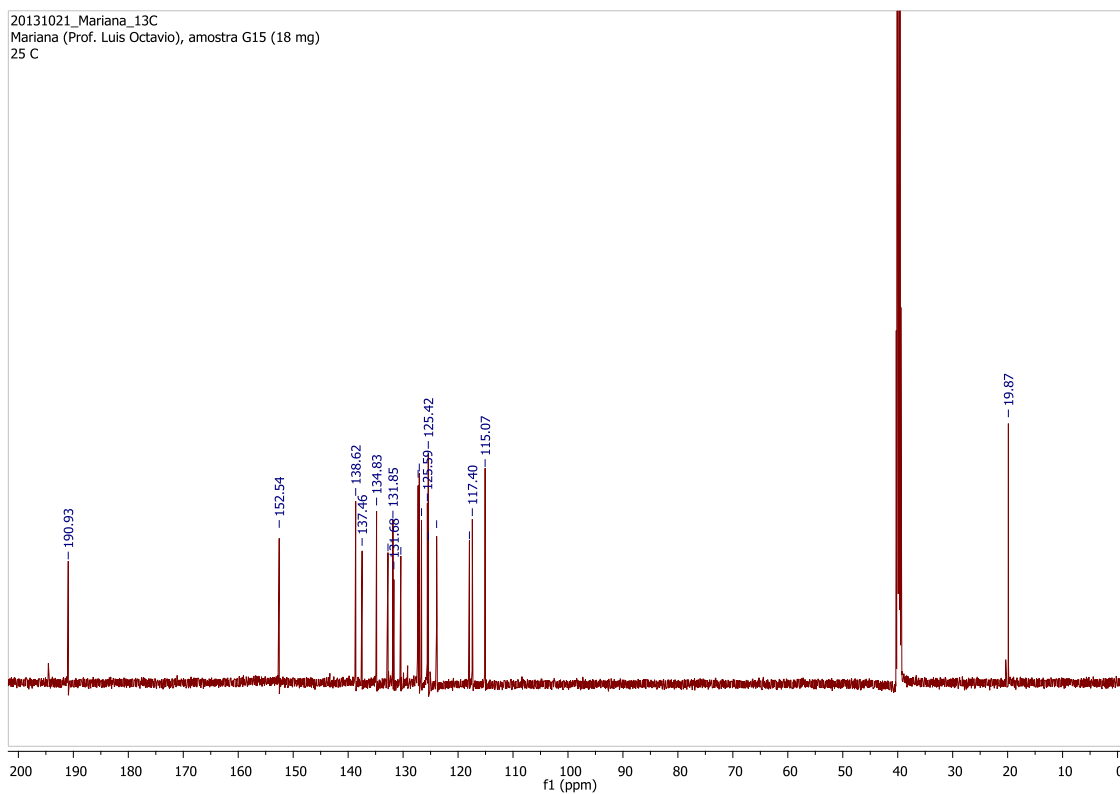
ANEXO 102. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 26** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



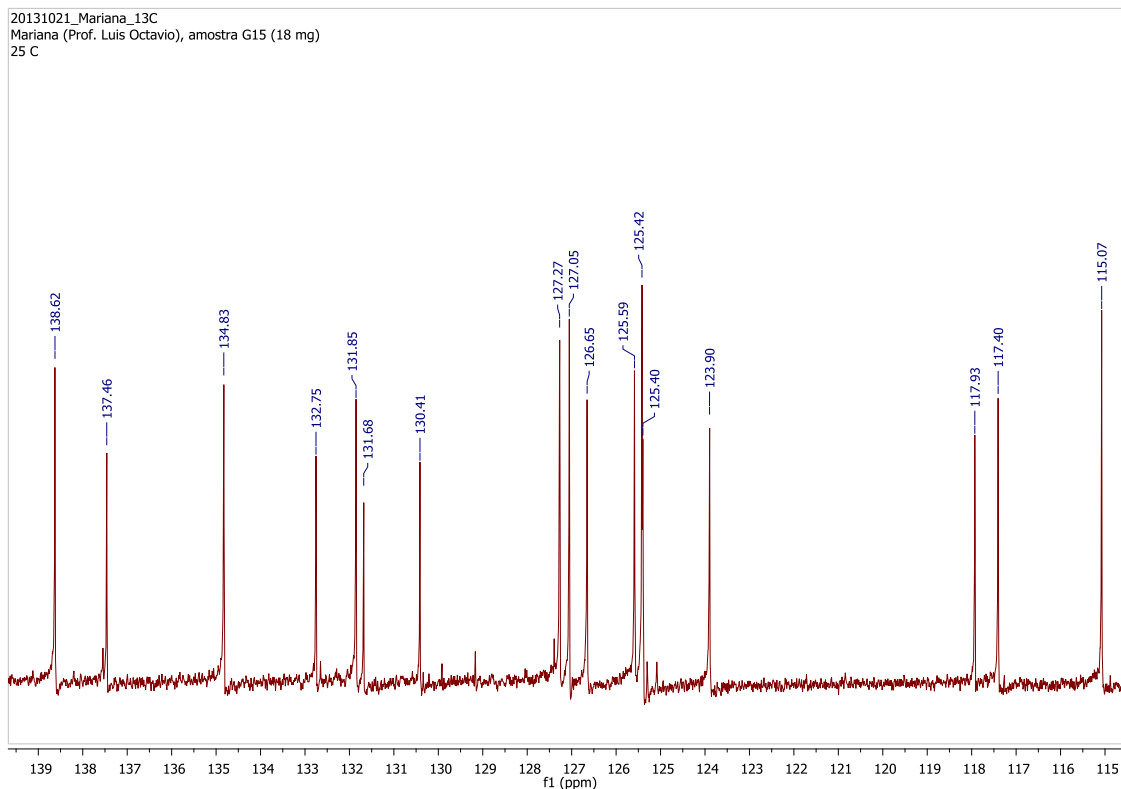
ANEXO 103. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 26** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)



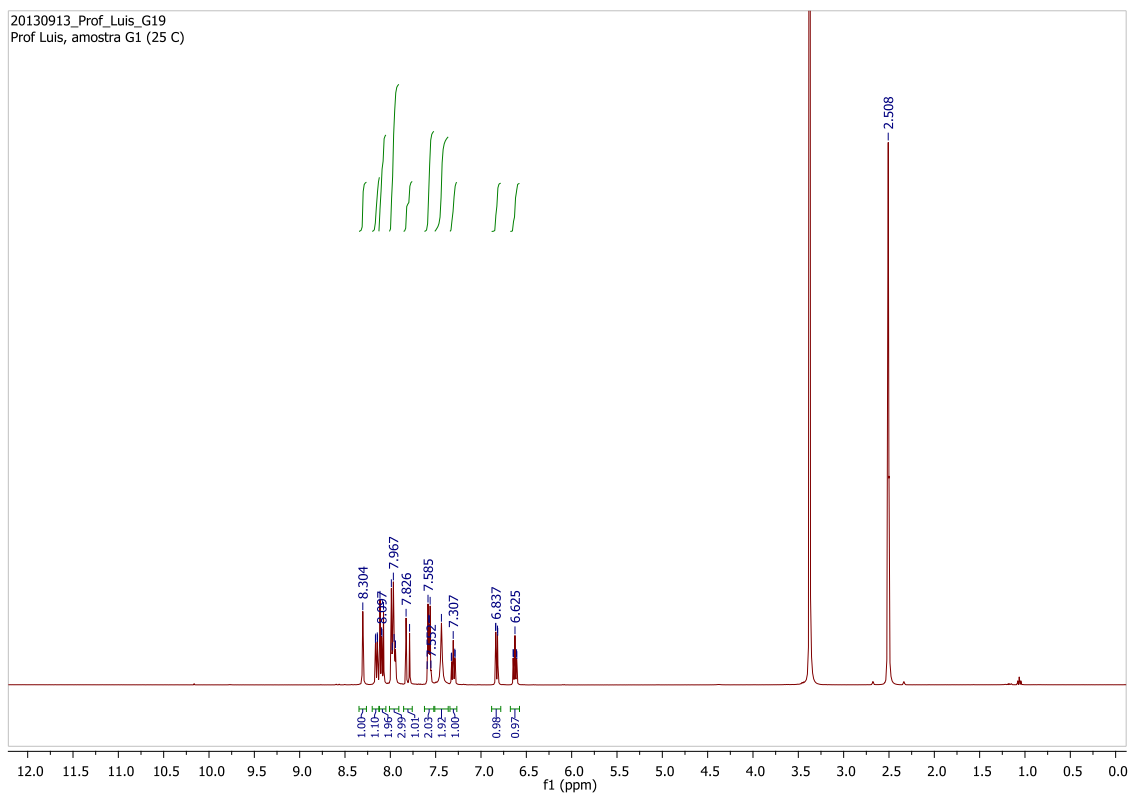
ANEXO 104. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 26** ($\text{DMSO-}d_6$; 120 MHz)



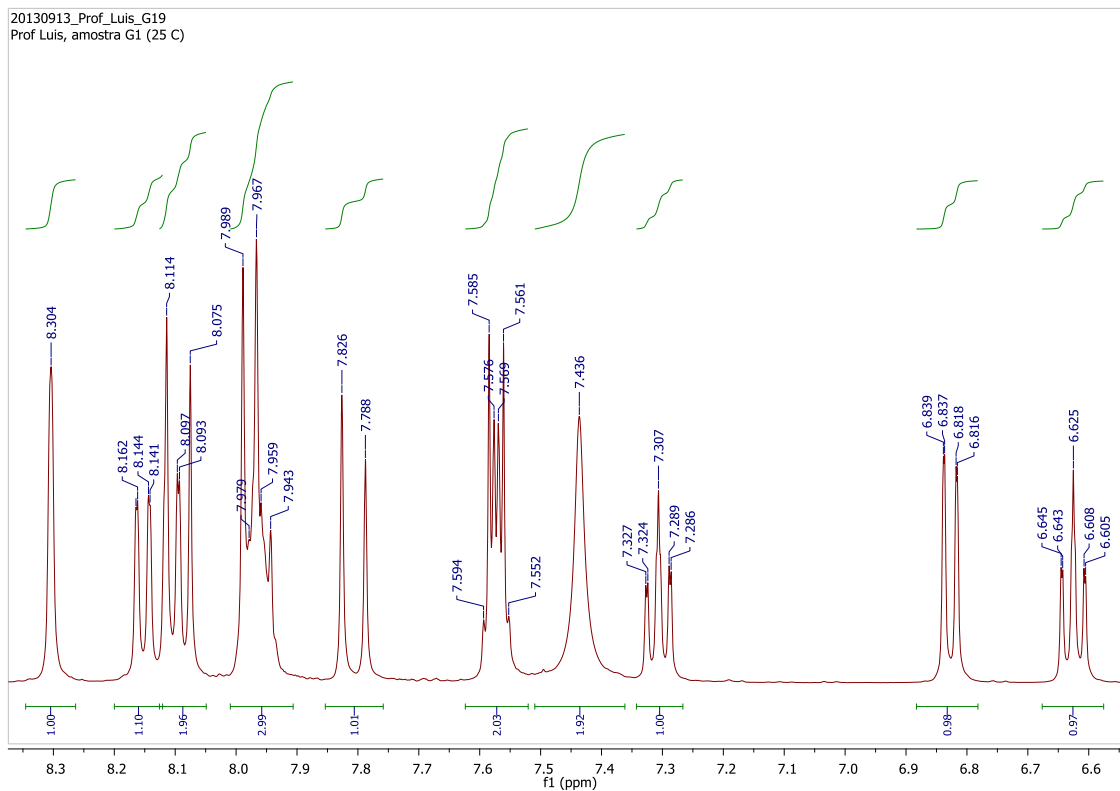
ANEXO 105. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 26** ($\text{DMSO-}d_6$; 120 MHz)



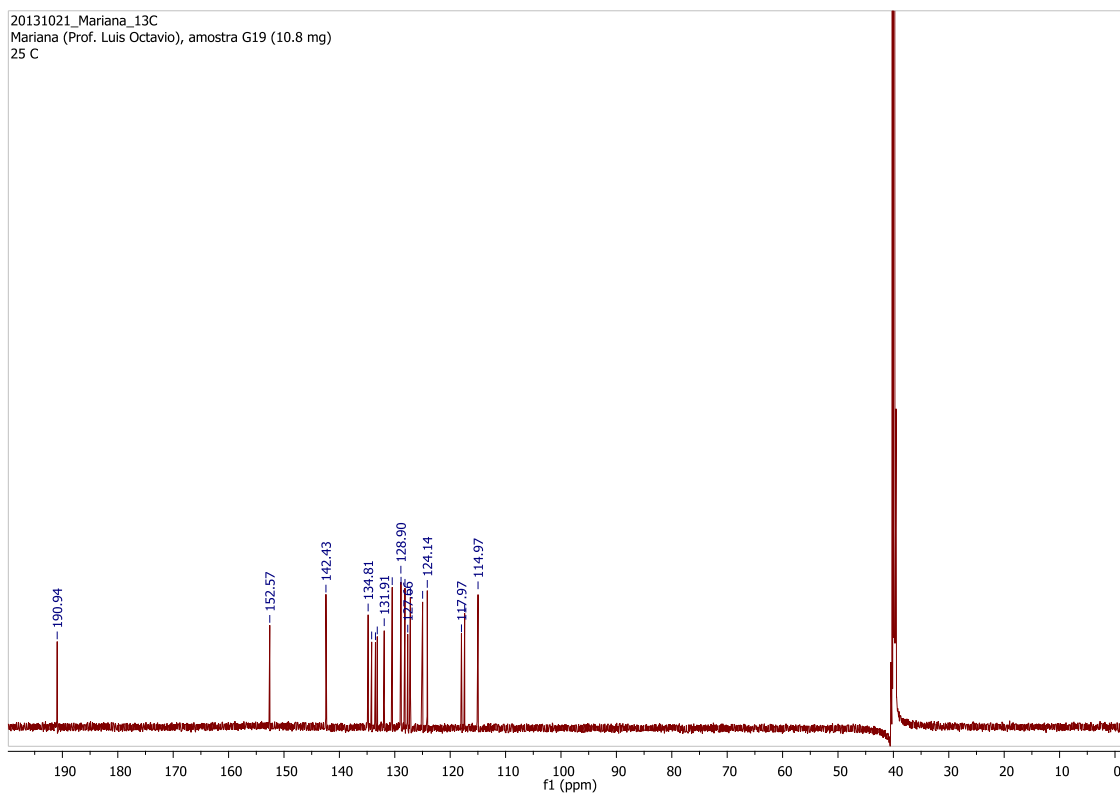
ANEXO 106. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 27** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)



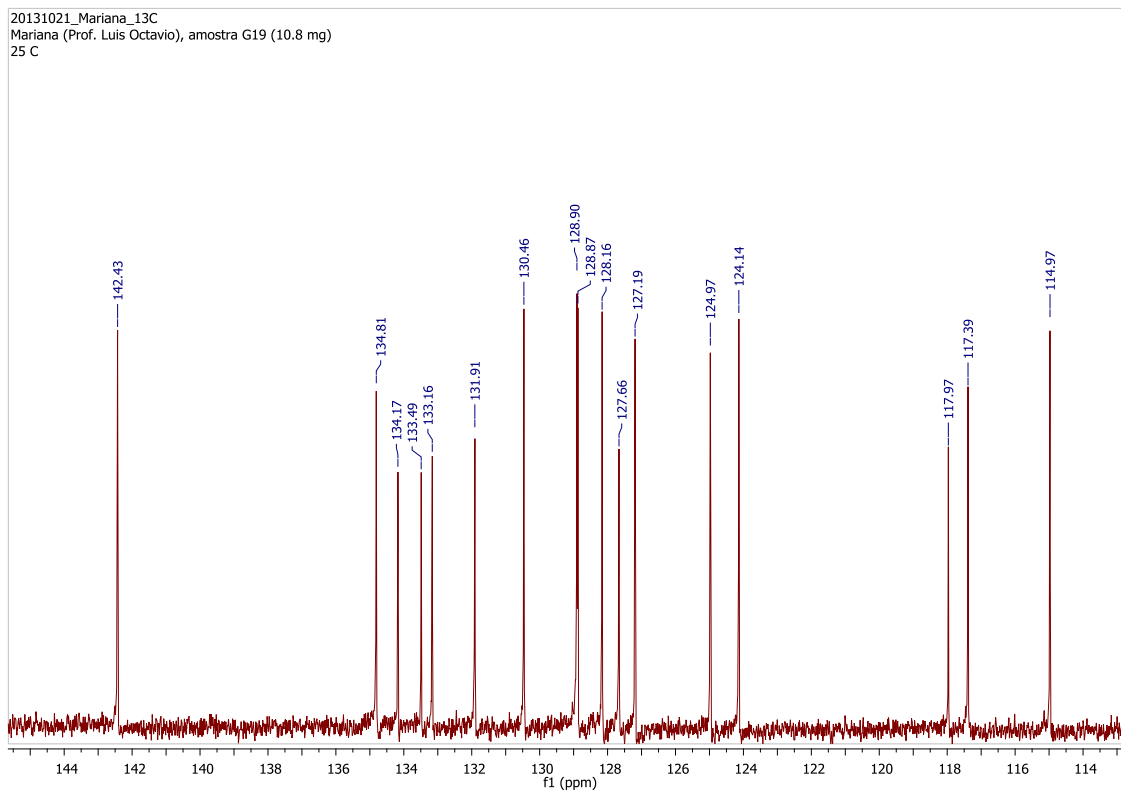
ANEXO 107. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 27** ($\text{DMSO-}d_6$; 400 MHz)



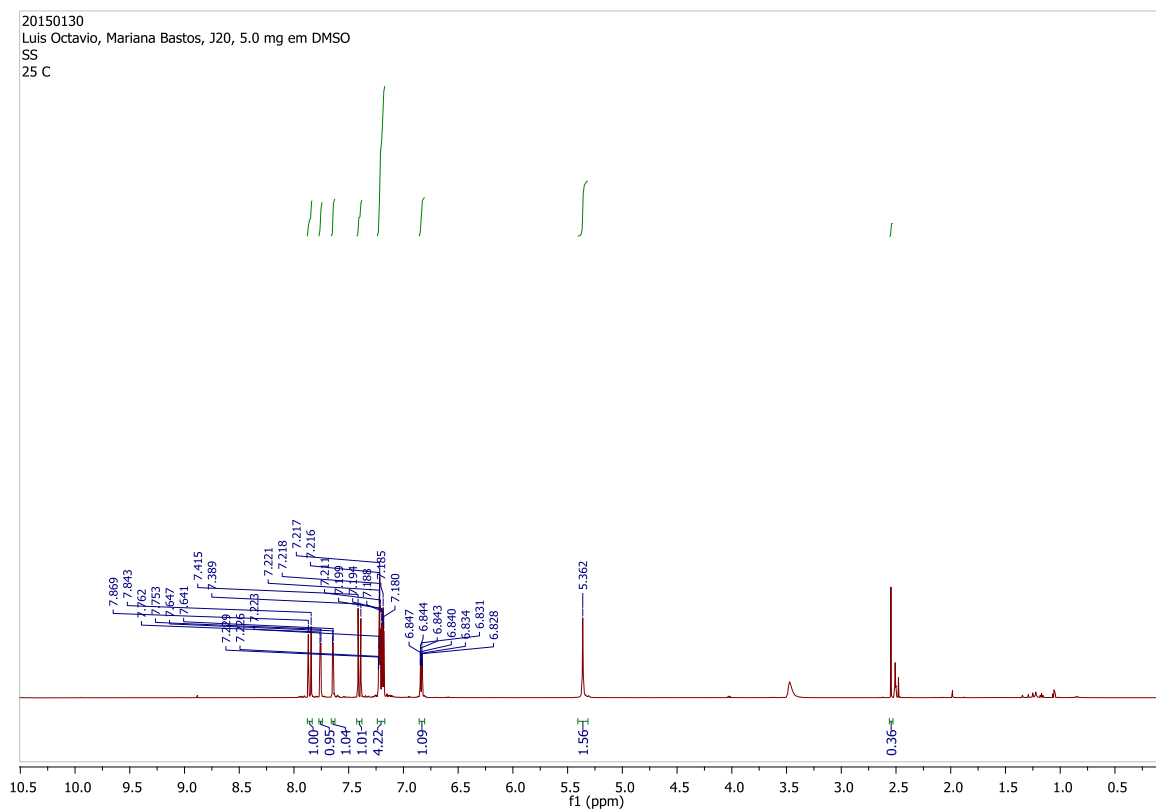
ANEXO 108. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 27** ($\text{DMSO-}d_6$; 120 MHz)



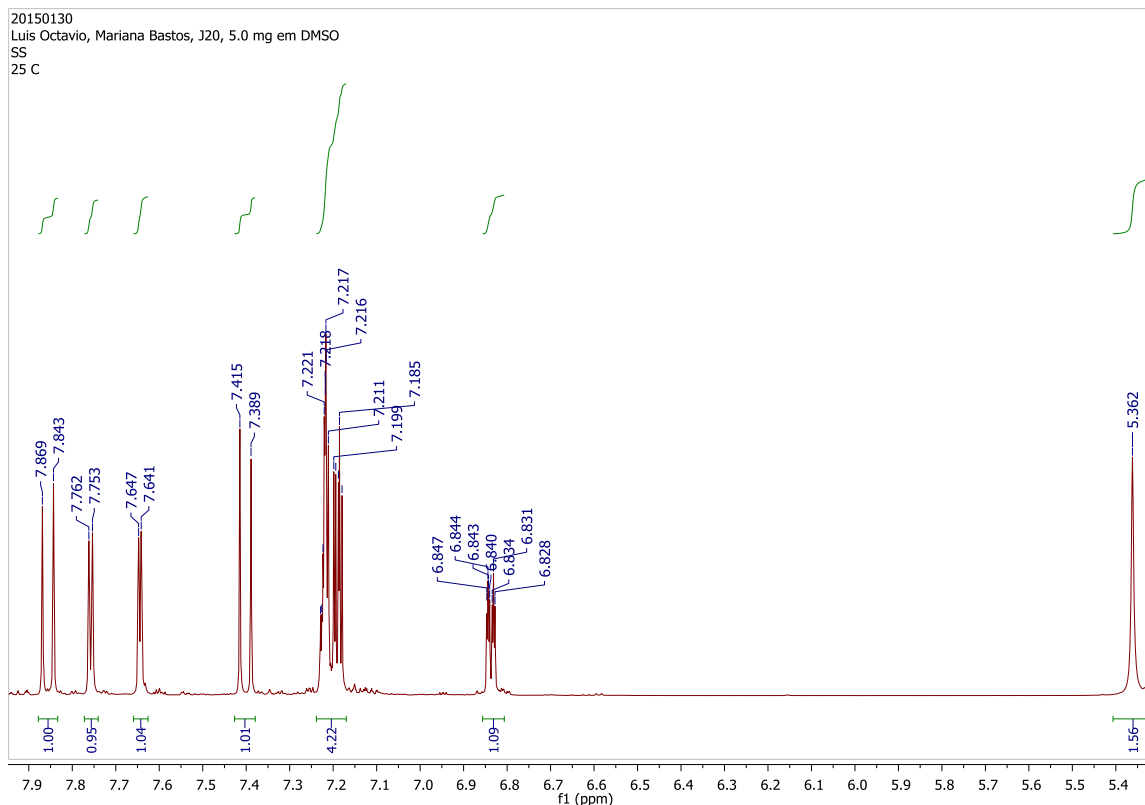
ANEXO 109. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 27** (DMSO- d_6 ; 120 MHz)



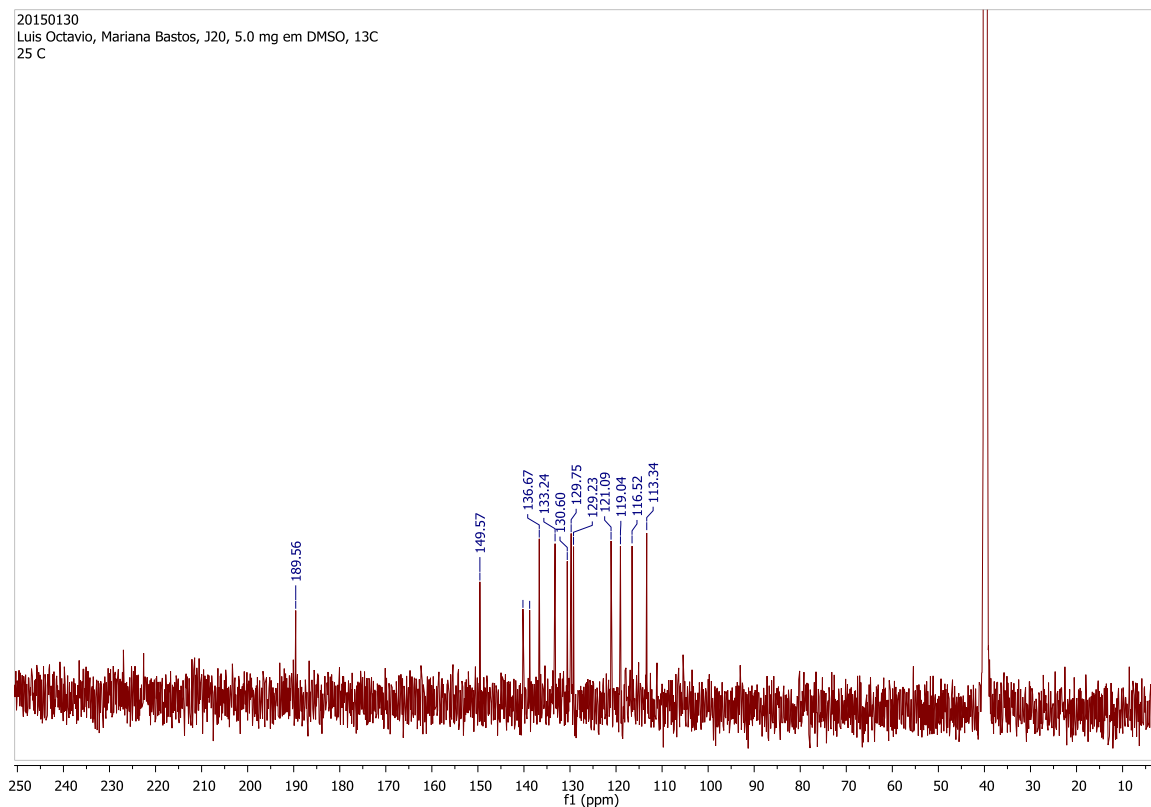
ANEXO 110. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 28** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



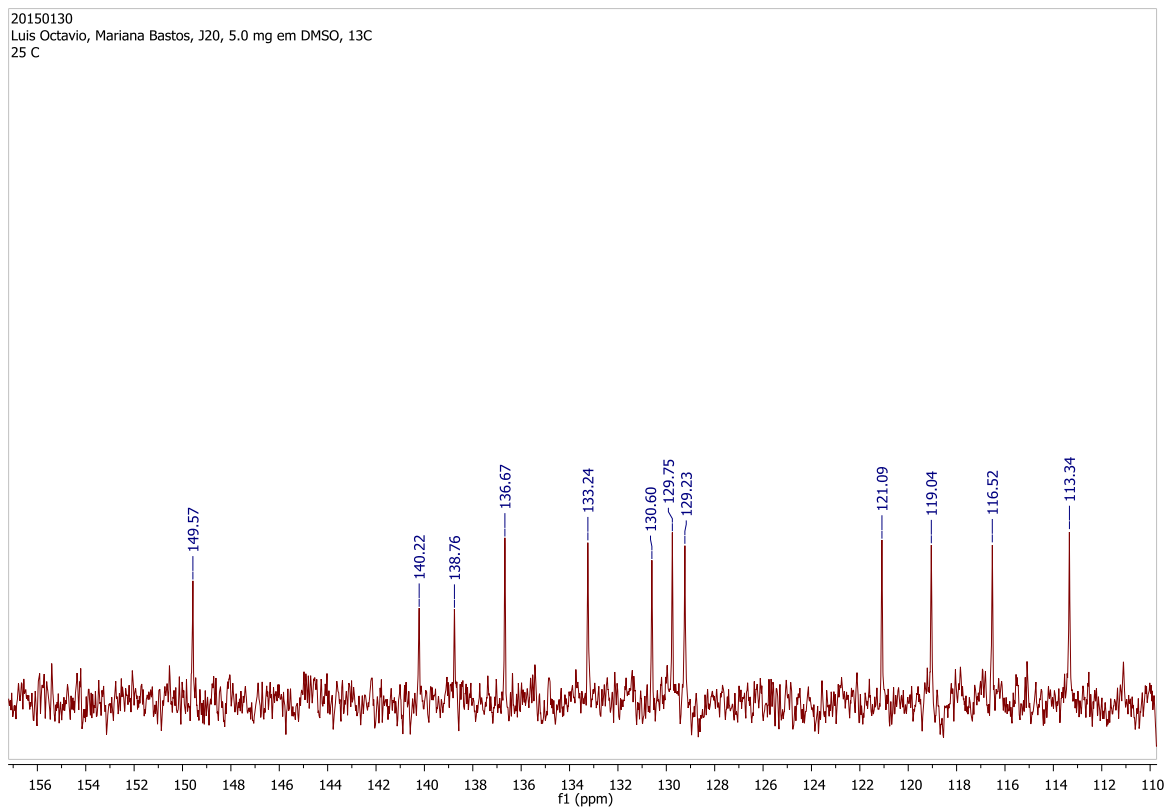
ANEXO 111. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 28** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



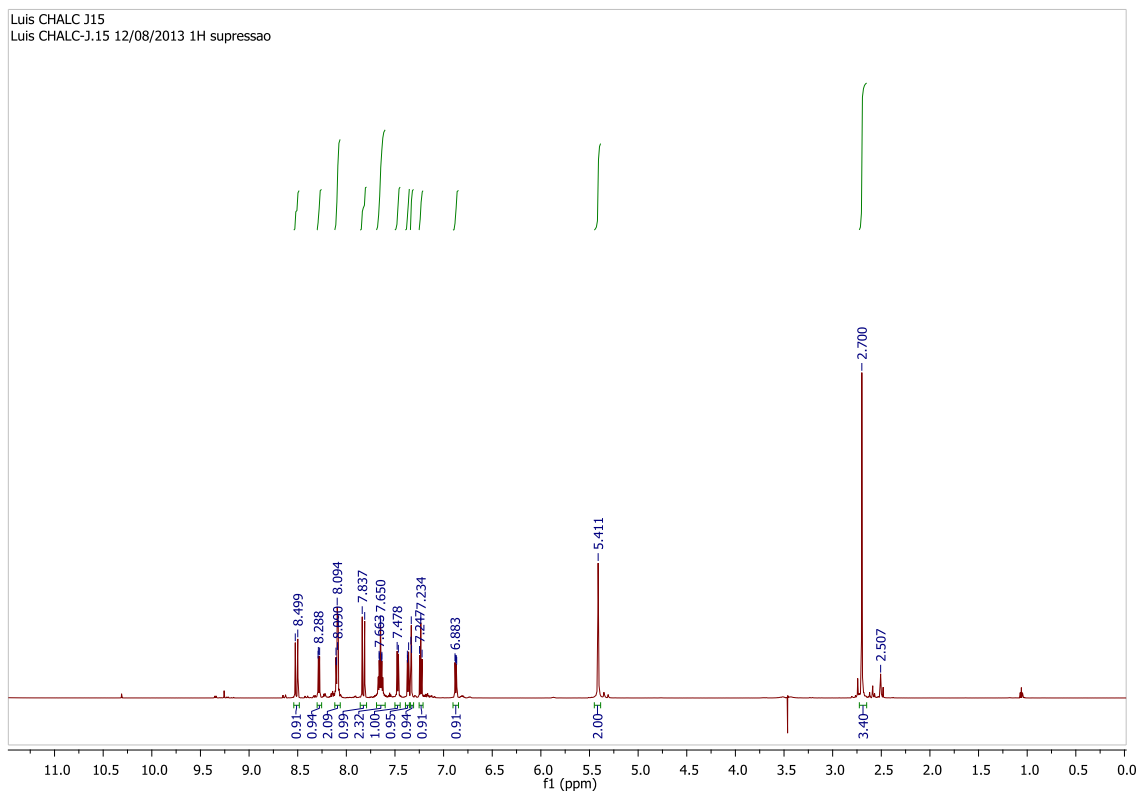
ANEXO 112. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 28** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



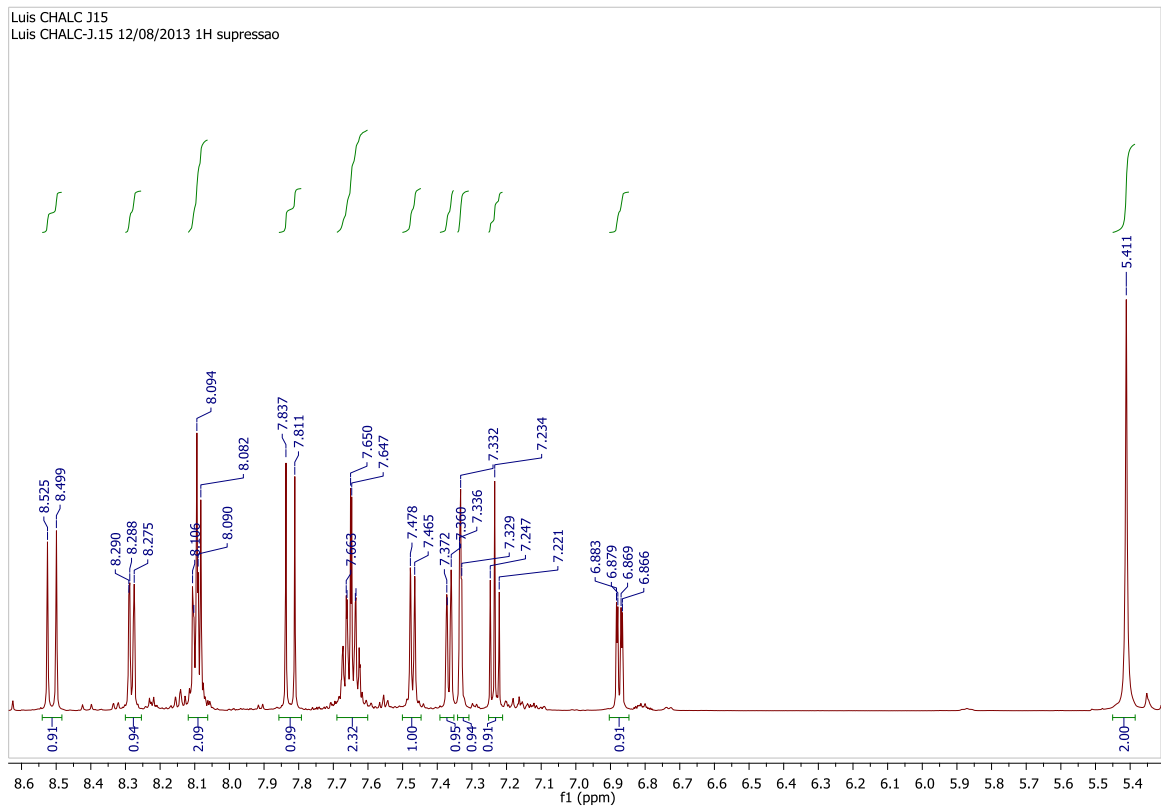
ANEXO 113. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 28** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



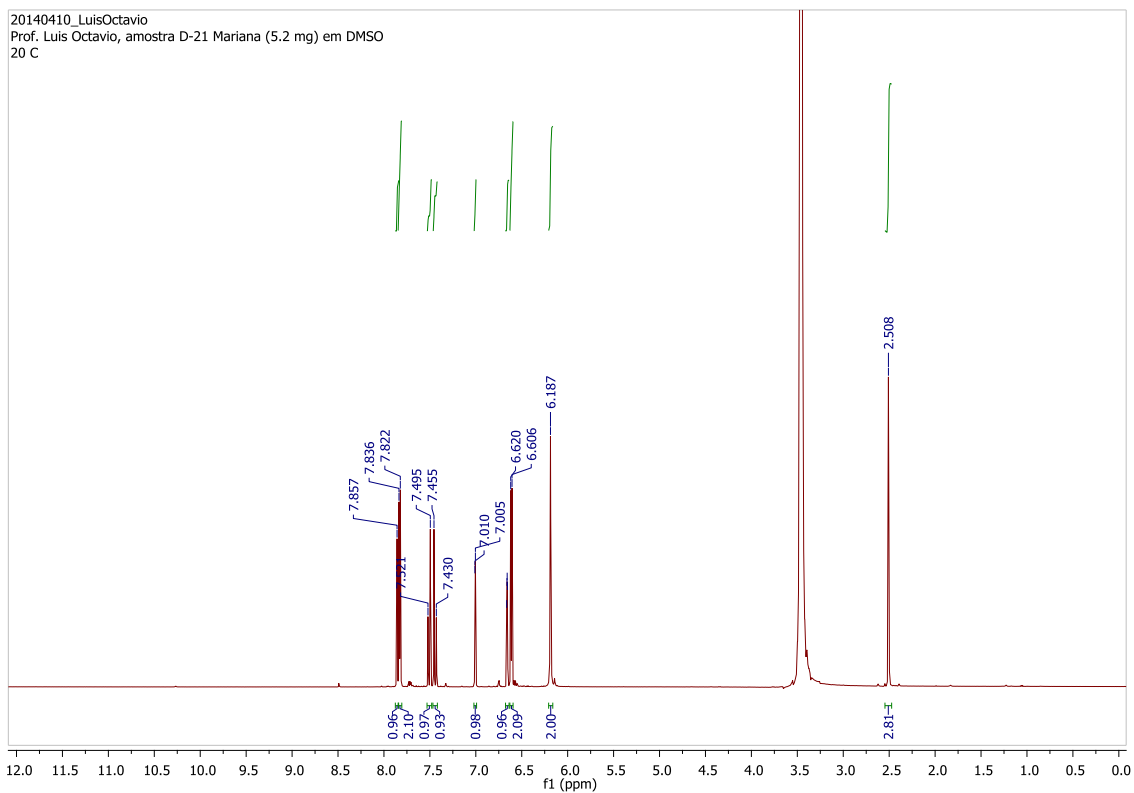
ANEXO 114. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 29** (DMSO- d_6 ; 400 MHz)



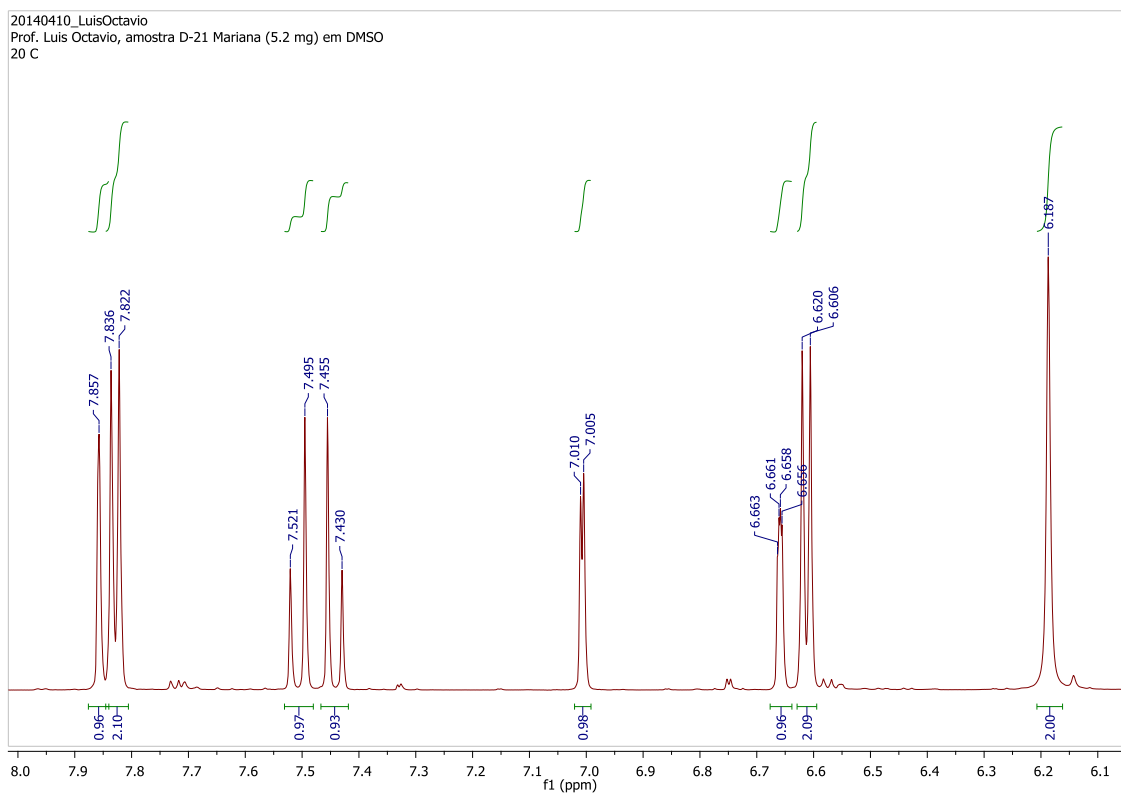
ANEXO 115. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 29** ($\text{DMSO-}d_6$; 600MHz)



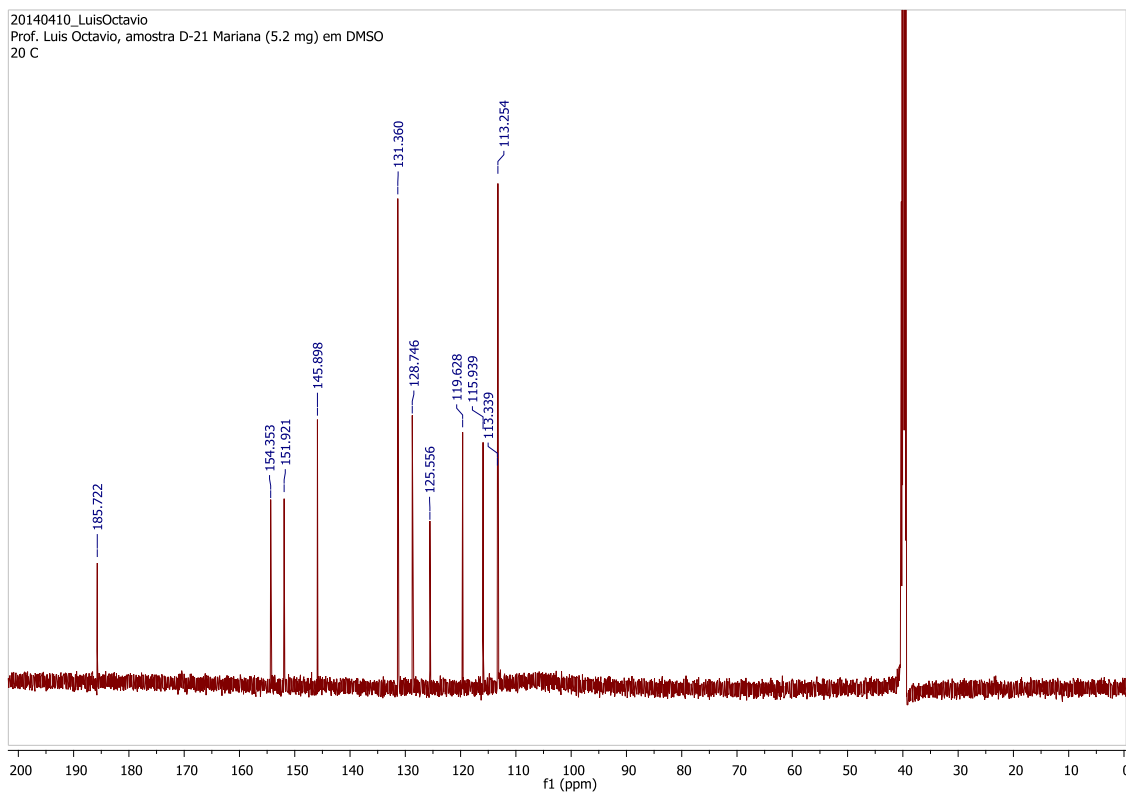
ANEXO 116. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 30** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



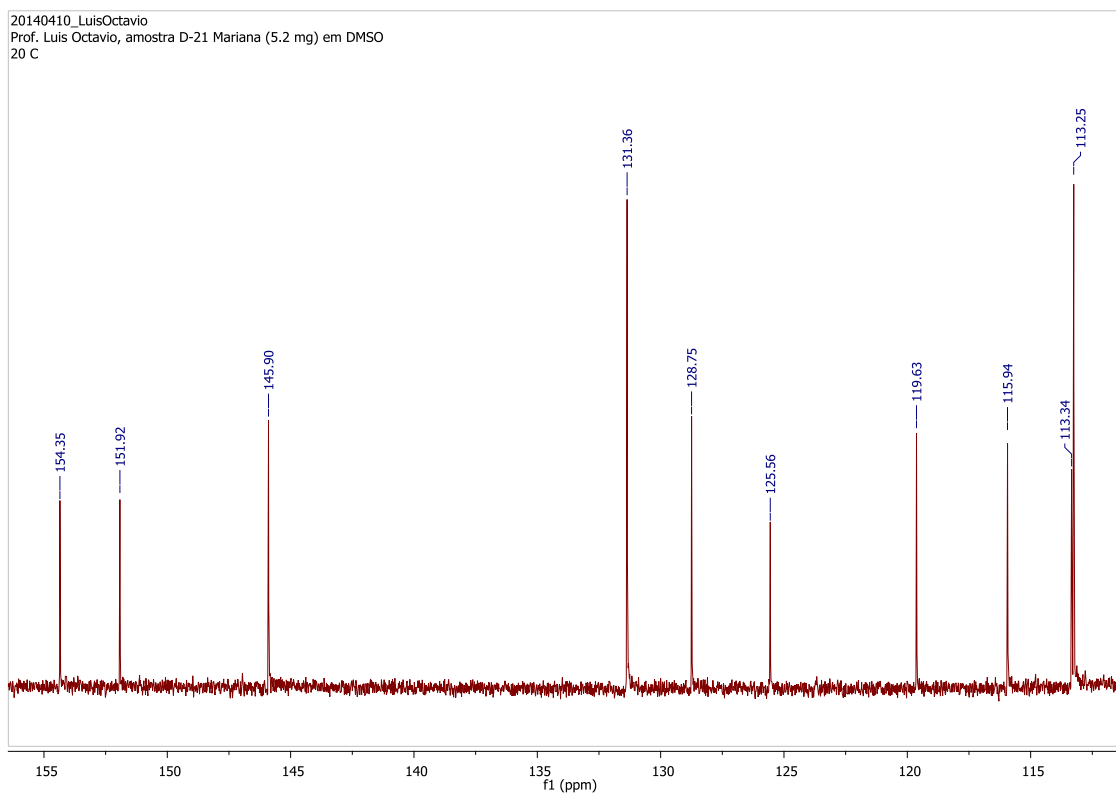
ANEXO 117. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 30** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



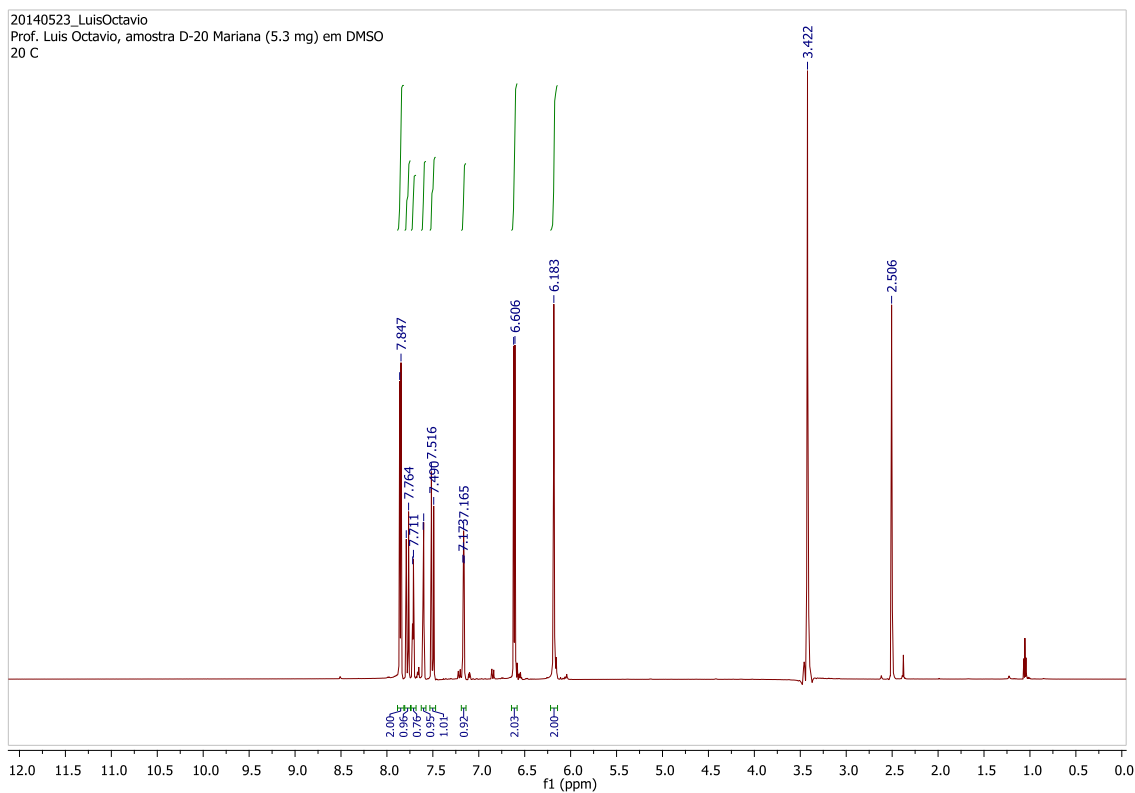
ANEXO 118. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 30** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



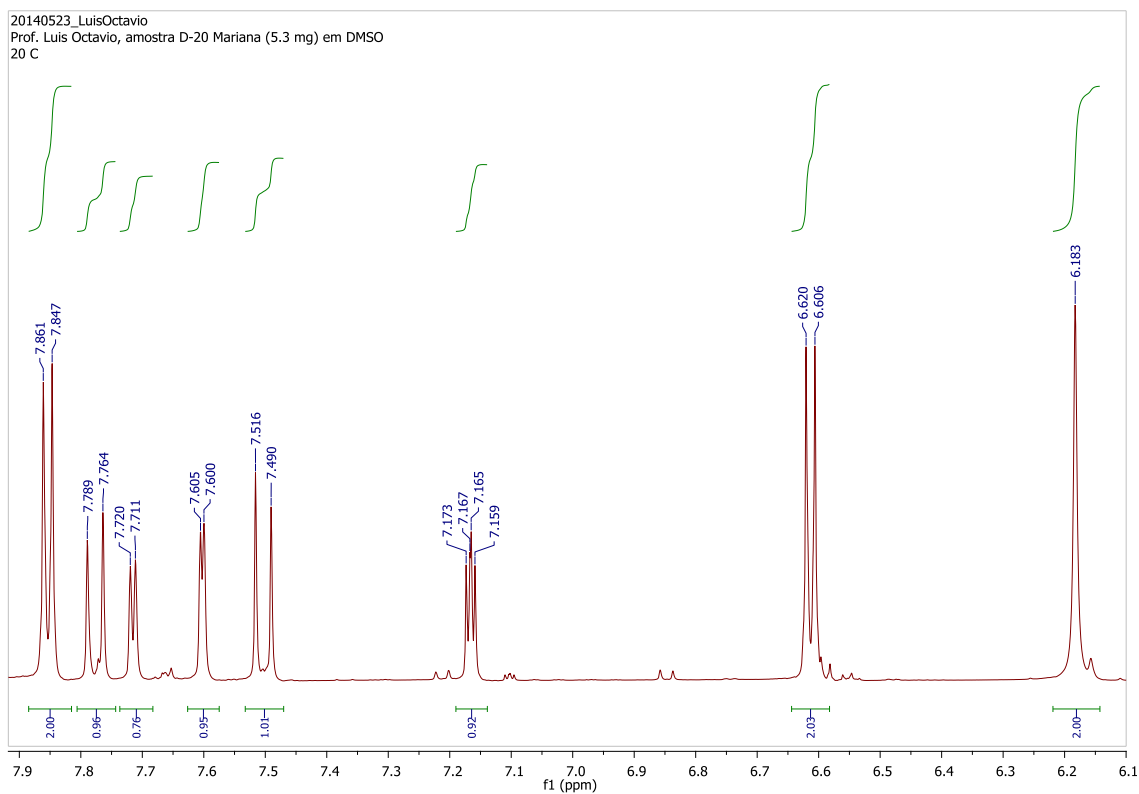
ANEXO 119. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 30** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



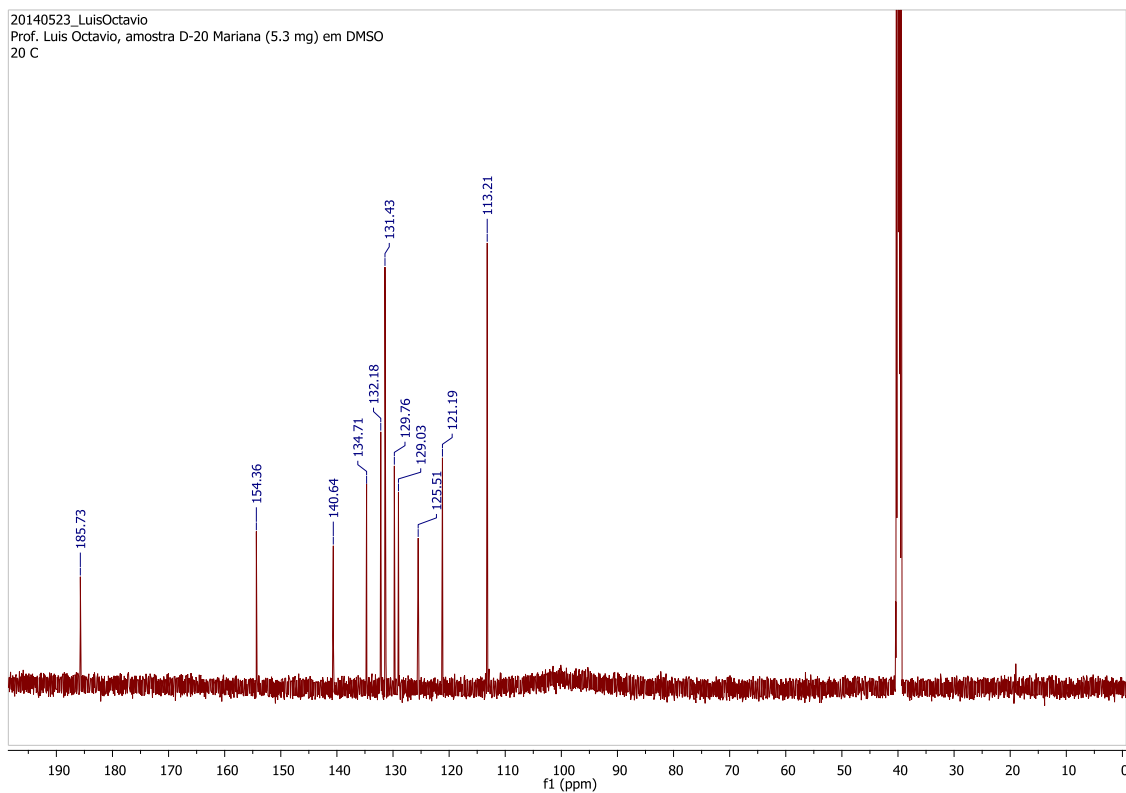
ANEXO 120. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 31** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



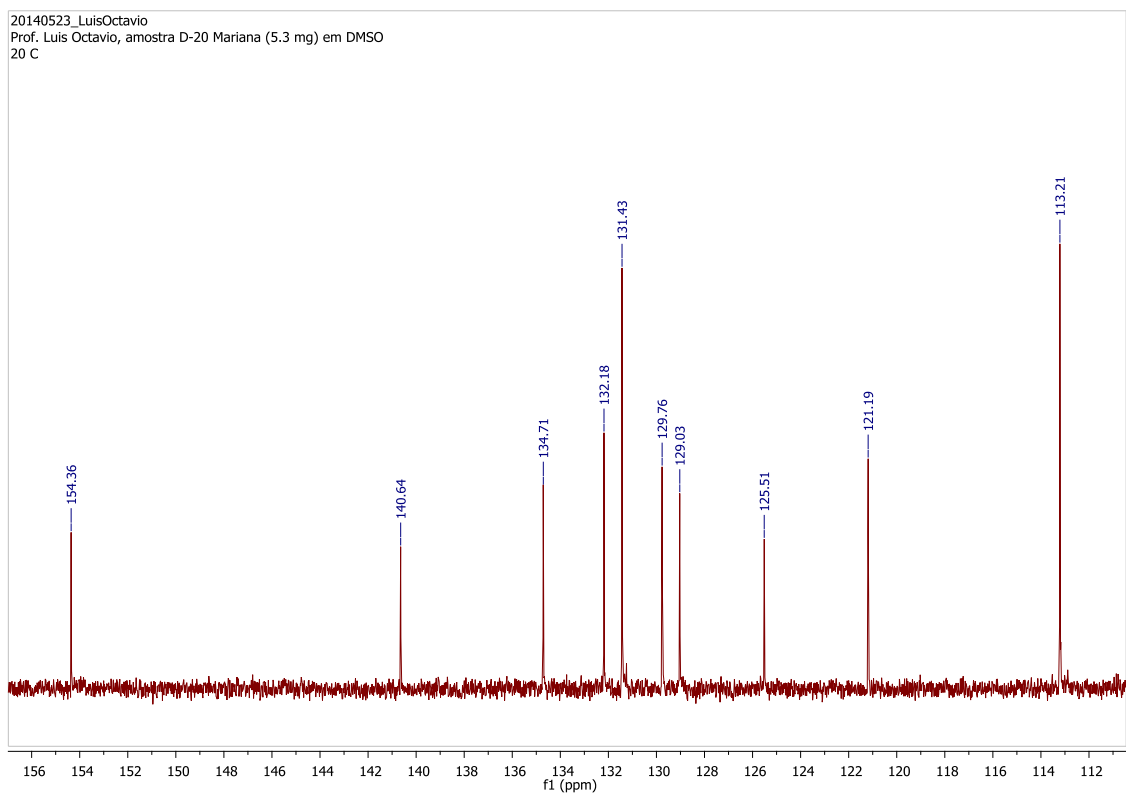
ANEXO 121. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 31** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



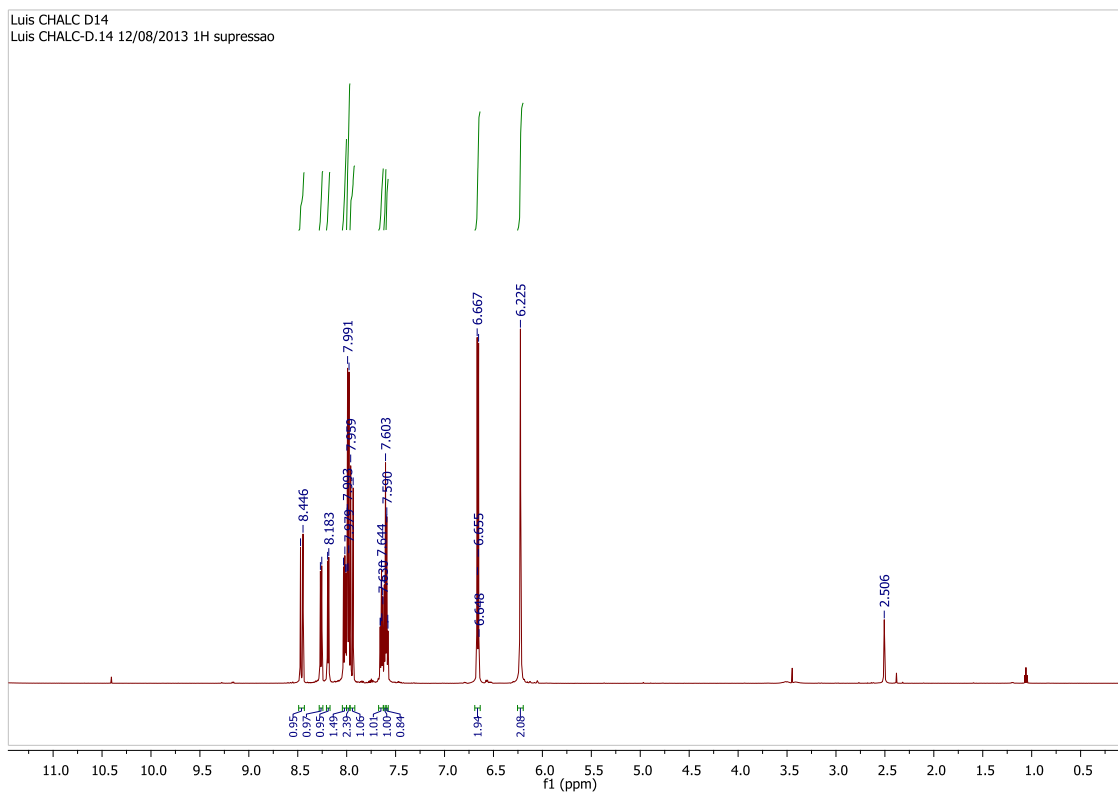
ANEXO 122. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 31** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



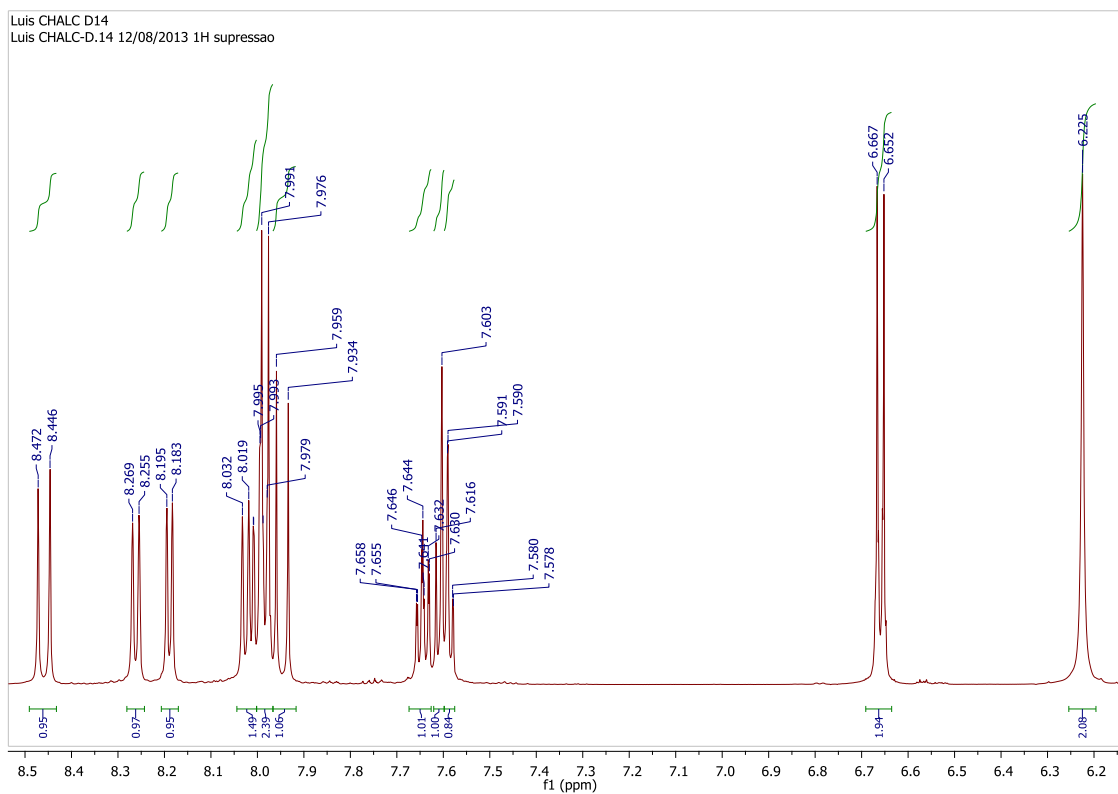
ANEXO 123. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 31** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



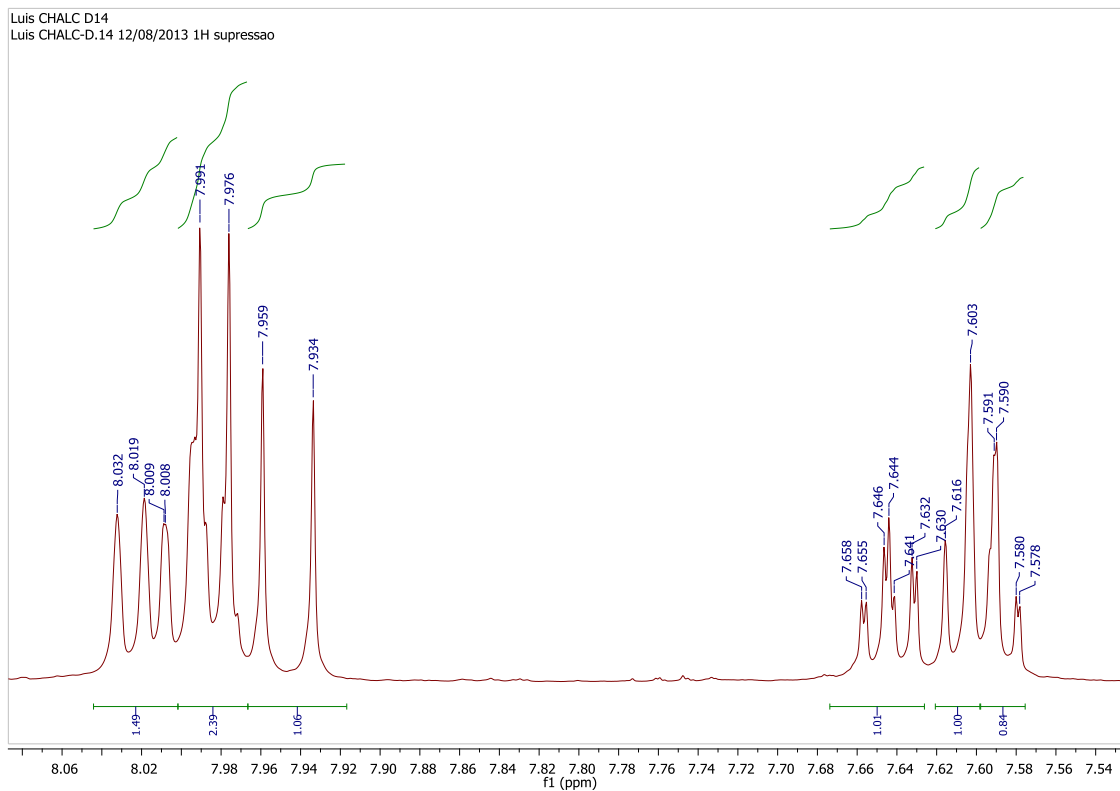
ANEXO 124. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 32** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



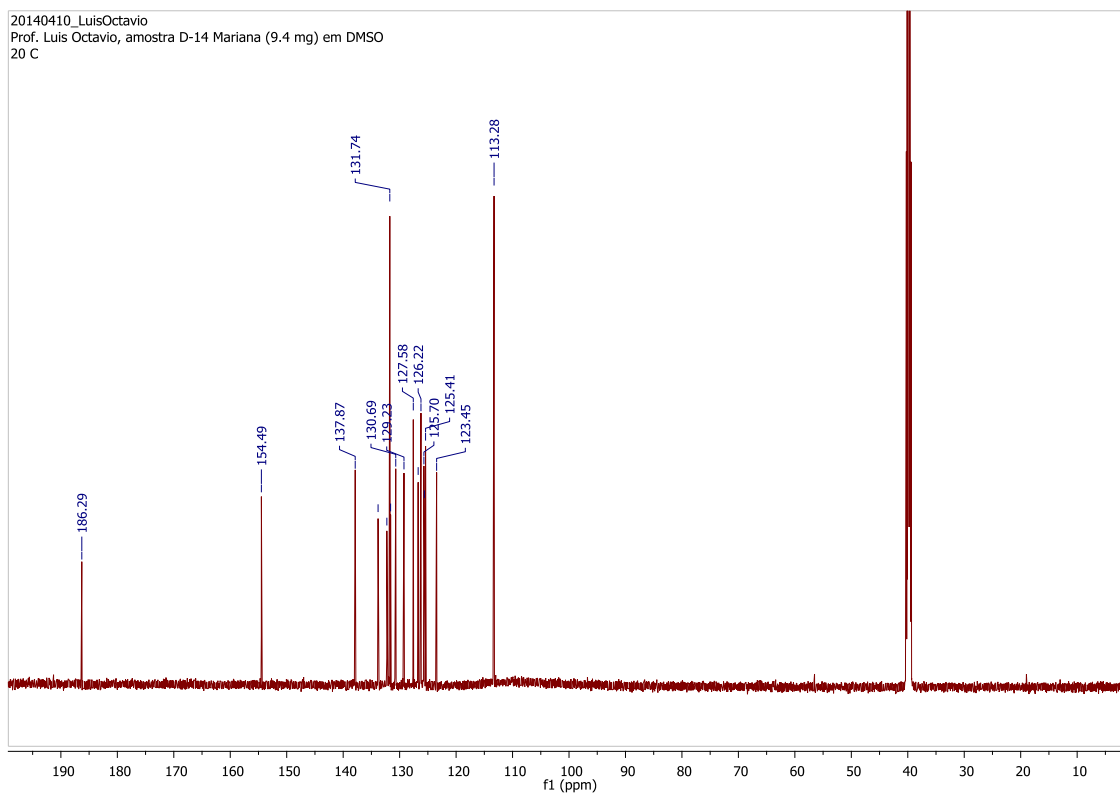
ANEXO 125. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 32** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



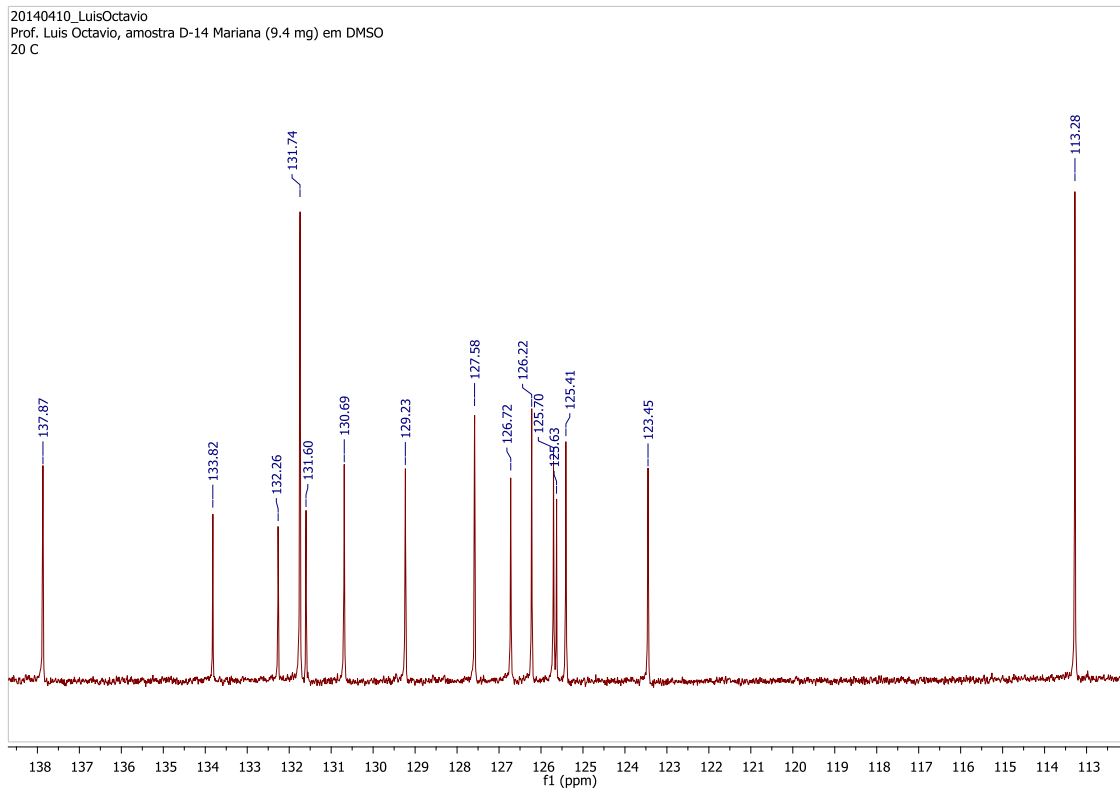
ANEXO 126. Ampliação da região de 7,55 a 8,10 ppm do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 32** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



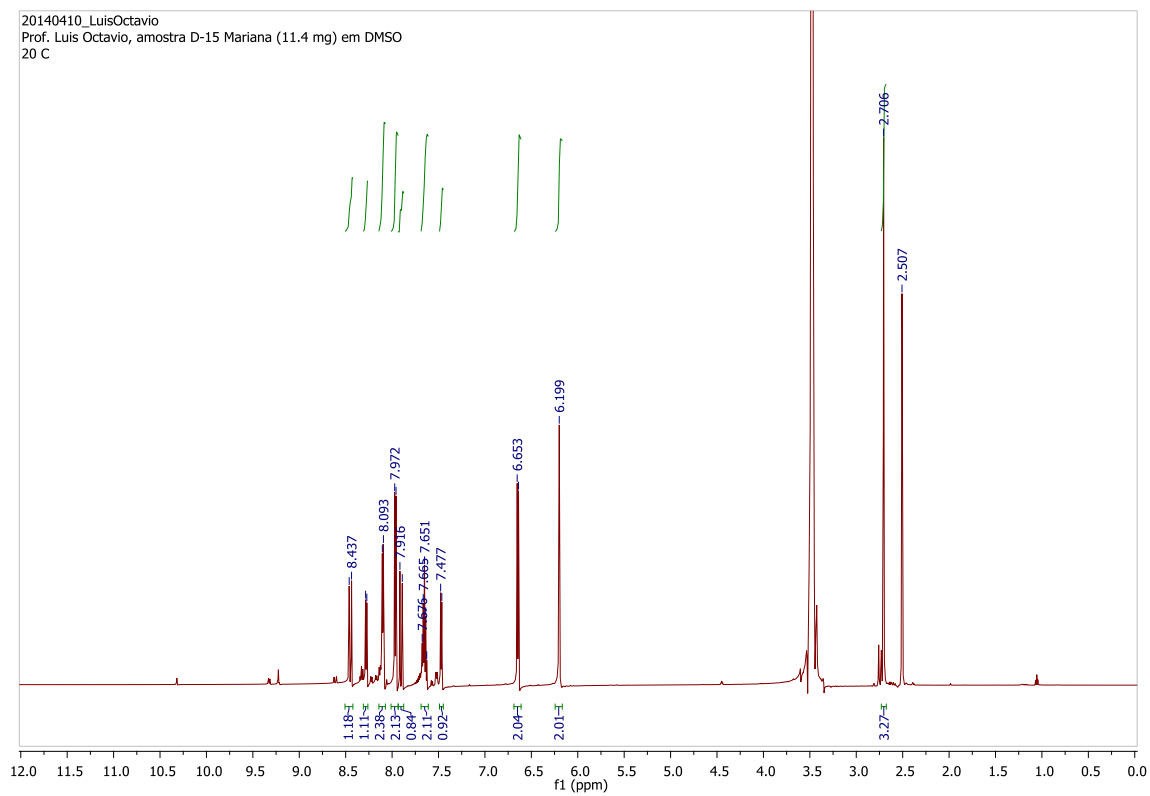
ANEXO 127. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 32** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



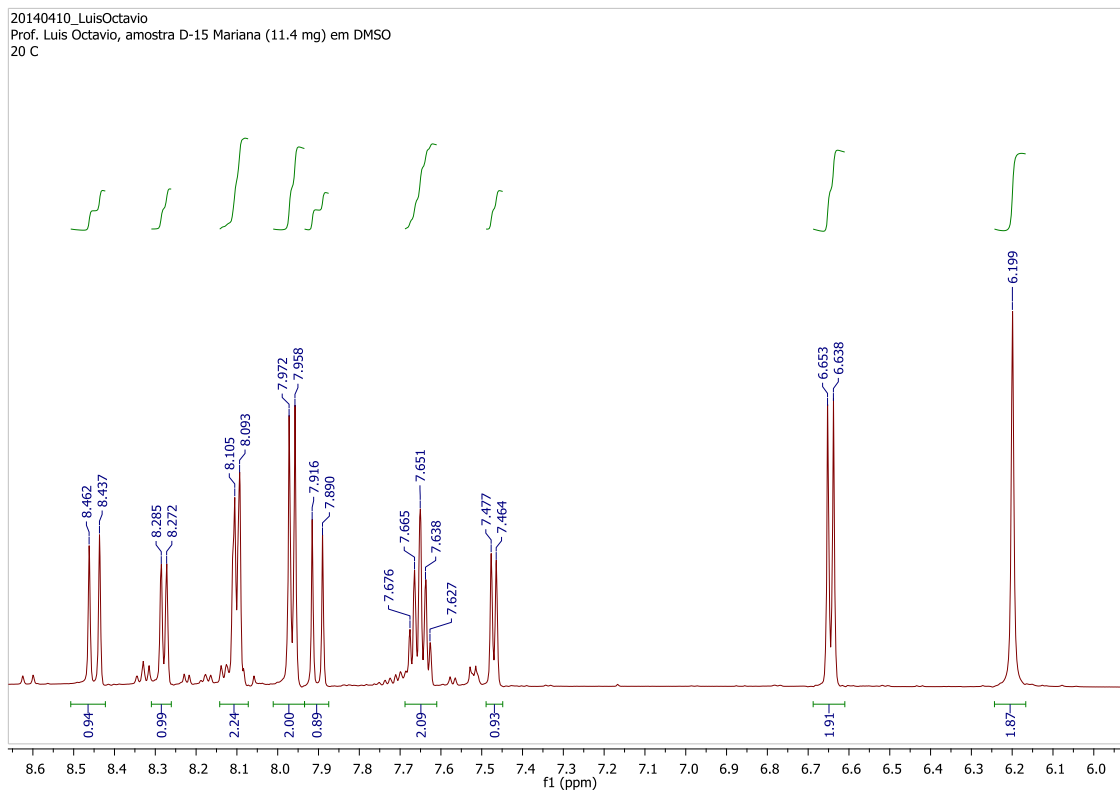
ANEXO 128. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 32** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



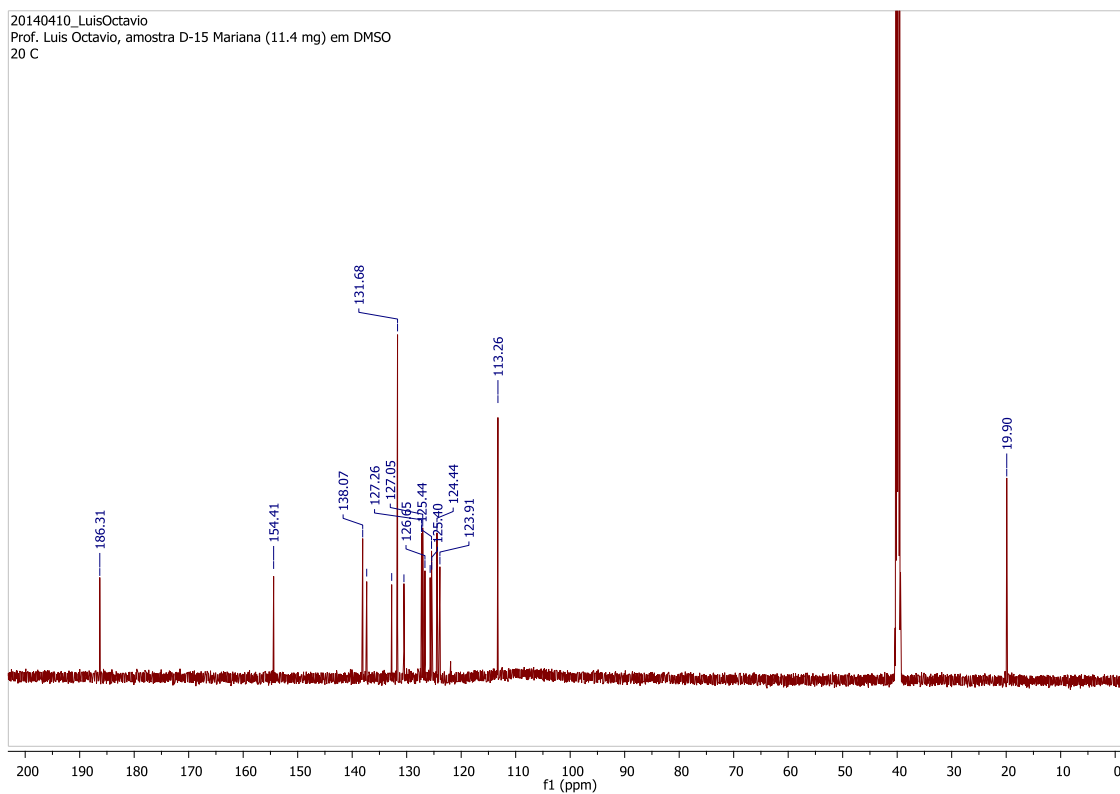
ANEXO 129. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 33** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



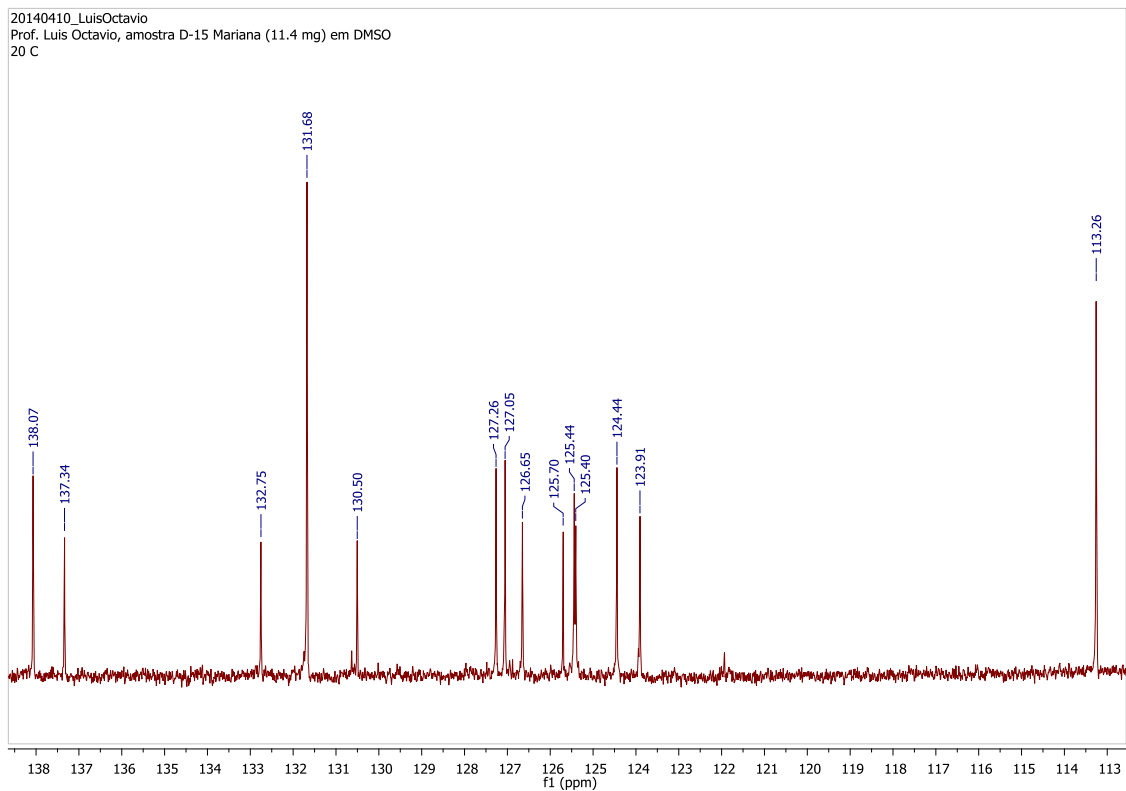
ANEXO 130. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 33** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



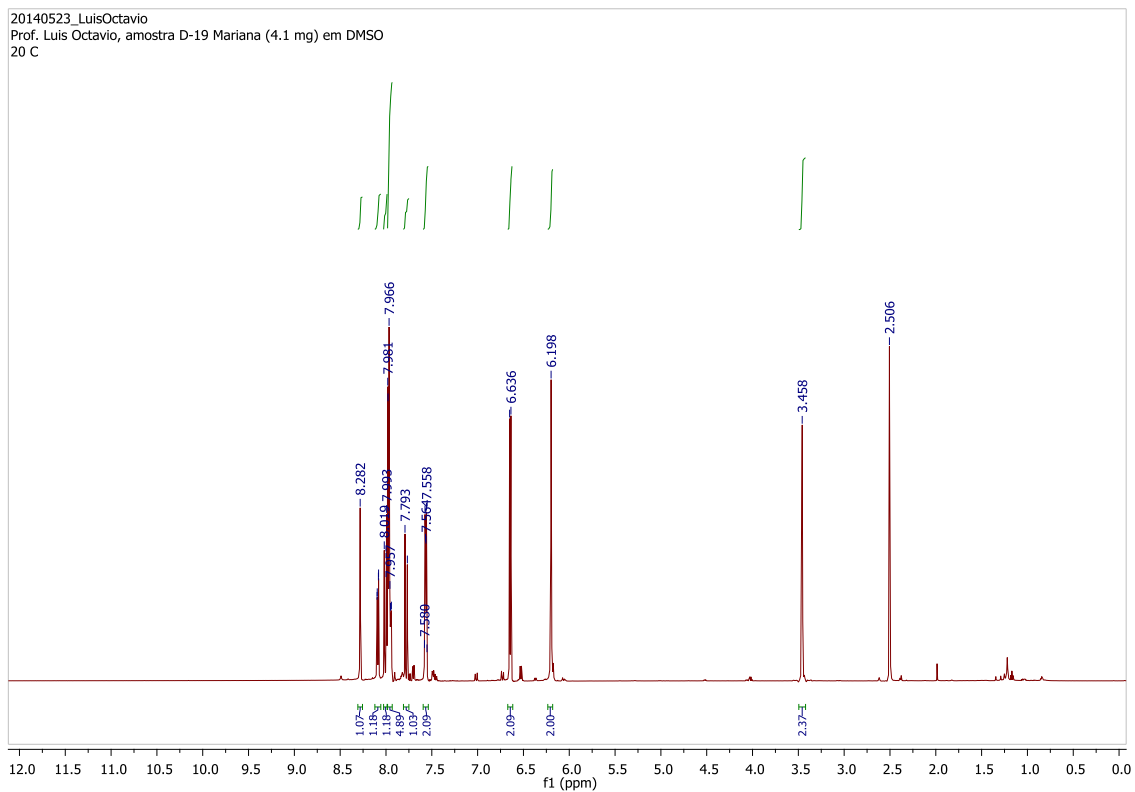
ANEXO 131. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 33** ($\text{DMSO-}d_6$; 150 MHz)



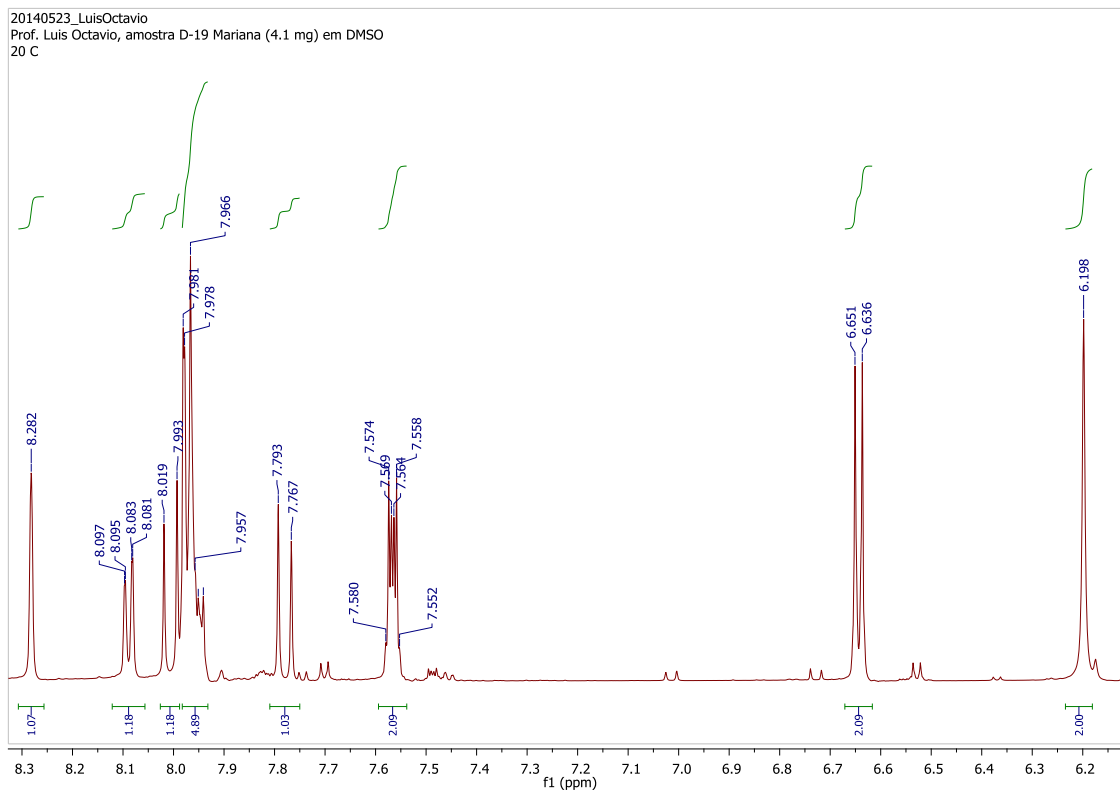
ANEXO 132. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 33** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)



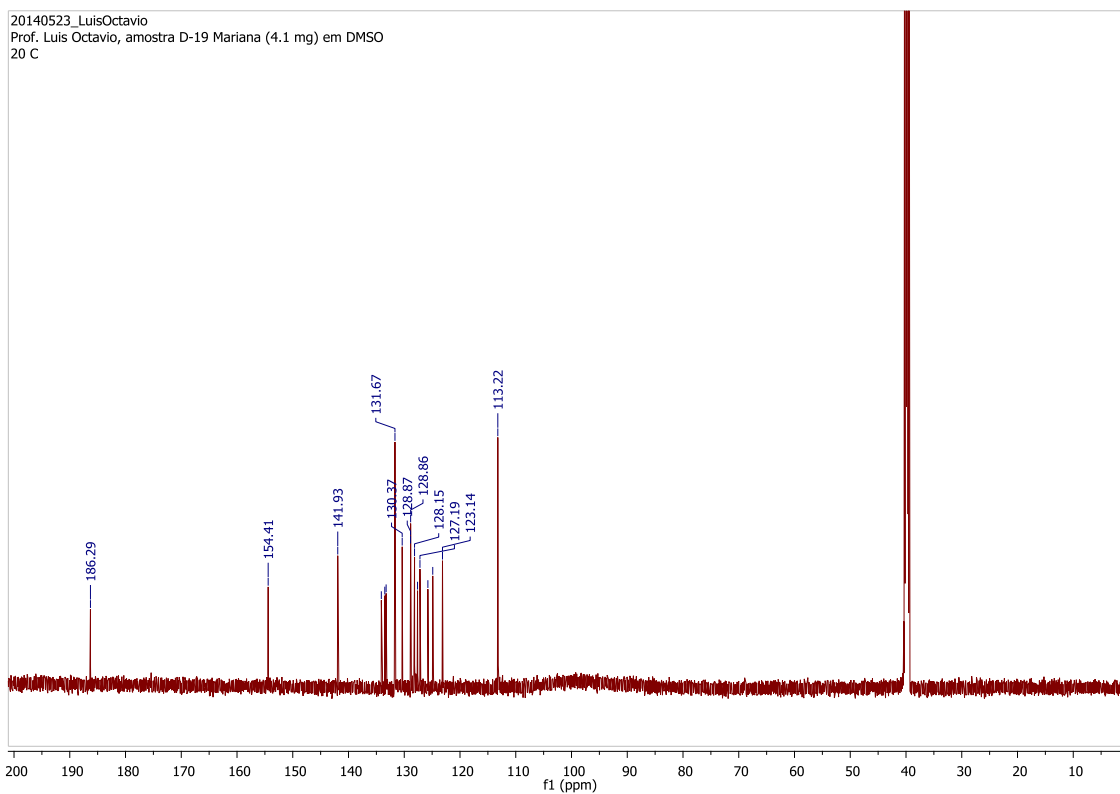
ANEXO 133. Espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 34** (DMSO- d_6 ; 600 MHz)



ANEXO 134. Ampliação do espectro de RMN de ^1H da substância **LQVM 34** ($\text{DMSO-}d_6$; 600 MHz)



ANEXO 135. Espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 34** ($\text{DMSO-}d_6$; 150 MHz)



ANEXO 136. Ampliação do espectro de RMN de ^{13}C da substância **LQVM 34** (DMSO- d_6 ; 150 MHz)

